



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA
MESTRADO EM FITOTECNIA

RAYANE SLEY MELO DA CUNHA

**TEMPO DE DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE
Zaeucoila unicarinata ASHMEAD (HYMENOPTERA: FIGITIDAE) SOBRE LARVAS
DE *Liriomyza sativae* (DIPTERA: AGROMYZIDAE)**

MOSSORÓ

2021

RAYANE SLEY MELO DA CUNHA

**TEMPO DE DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE
Zaeucoila unicarinata ASHMEAD (HYMENOPTERA: FIGITIDAE) SOBRE LARVAS
DE *Liriomyza sativae* (DIPTERA: AGROMYZIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestrem em Agronomia: Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Proteção de Plantas

Orientador: Prof. Dr. Elton Lucio de Araujo

MOSSORÓ

2021

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

C972t Cunha, Rayane Sley Melo da.
Tempo de desenvolvimento e caracterização morfológica de *Zaeucoila unicarinata* Ashmead (Hymenoptera: Figitidae) sobre larvas de *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) / Rayane Sley Melo da Cunha. - 2021.
37 f. : il.

Orientador: Elton Lucio de Araujo.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, 2021.

1. mosca minadora. 2. endoparasitoide. 3. morfologia. 4. fases imaturas. I. Araujo, Elton Lucio de , orient. II. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

RAYANE SLEY MELO DA CUNHA

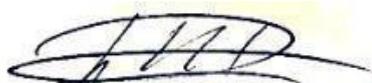
**TEMPO DE DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE
Zaeucoila unicarinata ASHMEAD (HYMENOPTERA: FIGITIDAE) SOBRE LARVAS
DE *Liriomyza sativae* (DIPTERA: AGROMYZIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Agronomia: Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Proteção de Plantas

Defendida em: 05/03/2021.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Elton Lucio de Araujo (UFERSA)
Presidente



Dr.ª. Elania Clementino Fernandes (UFERSA)
Membro Examinador



Prof. Dr.ª. Janisete Gomes da Silva (UESC)
Membro Examinador

A Deus, por sua imensa misericórdia, amor e cuidado nos meus sonhos. À minha mãezinha, Nossa Senhora Aparecida, Rainha do Rosário, por sua proteção e intercessão que não cessam sobre minha vida.

DEDICO

Aos meus pais, Rejane Siqueira Melo da Cunha e João Batista da Cunha, por, antes de tudo, terem sido meus primeiros professores, por tudo que abdicaram da vida para que eu tivesse o melhor. A vocês meu eterno amor e gratidão. Sem essa base familiar, nunca teria chegado até aqui. Às minhas irmãs, Rayrane Iris e Raylla Estefanny, por todo carinho e cuidado, e ao meu namorado Renner Lima, pela paciência e tamanho amor.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Elton L. Araujo, pelo apoio na pesquisa, aprendizado ao longo desses anos e por sua amizade.

Agradeço à Dra. Elania C. Fernandes, por toda amizade, companherismo na pesquisa, apoio e ajuda nesse período. Essa aproximação foi, sem dúvidas, essencial para executar esse trabalho. Eu te admiro pelo tamanho amor e determinação que tem aos projetos acadêmicos. Obrigada!

Agradeço à Dra. Fabiana E. Gallardo, pela identificação da espécie do parasitoide do estudo.

Agradeço ao Prof. Dr. Moacir F. Oliveira, pelos conhecimentos transmitidos e colaboração para o aperfeiçoamento das imagens desse trabalho.

Agradeço à Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), pela qual tenho tanto apreço, onde fiz minha graduação em Agronomia e agora concluo meu mestrado.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da UFERSA, e todo o corpo docente do programa.

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

Agradeço a todos os integrantes do Laboratório de Entomologia Aplicada da UFERSA: Alcimar G. Lira Maria Ítala A. Souza, Gthielly M. Fernandes, Maria Raquel S. Soares e Potiara O. Diniz, por todos os bons momentos, especialmente às minhas amigas Márcia M. Sousa e Fernanda Fernandes, e meu grande amigo Edivino L. Silva.

Agradeço aos membros Banca Examinadora pela disponibilidade e contribuições no aperfeiçoamento desse trabalho.

A todos os meus amigos de Pós-Graduação pelo aprendizado compartilhado, em especial: Marlenildo Melo, Afonso Almeida, Matheus Santos e Ana Paula de Moura.

Agradeço a todos os meus amigos e a todos que contribuíram de forma direta e indireta para a realização deste trabalho.

“Hoje, neste tempo que é seu, o futuro está sendo plantado. As escolhas que você procura, os amigos que você cultiva, as leituras que você faz, os valores que você abraça, os amores que você ama, tudo será determinante para a colheita futura”.

Pe. Fábio de Melo

RESUMO

CUNHA, Rayane Sley Melo da. Tempo de desenvolvimento e caracterização morfológica de *Zaeucoila unicarinata* Ashmead (Hymenoptera: Figitidae) sobre larvas de *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae). 2021. 37f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2021.

Zaeucoila unicarinata Ashmead (Hymenoptera: Figitidae) é um inimigo natural da mosca minadora *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae). Embora *Z. unicarinata* contribua para o controle biológico de *L. sativae*, o desenvolvimento e a morfologia dos estágios imaturos desse endoparasitoide solitário ainda não são conhecidos. As alterações morfológicas experimentadas durante os estágios imaturos dos endoparasitoides ocorrem dentro do corpo do hospedeiro, razão pela qual ainda são desconhecidas em várias espécies. Assim, estudos visando a conhecer o tempo de desenvolvimento e a morfologia dos estágios imaturos podem ajudar no melhor entendimento da bioecologia deste parasitoide. Além disso, essas informações são importantes para estudos básicos sobre a bioecologia de *Z. unicarinata* e até mesmo para o planejamento de sua criação massal. Diante disto, o objetivo deste estudo foi conhecer o tempo de desenvolvimento e caracterizar morfológicamente os estágios imaturos de *Z. unicarinata*, criados em larvas de *L. sativae*. Diariamente, plantas de *Cucumis melo* L. com folhas infestadas com larvas de segundo ínstar de *L. sativae* foram expostas ao parasitismo. Em seguida, as plantas foram colocadas em câmara climatizada B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*), nas condições de temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. A cada 24 horas, 30 larvas/pupas parasitadas foram dissecadas durante o período de desenvolvimento do parasitoide, a fim de registrar o tempo de desenvolvimento e as características morfológicas das fases imaturas (ovo, larva, pré-pupa e pupa). As frequências dos diferentes estágios de desenvolvimento de *Z. unicarinata* foram calculadas para definir o número de instares larvais. Um microscópio estereoscópio Leica S8APO com aumento de 80x foi usado para observar todos os estágios imaturos de *Z. unicarinata*. O desenvolvimento completo das fases imaturas do parasitoide foi de 22 dias: ovo (duração $\cong 4$ dias); instares larvais - primeiro ($\cong 2$ dias), segundo ($\cong 2$ dias), terceiro ($\cong 4$ dias) e quarto ($\cong 2$ dias); pré-pupa ($\cong 2$ dias) e pupa ($\cong 6$ dias). Características morfológicas: Os ovos têm formato alongado, com discreto pedúnculo; larvas de 1º e 2º instares são eucoiliformes variando de 0,62 mm a 1,14 mm de comprimento médio, larvas de 3º e 4º instares são himenopteriformes e medem 1,54 mm e 1,56 mm de comprimento médio, respectivamente. Pupas apresentam cabeça, tórax e abdômen bem definidos com média de 1,46 mm de comprimento. Os resultados obtidos são importantes na medida em que permitem conhecer o desenvolvimento e as características morfológicas dos estágios imaturos de *Z. unicarinata*, o que contribuirá para posteriores estudos sobre esse parasitoide.

Palavras-chave: Mosca minadora; endoparasitoide; morfologia; fases imaturas.

ABSTRACT

CUNHA, Rayane Sley Melo da. Development time and morphological characterization of *Zaeucoila unicarinata* Ashmead (Hymenoptera: Figitidae) on larvae of *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae). 2021. 37f. Dissertation (Master's degree in Phytotechnics) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2021.

Zaeucoila unicarinata Ashmead (Hymenoptera: Figitidae) is a natural enemy of leaf miners *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae). Although *Z. unicarinata* contributes to the biological control of *L. sativae*, development and morphology of the immature stages of this solitary endoparasitoid are still unknown. The morphological changes experienced during the immature stages of endoparasitoids occur within the host's body, which is why they are still unknown in several species. Thus, studies aiming to know the development time and the morphology of the immature stages can help in a better understanding of the bioecology of this parasitoid. In addition, these informations are important for basic studies on the bioecology of *Z. unicarinata* and even for planning its mass creation. Given this, the objective of this study was to know development time and to characterize morphologically the immature stages of *Z. unicarinata*, raised in larvae of *L. sativae*. Daily, plants of Cucumis melo L. with leaves infested with larvae of second instar of *L. sativae* were exposed to parasitism. Then, the plants were placed in a cold chamber B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand), under temperature conditions of $25 \pm 2^\circ\text{C}$, relative humidity of $60 \pm 10\%$ and photophase of 12 hours. Every 24 hours, 30 parasitized larvae / pupae were dissected during the period of development of the parasitoid, in order to record development time and the morphological characteristics of the immature phases (egg, larva, pre-pupa and pupa). The frequencies of the different stages of development of *Z. unicarinata* were calculated to define the number of larval instars. A Leica S8APO stereomicroscope with 80x magnification was used to observe all immature stages of *Z. unicarinata*. The complete development of the immature phases of the parasitoid lasted 22 days: egg (duration $\cong 4$ days); larval instars - first ($\cong 2$ days), second ($\cong 2$ days), third ($\cong 4$ days) and fourth ($\cong 2$ days); pre- pupa ($\cong 2$ days) and pupa ($\cong 6$ days). Morphological characteristics: The eggs have an elongated shape, with a discreet peduncle; 1st and 2nd instar larvae are eucoiliform ranging from 0.62 mm to 1.14 mm of average length, 3rd and 4th instar larvae are hymenopteriform and measure 1.54 mm and 1.56 mm of average length, respectively. Pupae have a well- defined head, chest and abdomen with an average of 1.46 mm in length. The results obtained are important insofar as they allow to know the development and the morphological characteristics of the immature stages of *Z. unicarinata*, which will contribute to further studies on this parasitoid.

