

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

PARASITISMO E RESPOSTAS QUIMIOTÁXICAS DE *Anisopteromalus calandrae*  
(Howard) (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE) EM *Lasioderma serricorne*  
(Fabricius) (COLEOPTERA: PTINIDAE)

Eduarda Bender  
Licenciada em Ciências Biológicas/UNISC

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

Porto Alegre (RS), Brasil  
Março de 2019

CIP - Catalogação na Publicação

Bender, Eduarda  
PARASITISMO E RESPOSTAS QUIMIOTÁXICAS DE  
Anisopteromalus calandrae (Howard) (HYMENOPTERA:  
PTEROMALIDAE) EM Lasioderma serricorne (Fabricius)  
(COLEOPTERA: PTINIDAE) / Eduarda Bender. -- 2019.  
75 f.  
Orientadora: Simone Mundstock Jahnke.

Coorientador: Andreas Köhler.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de  
Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS,  
2019.

1. Parasitismo. 2. Respostas quimiotáxicas. 3.  
Estágios de Desenvolvimento. 4. Dieta. 5. Condição  
Fisiológica. I. Mundstock Jahnke, Simone, orient. II.  
Köhler, Andreas, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os  
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

EDUARDA BENDER  
Ciências Biológicas - Licenciatura  
UNISC

## **DISSERTAÇÃO**

Submetida como parte dos requisitos  
para obtenção do Grau de

### **MESTRE EM FITOTECNIA**

Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia  
Faculdade de Agronomia  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 08.03.2019  
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 14.05.2019  
Por

SIMONE MUNDSTOCK JAHNKE  
Orientadora - PPG Fitotecnia  
UFRGS

CHRISTIAN BREDEMEIER  
Coordenador do Programa de  
Pós-Graduação em Fitotecnia

ANDREAS KOHLER  
Coorientador - UNISC/RS

LUIZA RODRIGUES REDAELLI  
PPG Fitotecnia/UFRGS

RAFAEL DA SILVA GONÇALVES  
PPG Entomologia/UFPel

ROBERTA TOGNON  
Porto Alegre/RS

CARLOS ALBERTO BISSANI  
Diretor da Faculdade de  
Agronomia

## AGRADECIMENTOS

Quisera eu ser capaz de agradecer o suficiente a todas as pessoas que, de algum modo, contribuíram para a realização desta dissertação de mestrado. Primeiramente, sou grata a Deus, por guiar meus passos e me abençoar em todos os momentos da minha vida, me dando força e sabedoria.

Sou igualmente grata a minha família, especialmente aos meus pais Milton e Marilene, por todo o carinho e apoio, por entenderem a minha ausência durante todos esses anos longe de casa. Por muitas vezes terem deixado de realizar os seus sonhos em favor dos meus. Muito obrigada. Amo vocês!

Ao meu amigo, namorado, noivo Marcos Affonso, por ser uma pessoa especial, por sempre me apoiar e aconselhar. E por todo o amor concedido.

A minha orientadora Prof.<sup>a</sup> Dra. Simone M. Jahnke, por todo o apoio e suporte, por estar presente e participar no desenvolvimento do presente trabalho. Além de aguentar todos os e-mails dos momentos de nervosismo e desespero. De coração, muito obrigada. Tenho muita admiração pela pessoa e profissional que tu és.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Andreas Kohler, por todas as oportunidades a mim concedidas desde a minha graduação, pelo incentivo e paciência até aqui. Muito obrigada, de coração.

A minha amiga Kássia Zilch, por todas as trocas, pelo companheirismo, amizade e por me segurar para não mandar e-mail desesperado para a Prof.<sup>a</sup> Simone. Obrigada por tanto. Ao meu amigo Cleder Pezzini, pela paciência, pelos muitos conhecimentos compartilhados e por essa grande amizade. Grazie Mille!

