

Viabilidade de ovos de *Nezara viridula* (L.) armazenados a baixas temperaturas para o parasitismo por *Trissolcus basalis* (Woll.)

Fernando Alves de Albuquerque^{1*}, Susana de Sousa Lobo Lima², André Vinicius Zabini¹, Fernando Cesar Pattaro¹ e Luciana Maestro Borges¹

¹Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá-Paraná, Brazil.

²Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá-Paraná, Brazil.

*Author for correspondence.

RESUMO. Neste trabalho procurou-se comparar quatro técnicas de armazenamento de ovos do percevejo-verde, *Nezara viridula*, visando um melhor aproveitamento das posturas para posterior parasitismo por *Trissolcus basalis*. O experimento foi conduzido no Laboratório de Entomologia do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Maringá, tendo sido utilizadas oito massas de 60 ovos de *Nezara viridula*, armazenados segundo quatro técnicas: técnica I - conservação em geladeira a -2°C; técnica II - conservação em congelador a -10°C; técnica III - conservação em freezer a -18°C; técnica IV - conservação em nitrogênio líquido a -196°C. Após o armazenamento, os ovos foram submetidos ao parasitismo de três fêmeas de *T. basalis* com dois dias de vida, por 24 horas. As massas de ovos foram então mantidas em câmara climatizada até total emergência e morte das vespas, registrando-se a taxa de emergência e a razão sexual. Os resultados obtidos mostraram que tanto a razão sexual quanto a taxa de emergência são maiores quanto menor a temperatura de armazenamento, e que a conservação a -2°C e a -10°C não permite grandes períodos de armazenamento.

Palavras chave: *Nezara viridula*, *Trissolcus basalis*, parasitóide, controle biológico.

ABSTRACT. Viability of *Nezara viridula* (L.) eggs stored at low temperatures for parasitism by *Trissolcus basalis* (Woll.). Four storage techniques of eggs of green stink bug, *Nezara viridula*, are compared. Research work aims at utilizing egg-laying for posterior parasitism by *Trissolcus basalis*. Experiment was performed at the Entomology Laboratory of the Agronomy Department at the State University of Maringá, Maringá PR Brazil. Eight batches of 60 eggs of *Nezara viridula*, stored according to four techniques, were employed: Technique I: conservation in fridge at 2°C; Technique II: conservation in refrigeration section of fridge at -10°C; Technique III: conservation in freezer at -18°C; Technique IV: conservation in liquid nitrogen at -196°C. After storage, eggs underwent parasitism by three 2-day-old females of *T. basalis* for 24 hours. Egg batches were kept in climatized chamber till total emergence and death of wasps. Emergence rate and sexual ratio were recorded. Results showed that high sexual ratio and emergence tax are proportionate to low storage temperature. Conservation at -2° C and -10° C do not allow extensive storage periods.

Key words: biological control, *Nezara viridula*, parasitoid, *Trissolcus basalis*.

Várias espécies de percevejos da família Pentatomidae são pragas causadoras de grandes prejuízos na cultura da soja, *Glycine max* (L.) Merrill, sendo que *Nezara viridula* (L. 1798), *Piezodorus guildinii* (West., 1837) e *Euschistus heros* (Fabr., 1798) são as mais importantes (Villas Boas *et al.*, 1985; Corrêa-Ferreira, 1993). Por se alimentarem diretamente dos grãos, causam perdas de

rendimento e qualidade das sementes (Gallo *et al.*, 1988).

No Brasil, *N. viridula* ocorre desde o norte até o sul, destacando-se como espécie predominante entre os percevejos que atacam a soja nos Estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Panizzi *et al.*, 1977). Dentre os vários microiménópteros que parasitam ovos de percevejo, *Trissolcus basalis* (Woll., 1858) é a espécie mais importante e amplamente

distribuída, sendo uma pequena vespa preta com 1 a 1,3mm de comprimento que se desenvolve de ovo a adulto em ovos de percevejos, preferencialmente em ovos de *N. viridula* (Corrêa-Ferreira, 1980; Corrêa-Ferreira et al., 1983).

Noble (1937) descreveu os estádios de ovo, larva, pré-pupa e pupa de *T. basalis* com durações médias de 20 a 22 horas, 4,5 a 5 dias, 2 e 6 dias respectivamente.