Key words: Leaf miner; endoparasitoid; morphology; immature stages.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Número de ínstaes larvais de <i>Z. unicarinata</i> formados a partir da medição da cápsula cefálica e tamanho do corpo.	23
Figura 2: Ovos de <i>Z. unicarinata</i> . (A) Ovo recém-posto, ainda com a presença de um discreto pedúnculo (6 horas); (B) Ovo com idade de 24 horas, início da formação do corpo do embrião; (C) Ovo após 48 horas; a membrana serosa envolve o embrião. (D) Ovo 72 horas após a oviposição, já é distinguível uma larva de primeiro ínstar visível pelo córion transparente. (E) Ovo com 96 horas, prestes a ocorrer eclosão da larva.....	25
Figura 3: Larva de primeiro ínstar de <i>Z. unicarinata</i> . Apêndice caudal, medindo aproximadamente metade do comprimento do corpo (0,35 mm) e ornamento do processo caudal (setas brancas), processo ventral (S1) e apêndice caudal (S2).	26
Figura 4: Larva de segundo ínstar de <i>Z. unicarinata</i> (A). À direita, larva se desenvolvendo fora do conteúdo corporal do hospedeiro (B).	27
Figura 5: Larva de terceiro ínstar de <i>Z. unicarinata</i> . Seta indica as mandíbulas aparentes.	28
Figura 6: Larva de quarto ínstar de <i>Z. unicarinata</i> em transição para a fase de pré-pupa	29
Figura 7: Pré-pupa de <i>Z. unicarinata</i> . Início da divisão do corpo (formação de abdômen, cabeça e pernas). Divisão do corpo em 13 segmentos.	30
Figura 8: Pupa de <i>Z. unicarinata</i> em diferentes estádios de melanização.....	31
Figura 9: Fêmea e macho de <i>Z. unicarinata</i> definidos pelo número de antenômeros.....	31
Figura 10: Pupário de <i>L. sativae</i> com abertura na extremidade causada pela emergência de <i>Z. unicarinata</i>	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Medidas (mm) dos estágios e estádios imaturos de <i>Zaeucoila unicarinata</i> em larvas/pupas de <i>Liriomyza sativae</i> . Temperatura $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h.	24
---	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	<i>Liriomyza sativae</i> Blanchard (Diptera: Agromyzidae).....	16
2.2	Controle biológico	17
2.3	<i>Zaeucoila unicarinata</i> Ashmead (Hymenoptera: Figitidae).....	18
2.4	Desenvolvimento e Caracterização morfológica das fases imaturas	18
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1	Local do estudo.....	20
3.2	Infestação das plantas de meloeiro por <i>L. sativae</i>	20
3.3	Metodologia de criação de <i>Z. unicarinata</i>	20
3.4	Caracterização do desenvolvimento de <i>Z. unicarinata</i>	21
4	RESULTADOS.....	23
4.1	Tempo de desenvolvimento dos estágios imaturos	23
4.2	Caracterização morfológica dos estágios imaturos.....	24
4.2.1	Ovo	24
4.2.2	Estádios larvais	26
4.2.3	Pré-pupa.....	29
4.2.4	Pupa	30
5	DISCUSSÃO	33
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
7	REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

Liriomyza sativae (Diptera: Agromyzidae) é considerada uma das pragas mais importantes da cultura do meloeiro (*Cucumis melo* L.) no semiárido brasileiro (ARAÚJO *et al.*, 2013). As larvas dessa praga consomem o mesófilo foliar, ocasionando a redução da capacidade fotossintética da planta e teor de sólidos solúveis totais dos frutos (°Brix), o que afeta diretamente a produção e comercialização (ARAÚJO *et al.*, 2013; COSTA *et al.*, 2017). Em altas infestações, essa praga pode ocasionar a destruição completa do mesófilo foliar, provocando ressecamento e a queda das folhas, expondo os frutos à radiação solar e afetando a qualidade externa (GUIMARÃES *et al.*, 2009).

Diante do ataque da mosca minadora, diversas medidas de controle são utilizadas durante o ciclo do meloeiro, como, por exemplo, o uso de manta TNT (Tecido Não Tecido) para cobrir as plantas até o início da fase de floração, plantio contra o vento, rotação de cultura, destruição de restos culturais e, aplicação de inseticidas sintéticos (LIMA *et al.*, 2012).

As espécies de *Liriomyza* se tornaram pragas em virtude da redução do seu conjunto de parasitoides nos sistemas de cultivo, principalmente devido ao uso inapropriado ou prolongado de inseticidas, o que, conseqüentemente, ocasiona impactos negativos no meio ambiente e compromete seu controle sustentável (JOHNSON; OATMAN; WYMAN, 1980; PARRELLA, 1987; MATSUDA; SAITO, 2014; GUANTAI *et al.*, 2015; GULLAN E CRASTON, 2017; RIDLAND *et al.*, 2020).

Devido a isso, há um interesse crescente em se utilizar práticas agrícolas mais sustentáveis que minimizem os desequilíbrios ambientais. Dessa forma, o controle biológico é considerado uma ferramenta essencial, por se tratar de um método de controle ambientalmente seguro e que não apresenta riscos de contaminação a trabalhadores e consumidores (LIU *et al.*, 2009; BARRATT *et al.*, 2010).

Em todo o mundo, já foram registradas mais de 150 espécies de parasitoides associados ao gênero *Liriomyza* (LIU *et al.*, 2011). Os levantamentos indicam que as principais famílias de parasitoides associadas às espécies de *Liriomyza* são Braconidae, Eulophidae e Figitidae (LIU *et al.*, 2009; ÇIKMAN; LASALLE, 2011). O controle biológico de agromizídeos pragas com o uso de parasitoides, atrelado ao MIP (Manejo Integrado de Pragas) consiste em uma alternativa promissora na regulação de populações de agromizídeos em cultivos agrícolas (LORINI; FOERSTER, 1985; BARRATT *et al.*, 2010).

Em virtude da importância econômica da cultura do meloeiro para a região semiárida do Nordeste, pesquisas sobre a diversidade dos parasitoides associados a *L. sativae* têm sido realizadas visando ao uso destes inimigos naturais em programas de controle biológico (ARAÚJO *et al.*, 2015; COSTA-LIMA; CHAGAS; PARRA, 2019). Dentre os principais parasitoides presentes em áreas de meloeiro em Mossoró, RN, Brasil, encontram-se representantes das famílias Braconidae, Mymaridae, Eulophidae, Pteromalidae, Elasmidae, Diapriidae, Figitidae, Scelionidae e Encyrtidae (FERNANDES, 2006).

Segundo Buffington *et al.* (2017), o gênero *Zaeucoila* (Figitidae) encontra-se distribuído no Sul do Canadá e Estados Unidos, além dos países da América Central e América do Sul. Dentre as 12 espécies descritas, encontra-se *Zaeucoila unicarinata* Ashmead (Hymenoptera: Figitidae) com registro no Brasil, Argentina, Costa Rica e Venezuela. No Brasil, já foi relatada ocorrência de *Z. unicarinata* como parasitoide de agromizídeos em Itumbiara - Goiás, Araporã - Minas Gerais e Morretes - Paraná (LORINI; FOERSTER, 1985; MARCHIORI *et al.*, 2001; MARCHIORI *et al.*, 2004).

Z. unicarinata é um endoparasitoide coinobionte solitário de dípteros Agromizídeos, que parasitam larvas entre o primeiro e segundo instares, e os adultos emergem dos pupários (BUFFINGTON *et al.*, 2017). Esta espécie tem mostrado potencial para ser utilizado no controle biológico de *L. sativae*, em virtude, principalmente, de mostrar-se bem adaptada às condições climáticas na sua área de ocorrência natural e por não exercer impactos negativos sobre hospedeiros não alvos (dados não publicados/informação pessoal, Araujo, E. L.).

A partir da constatação da espécie *Z. unicarinata* associada à praga *L. sativae* na região semiárida do Nordeste do Brasil (dados não publicados/informação pessoal, Araujo, E. L.), tem sido despertado interesse em estudar a bioecologia desse parasitoide. No entanto, estudos relacionados à sua caracterização morfológica e desenvolvimento dos estágios imaturos ainda não foram realizados. O conhecimento dos estágios imaturos e da história de vida de uma espécie é importante para o uso taxonômico e aplicado, bem como para permitir o reconhecimento das fases imaturas da espécie, o que irá diferenciar uma espécie de outra ainda nessa fase (SKUHROVEC; BOGUSCH, 2016; FERNANDES *et al.*, 2019).

Diante disto, este estudo tem por objetivo conhecer o tempo de desenvolvimento e caracterizar morfológicamente as fases imaturas de *Z. unicarinata*, em larvas hospedeiras de *L. sativae*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae)

A família Agromyzidae (Diptera) possui uma grande variedade de espécies, e mais de 75% dessas espécies possuem larvas que se alimentam de folhas de plantas (SOUSA *et al.*, 2021). Nessa família, o gênero *Liriomyza* contém mais de 300 espécies amplamente distribuídas, porém a maioria ocorre naturalmente em regiões temperadas (PARRELLA, 1987).

Liriomyza sativae Blanchard (Diptera: Agromyzidae) é uma praga encontrada desde o sul dos Estados Unidos, Flórida, Califórnia e Havaí, e na maior parte da América Central e do Sul. Atualmente, também é encontrada em muitas áreas da Ásia e do Oriente Médio (CAPINEIRA, 2020). É um inseto polífago, de importância econômica para várias culturas em todo o mundo. Durante seu desenvolvimento imaturo, as larvas se alimentam do mesófilo foliar, formando minas ou galerias, o que então determinou o nome comum mosca minadora (PARRELLA, 1987; ARAUJO *et al.*, 2007; BRAGARD *et al.*, 2020).

