

ECOLOGY, BEHAVIOR AND BIONOMICS

Aspectos Biológicos de *Cirrospilus neotropicus* Diez & Fidalgo (Hymenoptera: Eulophidae), Parasitóide de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae)

ESTER FOELKEL¹, LUIZA R. REDAELLI^{1,2}, SIMONE M. JAHNKE^{1,2} E PAULA B. LOSEKANN²

¹PPG em Fitotecnia, ²Depto. Fitossanidade. UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 7712, 91540-000, Porto Alegre, RS

Neotropical Entomology 37(3):279-287 (2008)

Biological Aspects of *Cirrospilus neotropicus* Diez & Fidalgo (Hymenoptera: Eulophidae), Parasitoid of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae)

ABSTRACT - The biology of *Cirrospilus neotropicus* Diez & Fidalgo reared on third instar *Phyllocnistis citrella* Stainton larvae having *Citrus limonia* Osbeck as host plant, was evaluated under controlled conditions (25 ± 1°C; 12h photophase). The survival, immatures development, longevity, sex ratio, host feeding and oviposition ratio of *C. neotropicus*, were registered. Two groups of parasitoid females were evaluated: one, with parasitoids obtained from *P. citrella* pupae collected in citrus orchards and the other group came from laboratory rearing. These females, after mating, were maintained individually on gerbox containers with honey and pollen as food source. At each 48h, 12 *P. citrella* larvae were changed. The average biological cycle of the female progenies from orchard and laboratory generation groups were 11.8 and 11.6 days, respectively. The males progenies had biological cycles of 11.6 and 10.9 days, as well. The shortest immature survival period, for both studied groups was the larval (57.3% - orchard group and 57.4% - lab group). The mated females average longevity (21.8 days) was superior than the non mated ones (9.1 days) for the orchard group. The average daily oviposition rate for this last group was also significantly superior (2.8 eggs /day) than the lab group (1.6 eggs / day). The same trend was observed for the average daily host feeding rate (1.7 larvae /day for the orchard group and 0.9 larvae/ day for the lab group). These data suggest that *C. neotropicus* have potencial as a biological control agent of *P. citrella*.

KEY WORDS: Citrus leafminer, life cycle, fecundity, fertility

RESUMO - A biologia de *Cirrospilus neotropicus* Diez & Fidalgo, tendo como hospedeiro lagartas de terceiro ínstar de *Phyllocnistis citrella* Stainton criadas em folhas de limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck), foi avaliada em estufa climatizada (25 ± 1°C; fotofase de 12h), registrando-se a duração e a sobrevivência das fases imaturas, a longevidade, a razão sexual, as taxas de oviposição e a atividade de predação. Dois grupos de fêmeas foram acompanhados, um proveniente de câmaras pupais de *P. citrella* coletadas em pomares de citros, e, outro de uma criação de laboratório. As fêmeas foram mantidas em caixas gerbox, recebendo, a cada 48h, 12 lagartas de *P. citrella*, mel e pólen. A duração média do período de ovo a adulto para os indivíduos gerados por fêmeas de campo e de laboratório foi, respectivamente, de 11,8 e 11,6 dias para fêmeas e 11,6 e 10,9 dias para machos. A menor sobrevivência foi registrada para a fase larval na prole de ambos os grupos de fêmeas, 57,3% - campo e 57,4% - laboratório. A longevidade média de fêmeas do campo acasaladas (21,8 dias) foi significativamente superior a das de laboratório acasaladas (16,8 dias). A taxa média de oviposição para as fêmeas de campo (2,8 ovos/dia) foi significativamente superior às das de laboratório (1,6 ovos/dia). O mesmo foi observado para o número médio diário de picadas alimentícias (1,7 lagarta/dia para fêmeas de campo e 0,87 lagarta/dia para as de laboratório). Os dados indicam que *C. neotropicus* tem potencial como agente de controle biológico de *P. citrella*.

PALAVRAS-CHAVE: Minador-dos-citros, ciclo de vida, fecundidade, fertilidade

Himenópteros parasitóides são organismos que têm grande importância biológica e ecológica por participarem em mais de 50% das cadeias alimentares terrestres (LaSalle

& Gauld 1991). Em ecossistemas agrícolas possuem também importância econômica, por atuarem na regulação de populações de pragas (Godfray 1994).

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

Dentre os eulofídeos, espécies de *Cirrospilus* são referidas como ectoparasitóides de lagartas do minador-dos-citros em instares já avançados (Schauff et al. 1998). Os ovos desses parasitóides podem ser depositados tanto na mina como na lagarta e, embora mais de um ovo possa ser colocado, tem sido constatada a emergência de apenas um adulto (Clausen 1940). Para algumas espécies de *Cirrospilus*, é registrada a ocorrência de partenogênese arrenótoca, o que pode influenciar na razão sexual da prole, de acordo com condições ambientais específicas (Urbaneja 2000, Lo Pinto et al. 2005)

Em Montenegro, RS, em levantamentos de parasitóides nativos do minador-dos-citros, a espécie mais freqüente foi *Cirrospilus neotropicus* Diez & Fidalgo (Hymenoptera: Eulophidae). Essa espécie foi registrada apenas em freqüências menores que o parasitóide exótico *Ageniaspis citricollae* Logvinovskaya (Hymenoptera: Encyrtidae), que havia sido liberado em pomar próximo das áreas de estudo (Jahnke et al. 2005, Efrom et al. 2007). Apesar de *C. neotropicus* ter sido registrada pela primeira vez nas regiões de Cuicuilahuac e Colima (México) no ano 1996 por Bautista-Martinez et al. (1996) e Perales-Gutiérrez et al. (1996), sua descrição foi feita somente em 2003 (Diez & Fidalgo 2003). Entretanto, até o presente, não existem relatos de seu ciclo biológico.

Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar e comparar aspectos do ciclo biológico de *C. neotropicus*, provenientes de dois grupos de fêmeas, um oriundo de câmaras pupais de *P. citrella* coletadas em pomares de citros e, outro, de criação sob condições controladas. Segundo Garcia (1991), a sobrevivência da prole de parasitóides pode depender da adequação do hospedeiro, da fase imatura da fêmea e da planta sobre a qual esta se desenvolveu. Assim, fêmeas que se desenvolveram em plantas em pomares no campo podem apresentar proles com maior sobrevivência do que aquelas criadas em condições artificiais. Avaliaram-se a duração e a sobrevivência das fases imaturas, a longevidade, a razão sexual, as taxas de oviposição e a atividade de predação dos adultos. Segundo Parra et al. (2002), esses aspectos são importantes na avaliação da qualidade do parasitóide criado em laboratório em comparação com os que ocorrem na natureza.

Material e Métodos

Criação de *C. neotropicus*. Câmaras pupais de *P. citrella* coletadas em pomares de citros em Eldorado do Sul, RS, foram acondicionadas em recipientes plásticos (25 x 15 cm) contendo no fundo papel filtro umedecido e mantidas em estufa climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase 12h) para a obtenção de adultos de *C. neotropicus*. Após a emergência, os parasitóides foram transferidos, na proporção de cinco machos para uma fêmea de *C. neotropicus*, para tubos de vidro (3 x 10 cm) com algodão umedecido no fundo e alimentados com mel

e pólen macerado, fechados com filme PVC e mantidos na estufa climatizada. A diferenciação entre os sexos baseou-se na descrição de Diez & Fidalgo (2003).

Decorridos cinco dias da emergência, as fêmeas foram transferidas para caixas gerbox (12 x 12 x 3 cm) contendo folhas de citros com 12 lagartas de *P. citrella* de terceiro instar e meio ágar-água (AA) a 2% no fundo, para manter a turgidez das folhas. As folhas com lagartas provinham de mudas de *Citrus limonia* Osbeck mantidas em tubetes em sala climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; $65 \pm 10\%$ UR; fotofase 12h). A cada dois dias, novas lagartas foram oferecidas para as fêmeas de *C. neotropicus*. As folhas recolhidas foram observadas em estereomicroscópio e as que continham ovos dos parasitóides foram colocadas em placas de Petri (10 x 1,5 cm) com meio agar-água a 2% (AA2%). Parte dos parasitóides emergidos foi utilizada para a manutenção da criação e o restante nos experimentos de biologia.

Biologia de *C. neotropicus*. Vinte e três fêmeas de *C. neotropicus* que emergiram de câmaras pupais de *P. citrella* provenientes do campo e 22 oriundas da primeira geração de laboratório, foram acasaladas conforme descrito anteriormente.

Após o período de acasalamento, as fêmeas foram individualizadas com lagartas de *P. citrella* conforme condições já mencionadas, para oviposição. A cada 48h, as folhas contendo lagartas com ovos de *C. neotropicus* foram retiradas e novas lagartas foram oferecidas até a morte da fêmea. Registrou-se, nessas condições, a longevidade das mesmas, a fertilidade, a fecundidade, as taxas de oviposição e de picadas alimentícias das fêmeas.

As folhas com lagartas parasitadas foram observadas em estereomicroscópio, registrando-se o número de ovos depositados e o de picadas alimentícias. Em seguida, as folhas foram acondicionadas, individualmente, em placas de Petri (10 x 1,5 cm) com meio AA 2% e mantidas em estufa climatizada. Diariamente, as placas foram examinadas e registrou-se o número de larvas do parasitóide, o de indivíduos mortos e o de pupas formadas, de modo a estimar o tempo de desenvolvimento e a sobrevivência das diferentes fases imaturas, até a fase pupal. Também foram registrados alguns aspectos morfológicos e comportamentais dos insetos.

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

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

Os registros da oviposição foram feitos em intervalos de 48h, e, muitas vezes, na primeira observação, já eram constatadas larvas. Adicionalmente, o desenvolvimento embrionário foi registrado a partir de posturas efetuadas por apenas nove fêmeas, todas da geração de campo. Para tanto,

estas foram mantidas com machos por cinco dias e, após, foram oferecidos hospedeiros, os quais foram observados três vezes, durante a fotofase, em intervalos de 6h. Toda vez que se registrava a presença de um ovo, o hospedeiro era individualizado em placa de Petri (10 x 1,5 cm) contendo meio AA 2% e observado no mesmo intervalo, até a eclosão. Foram avaliados, no total, 120 ovos.

A longevidade das fêmeas foi avaliada para 23 indivíduos provenientes do campo e 22 da geração de laboratório, mantidos nas condições descritas acima. A longevidade foi avaliada em 15 machos acasalados provenientes da geração de laboratório, os quais, após o período de acasalamento, foram individualizados em frascos de vidro (10 x 35 mm) contendo algodão umedecido no fundo, fechados com filme plástico e mantidos em estufa climatizada, recebendo mel e pólen macerado como alimento. Em indivíduos não acasalados, a longevidade foi avaliada para 10 fêmeas e 10 machos provenientes do campo, e 49 fêmeas e 36 machos da geração de laboratório, os quais foram mantidos, desde a emergência, individualizados, nas mesmas condições dos machos acasalados.

Os dados foram analisados quanto à normalidade pelos testes Shapiro-Wilk e D'Agostino e, submetidos à análise de variância (Anova um critério) ou Kruskal-Wallis. A correlação entre os dados (número da progênie e idade das fêmeas) foi calculada através do coeficiente de correlação linear de Pearson. A proporção entre os sexos foi comparada pelo teste χ^2 para comparação de proporções. O nível de significância adotado foi ($\alpha = 0,05$). As análises numéricas foram feitas pelo programas BioEstat[®] 4.0 e Microsoft Office Excel[®] 2000.