O monocultivo de soja em larga escala causa impactos na biologia de pragas e inimigos naturais, reduzindo a capacidade de regulação e equilíbrio nas relações entre hospedeiros e parasitóides. Com isto, torna-se necessária a manipulação de *T. basalis* para, através de aumentos sistemáticos, reduzir as populações de percevejos. Através de criações deste parasitóide em laboratório e posterior liberação a campo, pode-se retardar ou diminuir o pico populacional dos percevejos, mantendo-os sob controle durante o período crítico de ataque destes insetos à cultura da soja (Corrêa-Ferreira, 1993).

Nos programas atuais de controle biológico de percevejos por parasitóides, são feitas liberações massais no campo de grande número de parasitóides em estágio de pupa, o que torna de fundamental importância a preservação de ovos de hospedeiros para possibilitar um melhor aproveitamento destes para posterior parasitismo (Corrêa-Ferreira, 1987).

Sob condições naturais, a população de *T. basalis* apresenta predominância numérica de fêmeas, ocorrendo relação de 1 macho para cada 5,5 fêmeas. Vários autores estudaram o efeito de diferentes temperaturas no índice de parasitismo e na taxa de emergência de *T. basalis*. Powell e Shepard (1982) não encontraram diferenças na emergência quando *T. basalis* parasitou ovos frescos (com menos de dois dias) ou congelados (estocados a -75°C por 30 dias). Foerster e Ghezzi (1988) verificaram que a taxa de parasitismo foi menor (77%) na temperatura de 22°C, quando comparada aos níveis de 97,6 a 98% obtidos em condições entre 25°C e 28°C, com 90,9 e 87,6%, respectivamente.

A maioria dos trabalhos referentes à conservação de ovos em temperaturas variáveis de 6°C a 10°C constataram alto índice de viabilidade em ovos estocados por um período máximo de 60 dias (Kamal, 1937; Noble, 1937). Corrêa-Ferreira (1991), numa comparação de técnicas de armazenamento, obteve uma percentagem de emergência de adultos da ordem de 39,79% e 44,22% para ovos estocados a -15°C por períodos de 120 e 150 dias, respectivamente. Trabalhos recentes, feitos com estocagem de ovos de *N. viridula* em temperaturas baixíssimas (nitrogênio líquido a -196 °C),

mostraram que esses conservam percentagens de emergência semelhantes aos de ovos frescos por até um ano de estocagem (Corrêa-Ferreira e Oliveira, 1998).

Como os dados sobre armazenamento de ovos de *N. viridula* com técnicas acessíveis e de baixo custo são escassos, procurou-se avaliar neste trabalho, técnicas que permitam um tempo maior de conservação e, com isso, um melhor aproveitamento da produção de ovos na multiplicação de *T. basalis*. Foram avaliadas a taxa de emergência e a razão sexual do parasitóide.

Material e métodos

Foram analisadas, sob condições de laboratório, quatro técnicas de armazenamento de ovos de *N. viridula* com o objetivo de avaliar a viabilidade destes para o parasitismo por *T. basalis* após 60, 90, 120 e 150 dias de estocagem.

Os ovos foram obtidos de uma colônia de *N. viridula* estabelecida a partir de insetos adultos coletados em campo e posteriormente transferidos para gaiolas de criação, que apresentavam dimensões de 50x50x70cm., e eram mantidas em câmara climatizada, sob condições de 25 ± 2°C de temperatura, 60 ± 10% de umidade relativa e 14 horas de fotofase. No interior de cada gaiola foi colocado um vaso com plantas de soja, que se encontravam na fase vegetativa e que serviam de substrato para oviposição. Os insetos foram alimentados com sementes secas de soja e amendoim coladas em tiras de papel e ramos de legustre, segundo a metodologia descrita por Corrêa-Ferreira (1985).

Os ovos de percevejo foram coletados diariamente, embalados em papel alumínio e armazenados segundo as seguintes técnicas:

Técnica I - armazenamento em placas de Petri, a -2°C, na geladeira;

Técnica II - armazenamento em placas de Petri, a -10°C, em congelador;

Técnica III - armazenamento em placas de Petri, a -18°C, em freezer;

Técnica IV - armazenamento em canecas mergulhadas em nitrogênio líquido, a -196°C.

A partir de 60 dias de armazenamento e a cada 30 dias, 8 massas de 60 ovos, armazenados sob as diferentes técnicas, foram descongeladas por uma hora e meia e expostas ao parasitismo por *T. basalis*.