Em altas temperaturas, *L. sativae* pode se reproduzir continuamente, com muitas gerações sobrepostas por ano. Em temperaturas de 30°C, seu ciclo de desenvolvimento leva cerca de 15 dias para ser concluído (BRAGARD *et al.*, 2020; CAPINERA, 2020). Após a deposição dos ovos pelas fêmeas no interior das folhas, que tem duração em torno de dois dias em temperaturas ótimas, a partir da eclosão das larvas, essas começam a se alimentar imediatamente e continuam se alimentando até atingirem o terceiro ínstar (ARAUJO *et al.*, 2007). No quarto ínstar, essa larva não se alimenta, entra em fase de transição para pré-pupa, para posterior pupação (PARRELLA, 1987).

Após um dia de emergência, os adultos já se tornam sexualmente ativos, podendo acasalar várias vezes antes de morrerem. Apresentam fecundidade média típica entre 200-300 ovos por fêmea, com taxa diária média de oviposição entre 30-40 ovos, que conseqüentemente diminui de acordo com a longevidade. As fêmeas apresentam uma particularidade importante: costumam fazer puncturas de alimentação, promovendo a produção de exsudatos foliares, dos quais fêmeas e machos se alimentam, sendo que apenas 15% dos orifícios deixados contêm ovos (PARRELLA; ROBB; BETHKE, 1981; PARRELLA; KEIL; MORSE, 1984; PARRELLA, 1987; BRAGARD *et al.*, 2020; CAPINERA, 2020).

Essa praga destaca-se como um grande problema fitossanitário para a cultura do meloeiro, na região Nordeste do Brasil. As larvas de *L. sativae* se alimentam do mesófilo foliar,

ocasionando a redução da capacidade fotossintética da planta e consequente reduções dos sólidos solúveis (°Brix) dos frutos, o que provoca efeitos diretos na produção e comercialização. Além disso, em altas infestações, pode ocorrer necrose das folhas, deixando os frutos expostos à luz solar direta, o que pode causar manchas de queimaduras (GUIMARÃES, 2009; ARAUJO *et al.*, 2013; COSTA *et al.*, 2017; COSTA-LIMA; CHAGAS; PARRA, 2019).

2.2 Controle biológico

O manejo integrado de pragas (MIP) combina várias táticas de manutenção de pragas, visando a manter essa população abaixo do nível de dano econômico de uma maneira sustentável (GENTZ; MURDOCH; KING, 2010; ROUBOS; RODRIGUEZ-SAONA; AMOABENG *et al.*, 2020). Dentre as táticas, o controle biológico consiste no uso de uma população de um organismo para reduzir a população de outro organismo (VAN LENTEREN *et al.*, 2020).

Agromyzídeos do gênero *Liriomyza* são conhecidos pela diversidade de inimigos naturais que possuem (MUJICA; KROSCHEL, 2011). Em todo o mundo, já foram registradas mais de 150 espécies de parasitoides associados ao gênero *Liriomyza* (LIU *et al.*, 2011). Os levantamentos indicam que as principais famílias de parasitoides associadas às espécies de *Liriomyza* são Eulophidae, Braconidae e Figitidae (LIU *et al.*, 2009; ÇIKMAN; LASALLE, 2011).

A ordem Hymenoptera possui o maior número de agentes de biocontrole, porque seus parasitoides possuem especificidade de hospedeiro. Ao contrário de muitos predadores, os parasitoides geralmente atacam apenas algumas espécies e, portanto, são considerados mais seguros, porque devido à sua especificidade não parasitam espécies não-alvo (VAN LENTEREN *et al.*, 2020). Parasitoides da ordem Hymenoptera possuem grande biodiversidade, o que explica seu amplo uso dentro do controle biológico, principalmente pelo fato de possuírem gama de hospedeiros muito mais restrita, considerada importante na prevenção de efeitos indesejáveis (BIGLER *et al.*, 2006; ANDERSON *et al.*, 2011).

Nos cultivos de meloeiro, precisamente na região de Mossoró, dentre os principais parasitoides associados a *L. sativae* encontram-se representantes das famílias Braconidae, Mymaridae, Eulophidae, Pteromalidae, Elasmidae, Diapriidae, Figitidae, Scelionidae e Encyrtidae (FERNANDES, 2006).

2.3 *Zaeucoila unicarinata* Ashmead (Hymenoptera: Figitidae)

A espécie *Z. unicarinata* é um parasitoide de dípteros Agromyzídeos. Segundo Buffington *et al.* (2017), a tribo Zaeucoilini inclui 40 espécies, e sua maior diversidade é encontrada na região Neotropical. Ainda segundo o mesmo autor, o gênero *Zaeucoila* encontra-se distribuído no Sul do Canadá, Estados Unidos, países da América Central e América do Sul. Este gênero possui 12 espécies descritas, dentre estas encontra-se *Z. unicarinata*, com registro no Brasil, Argentina, Costa Rica e Venezuela. No Brasil, de acordo com a literatura, já foi registrado a ocorrência de *Z. unicarinata* como parasitoide de agromizídeos em Itumbiara - Goiás, Araporã - Minas Gerais e Morretes - Paraná (LORINI; FOERSTER, 1985; MARCHIORI *et al.*, 2001; MARCHIORI *et al.*, 2004).

Z. unicarinata é um endoparasitoide coinobionte, o qual permite que, mesmo parasitados, os hospedeiros continuem seu desenvolvimento até a pupação, quando a larva do parasitoide começa a se desenvolver. Parasitoides coinobiontes em sua maioria são pró-ovigênicos, ou seja, não requerem alimentação do hospedeiro para maximizar a fecundidade. Trata-se de um parasitoide solitário de dípteros Agromizídeos, que parasitam larvas entre o primeiro e segundo ínstares, com o adulto emergindo do pupário (QUICKE, 2015; BUFFINGTON *et al.*, 2017; RIDLAND *et al.*, 2020).

Esta espécie tem mostrado potencial para ser utilizada no controle biológico de *L. sativae*, pois demonstra estar bem adaptada às condições climáticas na sua área de ocorrência natural, não exerce impactos negativos sobre hospedeiros não alvos e não apresenta risco de exclusão competitiva entre espécies nativas versus espécies introduzidas (dados não publicados/informação pessoal, Araujo, E. L.). Porém, embora insetos entomófagos sejam essenciais para a manutenção do equilíbrio populacional de insetos fitófagos, esses geralmente ocorrem em quantidade insuficiente para promover o controle efetivo das populações de insetos praga. Devido a isso, é necessário realizar liberações periódicas para proporcionar a manutenção das populações dos inimigos naturais para o controle das pragas (PARRA *et al.*, 2002; MARQUES *et al.*, 2015).

2.4 Desenvolvimento e Caracterização morfológica das fases imaturas

O desenvolvimento e a caracterização morfológica dos estágios imaturos são de fundamental importância dentro dos estudos base dos insetos. Ao compreender como ocorre o desenvolvimento e caracterizar as diferentes fases, é possível desencadear outros trabalhos,

em especial aqueles relacionados à bioecologia. Estudos como esse são importantes na medida em que podem servir de base para o planejamento da criação, determinar a idade ideal para a liberação desses insetos durante programas de controle biológico, bem como para permitir o reconhecimento das fases imaturas da espécie, o que irá diferenciar uma espécie de outra ainda nessa fase (FERNANDES *et al.*, 2019). Além disso, o conhecimento dos estágios imaturos e da história de vida de uma espécie é importante para o uso taxonômico e aplicado (SKUHROVEC; BOGUSCH, 2016).

Xu *et al.* (2007) realizaram a caracterização morfológica e o desenvolvimento das fases imaturas do *Opius caricivora* Fischer (Hymenoptera: Braconidae), tendo como hospedeiro larvas de *L. sativae*. Esse estudo forneceu informações importantes sobre a relação hospedeiro-parasitoide em grande parte desconhecida, particularmente no que diz respeito à morfologia do embrião e à cápsula cefálica do primeiro e do último instares larvais. Estudos de morfologia e caracterização do imaturo dos endoparasitoides *Aganaspis daci* (Weld) e *Aganaspis pelleranoi* (Bréthes) (Hymenoptera: Figitidae) realizados por Tormos *et al.* (2013) trouxeram importantes contribuições para a criação massal desses inimigos naturais. Estudos como esses são importantes para o melhor entendimento da bioecologia da espécie, como também ajudar na identificação e diferenciação do inseto ao nível de espécie antes da emergência do adulto.

No entanto, poucas são as informações a respeito das espécies de endoparasitoides coinobiontes, como é o caso da espécie *Z. unicarinata*. O desenvolvimento dos estágios imaturos de *Z. unicarinata* consiste em uma base sólida para estudos adicionais, como, por exemplo, as interações fisiológicas e competição intra e interespecíficas, exigências térmicas, tabela de vida de fertilidade da espécie, dentre outros.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do estudo

A criação dos insetos, *L. sativae* e *Z. uncarinata* e o desenvolvimento do trabalho foram realizados no Laboratório de Entomologia Aplicada da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), em Mossoró (RN), em sala climatizada sob as condições de temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

3.2 Infestação das plantas de meloeiro por *L. sativae*

Para realizar a infestação das plantas, foram utilizados adultos da mosca minadora que são mantidos em laboratório seguindo a metodologia descrita por Araujo *et al.* (2007). Para obtenção das plantas, sementes de melão amarelo 'Goldmine' (Seminis®) foram semeadas em bandejas de polietileno (162 células), contendo o substrato fibra de coco (Amifibra) Golden Mix®. Após 10 dias do semeio, as plântulas foram transplantadas para vasos de polietileno, com capacidade para 0,5 kg, sendo utilizadas como substrato fibra de coco e matéria orgânica (Pole Fértil) na proporção de 3:1. As mudas foram mantidas em casa de vegetação (ambiente que proporcione a exposição constante à luminosidade) e regadas três vezes ao dia, até que atingissem um desenvolvimento vegetativo com no mínimo duas folhas definitivas formadas (cerca de 20 dias após o plantio).