Resultados e Discussão

Desenvolvimento das fases imaturas. Ovos de *C. neotropicus* apresentam aspecto cilíndrico ou reniforme e coloração esbranquiçada ou hialina, dispostos externamente ao corpo do hospedeiro, semelhantes aos de *Cirrospilus* próximo a *lyncus* (Hymenoptera: Eulophidae) (Urbaneja 2000). Geralmente as fêmeas depositam os ovos em contato com a lagarta de *P. citrella*, entretanto alguns são colocados distantes até 5 mm, fazendo com que as larvas de *C. neotropicus* tenham que ir em busca do hospedeiro. Comportamento semelhante foi observado por Lo Pinto (1997) para o eulofídeo *Ratzeburgiola incompleta* Boucek, ectoparasitóide de *P. citrella*, que comumente oviposita junto ao corpo do hospedeiro. Contudo, quando o ovo é depositado afastado, a larva do parasitóide consegue encontrá-lo. Para os eulofídeos *Cirrospilus pictus* (Ness) e *C. diallus* Walker, Lo Pinto *et al.* (2005) registraram que 21,55% dos ovos foram depositados até 6 mm de distância do hospedeiro paralisado (*P. citrella*), sendo que as larvas apresentaram o mesmo comportamento que o observado em *C. neotropicus*.

Após a eclosão, a larva apresenta aspecto hialino e tamanho diminuto (menores que 0,3 mm), semelhante ao ovo, características também observadas por Urbaneja (2000) para *C. próx. lyncus*.

A larva inicia a alimentação logo após encontrar o hospedeiro, variando, ao longo do desenvolvimento, o ponto onde se alimenta no corpo deste. Por ser hialina, pode-se observar o canal alimentar da larva o qual se contrai ritmicamente durante o processo de alimentação.

Completado o desenvolvimento, a larva de *C. neotropicus* cessa a alimentação, observando-se, algumas vezes, um afastamento do hospedeiro e posterior liberação do mecônio, passando em seguida à pré-pupa. O distanciamento do hospedeiro também foi registrado para *R. incompleta* (Lo Pinto 1997) e *C. pictus* e *C. diallus*, por Lo Pinto *et al.* (2005). A liberação do mecônio pode se dar em apenas uma porção, ou em várias porções em forma de pequenas colunas (2 a 12) ao longo do corpo. Isso também foi registrado por Urbaneja (2000) em *C. próx. lyncus*. Lo Pinto (1997) observou que a expulsão do mecônio em *R. incompleta* ocorreu sempre em apenas uma porção. Lo Pinto *et al.* (2005) registraram a liberação de mecônio em *C. pictus*, como porções fecais (três a seis pequenas colunas ao redor do corpo), sendo que a larva posicionava o mecônio através de movimentos rotatórios do gáster. Segundo Viggiani (1964), a distribuição do mecônio em pequenos montes, observada em eulofídeos, tem o intuito de prevenir o colapso da mina do hospedeiro, o que poderia causar o ressecamento da pré-pupa ou da pupa caso fosse liberado numa porção única.

A pupa de *C. neotropicus* recém-formada apresenta coloração branca, passando a preta em menos de 12h, mudanças também registradas em outros eulofídeos parasitóides de *P. citrella* (Lo Pinto 1997, Urbaneja 2000, Lo Pinto *et al.* 2005).

Duração e sobrevivência das fases de ovo, larva e pupa.

O período médio de incubação dos 120 ovos provenientes de fêmeas da geração de campo, examinados a cada 6h, foi de 1,1 \pm 0,03 dias (média \pm EP). Entre as gerações não se registrou diferença significativa, tanto para machos ($H = 4,75$; $gl = 1$; $P = 0,36$) quanto para fêmeas ($H = 3,29$; $gl = 1$; $P = 0,07$).

A duração da fase larval total foi em média de 4,4 dias, não diferindo entre os sexos, tanto para a progênie de fêmeas de campo ($H = 0,35$; $gl = 1$; $P = 0,554$), quanto para a de laboratório ($H = 2,79$; $gl = 1$; $P = 0,09$). Entre as gerações, não foi registrada diferença significativa tanto para machos ($H = 0,01$; $gl = 1$; $P = 0,923$), como para fêmeas ($H = 0,46$; $gl = 1$; $P = 0,537$) (Tabela 1).

A duração média do período pupal da prole da geração do campo foi de 6,3 dias para fêmeas e 5,2 dias para machos, sendo essa diferença significativa ($H = 20,54$; $gl = 1$; $P = 0,001$). Para a prole da geração de laboratório, as fêmeas também apresentaram maior tempo de desenvolvimento (6,0 dias), sendo a diferença significativa em relação aos machos (5,6 dias) ($H = 4,033$; $gl = 1$; $P = 0,0446$) (Tabela 1).

A duração média do desenvolvimento de ovo a adulto foi de 10,9 dias para os machos da prole da geração de laboratório e 10,6 dias para os da geração de campo, sendo a diferença significativa ($H = 5,05$; $gl = 1$; $P = 0,03$) e variando, em ambas, de 7 a 14 dias (Tabela 1). A duração média do ciclo de ovo a adulto de fêmeas geradas a partir do grupo de campo (11,8 dias; mínimo 9, máximo 14), não diferiu significativamente ($H = 3,29$; $gl = 1$; $P = 0,07$) daquelas

Tabela 1. Duração média (dias) (\pm EP) das fases de ovo, larva, pupa e do ciclo biológico de fêmeas e machos de *C. neotropicus* das proles provenientes de fêmeas da geração de campo e de laboratório, criados sobre *P. citrella* ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase 12h).