A criação dos parasitóides foi feita nas mesmas condições de temperatura, umidade e fotofase que os percevejos, em tubos de plástico com 20cm de comprimento e 5cm de diâmetro, vedados numa

extremidade com tela fina e na outra com um chumaço de algodão. As vespas foram alimentadas com mel colocado em finas camadas na porção interna e superior do tubo, segundo Corrêa-Ferreira e Oliveira (1982).

O parasitismo dos ovos foi realizado em tubos plásticos com dimensões de 8,0 x 2,5cm, utilizando-se fêmeas com dois dias de vida, acasaladas e alimentadas com mel.

Cada massa de ovos foi exposta a três fêmeas, por um período de 24 horas. Em seguida, as massas de ovos parasitadas foram transferidas para placas de Petri forradas interior e inferiormente com papel filtro, contendo um pequeno chumaço de algodão umedecido com água para manutenção da umidade.

As placas de Petri foram mantidas em câmara climatizada nas mesmas condições de temperatura, umidade e fotofase utilizadas na criação dos percevejos, até total emergência e morte dos parasitóides, quando se procedeu ao registro da percentagem de emergência e da razão sexual.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e oito repetições. O teste de comparações múltiplas aplicado foi o teste t de Student, nos níveis de 1% e 5% de probabilidade.

Resultados e discussão

A viabilidade dos ovos de *N. Viridula* armazenados a -2°C, -10°C, -18°C e -196°C, para o parasitismo por *T. basalis*, foi expressa em taxa de emergência de adultos e razão sexual (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Taxa de emergência de *Trissolcus basalis* em ovos de *Nezara viridula* submetidos a diferentes técnicas e períodos de armazenamento. Maringá, 1998

Tempo de armazenamento (dias)	Taxa média de emergência ⁽¹⁾ / técnica de armazenamento			
	I	II	III	IV
60	0,38 (0,63%)	1,25 (2,08%)	50,00 (83,33%)	46,00 (76,66%)
90	0,00 (0,00%)	0,00 (0,00%)	17,00 (28,33%)	40,13 (66,88%)
120	0,00 (0,00%)	0,00 (0,00%)	13,38 (22,30%)	55,00 (91,66%)
150	0,00 (0,00%)	0,00 (0,00%)	12,88 (21,46%)	52,38 (87,30%)

Técnica I - Armazenamento em placa de Petri, a -2°C, na geladeira; Técnica II - Armazenamento em Placas de Petri, a -10°C, em congelador; Técnica III - Armazenamento em placa de Petri, a -18°C, em freezer; Técnica IV - Armazenamento em canecas, mergulhadas em Nitrogênio líquido, a -196°C; (1) Massa com 60 ovos

Pela análise dos resultados, pode-se observar que as técnicas I e II de armazenamento mostraram-se inviáveis após 90 dias de estocagem, apresentando taxas de emergência iguais a zero, ao passo que ovos armazenados segundo as técnicas III e IV mostraram-se viáveis para o parasitismo por *T.*

basalis, tanto em relação a taxa de emergência quanto em relação à razão sexual.

Tabela 2. Razão sexual de *Trissolcus basalis* emergidos de ovos de *Nezara viridula* submetidos a diferentes técnicas e períodos de armazenamento. Maringá, 1998

Tempo de armazenamento (dias)	Razão sexual média / técnica de armazenamento			
	I	II	III	IV
60	0,19	0,50	0,65	0,69
90	0,00	0,00	0,67	0,78
120	0,00	0,00	0,58	0,53
150	0,00	0,00	0,55	0,59

Técnica I - Armazenamento em placa de Petri, a -2°C, na geladeira; Técnica II - Armazenamento em Placas de Petri, a -10°C, em congelador; Técnica III - Armazenamento em placa de Petri, a -18°C, em freezer; Técnica IV - Armazenamento em canecas, mergulhadas em Nitrogênio líquido, a -196°C

Uma vez que as técnicas I e II mostraram-se inviáveis, a análise estatística foi realizada somente com os dados referentes às técnicas III e IV (Tabelas 3 e 4). Observou-se que ovos armazenados segundo a técnica III apresentaram uma menor taxa de emergência do parasitóide na medida em que foi aumentado o tempo de estocagem, provavelmente devido à dessecação progressiva dos ovos do hospedeiro, fato também constatado por Lund (1934).