Ao atingirem o desenvolvimento vegetativo adequado para este estudo, as plantas foram transportadas ao laboratório e submetidas à infestação da mosca minadora (adultos com idade entre 24 e 96 horas), em três gaiolas de criação (100 x 100 x 100 cm) revestidas com tela anti-afídeo, contendo cada uma delas uma média de 200 casais da mosca minadora, por um período de infestação de 30 minutos.

3.3 Metodologia de criação de *Z. uncarinata*

Para o estabelecimento da criação de *Z. uncarinata*, inicialmente foram coletadas folhas de meloeiro infestados com *L. sativae*, na zona rural de Mossoró (RN). As folhas coletadas foram colocadas em sacos de papel e encaminhadas ao laboratório; em seguida, os pecíolos das folhas foram acondicionados em potes com água, até a obtenção dos pupários. Cinco dias depois, as pupas foram coletadas e acondicionadas em placas de Petri até a emergência dos adultos, que foram usados para o estabelecimento da criação em laboratório. A identificação da espécie foi realizada pela Dra. Fabiana E. Gallardo, división entomología,

Museo de La Plata, facultad de ciencias naturales y museo, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Os adultos de *Z. unicarinata* foram criados em uma gaiola de metalacrílico (50 cm de altura x 50 cm de largura x 50 cm de comprimento). Os parasitoides eram alimentados com mel a 50% diluído em água em uma esponja, e colocados em uma placa de Petri de 9,5 x 9,5 x 1,6 cm. A água foi oferecida por meio de uma garrafa plástica de 50 ml com fita absorvente (Spontex®), onde a água ficava disponível por capilaridade. Diariamente, foram utilizadas plantas de *Canavalia ensiformis* infestadas com larvas de segundo ínstar de *L. sativae*, haja vista que experimentos anteriores apontaram ser o ínstar preferencial desse parasitoide (dados não publicados/informação pessoal, Araujo, E. L.). Após 24 horas de exposição ao parasitismo, as folhas foram cortadas, os pecíolos das folhas foram colocados dentro de recipientes com água e depois acondicionados em bandejas plásticas, para a obtenção dos pupários. Os pupários obtidos foram acondicionados em placas de Petri, em seguida essas placas foram cobertas com filme PVC transparente, onde permaneciam até a emergência dos parasitoides adultos, posteriormente liberados nas gaiolas de criação.

3.4 Caracterização do desenvolvimento de *Z. unicarinata*

Para conhecer o tempo de desenvolvimento e caracterizar morfológicamente as fases imaturas (ovo, larva, pré-pupa e pupa) de *Z. unicarinata*, cerca de 2.000 larvas de 2º ínstar de *L. sativae* foram expostas ao parasitismo de *Z. unicarinata* por um período de 6 h, na proporção de uma fêmea acasalada para cada cinco larvas hospedeiras, seguindo a metodologia descrita anteriormente. Após o parasitismo, as folhas das plantas foram cortadas, e o pecíolo das folhas colocadas dentro de recipientes com água e, em seguida, acondicionadas em bandejas plásticas e mantidas em câmara tipo B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*) na condição de 25°C ± 2°C, 75 ± 10% de umidade relativa e fotofase de 12h.

O período de desenvolvimento das formas imaturas de *Z. unicarinata* foi observado da seguinte forma: 50 larvas/pupas parasitadas foram dissecadas a cada 24 horas, usando uma solução salina tamponada com fosfato (18.6 mM NaH₂PO₄H₂O, 84.1 mM NaH₂PO₄2H₂O, e 1.75 M NaCl, pH 7.4) sobre lâminas escavadas e com o auxílio de pinças e alfinetes entomológicos, sob microscópio estereoscópio. Os estágios de desenvolvimento foram registrados para cada idade. As frequências dos diferentes estágios de desenvolvimento foram usadas como referência para separar as fases pré-imaginais (ovo, os ínstares larvais, pré-pupa

e pupa).

Para caracterizar as fases imaturas do parasitoides, foram observados os aspectos da forma, coloração e tamanho das diferentes fases de desenvolvimento do inseto. As medições para todos os estágios foram realizadas usando um microscópio estereoscópio Leica S8APO com lente em aumento de 40x. A partir das medidas e fotografias, foi realizada a caracterização morfológica dos diferentes estágios de desenvolvimentos dos imaturos para a espécie.

De cada pupário dissecado foi analisado um imaturo visando à realização das medidas e caracterização morfológica, totalizando 30 repetições para cada dia, durante seu desenvolvimento pré-imaginal.

O método K-means foi utilizado para agrupar os estágios (ovo, larva, pré-pupa, pupa) e ínstaes larvais (1º, 2º, 3º e 4º ínstaes), utilizando as medidas da cápsula cefálica, associado a medidas da largura e comprimento do corpo para definir a quantidade de ínstaes larvais. A análise foi realizada no programa R versão 4.0.0 (R Core Team, 2020) usando o pacote “factoextra”.

4 RESULTADOS

4.1 Tempo de desenvolvimento dos estágios imaturos

O desenvolvimento de *Z. unicarinata* é tipicamente holometábolo, apresenta as fases de ovo, larva, pré-pupa, pupa e adulto. Durante o desenvolvimento larval, foram constatados quatro ínstaes, pelo Teste de K-means ($R^2 = 95,6\%$) (Figura 1). O tempo médio de desenvolvimento do imaturo (ovo a adulto) de *Z. unicarinata* foi de 22 dias nas condições deste estudo (temperatura $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas). A duração de cada estágio de desenvolvimento imaturo foi a seguinte: ovo $\cong 4$ dias, primeiro ínstar larval $\cong 2$ dias, segundo ínstar larval $\cong 2$ dias, terceiro ínstar larval $\cong 4$ dias, quarto ínstar larval $\cong 2$ dias, pré-pupa $\cong 2$ dias e pupa $\cong 6$ dias.

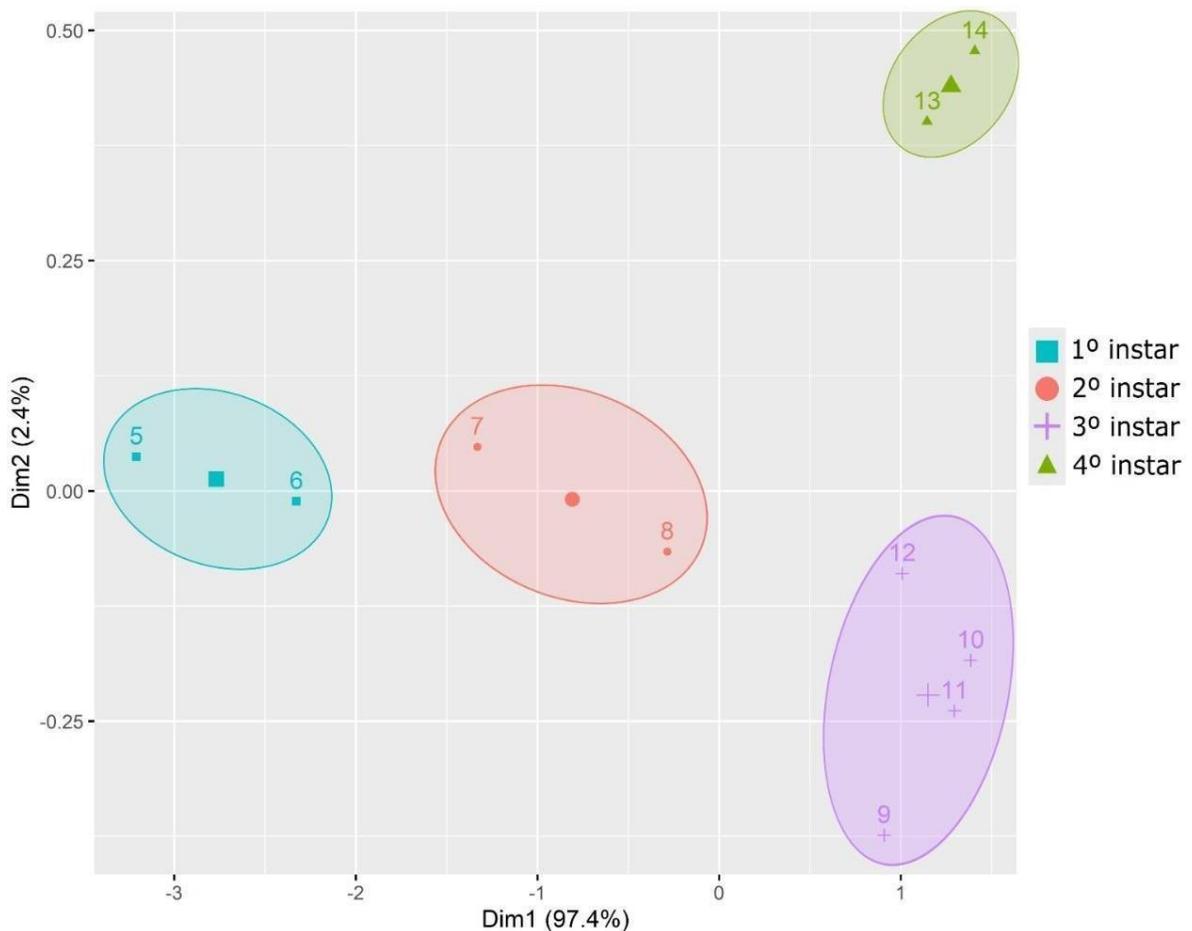


Figura 1: Número de ínstaes larvais de *Z. unicarinata* formados a partir da medição da cápsula cefálica e tamanho do corpo.

O desenvolvimento de *Z. unicarinata* teve início com a deposição de um único ovo em larvas de segundo ínstar de *L. sativae*. Com 24 horas após oviposição, já foi possível visualizar o embrião, a membrana vitelina e o córion. De 48 horas até as 72 horas, foi possível visualizar sinais de segmentação corporal do embrião através do córion transparente.

Após o desenvolvimento embrionário (\cong 96 horas), de cada ovo viável eclodiu uma larva de *Z. unicarinata* que se desenvolveu de forma solitária no conteúdo corporal da larva da mosca minadora. Após o desenvolvimento larval, a fase de pré-pupa e posteriormente as fases de pupa e adulto.