Prole	Sexo	Fases de desenvolvimento			
		Ovo	Larva	Pupa	Total
Campo	Fêmea	1,0 \pm 0,05	4,4 \pm 0,17	6,3 \pm 0,22 a A	11,8 \pm 0,23 a A
	Macho	1,0 \pm 0,02	4,4 \pm 0,07	5,2 \pm 0,22 b B	10,6 \pm 0,22 b B
Laboratório	Fêmea	1,0 \pm 0,08	4,5 \pm 0,34	6,0 \pm 0,34 a A	11,6 \pm 0,19 a A
	Macho	1,0 \pm 0,02	4,3 \pm 0,07	5,6 \pm 0,26 b A	10,9 \pm 0,09 b A

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

oriundas do grupo de laboratório (11, 6 dias; mínimo 9, máximo 16). O tempo de desenvolvimento de ovo a adulto foi superior nas fêmeas, tanto na prole da geração de campo ($H = 14,003$; $gl = 1$; $P = 0,0002$) quanto na de laboratório ($H = 4,26$; $gl = 1$; $P = 0,04$). O desenvolvimento mais lento das fêmeas segundo Godfray (1994), pode estar relacionado ao maior acúmulo de reservas e ao fato de as fêmeas serem geralmente maiores que os machos.

Em outras espécies de eulofídeos, tem sido registrado um ciclo mais longo para as fêmeas, a 25°C (Urbaneja et al. 2002, Bazzocchi et al. 2003). Os resultados obtidos no presente trabalho corroboram os registrados por esses autores. Entretanto o ciclo biológico (ovo-adulto) registrado para *C. próx. lynxus* a 25°C em lagartas de *P. citrella*, não apresentou diferenças entre os sexos (Urbaneja et al. 1999). O mesmo foi observado por Lo Pinto et al. (2005) a 26°C , para *C. diallus* e *C. pictus* tendo como hospedeiro a mesma espécie.

Considerando a condição do hospedeiro, constataram-se diferenças significativas somente para os machos provenientes da geração de campo, em lagartas com parasitismo simples, ($H = 19,02$; $gl = 1$; $P < 0,01$) (Tabela 2).

No presente estudo, machos provenientes de fêmeas da geração de campo, que se desenvolveram em hospedeiros com picadas alimentícias, apresentaram ciclo total (ovo-adulto) significativamente menor que o restante da prole

nesta condição ($H = 8,538$; $gl = 1$; $P = 0,003$). Dados dos outros grupos, entretanto, parecem indicar que não há uma influência substancial no tempo de desenvolvimento em relação à condição do hospedeiro (Tabela 3). Isso talvez possa ser explicado pelo tamanho do hospedeiro, que não foi registrado no presente trabalho. Lim & Hoy (2005) observaram que, em lagartas de *P. citrella* de terceiro ínstar de maior comprimento (média de 3,2 mm), a fêmea de *Semiela cher petiolatus* Girault (Hymenoptera: Eulophidae) e o imaturo conseguiram se alimentar e desenvolver sem prejuízos. Os autores não registraram diferenças significativas entre o tempo de desenvolvimento de machos e fêmeas nas mesmas condições em hospedeiros com parasitismo simples, superparasitismo e picadas alimentícias.

Quando comparada a duração do desenvolvimento a 25°C , do hospedeiro em relação a *C. neotropicus*, o minador-dos-citros levou, em média, 16,5 dias (Chagas & Parra 2000), enquanto que o parasitóide demandou, em média, $10,8 \pm 0,22$ dias. Ou seja, durante o desenvolvimento de uma geração de imaturos de *P. citrella* é possível o desenvolvimento de 1,5 gerações imaturas de *C. neotropicus*, o que é favorável sob o ponto de vista do controle biológico.

A sobrevivência média das fases imaturas das proles de *C. neotropicus* não apresentou diferenças significativas entre as gerações estudadas. Houve variação entre a sobrevivência

Tabela 2. Duração média (dias) (\pm EP) das fases de ovo, larva, pupa e do ciclo biológico de fêmeas e machos de *C. neotropicus* das proles provenientes de fêmeas da geração de campo e de laboratório, criados sobre lagartas de *P. citrella* apresentando superparasitismo, parasitismo simples e no total ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase 12h).

Prole	Parasitismo	n	Sexo	Ovo	Larva	Pupa	Total
Campo	Super	2	♀	1,0 \pm 0,00	4,0 \pm 0,00	6,0 \pm 0,00	11,1 \pm 0,01 a
		53	♂	1,1 \pm 0,14	4,7 \pm 0,22	5,4 \pm 0,21	11,2 \pm 0,40 a
	Simples	13	♀	1,0 \pm 0,03	4,4 \pm 0,17	6,4 \pm 0,24	11,8 \pm 0,31 a
		203	♂	1,0 \pm 0,00	4,3 \pm 0,18	5,1 \pm 0,24	10,4 \pm 1,07 b
Laboratório	Super	2	♀	1,0 \pm 0,00	4,1 \pm 0,23	6,5 \pm 0,15	11,6 \pm 0,15 A
		3	♂	1,0 \pm 0,00	3,7 \pm 0,17	7,00 \pm 0,00	11,7 \pm 0,33 A
	Simples	42	♀	1,0 \pm 0,02	4,5 \pm 0,21	6,00 \pm 0,18	11,5 \pm 0,26 A
		93	♂	1,0 \pm 0,05	4,6 \pm 0,21	5,61 \pm 0,23	11,3 \pm 0,23 A

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

Tabela 3. Duração média (dias) (\pm EP) das fases de ovo, larva, pupa e do ciclo biológico de fêmeas e machos de *C. neotropicus* das proles provenientes de fêmeas da geração de campo e de laboratório, criados sobre lagartas de *P. citrella* com e sem picadas alimentícias ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase 12h).