Aos meus eternos amigos do Laboratório de Entomologia da Unisc, Karine Erath, Tuanne Carvalho, Veronica Rasquinha, Eduarda Brandt, Helena Jordan, Luisa Naue, Danieli Breuning, Regis Bohn, Sheila Puntel, Heloísa Suelen Reis, Thaís da Silva, Raquel

Figueiredo, José Ricardo Assmann Lemes, Marina Rauber e Evelise Fritisch por todos os momentos de descontração, mas também de trabalho duro. Obrigada pela amizade.

Aos amigos do Laboratório de Controle Biológico de Insetos da UFRGS, em especial à Viviane Pretz, Roberta Rohr, Thiara Ramirez, Jéssica Ckless Pereira, Suelen Godoy, por toda a convivência, troca de conhecimento e amizade. Obrigada pessoal.

As meninas da famosa pensão BBBerna em especial, à Danieli Dallemole, Naele Fagundes, Siani Custódio, Juliana Dalcin, Priscila Araújo, Bianca Nogueira, Carla Meneguetti, Paula Nicolay, por serem minha segunda família em Santa Cruz do Sul, pelos chimarrões, almoços, risadas e pela amizade durante todos esses anos. Vocês sempre terão um lugarzinho no meu coração. Muito obrigada! Grata às minhas amigas de “Old Star”, Stella Spanevello, Emanuela Somavilla e Ana Paula Lyra, por todos esses anos de amizade, por sempre torcerem por mim mesmo de longe e por acreditarem no meu potencial. Adoro vocês! Obrigada por tudo.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pelo ensino oferecido e possibilidade de construção de conhecimento de qualidade.

À empresa *Japan Tobacco International* (JTI) pelo suporte financeiro do projeto.

Ao CNPq pelo financiamento da minha bolsa de mestrado, essencial para o desenvolvimento de pesquisas neste país. Espero que possa ter retribuído aos incentivos com trabalho de relevância social e ambiental.

A banca examinadora, Prof.<sup>a</sup> Dra. Luiza R. Redaelli, Prof.<sup>a</sup> Dra. Roberta Tognon e Prof. Dr. Rafael da Silva Gonçalves, pela disponibilidade e pelas correções realizadas.

E para que não ocorra erro de esquecimento, agradeço a todos que fizeram parte da minha formação acadêmica e participaram da construção da pessoa que sou. Obrigada!

**PARASITISMO E RESPOSTAS QUIMIOTÁXICAS DE *Anisopteromalus calandrae* (Howard) (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE) EM *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (COLEOPTERA: PTINIDAE)<sup>1</sup>**

Autora: Eduarda Bender  
Orientadora: Simone Mundstock Jahnke  
Coorientador: Andreas Köhler

**RESUMO**

O uso de himenópteros parasitoides para controlar insetos praga no armazenamento, principalmente de tabaco, é uma das alternativas viáveis para reduzir o uso de compostos químicos. O ectoparasitoide *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hymenoptera: Pteromalidae) tem se destacado como agente de biocontrole de larvas e pupas de coleópteros como o bicho-do-fumo, *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1872) (Coleoptera: Ptinidae). Objetivou-se (a) avaliar a influência do estágio de desenvolvimento de *L. serricorne* (larva e pupa) (com formação de casulo) e da dieta hospedeiro no parasitismo de *A. calandrae* e, (b) verificar as respostas quimiotáxicas de *A. calandrae* comparando o estado fisiológico de fêmeas e machos e a experiência das fêmeas, aos dois estágios, na presença ou ausência da dieta do hospedeiro. Os bioensaios foram realizados em condições controladas ( $28 \pm 2$  °C,  $60 \pm 10\%$  UR e fotofase de 12 h). Para avaliar o parasitismo, razão sexual e emergência da prole, 30 larvas de último ínstar e pupas (com formação de casulo) de *L. serricorne* (com e sem dieta) foram expostas a casais e a fêmeas virgens permanecendo em contato até a sua morte ( $\pm 11$  dias). As respostas quimiotáxicas de indivíduos de *A. calandrae* com idade entre 2 - 4 dias foram avaliadas em olfatômetro tipo “Y”. Fêmeas virgens e pareadas (sem e com experiência prévia de parasitismo) foram expostas as larvas de último ínstar contrastadas com pupas de *L. serricorne* (ambas com formação de casulo) e à dieta do hospedeiro. Machos virgens e pareados foram testados somente quanto à dieta. Como controle, utilizou-se apenas ar. Os maiores valores de emergência e parasitismo médio foram obtidos nas larvas (com e sem dieta), tanto para virgens como pareadas. O tratamento “pupa sem dieta” foi o que apresentou menor razão sexual ( $p < 0,05$ ). O percentual de resposta quimiotáxica foi maior ( $p < 0,05$ ) para qualquer um dos tratamentos avaliados em relação ao controle (ar), variando de 90 a 97,5%, para ambos os sexos e estados fisiológicos. Quando larvas e pupas de *L. serricorne* foram contrastados entre si, nos tratamentos com dieta, as larvas apresentaram maior atratividade (70%), nos tratamentos sem dieta, fêmeas virgens e pareadas sem experiência responderam de forma igual para ambos os estágios. Fêmeas com experiência foram responsivas ao estágio de desenvolvimento no qual tiveram contato previamente, em todos os tratamentos avaliados.