4.2 Caracterização morfológica dos estágios imaturos

4.2.1 Ovo

O ovo tem formato alongado, cilíndrico, com discreto pedúnculo, com córion fino e translúcido. A partir de seis horas após o parasitismo, o ovo vai crescendo graças à divisão celular (Tabela 1); com cerca de 24 horas, o pedúnculo desaparece. Na parte central é possível ver uma área de cor opaca, mostrando o parasitoide em desenvolvimento dentro do ovo, com embrião de cor branco leitoso. É possível visualizar o início do desenvolvimento larval entre 72 e 96 horas, com alguns segmentos corporais completamente distinguíveis através do córion transparente (Figura 2).

Tabela 1: Medidas (mm) dos estágios e estádios imaturos de *Zaeucoila unicarinata* em larvas/pupas de *Liriomyza sativae*. Temperatura $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h.

Estágios/ Estádios larvais	Comprimento do corpo		Largura do corpo		Largura da cápsula cefálica	
	Média	Intervalo	Média	Intervalo	Média	Intervalo
Ovo 6 h	0,17	0,10 – 0,20	0,07	0,06-0,08	-	-
Ovo 24 h	0,28	0,10 – 0,36	0,20	0,10-0,20	-	-
Ovo 48 h	0,33	0,10 – 0,52	0,24	0,10-0,24	-	-
Ovo 72 h	0,39	0,16 – 0,46	0,22	0,16-0,22	-	-
Ovo 96 h	0,45	0,12 – 0,56	0,30	0,12-0,30	-	-
L1	0,62	0,28 – 1,10	0,20	0,10-0,40	0,16	0,10 – 0,30
L2	1,14	0,58 – 1,60	0,45	0,16-0,80	0,29	0,12 – 0,50

L3	1,54	1,04 – 1,98	0,76	0,50-0,94	0,42	0,30 – 0,52
L4	1,56	1,30 – 1,90	0,68	0,48-0,88	0,49	0,30 – 0,70
Pré-pupa	1,61	1,28 – 1,88	0,65	0,44-0,84	-	-
Pupa	1,46	1,20 – 1,80	0,57	0,42-0,76		-

L1: 1º ínstar larval; L2: 2º ínstar larval; L3 e L4, 3º e 4º ínstaes larvais.

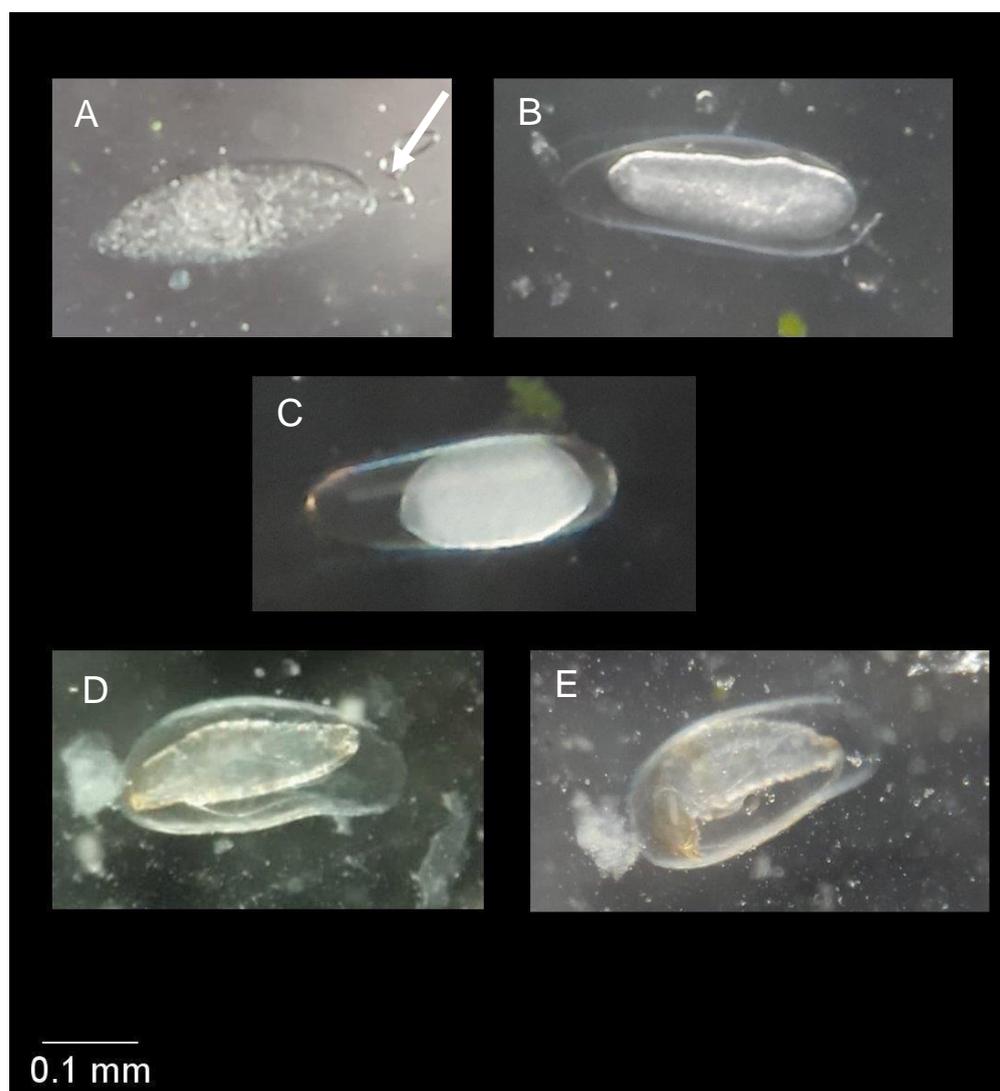


Figura 2: Ovos de *Z. uncarinata*. (A) Ovo recém-posto, ainda com a presença de um discreto pedúnculo (6 horas); (B) Ovo com idade de 24 horas, início da formação do corpo do embrião; (C) Ovo após 48 horas; a membrana serosa envolve o embrião. (D) Ovo 72 horas após a oviposição, já é distinguível uma larva de primeiro ínstar visível pelo córion transparente. (E) Ovo com 96 horas, prestes a ocorrer eclosão da larva.

4.2.2 Estádios larvais

Larva de 1° ínstar

O primeiro ínstar se inicia a partir de 96 horas após a oviposição (Tabela 1). Larvas de 1° ínstar apresentam corpo translúcido, eucoiliformes, com presença de apêndice caudal no final do abdômen e três pares de processos torácicos ventrais longos. O corpo é constituído por 13 segmentos corporais, a cápsula cefálica tem o formato alongado, apresentando na sua extremidade uma estrutura quitinizada caracterizando a presença de um par de mandíbulas (não distinguível) (Figura 3). O canal digestivo é preenchido gradualmente com glóbulos de gordura. No 6° dia de dissecções, 144 horas após o parasitismo, foi observado que a larva utiliza seu apêndice caudal para percorrer o conteúdo corporal do hospedeiro com movimentos de contração e expansão do corpo.

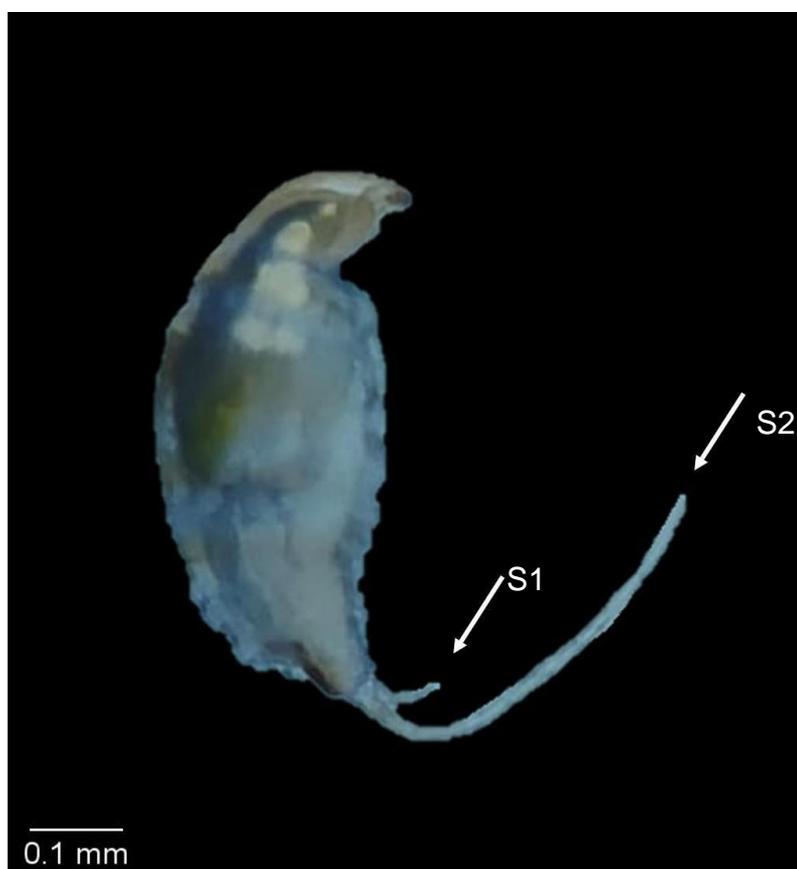


Figura 3: Larva de primeiro ínstar de *Z. unicarinata*. Apêndice caudal, medindo aproximadamente metade do comprimento do corpo (0,35 mm) e ornamento do processo caudal (setas brancas), processo ventral (S1) e apêndice caudal (S2).

Larva de 2° ínstar

As larvas de segundo ínstar são eucoiliformes e apresentam corpo liso e alongado, sem apêndices torácicos e com um curto apêndice caudal, que desaparece ao final desse ínstar. A cápsula cefálica tem pouca diferenciação dos outros segmentos do corpo (larga e achatada), as mandíbulas são pequenas e difíceis de visualizar. Apresenta coloração translúcida, esbranquiçada ou amarelada, com intestino discernível. O corpo é constituído por 13 segmentos, mais distinguíveis do que no ínstar anterior (Figura 4). As larvas de segundo ínstar consomem a hemolinfa e partes do conteúdo corporal do hospedeiro. A maioria das larvas já se encontrava fora do conteúdo corporal de *L. sativae*, se alimentando externamente.