Prole	Condição	n	Sexo	Ovo	Larva	Pupa	Total
Campo	c/picadas	8	♀	1,0 \pm 0,00	4,4 \pm 0,17	6,0 \pm 0,25	11,4 \pm 0,36 a
		107	♂	1,0 \pm 0,08	4,2 \pm 0,15	4,8 \pm 0,22	9,9 \pm 0,65 b
	s/ picadas	5	♀	1,0 \pm 0,05	4,3 \pm 0,14	5,0 \pm 0,21	10,3 \pm 0,31 a
		96	♂	1,0 \pm 0,03	4,3 \pm 0,22	5,4 \pm 0,26	10,6 \pm 0,72 a
Laboratório	c/picadas	13	♀	1,0 \pm 0,05	4,6 \pm 0,28	6,0 \pm 0,19	11,6 \pm 0,36 A
		39	♂	1,0 \pm 0,03	4,1 \pm 0,11	5,9 \pm 0,32	11,0 \pm 0,31 A
	s/ picadas	29	♀	1,0 \pm 0,09	4,5 \pm 0,15	6,1 \pm 0,37	11,7 \pm 0,43 A
		54	♂	1,0 \pm 0,01	4,2 \pm 0,15	5,5 \pm 0,23	10,7 \pm 0,24 A

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

Tabela 4. Sobrevivência média (%) (\pm EP) de cada fase imatura das proles das fêmeas de *C. neotropicus* da geração de campo e da de laboratório desenvolvidas em *P. citrella* ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase 12h).

Prole	Ovo	Larva	Pupa	Total
Campo	98,5 \pm 0,04	57,3 \pm 0,05	91,4 \pm 0,17	47,32 \pm 0,04
Laboratório	94,8 \pm 0,02	57,4 \pm 0,05	71,2 \pm 0,04	43,38 \pm 0,04

das diferentes fases de desenvolvimento (Tabela 4), sendo a menor registrada na larval. A menor sobrevivência na fase larval também foi observada em *C. vittatus* por Urbaneja *et al.* (2002) (77,8%) em comparação com a de ovo (92,1%) e a pupal (84,7%). Considerando o ciclo de ovo a adulto, esses autores registraram a sobrevivência de 60,3%, superior à verificada no presente estudo (Tabela 4). Urbaneja *et al.* (1999) registraram para *C. próx. lyncus* sobrevivência semelhante para a fase de ovo (93,9%), em relação às duas espécies anteriores, e superior nas fases larval (93,6%), pupal (100%) e total (87,9%).

As diferenças registradas entre o presente estudo e os de Urbaneja *et al.* (1999) e Urbaneja *et al.* (2002) podem estar associadas, entre outras causas, ao fato de o hospedeiro (*P. citrella*) ter sido criado em *C. limonia*, que apresenta folhas menores do que *C. aurantium*, laranjeira-azedada, substrato sobre o qual foram criados os hospedeiros oferecidos para *C. próx. lyncus* e *C. vittatus*. Além de espécies distintas de plantas hospedeiras, os autores utilizaram mudas de um ano de idade, com altura de 50 a 60 cm, acondicionadas em vasos. No presente estudo, as mudas tinham em torno de meio ano de idade, cerca de 25 cm de altura e estavam em tubetes. Esses fatores podem ter influenciado o tamanho dos brotos oferecidos para o minador-dos-citros, visto que mudas maiores apresentam brotação mais vigorosa e, conseqüentemente, folhas de maior tamanho, podendo propiciar maior abundância de recursos para o desenvolvimento da praga (Heppner 1993). Segundo Godfray (1994) e Parra *et al.* (2002), a maior quantidade de recursos oferecidos pelas plantas onde os hospedeiros se desenvolvem, pode resultar em menor mortalidade das fases imaturas dos parasitóides.

Comparando-se a sobrevivência da prole gerada entre as duas gerações, constataram-se valores sempre superiores para a de campo, tanto em hospedeiros superparasitados (47,2 \pm 6,73%, campo e 28,2 \pm 6,80% laboratório; $P = 0,0001$) quanto naqueles com parasitismo simples (50,6 \pm 4,15%, campo e 34,0 \pm 4,94%, laboratório; $P = 0,0192$) (Tabela 5).

A sobrevivência não diferiu para as proles de ambas as gerações de *C. neotropicus*, em condições supostamente adversas como a de hospedeiros superparasitados ou com picadas alimentícias que têm seus recursos reduzidos (Tabela 5).

Longevidade, progênie dependente da idade e razão sexual.

A longevidade média das fêmeas acasaladas de *C. neotropicus*

Tabela 5. Sobrevivência média (%) (\pm EP) do desenvolvimento total das proles das fêmeas de *C. neotropicus* da geração de campo e da de laboratório desenvolvidas em diferentes condições de *P. citrella* ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase 12h).

Condição do hospedeiro	Sobrevivência total (%) da prole	
	Campo	Laboratório
Superparasitado	47,1 \pm 6,73 a	28,2 \pm 6,80 b
Parasitado simples	50,5 \pm 5,15 a	34,0 \pm 4,94 b
Com picada	42,0 \pm 6,26 a	35,6 \pm 4,15 a
Sem picada	51,7 \pm 6,76 a	47,5 \pm 5,84 a

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

da geração de laboratório diferiu significativamente ($F = 4,19$; gl trat. = 1; gl erro = 43; $P = 0,04$) da constatada para as provindas do campo, sendo estas últimas, em média, mais longevas (Tabela 6). Entre as fêmeas não acasaladas de ambas as gerações, a longevidade média não diferiu ($F = 2,81$; gl trat. = 1; gl erro = 59; $P = 0,095$).

Não foi possível a comparação da longevidade entre os machos acasalados e não acasalados da geração de laboratório, pelo fato de os indivíduos acasalados terem sido mantidos, por cinco dias, em maior densidade (cinco machos para uma fêmea), enquanto que os outros permaneceram, durante toda fase adulta, isolados.