Tabela 3. Comparação através do teste t das taxas de emergência de adultos de *Trissolcus basalis* em ovos de *Nezara viridula* armazenados segundo as técnicas de armazenamento III e IV. Maringá, 1998

Técnicas de armazenamento	Tempo de armazenamento			
	60	90	120	150
III-Freezer, a -18°C	50,00 ± 4,75	17,00 ± 15,44	13,38 ± 10,11	12,88 ± 11,73
IV-Nitrogênio líquido, a -196°C	46,00 ± 15,25	40,13 ± 12,18	55,00 ± 3,58	52,38 ± 5,09
T	0,71 ^{NS}	-3,33*	-10,97**	-8,75**
P	0,49	0,05	0,00	0,00

NS - Não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste t; * - Significativo, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste t; ** - Significativo, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste t

Tabela 4. Comparação através do teste t das razões sexuais de *Trissolcus basalis* emergidos de ovos de *Nezara viridula* armazenados segundo as técnicas de armazenamento III e IV. Maringá, 1998

Técnicas de armazenamento	Tempo de armazenamento			
	60	90	120	150
III-Freezer, a -18°C	0,65 ± 0,12	0,67 ± 0,17	0,58 ± 0,341	0,55 ± 0,33
IV-Nitrogênio líquido, a -196°C	0,69 ± 0,23	0,78 ± 0,13	0,53 ± 0,17	0,59 ± 0,22
t	1 ^{NS}	-1,36 ^{NS}	0,35 ^{NS}	-0,29 ^{NS}
p	0,34	0,20	0,73	0,78

NS - Não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste t

No caso dos ovos estocados segundo a técnica IV, não foi observado decréscimo na taxa de emergência do parasitóide com o aumento do tempo de

estocagem, resultado que confirma as observações de Corrêa-Ferreira e Oliveira (1998).

Tabela 5. Comparação através do teste t das porcentagens de emergência de adultos de *Trissolcus basalis*, transformadas em arcseno de raiz quadrada de x (porcentagem de emergência). Maringá, 1998

Técnicas de armazenamento	Tempo de armazenamento			
	60	90	120	150
III-Freezer, a -18°C	66,65 7,03	30,31 17,26	26,42 15,57	24,15 16,43
IV-Nitrogênio líquido, a -196°C	62,59 16,74	55,33 15,53	74,17 6,36	70,11 7,48
t	0,63 ^{NS}	-3,32*	-9,58*	-7,20*
p	0,54	0,005	0,00	0,000005

NS - Não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste t; * - significativo, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste t

Comparando-se as técnicas III e IV (Tabela 3), tendo-se em conta as taxas de emergência, observou-se que elas não apresentaram diferenças significativas aos 60 dias de armazenamento. No entanto, após 60 dias de armazenamento, as diferenças foram significativas, sendo que a taxa de emergência observada nos ovos estocados segundo a técnica III apresentou uma queda brusca dos 60 para os 90 dias de armazenamento, e a partir daí, um decréscimo menos intenso. Por outro lado, a taxa de emergência dos ovos estocados segundo a técnica IV apresentou-se alta e razoavelmente constante durante os períodos testados.

Com relação à razão sexual (Tabela 4), a mesma tendeu a um ligeiro decréscimo ao longo do tempo, porém não houve diferenças significativas entre as técnicas III e IV durante os períodos testados, embora a técnica IV tenha apresentado valores maiores em relação à técnica III.

Pelos dados obtidos neste ensaio pode-se concluir que ovos de *N. viridula* armazenados a -2°C e -10°C mostraram-se inviáveis para o parasitismo por *T. basalis* quando submetidos a períodos de estocagem iguais ou superiores a 60 dias, ao passo que o armazenamento a -18°C e -196°C mostrou-se viável em todos os períodos de armazenamento.

Comparando-se as quatro técnicas, verificou-se que a técnica IV mostrou-se superior às demais tanto em relação à taxa de emergência quanto à razão sexual, tornando esta técnica altamente viável para o armazenamento de ovos de *N. viridula* por longo período de tempo (150 dias) para posterior parasitismo por *T. basalis*.

Referências bibliográficas

Corrêa-Ferreira, B.S. Ocorrência no Brasil, de *Trissolcus basalis* parasita de ovos de *Nezara viridula*. *Pesq. Agropec. Bras.*, 15(1):127-128, 1980.