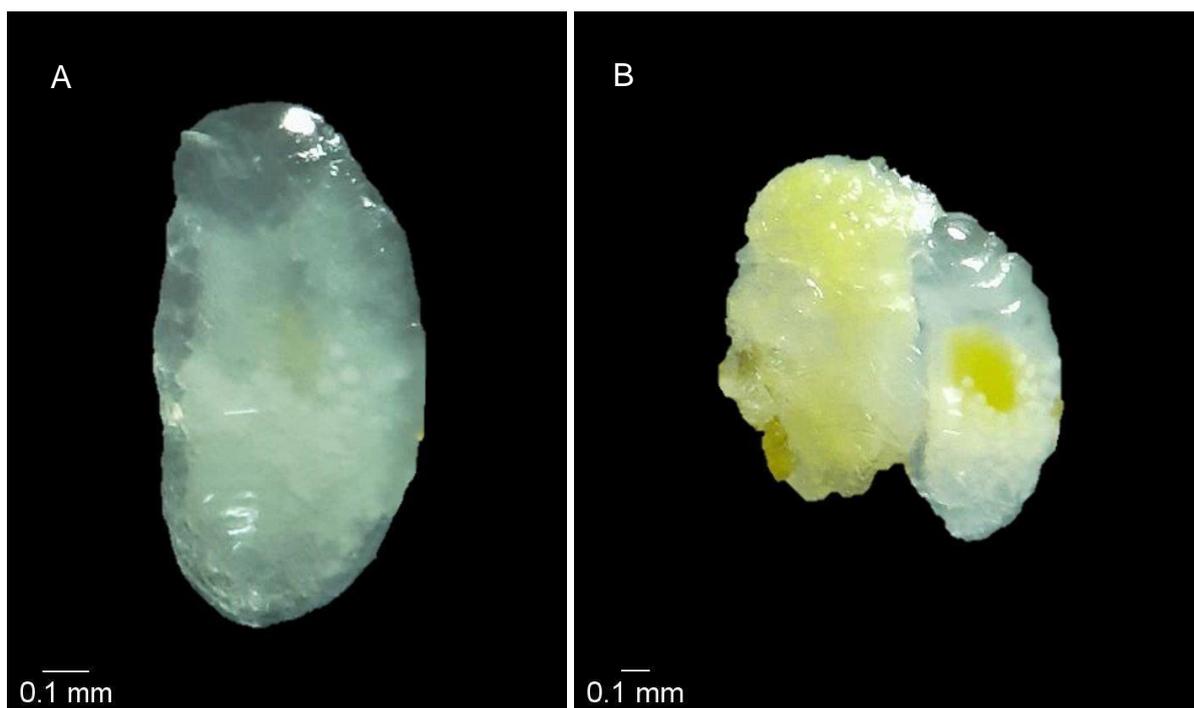


Figura 4: Larva de segundo ínstar de *Z. uncarinata* (A). À direita, larva se desenvolvendo fora do conteúdo corporal do hospedeiro (B).

Larva de 3° ínstar

O terceiro instar larval é himenopteriforme, de corpo inteiramente glabroso com formato alongado, apresentando a cor variando de branco a amarelo. A presença de glóbulos de gordura é bastante visível através do tegumento larval. O corpo é constituído por 13

segmentos bem distinguíveis. A cápsula cefálica tem tamanho mais significativo, e as mandíbulas mais aparentes (Figura 5), as medidas são apresentadas na Tabela 1.



Figura 5: Larva de terceiro ínstar de *Z. unicarinata*. Seta indica as mandíbulas aparentes.

Larva de 4° ínstar

O quarto ínstar larval tem grande semelhança com o terceiro: é himenopteriforme, corpo glabroso e com formato alongado, apresenta a coloração branco/amarelado, com grande volume de glóbulos de gordura. Nesse ínstar, as larvas ocupam todo o pupário, não restando nenhum tecido (resto de gordura) do corpo do hospedeiro (Figura 6). O corpo é constituído por 13 segmentos bem distinguíveis, assim como no terceiro ínstar. A cápsula cefálica é bem desenvolvida com formato subcircular e mandíbulas aparentes. O comprimento médio do corpo mede 1,56 mm (Tabela 1).



Figura 6: Larva de quarto ínstar de *Z. unicarinata* em transição para a fase de pré-pupa.

4.2.3 Pré-pupa

Nessa fase o crescimento do inseto é cessado, iniciando-se a definição de algumas partes do corpo. O mecônio larval é visível no tegumento do abdômen. Apresenta pouca pigmentação (opaco), ainda de cor branca/amarelada (Figura 7). A primeira parte do corpo que ganha forma é o abdômen.

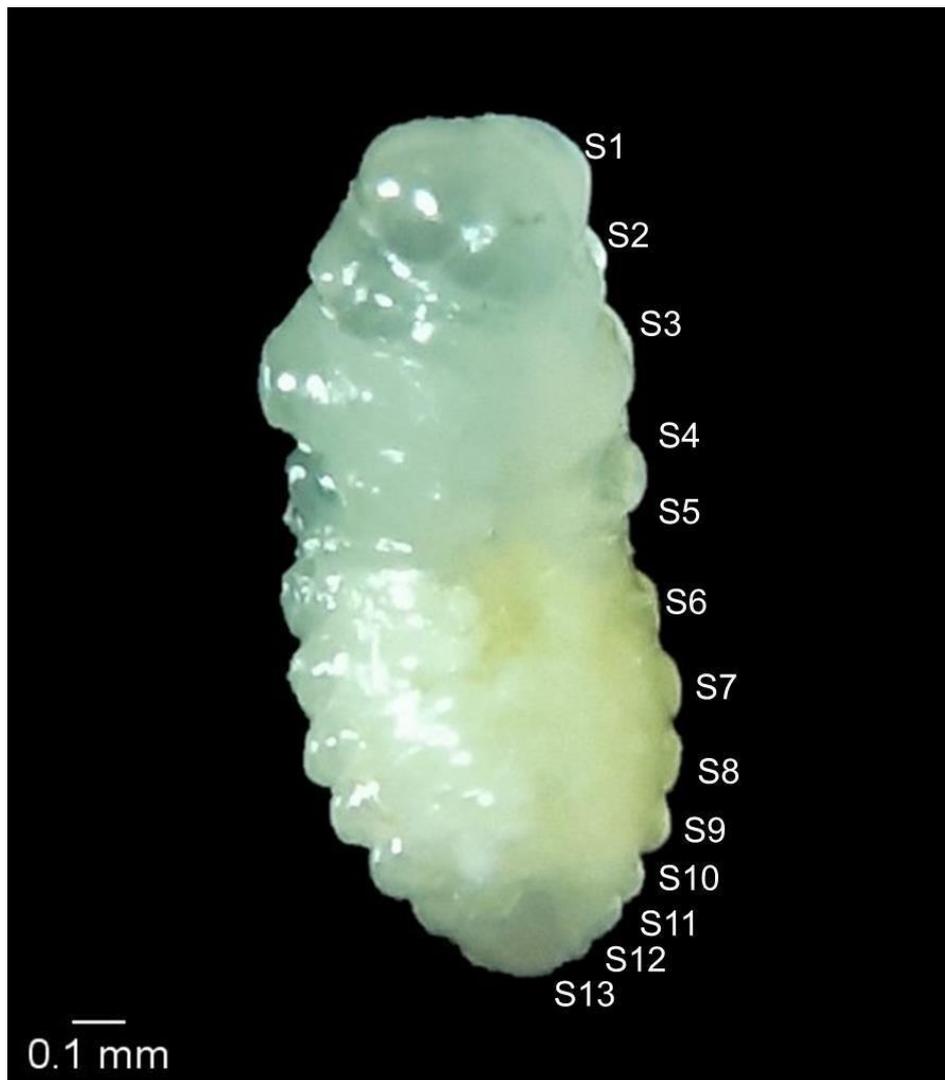


Figura 7: Pré-pupa de *Z. unicarinata*. Início da divisão do corpo (formação de abdômen, cabeça e pernas). Divisão do corpo em 13 segmentos.

4.2.4 Pupa

No início da fase de pupa, o corpo do imaturo é branco/amarelado, e gradativamente vai adquirindo a pigmentação escura, até que sua coloração padrão seja alcançada. Apresentam pupas exaradas, onde seus apêndices (pernas, asas, peças bucais e antenas) não estão fortemente aderidos ao corpo. As pupas têm cabeça, mesossoma e metassoma bem definidos. As antenas, ocelos e aparelho bucal são totalmente visíveis. No início da fase de pupa, apresentam olhos castanho-avermelhados (Figura 8). O dimorfismo sexual não é aparente, mas é comum que fêmeas sejam menores que machos. Ainda na fase de pupa é possível realizar a sexagem pelo número de antenômeros (fêmeas - 13 antenômeros e machos - 15 antenômeros) (Figura 9). Seis dias após a pupação, o adulto faz uma abertura na

extremidade cefálica do tegumento do hospedeiro, usando suas antenas, por onde emergem (Figura 10).



Figura 8: Pupa de *Z. unicarinata* em diferentes estádios de melanização.