De modo geral no presente estudo, os indivíduos acasalados de ambas as gerações apresentaram longevidade média superior à dos não acasalados (Tabela 6). Especialmente para as fêmeas, a presença do hospedeiro por todo o período de vida, excetuando-se os cinco primeiros dias, pode ter contribuído para a maior longevidade, uma vez que o hospedeiro constitui importante fonte de nutrientes. Da mesma forma, Ridgway & Mahr (1990) constataram longevidade média maior nas fêmeas de *Sympiesis marylandensis* Girault (Hymenoptera: Eulophidae) acasaladas e mantidas com o hospedeiro, do que nas não acasaladas mantidas apenas com uma fonte de carboidrato.

Registrou-se correlação negativa significativa (Fig. 1 A) ($r = -0,9121$; $P < 0,001$) no número médio da progênie gerada a cada 48h, em relação ao aumento na idade das fêmeas da geração de campo. Isso ocorreu tanto para a progênie feminina ($r = -0,877$; $P = 0,0019$), quanto para a masculina ($r = -0,878$; $P = 0,0001$). Para as fêmeas da geração de laboratório, no total e para ambos os sexos, a correlação não foi significativa, (Fig. 1 B). Ridgway & Mahr (1990) relataram que, à medida que as fêmeas de *S. marylandensis* envelheciam, havia uma diminuição na geração de descendentes, corroborando os resultados do presente trabalho.

Considerando a longevidade média de 21,8 dias para fêmeas provenientes da geração de campo, 93% da progênie feminina e 63% da masculina, foi originada até a primeira metade da vida destas, o que corresponde a 65,4% do total. Ridgway & Mahr (1990) também observaram que 90% da progênie do sexo feminino foi gerada até o primeiro terço da vida e nenhuma fêmea após a metade da vida. Clausen (1940) relatou que esse é um comportamento bastante comum, visto que fêmeas jovens de himenópteros parasitóides possuem maior vigor e procuram gerar descendentes fêmeas no início da vida. Em relação às fêmeas da geração de laboratório, cuja

longevidade média foi de 16,8 dias, também se registrou maior percentual de fêmeas (23,4%) comparado ao de machos (19,3%), entretanto, na primeira metade da vida, estas geraram somente 29,4% da prole.

Foi detectada partenogênese arrenótoca em fêmeas de *C. neotropicus* de ambas as gerações, as quais, mesmo tendo entrado em contato com machos, deram origem somente a indivíduos do sexo masculino (Fig. 1). A partenogênese arrenótoca já foi referida para diversos eulofídeos parasitóides de *P. citrella*, como *C. vittatus*, *C. próx. lyncus*, *C. pictus*, *C. diallus* e *R. incompleta*, e pode ser decorrente de fatores tais como, pequeno tamanho e/ou disponibilidade limitada de hospedeiros, ambiente confinado ou condições ambientais adversas (Lo Pinto 1997, Urbaneja 2000, Urbaneja et al. 2002, Lo Pinto et al. 2005).

A razão sexual da progênie de dez fêmeas de *C. neotropicus* da geração de laboratório e de cinco da de campo que geraram indivíduos de ambos os sexos, foi respectivamente, 0,48 e 0,40. Esses valores podem representar a razão sexual biológica da espécie. Urbaneja et al. (1998) registraram proporção entre os sexos, de cerca de 1:1 para *C. próx. lyncus* e *Quadrastichus* sp., considerando para o cálculo somente as fêmeas que geraram ambos os sexos. Os autores observaram ainda, que a razão sexual de ambas as espécies variou entre 0,4 e 0,6.

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

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

No ambiente natural, fêmeas de parasitóides podem não ser fecundadas, ou apresentar partenogênese arrenótoca por alguma restrição do meio. Logo, a razão sexual da população pode sofrer um desvio, causado pela prole das fêmeas partenogenéticas. Assim, levando-se em conta a população

Tabela 6. Longevidade média (dias) (\pm EP) de machos e fêmeas de *C. neotropicus* das gerações de campo e de laboratório acasalados e não acasalados ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase 12h).

Sexo	Condição	Campo		Laboratório	
		n	Longevidade	n	Longevidade
Macho	Acasalado	-	-	15	33,4 \pm 4,17
	Não acasalado	12	17,9 \pm 6,61	36	11,2 \pm 1,67
Fêmea	Acasalada	23	21,8 \pm 1,88 A	22	16,8 \pm 1,56 B
	Não acasalada	10	9,1 \pm 2,01	49	14,2 \pm 1,28