---

<sup>1</sup> Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (75f.) Março, 2019

**PARASITISM AND CHEMIOTAXIC RESPONSES OF *Anisopteromalus calandrae* (Howard) (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE) IN *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (COLEOPTERA: PTINIDAE)<sup>1</sup>**

Authora: Eduarda Bender  
Adviser: Simone Mundstock Jahnke  
Co-adviser: Andreas Köhler

**ABSTRACT**

The use of hymenopteran parasitoid to control insect pests in storage, especially of tobacco, is one of the viable alternatives to reduce the use of chemical compounds. The ectoparasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hymenoptera: Pteromalidae) has been prominent as a biocontrol agent of coleoptera larvae and pupae as the tobacco beetle, *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1872) (Coleoptera: Ptinidae). This study aimed to (a) evaluate the influence of the development stage (larvae and pupae) (with cocoon formation) and diet of *L. serricorne* on parasitism of *A. calandrae* (b) verify the chemotaxic responses of *A. calandrae* comparing the physiological state of the females and males and the experience of females to stages (larvae and pupae) in the presence or absence of the host diet. The bioassays were performed under controlled conditions ( $28 \pm 2$  °C,  $60 \pm 10\%$  RH and 12 h photophase). To evaluate the parasitism, sex ratio and emergence of the offspring, 30 larvae of last instar and pupae (with cocoon formation) of *L. serricorne* (with and without an increased diet) were exposed to couples and to virgins females, remained in contact until their death ( $\pm 11$  days). The chemotaxic responses of *A. calandrae* individuals aged 2 - 4 days were evaluated in a "Y" type olfactometer. Virgen and paired females (without and with previous experience of parasitism) were exposed to larvae of last instar contrasted with pupae of *L. serricorne* (both with cocoon formation) and to the diet of the host. Both virgin and matched males were tested only for diet. As control, only air was used. The highest values of emergence and average parasitism were obtained in larvae (with and without diet), for both virgin and paired, indicating a preference for this stage of development. The "pupae without diet" treatment presented the lowest sex ratio ( $p < 0,05$ ). The percentage of chemotaxic response was higher ( $p < 0,05$ ) for any of the treatments evaluated in relation to the control (air), ranging from 90 to 97.5%, for both sexes and physiological states. When larvae and pupae *L. serricorne* were compared to each other, the larvae showed higher attractiveness (70%) in the diet treatments. In the treatments without diet, virgin and paired females without experience responded equally for both stages. Experienced females were responsive to the stage of development in which they had previous contact in all treatments evaluated.