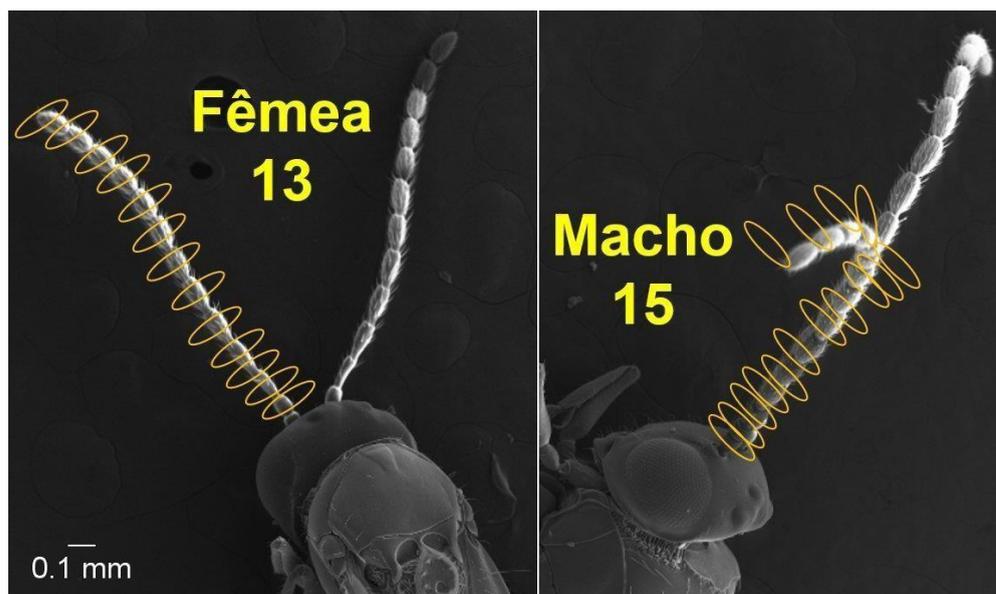


Figura 9: Fêmea e macho de *Z. unicarinata* definidos pelo número de antenômeros.



Figura 10: Pupário de *L. sativae* com abertura na extremidade causada pela emergência de *Z. unicarinata*.

5 DISCUSSÃO

5.1 Desenvolvimento dos imaturos

O desenvolvimento de *Z. unicarinata* é semelhante a outros parasitoides da família Figitidae, como, por exemplo, *A. daci* e *A. pelleranoi*, que apresentam as fases de ovo, larva (quatro ínstaes), pré-pupa e pupa (OVRUSKI, 1994; TORMOS *et al.*, 2013).

A duração das fases imaturas de *Z. unicarinata* (22 dias) foi superior ao tempo de desenvolvimento (oito dias) do endoparasitoide solitário *Opius caricivora* (Hymenoptera: Braconidae), tendo como hospedeiro *L. sativae* em condições de temperatura de 25°C (XU *et al.*, 2007). No entanto, a duração dos estágios imaturos de *Z. unicarinata* (ovo, larva, pré-pupa e pupa) foi menor quando comparado ao ciclo de vida dos imaturos de outras espécies de figitídeos parasitoides: *A. daci*, com ciclo de 32 e 33 dias (TORMOS *et al.*, 2013) e *A. pelleranoi* (27 a 28 dias) para machos e (26 a 30 dias) para fêmeas (OVRUSKI, 1994).

Nossos resultados apontam que *Z. unicarinata* possui quatro ínstaes larvais, com base no tamanho do corpo (largura e comprimento) e principalmente na largura da cápsula cefálica. A largura da cápsula cefálica é um bom indicador de mudanças dos estádios larvais, pois não muda dentro de um mesmo instar (YADAV; YACK, 2018). Por outro lado, o aumento do peso e do tamanho do corpo pode ser variável em razão da variabilidade na obtenção de água e alimento nos imaturos em desenvolvimento (GULLAN; CRANSTON, 2017). Apesar da mandíbula ser uma das poucas partes esclerotizadas em imaturos em desenvolvimento, constituindo, portanto, parâmetro confiável para verificar a mudança de instar em alguns insetos (PARRA; HADDAD, 1989; TORMOS *et al.*, 2013), em *Z. unicarinata* as mandíbulas não foram visíveis em todos os ínstaes.

O primeiro instar larval de *Z. unicarinata* ocorre dentro do hospedeiro (*L. sativae*), mas a partir do segundo instar, a larva do parasitoide rompe o corpo do hospedeiro e se comporta como um ectoparasitoide, desenvolvendo-se externamente até que seja atingido o último instar larval. Esse comportamento pode ter sido uma evolução na atividade alimentar de alguns endoparasitoides, onde os imaturos consomem principalmente hemolinfa e gordura corporal, tendo passado a se alimentar externamente (HARVEY *et al.*, 2011; HARVEY; POELMAN; TANAKA, 2013). Possivelmente, esta estratégia é usada para diminuir os riscos relacionados com competição intrínseca e também como uma forma de escapar das defesas internas do hospedeiro. Esse comportamento também foi relatado para outras espécies de eucolíneos (OVRUSKI, 1994; TORMOS *et al.*, 2013). No segundo instar, as características

morfológicas já eram distintas de larvas de primeiro ínstar e mais próximas daquelas de terceiro e quarto ínstars. Além disso, em muitos endoparasitoides a larva sofre hipermetamorfose, ou seja, o ínstar inicial é especializado, e os ínstars posteriores são mais ou menos uniformes (himenopteriformes) (YU *et al.*, 2008).

5.2 Caracterização morfológica

O ovo de *Z. unicarinata* é do tipo hidrópico. Ovos hidrópicos podem chegar a dobrar de tamanho durante a ovogênese, devido à quantidade de proteínas da hemolinfa do hospedeiro (YU *et al.*, 2008). Em contraste, os ovos do tipo anidrópicos (alto teor de vitelo) não mudam de tamanho após a oviposição: normalmente contêm todos os recursos necessários à ovogênese (CONSOLI; VINSON, 2004).

Os ovos recém-depositados de *Z. unicarinata* são semelhantes na forma aos ovos de outros figitídeos, que apresentam um pequeno pedúnculo na extremidade anterior, uma característica presente em *Eucoilinae* (OVRUSKI *et al.*, 1994; TORMOS *et al.*, 2013; BUFFINGTON *et al.*, 2017). No entanto, nossas observações devem ser confirmadas por novos estudos com microscopia eletrônica de varredura. Verificamos que o tamanho médio dos ovos de *Z. unicarinata* (0,32 mm) é menor que o tamanho médio dos ovos do figitídeo *A. daci* (0,51 mm) e do braconídeo *O. caricivora* (0,45 mm).

As larvas de primeiro ínstar de *Z. unicarinata* apresentam características morfológicas semelhantes a *A. daci* (TORMOS *et al.*, 2013) e *A. pelleranoi* (OVRUSKI, 1994), pois as larvas desses figitídeos são longas e cilíndricas, com presença do apêndice caudal no último segmento abdominal. Esse apêndice permite que as larvas dos endoparasitoides solitários se movimentem através da hemolinfa do hospedeiro para encontrar e destruir larvas concorrentes (HARVEY; POELMAN; TANAKA, 2013).

No segundo ínstar, a larva é modificada; morfológicamente semelhante a espécies da mesma família, como *A. daci* e *A. pelleranoi*, ocorre ausência de apêndices torácicos e presença de um curto segmento caudal. Além disso, o corpo é esbranquiçado, cilíndrico e com presença de glóbulos de gordura e intestino discernível, com segmentação já aparente, porém também não é possível identificar as mandíbulas nesse ínstar (OVRUSKI, 1994; TORMOS *et al.*, 2013).

Larvas de terceiro e quarto ínstars de *Z. unicarinata* não apresentaram mudanças em suas características morfológicas, no que remete à forma, coloração e segmentação corporal. Basicamente as únicas diferenças entre o 3º e 4º ínstars larvais foram as mudanças no

tamanho da cápsula cefálica e aumento de tamanho do corpo. No terceiro ínstar, as larvas ocupavam a maior parte do hospedeiro e, no quarto ínstar, ocupava totalmente o pupário.

A pré-pupa de *Z. unicarinata* é caracterizada pelo fim no crescimento e segmentação do corpo, semelhantemente a outras espécies de endoparasitoides (XU *et al.*, 2007; FERNANDES *et al.*, 2019). A segmentação mais aparente inicia com a divisão do mesossomae metassoma, corpo encurtado, contraído em cerca de seu meio comprimento. O mecônio larval foi visível no tegumento do abdômen. Muitos insetos holometábolos expõem um líquido fecal chamado de mecônio, que representa os restos metabólicos acumulados durante o estágio de pupa (GULLAN; CRANSTON, 2017).

Neste estudo, não verificamos mudanças significativas no tamanho de *Z. unicarinata* entre o quarto ínstar larval e a pré-pupa devido à expulsão do mecônio. A fase de pupa de *Z. unicarinata* apresentou muitas características próximas às aquelas presentes nos adultos (antenas, pernas e coloração), semelhantes às características morfológicas de *A. daci* e *O. caricivora* (XU *et al.*, 2007; TORMOS *et al.*, 2013). Não foi observado dimorfismo sexual para *Z. unicarinata* tendo como base ovipositor. No entanto, no estágio de pupa é possível fazer a sexagem pela antena, com os machos possuindo antenas com 15 antenômeros e as fêmeas, 13 antenômeros (BUFFINGTON *et al.*, 2017).

Nosso estudo é o primeiro a documentar particularidades específicas de *Z. unicarinata*, tais como seu tempo de desenvolvimento e a caracterização morfológica dos seus estágios imaturos, além de determinar o número de instares larvais dessa espécie.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível determinar que o tempo médio de desenvolvimento de *Z. unicarinata* é de 22 dias (ovo, instares larvais, pré-pupa e pupa), passando por quatro ínstares larvais. Essas informações são importantes para determinar e otimizar o tempo em que o parasitoide deve ser mantido na criação antes de sua liberação em campo para controle de pragas, auxiliando em um melhor planejamento em criações massais. A descrição do desenvolvimento das fases imaturas de *Z. unicarinata*, bem como as particularidades encontradas durante as observações diárias, permitiram conhecer o tempo de desenvolvimento e as características morfológicas dos estágios imaturos do parasitoide, o que contribuirá para novos estudos sobre essa espécie.