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

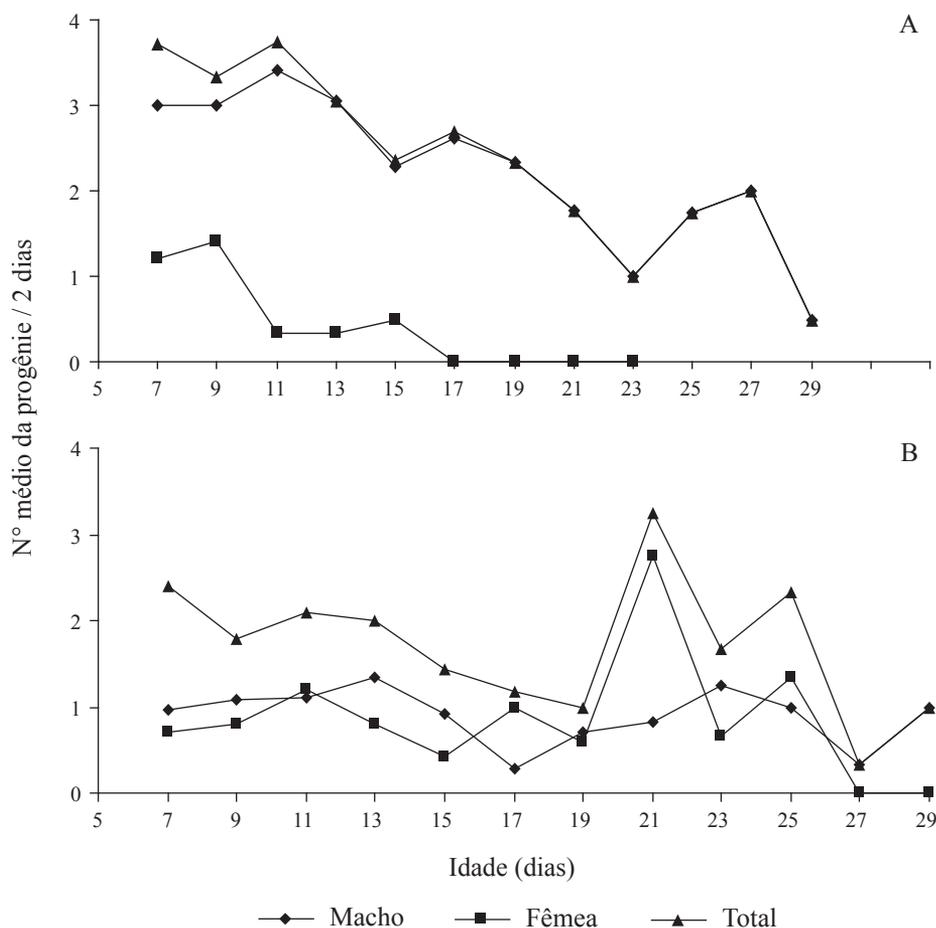


Fig. 1. Número médio da progênie gerada a cada dois dias por fêmeas de *C. neotropicus* da geração de campo (n = 23) (A); e da de laboratório (n = 22) (B) em relação à idade destas ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase 12h).

como um todo, a razão sexual foi de 0,33 para fêmeas de laboratório e de 0,08 para as de campo. Foi encontrada diferença significativa entre a proporção sexual da prole das fêmeas da geração de campo ($\chi^2 = 15,5$; gl=1; $P < 0,001$) e de laboratório ($\chi^2 = 8,52$; gl=1; $P < 0,01$). É possível que as fêmeas provindas do campo, ao emergirem tendo encontrado condições diferentes daquelas nas quais se desenvolveram, tenham sofrido um impacto, acentuando o comportamento partenogenético.

Segundo Godfray (1994), em parasitóides que apresentam partenogênese arrenótoca, é normal que a proporção entre os

sexos flutue devido a diferentes fatores bióticos e abióticos que influenciam o comportamento da fêmea no momento da postura.

Fecundidade, taxas de oviposição e picadas alimentícias de fêmeas. A fecundidade média registrada para fêmeas da geração de campo ($49,5 \pm 7,91$ ovos/fêmeas) diferiu significativamente ($F = 6,31$; gl=1; $P = 0,015$) da constatada para as fêmeas de laboratório ($32,7 \pm 8,67$ ovos/fêmea) (Tabela 7). Para *C. vittatus*, Urbaneja *et al.* (2002) verificaram a fecundidade média de 39,17 ovos/ fêmea.

Tabela 7. Valores médios (\pm EP), máximos e mínimos de fecundidade, taxa de oviposição (ovos/dia) e taxa de picadas alimentícias (lagartas picadas/dia) registrados para as fêmeas de *C. neotropicus* de gerações provindas do campo e de laboratório, ambas tendo como hospedeiro *P. citrella* ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase 12h).

	Campo			Laboratório		
	Média \pm EP	Máximo	Mínimo	Média \pm EP	Máximo	Mínimo
Fecundidade	$49,5 \pm 7,91$ a	138	11	$32,7 \pm 8,67$ b	69	1
Taxa de oviposição	$2,8 \pm 0,28$ a	16	0	$1,63 \pm 0,16$ b	13	0
Taxa de picadas alimentícias	$1,7 \pm 0,17$ a	10	0	$0,87 \pm 0,17$ b	9	0

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

Em relação às taxas diárias de oviposição, tanto em *C. próx. lyncus* ($5,2 \pm 1,4$ ovos/dia) quanto em *C. vittatus* ($4,71$ ovos/dia), os valores registrados respectivamente por Urbaneja (2000) e Urbaneja et al. (2002), foram superiores aos de *C. neotropicus* que diferiram significativamente entre as gerações ($H = 17$; $gl = 1$; $P < 0,05$) (Tabela 7).

Analisando o número médio de picadas alimentícias (lagartas picadas/dia), o valor registrado entre ambas as gerações de fêmeas de *C. neotropicus* diferiu significativamente ($H = 7,04$; $gl = 1$; $P = 0,008$) (Tabela 7). Esses valores foram superiores tanto ao de *C. próx. lyncus* ($0,5 \pm 0,1$ lagartas picadas/dia) quanto ao de *C. vittatus* ($0,31$ lagartas/dia), observados, respectivamente, por Urbaneja (2000) e Urbaneja et al. (2002).

Os resultados obtidos confirmam o melhor desempenho das fêmeas provindas do campo, sendo, entretanto, difícil determinar os fatores limitantes para as fêmeas oriundas do laboratório. Além disso, as diferenças entre os resultados do presente estudo e o de outras espécies de *Cirrospilus* podem ser decorrentes de características intrínsecas de cada espécie ou das condições distintas nas quais os indivíduos foram criados.

Os parâmetros biológicos estudados sugerem que *C. neotropicus*, de ocorrência natural na região produtora de citros no Rio Grande do Sul, tem potencial como agente de controle biológico de *P. citrella*. Além disso, apresenta sincronia sazonal com o hospedeiro, especialmente em condições de campo (Jesus 2006), o que sugere a importância de técnicas de manejo que estimulem o crescimento populacional e a permanência destes nas áreas cultivadas.

Agradecimentos

À CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro e concessão de bolsa aos dois primeiros autores.