---

<sup>1</sup> Master Dissertation in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (75p.) March, 2019

## SUMÁRIO

|  | Página |
|--|--------|
| 1 INTRODUÇÃO .....   | 1      |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....   | 3      |
| 2.1 Cultura do tabaco: armazenamento e pragas associadas .....   | 3      |
| 2.2 <i>Lasioderma serricorne</i> (Fabricius, 1792) .....   | 5      |
| 2.3 Hymenoptera parasítica: <i>Anisopteromalus calandrae</i> (Howard, 1881) .....  | 9      |
| 2.4 Comunicação química dos parasitoides .....   | 13     |
| 2.5 Referências.....   | 17     |
| 3 ARTIGO 1 – Influência do estágio de desenvolvimento e da dieta de <i>Lasioderma serricorne</i> (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Ptinidae) no parasitismo de <i>Anisopteromalus calandrae</i> (Howard, 1881) (Hymenoptera: Pteromalidae)* ..... | 23     |
| Abstract.....  | 24     |
| Resumo.....  | 25     |
| Introdução.....  | 27     |
| Material e métodos.....  | 29     |
| Resultados .....   | 31     |
| Discussão .....  | 33     |
| Agradecimentos .....   | 36     |
| Referências.....   | 36     |
| 4 ARTIGO 2 – Chemotaxic Responses of <i>Anisopteromalus calandrae</i> Howard (Hymenoptera: Pteromalidae) to Odors of Larvae, Pupae and the Diet of <i>L. serricorne</i> * .....  | 42     |
| Abstract.....  | 44     |
| Introduction.....  | 45     |
| Material and methods.....  | 47     |
| Results .....  | 50     |
| Discussion .....   | 51     |
| Acknowledgment .....   | 55     |
| Author Contribution Statement.....   | 55     |
| References.....  | 55     |
| 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....  | 64     |

## RELAÇÃO DE TABELAS

|  | Página |
|--|--------|
| ARTIGO 1   |        |
| I. Número médio ( $\pm$ DP) de <i>Lasioderma serricorne</i> emergidos nas testemunhas (sem a presença de parasitoides) e nos tratamentos (com parasitoides) para fêmeas virgens ou pareadas .....  | 40     |
| II. Número médio de adultos ( $\pm$ DP) e parasitismo médio (%) (emergidos + dissecados) de <i>Anisopteromalus calandrae</i> de acordo com o estágio de desenvolvimento do hospedeiro e, na presença ou ausência da dieta.....                           | 40     |
| ARTIGO 2   |        |
| Table 1. Combinations of contrasts tested as to attractiveness for <i>Anisopteromalus calandrae</i> females and males accommodated at each end of the olfactometer arms. Larvae and pupae of <i>Lasioderma serricorne</i> , both inside the cocoon ..... | 58     |