7 REFERÊNCIAS

- ANDERSON, A. et al. The potential of parasitoid Hymenoptera as bioindicators of arthropod diversity in agricultural grasslands. **Journal of Applied Ecology**, v. 48, p. 382-390, 2011.
- AMOABENG, B. W. et al. Scope for non-crop plants to promote conservation biological control of crop pests and serve as sources of botanical insecticides. **Scientific reports**, v. 10, p. 1-15, 2020.
- ARAUJO, E. L. et al. Técnica de criação da mosca minadora *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera: Agromyzidae). **Campo digital**, v. 2, p. 22-26, 2007.
- ARAUJO, E. L. et al. Biological aspects of the leafminer *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) on melon (*Cucumis melo* L.). **Ciência Rural**, v. 43, p. 579-582, 2013.
- ARAUJO, E. L. et al. Toxicidade de inseticidas utilizados na cultura do meloeiro para *Opius scabriventris* (Hymenoptera: Braconidae). **Bioscience Journal**, v. 31, p. 1370-1377, 2015.
- BARRATT, B. I. P. et al. Progress in risk assessment for classical biological control. **Biological Control**, v. 52, p. 245-254, 2010.
- BRAGARD, C., et al. Pest categorisation of *Liriomyza sativae*. **EFSA Journal**, v. 18, n. 3, p. e6037, 2020.
- BIGLER, F.; BABENDREIER, D.; KUHLMANN, U. **Environmental impact of invertebrates for biological control of arthropods**: methods and risk assessment. CABI, Int, Wallingford, p. 299, 2006.
- BUFFINGTON, M. L. et al. A Revision of *Zaeucoila* Ashmead (Hymenoptera, Figitidae), parasitoids of Agromyzidae (Diptera): New species, identity, distribution, and hosts. **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, v. 119, p. 317-397, 2017.
- CAPINERA, J. L. Featured Creatures: *Liriomyza sativae* Blanchard (Insecta: Diptera: Agromyzidae). **Featured Creatures**, 2020. Disponível em <http://entnemdept.ufl.edu/creatures/veg/leaf/vegetable_leafminer.htm>. Acesso em: 20 de jan. de 2021.
- ÇIKMAN, E.; LA SALLE, J. Parasitoids of the Leafminers (Diptera: Agromyzidae) in Malatya, Turkey. **Turkish Journal of Entomology**, v. 35, p. 475-484, 2011.
- CONSOLI, F. L.; VINSON, S. B. Host regulation and the embryonic development of the endoparasitoid *Toxoneuron nigriceps* (Hymenoptera: Braconidae). **Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology**, v. 137, p. 463-473, 2004.
- COSTA, E. M. et al. Determination of damaged leaf area and physiological responses of melon plants submitted to different infestation levels of *Liriomyza sativae*. **Horticultura Brasileira**, v. 35, p. 571-575, 2017.
- COSTA-LIMA, T. C.; CHAGAS, M. C. M.; PARRA, J. R. P. Comparing potential asbiocontrol agents of two Neotropical parasitoids of *Liriomyza sativae*. **Neotropical Entomology**, v. 48, p. 660-667, 2019.

- FERNANDES, D. R. R. **Inimigos naturais presentes na cultura do meloeiro e sua associação com a mosca minadora *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) na região de Mossoró/Assu.** 2006. 59f. Monografia (Graduação em Agronomia) - UFERSA, Mossoró, 2006.
- FERNANDES, E. et al. Development and morphological characterization of the immature stages of *Tetrastichus giffardianus* Silvestri (Hymenoptera: Eulophidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 63, p. 262–267, 2019.
- GENTZ, M. C.; MURDOCH, G.; KING, G. F. Tandem use of selective insecticides and natural enemies for effective, reduced-risk pest management. **Biological Control**, v. 52, p. 208-215, 2010.
- GUANTAI, M. M. et al. Differential effects of pesticide applications on *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) and its parasitoids on pea in Central Kenya. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, p. 662–671, 2015.
- GUIMARÃES, J. A. et al. **Biologia e manejo de mosca minadora no meloeiro.** 2009, p. 1–9.
- GULLAN, P.; CRANSTON, P. **Insetos: Fundamentos da Entomologia.** Rio de Janeiro: Editora Roca, 2017.
- HARVEY, J. A. et al. Intrinsic competition between two secondary hyperparasitoids results in temporal trophic switch. **Oikos**, v. 120, p. 226–233, 2011.
- HARVEY, J. A.; POELMAN, E. H.; TANAKA, T. Intrinsic inter-and intraspecific competition in parasitoid wasps. **Annual Review of Entomology**, v. 58, p. 333–351, 2013.
- JOHNSON, M. W.; OATMAN, E. R.; WYMAN, J. A. Effects of insecticides on populations of the vegetable leafminer and associated parasites on Fall Pole tomatoes1. **Journal of Economic Entomology**, v. 73, p. 67–71, 1980.
- LIMA, A. C. C. et al. Diagnóstico sobre o uso do MIP nas principais áreas produtoras de melão dos Estados do Rio Grande do Norte e Ceará. **Revista Agro@Mambiente on-Line**, v. 6, p. 172, 2012.
- LIU, T. X. et al. Biological control of *Liriomyza* leafminers: Progress and perspective. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, 2009. v. 4.
- LIU, T.; KANG, L.; LEI, Z.; HERNANDEZ, R. Hymenopteran parasitoids and their role in biological control of vegetable *Liriomyza* leafminers. In: **Recent Advances in Entomological Research**, p. 376-403, 2011.
- LORINI, I.; FOERSTER, L. A. Flutuação populacional e parasitismo de *Liriomyza sativae* Blanchard, 1938 (Diptera Agromyzidae) na cultura do pepino (*Cucumis sativus* L.). **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, v. 14, p. 243-249, 1985.
- MARCHIORI, C. H. et al. Parasitoides da subfamília Eucoilinae (Hymenoptera: Cynipoidea: Figitidae) coletados em um remanescente de mata de cerrado em Itumbiara, GO. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 68, p. 65–67, 2001.

- MARCHIORI, C. H. et al. Parasitoid Eucoilinae (Hymenoptera: Cynipoidea: Figitidae) from Itumbiara-GO, Arapora-MG, and Lavras-MG collected by malaise trap. **Bioscience Journal**, v. 20, p. 93–95, 2004.
- MARQUES, C. E. M. et al. Evaluation of *Ferrisia dasyliirii* (Cockerell) (Hemiptera: Pseudococcidae) and non-prey foods on the development, reproduction, and survival of *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae). **Coleopterists Bulletin**, v. 69, p. 343–348, 2015.
- MATSUDA, K.; SAITO, T. Insecticide susceptibility and carboxylesterase activity in leafminers (Diptera: Agromyzidae) and their associated hymenopteran parasitoids. **Crop Protection**, v. 55, p. 50–54, 2014.
- MUJICA, N.; KROSCHER, J. Leafminer fly (Diptera: Agromyzidae) occurrence, distribution, and parasitoid associations in field and vegetable crops along the Peruvian coast. **Environmental Entomology**, v. 40, p. 217-230, 2011.
- OVRUSKI, S. M. Immature stages of *Aganaspis pelleranoi* (Brethes) (Hymenoptera: cynipoidea: Eucoilidae), a parasitoid of *Ceratitis capitata* (Wied.) and *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae). **Journal of Hymenoptera Research**, v. 3, p. 233-239, 1994.
- PARRA, J. R. P. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. Editora Manole Ltda, 2002.
- PARRA, J. R.; HADDAD, M. L. **Determinação do número de instares de insetos**. Piracicaba, Fealq, 1989.
- PARRELLA, M. P.; ROBB, K. L.; BETHKE, J. Oviposition and pupation of *Liriomyza trifolii*. In: **Proceedings IFAS–Indian Conference of Biological Control. Liriomyza leaf miner**, v. 87, p. 50-55, 1981.
- PARRELLA, M. P. Biology of *Liriomyza*. **Annual Review of Entomology**, v. 32, p. 201- 224, 1987.
- PARRELLA, M. P.; KEIL, C. B.; MORSE, J. G. Insecticide resistance in *Liriomyza trifolii* [Leafminer, chrysanthemums]. **California Agriculture California Agricultural Experiment Station**, 1984.
- QUICKE, Donald L. J. **Biology, systematics, evolution and ecology of braconid and ichneumonid parasitoid wasps**. Wiley Blackwell, 2015.
- RIDLAND, P. M. et al. Potential for biological control of the vegetable leafminer, *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae), in Australia with parasitoid wasps. **Austral Entomology**, v. 59, p. 16–36, 2020.
- ROUBOS, C. R.; RODRIGUEZ-SAONA; C.; ISAACS, R.; Mitigating the effects of insecticides on arthropod biological control at field and landscape scales. **Biological control**, v. 75, p. 28-38, 2014.
- SKUHROVEC, J.; BOGUSCH, P. The morphology of the immature stages of *Metadonus vuillefroyanus* (Capiomont, 1868) (Coleoptera, Curculionidae, Hyperini) and notes on its biology. **ZooKeys**, v. 37, p. 123, 2016.
- SOUSA, V. R. D.; PAIVA, P. C. D.; TAKIYA, D. M.; DIAS-PINI, N. D. S.; COURI, M. S. Effects of climate, seasonality, and parasitoid abundance on *Liriomyza* Mik (Diptera:

Agromyzidae) populations on important crops in Northeastern Brazil. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 111, p. e2021001, 2021.

TORMOS, J. et al. Development, preimaginal phases and adult sensillar equipment in *Aganaspis* parasitoids (Hymenoptera: Figitidae) of fruit flies. **Microscopy and Microanalysis**, v. 19, p. 1475–1489, 2013.

VAN LENTEREN, J. C.; ALOMAR, O.; RAVENSBERG, W. J.; URBANEJA, A. Biological control agents for control of pests in greenhouses. Integrated pest and disease management in greenhouse crops. **Springer**, v. 9, p. 409-439, 2020.

XU, P. et al. Immature morphology and development of *Opius caricivora* (Hymenoptera: Braconidae), an endoparasitoid of the leafminer *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 100, p. 425–432, 2007.

YADAV, C.; YACK, J. E. Immature stages of the masked birch caterpillar, *drepana arcuata* (Lepidoptera: Drepanidae) with comments on feeding and shelter building. **Journal of Insect Science**, v. 18, p. 1–9, 2018.

YU, R. X. et al. Immature development of *Cotesia vestalis* (Hymenoptera: Braconidae), an endoparasitoid of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 101, p. 189–196, 2008.