Referências

- Bautista-Martinez, N., J.L. Carrillo-S., H. Bravo-M., J. Romero-N. & S. Pineda-G. 1996. Native parasitoids of the citrus leaf miner found at Cuitlahuac, Veracruz, México, p. 73. In M.A. Hoy, (ed.), Managing the citrus leafminer. Gainesville, University of Florida, 73p.
- Bazzocchi, G.G., A. Lanzoni, G. Burgio & M.R. Fiacconi. 2003. Effects of temperature and host on the pre-imaginal development of the parasitoid *Diglyphus isaea* (Hymenoptera: Eulophidae). Biol. Control. 26: 74-82.
- Chagas, M.C. & J.R.P. Parra. 2000. *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae): Técnica de criação e biologia em diferentes temperaturas. An. Soc. Entomol. Brasil 29: 227-235.
- Chagas, M.C., J.R.P. Parra, T. Namekata, J.S. Hartung & P.T. Yamamoto. 2001. *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) and its relationship with the citrus canker bacterium *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* in Brazil. Neotrop. Entomol. 30: 55-59.
- Clausen, P.C. 1940. Entomophagous insects. New York, Mc. Graw-Hill, 688p.
- Diez, P.A. & P. Fidalgo. 2003. *Cirrospilus neotropicus* (Hymenoptera: Eulophidae): An indigenous biocontrol agent of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Entomol. News 114: 98-104.
- Efrom, C.F.S., L.R. Redaelli & L.M.G. Diefenbach. 2006. Variação populacional de *Phyllocnistis citrella* e parasitismo em variedades de citros, sob manejo orgânico. Manejo Integr. Plagas Agroecol. 78: 46-55.
- Garcia, M.A. 1991. Ecologia nutricional de parasitóides e predadores terrestres, p.289-312. In A. R. Panizzi & J. R. P. Parra (eds), Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas. Manole, São Paulo, 359p.
- Godfray, H.C.J. 1994. Parasitoids, behavioral and evolutionary ecology. Princeton, Princeton University Press, 473p.
- Heppner, J.B. 1993. Citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, in Florida (Lepidoptera: Gracillariidae: Phyllocnistinae). Trop. Lepid. 4: 49-64.
- Jahnke, S.M., L.R. Redaelli & L.M.G. Diefenbach. 2005. *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera, Gracillariidae) and its parasitoids in two citrus orchards in Montenegro, RS, Brazil. Iheringia Ser. Zool. 95: 359-363.
- LaSalle, J. & I.D. Gauld. 1991. Gauld Parasitic Hymenoptera and the biodiversity crisis. Redia 74: 315-334.
- Lim, U.T. & A.M. Hoy. 2005. Biological assessment in quarantine of *Senielacher petiolatus* (Hymenoptera: Eulophidae) as a potential classical biological control agent of citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) in Florida. Biol. Control. 33: 87-95.
- Lo Pinto, M. 1997. Parasitismo e biologia di *Ratzeburgiola incompleta* Boucek (Hymenoptera: Eulophidae: Eulophinae) ectoparasitoide di *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae: Phyllocnistinae). Frustula Entomol. 20: 184-192.
- Lo Pinto, M., G. Salermo & E. Wajnberg. 2005. Biology and behavior of *Cirrospilus diallus* and *Cirrospilus pictus*, parasitoids of *Phyllocnistis citrella*. BioControl (Dordr.). 50: 921-935.
- Parra, A.L.G.C., E.F. Vilela & J.M.S. Bento. 2002. Horário de oviposição e ritmo diário de emergência de *Phyllocnistis citrella* (Stainton) (Lepidoptera: Gracillariidae) em laboratório. Neotrop. Entomol. 32: 365-368.
- Perales-Gutiérrez, M.A., H.C. Arredondo-Bernal & E. Garza-González. 1996. Native parasitoids of citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Staiton in Colima, Mexico. Southwestern Entomol. 21: 349-350.
- Ridgway, N.M. & D. Mahr. 1990. Reproduction, development, longevity, and host mortality of *Sympiensis marylandensis* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of spotted tentiform leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae), in laboratory. Ann. Entomol. Soc. Am. 83: 195-199.

- Schauff, M.E., J. LaSalle & G. A. Wijesekara. 1998. The genera of Chalcid parasitoids (Hymenoptera: Chalcidoidea) of citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). J. Nat. Hist. 32: 1001-1056.
- Silveira Neto, S., O. Nakano, D. Bardin & N.A. Villa Nova. 1976. Manual de ecologia dos insetos. Piracicaba, Agronômica Ceres, 419p.
- Urbaneja, A.G. 2000. Biología de *Cirrospilus* sp. próximo a *lyncus* (Hym.: Eulophidae), ectoparasitóide del minador de las hojas de los cítricos, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lep.: Gracillariidae). Dinâmica e impacto de los enemigos naturales del minador. Tese de doutorado. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, 146p.
- Urbaneja, A., E. Llácer, Ó. Tomás, A. Garrido & J. Jacas. 1999. Effect of temperature on development and survival of *Cirrospilus* sp. near *lyncus* (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoid of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Biol. Control 28: 339-344.
- Urbaneja, A., E. Llácer, R. Hinarejos, J. Jacas & A. Garrido. 1998. Sistema de cría del minador de las hojas de los cítricos, *Phyllocnistis citrella* Stainton y sus parasitoides *Cirrospilus* próximo a *lyncus* y *Quadrastichus* sp. Bol. San. Veg. Plagas 13: 409-423.
- Urbaneja, A., R. Hinarejos, O. Tomás, E. Llácer, A. Garrido & J. Jacas. 2002. Effect of temperature on life history of *Cirrospilus vittatus* (Hymenoptera: Eulophidae), an ectoparasitoid of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). J. Econ. Entomol. 95: 250-255.
- Viggiani, G. 1964. Contributi alla *conoscenza* degli insetti fitofagi minatori e loro simbionti – IV. Morfo-biología del *Pediobius saulius* Walk. (Hym. Eulophidae) e considerazioni sulle altre specie congeneri europee. Boll. Lab. Entomol. Agrar. Filippo Silvestri. 22: 205-244.

Received 23/VII/07. Accepted 28/II/08.