Corrêa-Ferreira, B.S. Criação massal do percevejo verde *N. viridula* (L.). Londrina, Embrapa CNPSo, 1985. 16p. (Embrapa - CNPSo. Documentos, 11).

Corrêa-Ferreira, B.S. Efeito da liberação do parasitóide *Trissolcus basalis* (Wollaston) na população de percevejos da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 11, 1987, Campinas. *Resumos...* SEB, 1987. p.230.

Corrêa-Ferreira, B.S. *Parasitóides de ovos de percevejos: incidência natural, biologia e efeito sobre a população de percevejos de soja*. Curitiba, 1991. (Doctoral Thesis in Entomology) - Universidade Federal do Paraná.

Corrêa-Ferreira, B.S. Utilização do parasitóide de ovos *Trissolcus basalis* (Wollaston) no controle de percevejos da soja. Londrina, Embrapa CNPSo, 1993. 40p. (Embrapa-CNPSo. Circular Técnica, 11).

Corrêa-Ferreira, B.S.; Oliveira, E.B. de. Utilização de parasitos no controle de percevejos. In: Embrapa-CNPSo. *Resultados de pesquisa de soja 1981/82*. Londrina, 1982. p.286-290.

Corrêa-Ferreira, B.S.; Oliveira, M.C.N. Viability of *Nezara viridula* (L.) eggs for parasitism by *Trissolcus basalis* (Woll.), under different storage techniques in liquid Nitrogen. *An. Soc. Entomol. Bras.* 27(1):101-107, 1998.

Corrêa-Ferreira, B.S.; Oliveira, E.B.; Kanayama, L. Levantamento de parasitos de ovos de percevejos. In: Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina, PR). *Resultados de pesquisa de soja 1982-83*. Londrina, 1983. p.263-264.

Corrêa-Ferreira, B.S.; Zamataro, C.E.O. Ciclo da vida e comportamento de oviposição do parasitóide de ovos *Trissolcus mitsukurii*. In: Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Soja, Londrina PR. *Resultados de pesquisa de soja 1985/86*. Londrina, 1987. p.130-132 (Embrapa-CNPSo. Documentos, 20).

Foerster, L.A.; Ghezzi, J.T. Efeito da temperatura no desenvolvimento e emergência de *Trissolcus basalis* (Wollaston) (Hymenoptera: Scelionidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 15, 1988. Curitiba. *Resumos...* Curitiba: UFPR, 1988. p.193.

Gallo, D.; Nakano, O.; Silveira Neto, S.; Carvalho, R.P.L.; Batista, G.C.; Berti Filho, E.; Parra, J.R.P.; Zucchi, R.A.; Alves, S.B. *Manual de Entomologia Agrícola*. 2.ed., São Paulo: Ceres, 1988.

Kamal, M. The cotton green bug *Nezara viridula* (L.) and its important egg-parasites, *Microphamurus megacephalus* (Ashmead). *Bull. Soc. Entomol. Egypte.*, 21:175-207, 1937.

Lund, H.O. Some temperature and humidity relations of two races of *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera: Calcididae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 27:324-340, 1934.

Noble, N. S. An egg parasite of the green vegetable bug. *Agr. Gaz.* 48:337-341, 1937.

Panizzi, A.R.; Corrêa, B.S.; Gazzoni, D.L.; Oliveira, E.B. de; Newman, G.G.; Turnipseed S.G. *Insetos da soja no*

- Brasil*. Londrina, Embrapa-CNPSO, 1977. 20p. (Embrapa-CNPSO. Boletim Técnico, 1).
- Powell, J. E.; Shepard, M. Biology of australian and United States strains of *Trissolcus basalis*, a parasitoid of green vegetable bug, *Nezara viridula*. *Aust. J. Ecol.*, 7:181-186, 1982.
- Van Steenburg, W.E. *Tricogramma minutum* Riley as a parasite of the oriental fruit moth (*Laspeyresia molesta* Busck.). *Ontario Canad. J. Res.*, 10:287-314, 1934.
- Villas Boas, G.L.; Moscardi, F.; Corrêa-Ferreira, B.S.; Hoffmann-Campo, C.B.; Corso, I.C.; Panizzi, A.R. Indicações do manejo de pragas para percevejos. Londrina, Embrapa-CNPSO 1985. 15p (Embrapa-CNPSO. Documentos, 9).

Received on May 31, 2000.

Accepted on July 24, 2000.