## RELAÇÃO DE FIGURAS

|  | Página |
|--|--------|
| REVISÃO BIBLIOGRÁFICA  |        |
| 1. Larva, pupa e adulto de <i>Lasioderma serricorne</i> .....  | 8      |
| 2. Macho (A) e fêmea (B) de <i>Anisopteromalus calandrae</i> .....   | 11     |
| ARTIGO 1   |        |
| 1. Número de machos e fêmeas de <i>Anisopteromalus calandrae</i> emergidos nos tratamentos (L) larvas, (LD) larvas com dieta, (P) pupas e (PD) pupas com dieta. Letras minúsculas diferentes sobre as barras de cada tratamento diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de $\chi^2$ de heterogeneidade. Números dentro das barras indicam a proporção de machos e fêmeas nos tratamentos....  | 41     |
| ARTIGO 2   |        |
| 1. Percentage of chemotaxic responses of virgin and paired males of <i>Anisopteromalus calandrae</i> to the diet (flour + yeast + tobacco, tested in a double – choice olfactometer. Numbers in the columns represent the number of insects responsive to treatments. NR = number of non-responsive insects. Values followed by an asterisk differ from the control ( $p < 0.05$ ).....  | 60     |
| 2. Percentage of chemotaxic responses of virgin females of <i>Anisopteromalus calandrae</i> to larvae and pupae of <i>Lasioderma serricorne</i> (with and without diet) and the diet of the host, tested in a double – choice olfactometer. Numbers in the columns represent the number of insects responsive to treatments. NR = number of non-responsive insects. Values followed by an asterisk differ from the control ( $p < 0.05$ ).....                                       | 60     |
| 3. Percentage of chemotaxic responses of paired females (without experience of parasitism) of <i>Anisopteromalus calandrae</i> to larvae and pupae of <i>Lasioderma serricorne</i> (with and without diet) and the diet of the host, tested in a double – choice olfactometer Numbers in the columns represent the number of insects responsive to treatments. NR = number of non-responsive insects. Values followed by an asterisk differ from the control ( $p < 0.05$ ).....     | 61     |
| 4. Percentage of chemotaxic responses of paired females of <i>Anisopteromalus calandrae</i> (with experience of parasitism in larvae and pupae) to larvae and pupae of <i>Lasioderma serricorne</i> (with and without diet) of the host tested in a double – choice olfactometer. Numbers in the columns represent the number of insects responsive to treatments. NR = number of non-responsive insects. Values followed by an asterisk differ from the control ( $p < 0.05$ )..... | 61     |

5. Percentage of chemotaxic responses of virgin and paired females of *Anisopteromalus calandrae* (without and with experience in larvae of *Lasioderma serricorne*) to larvae or diet (flour + yeast + tobacco), tested in a double – choice olfactometer. Numbers in the columns represent the number of insects responsive to treatments. NR = number of non-responsive insects. Values followed by an asterisk differ from the treatment ( $p < 0.05$ )..... 62
6. Percentage of chemotaxic responses of virgin and paired females of *Anisopteromalus calandrae* (without and with experience in pupae of *Lasioderma serricorne*) to pupae or diet (flour + yeast + tobacco), tested in a double – choice olfactometer. Numbers in the columns represent the number of insects responsive to treatments. NR = number of non-responsive insects. Values followed by an asterisk differ from the treatment ( $p < 0.05$ )..... 62
7. Percentage of chemotaxic responses of virgin and paired females of *Anisopteromalus calandrae* (without and with experience in larvae and pupae of *Lasioderma serricorne* without diet), tested in a double – choice olfactometer. Numbers in the columns represent the number of insects responsive to treatments. NR = number of non-responsive insects. Values followed by an asterisk differ from the treatment ( $p < 0.05$ )..... 63
8. Percentage of chemotaxic responses of virgin and paired females of *Anisopteromalus calandrae* (without and with experience in larvae and pupae of *Lasioderma serricorne* with diet), tested in a double – choice olfactometer. Numbers in the columns represent the number of insects responsive to treatments. NR = number of non-responsive insects. Values followed by an asterisk differ from the treatment ( $p < 0.05$ )..... 63

## 1 INTRODUÇÃO

Durante o processo de armazenamento de produtos agrícolas, podem ocorrer perdas, mesmo com tecnologias disponíveis neste meio. Nesta etapa, os produtos e subprodutos estão sujeitos a fatores externos os quais podem ser físicos, como temperatura e umidade, químicos, como a quantidade de oxigênio ou outros gases, e biológicos, como bactérias, fungos, roedores e insetos.

A entomofauna presente nos ambientes de armazenamento é praticamente cosmopolita, provocando altos índices de prejuízo. Insetos praga como as traças *Plodia interpunctella* (Hubner, 1813), *Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) e o besouro *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Ptinidae), dentre outros, são conhecidos por infestar produtos armazenados *in natura* ou processados como grãos, fumo, farelos, farinhas, café e especiarias, causando a depreciação e deterioração dos mesmos.

A medida de controle predominantemente utilizada é a aplicação de inseticidas sintéticos, devido a rapidez de ação e baixo custo. Todavia, o uso de forma indiscriminada desses compostos químicos tem ocasionado sérios problemas, tais como elevação dos custos de produção, diminuição das populações de inimigos naturais, resistência das pragas aos princípios ativos, resíduos tóxicos no meio ambiente e nos alimentos e, ainda, efeitos danosos ao homem.

Dessa forma, o controle biológico apresenta-se como uma alternativa promissora para substituição de técnicas tão agressivas ao meio ambiente e à saúde humana. Por conta disso, diversos agentes naturais vêm sendo estudados para atuar no controle de insetos praga em produtos armazenados, com destaque o parasitoide *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hymenoptera: Pteromalidae), que é conhecido por parasitar larvas e pupas de diversas espécies de coleópteros praga em armazenagem, como por exemplo, ambientes de armazenamento de tabaco.

Entretanto, o sucesso no uso desses inimigos naturais em programas de controle biológico nos ambientes de armazenamento está diretamente relacionado a uma série de aspectos que interferem na interação hospedeiro-parasitoide. Pode-se citar os voláteis liberados pelo alimento e/ou pelo próprio hospedeiro e a questão da experiência prévia no comportamento de busca pelas espécies alvos, que possivelmente refletem no desempenho reprodutivo dos parasitoides.

Neste contexto, estudos que avaliem os aspectos da bioecologia e comportamento dos parasitoides são fundamentais para o desenvolvimento e aprimoramento de técnicas para utilizar esses agentes nos ambientes de armazenamento e, em culturas agrícolas. Deste modo, objetivou-se (a) avaliar a influência do estágio de desenvolvimento (larva e pupa) (com formação de casulo) e da dieta de *L. serricornis* no parasitismo de *A. calandrae* e, (b) avaliar as respostas quimiotáticas de *A. calandrae* sem e com experiência às larvas e pupas de *L. serricornis* na presença ou na ausência da dieta do hospedeiro.

O presente estudo traz resultados sobre o parasitismo de *A. calandrae* em larvas e pupas de *L. serricornis*, além de registrar a mudança de comportamento desse parasitoide por meio da experiência prévia de oviposição em dois estágios de desenvolvimento do hospedeiro.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Cultura do tabaco: armazenamento e pragas associadas

O tabaco é um produto agrícola proveniente do processamento das folhas de *Nicotiana tabacum* L. (1753) pertencente à família Solanaceae (Oliveira & Costa, 2012). A planta apresenta a altura entre 0,90 e 1,5 m dependendo da variedade, as folhas são elípticas ou oblanceoladas, com flores agrupadas ao final dos ramos, possuindo um cálice cilíndrico, esverdeado ou avermelhado na parte superior e os frutos com formas diferentes, apresentam sementes globulares (Landoni, 1993). Existem muitas espécies de tabaco, todas nativas das Américas (Landoni, 1993; Moraes, 2012).

A cultura do tabaco possui grande importância econômica, devido à alta rentabilidade e a capacidade de empregar um grande número de pessoas, nas diferentes etapas de produção e processamento (Specht *et al.*, 2006). Os principais países produtores de tabaco são China, Brasil, Índia e Estados Unidos e o consumo do mesmo está distribuído em todos os países do mundo (Vencato *et al.*, 2011). No Brasil, é cultivado principalmente na Região Sul a qual concentra 96% da produção nacional e o restante na Região Nordeste (Abifumo, 2012).

Após a colheita, nas propriedades rurais, as folhas passam pelo processo de cura, que pode ser feita de duas formas: em estufas, durante um período de quatro a cinco dias com temperatura e umidade controlada e/ou em galpões, mantidos em suspensão em torno de 40 dias, expostos a condições naturais até atingirem o ponto desejado. Posteriormente,

os produtores fazem a classificação das folhas, que são agrupadas em maços e estes, são acondicionados em fardos de aproximadamente 90 cm de comprimento por 60 cm de largura e 40 cm de altura. Os fardos já prontos, são armazenados nos paióis até o momento da comercialização (Souza Cruz, 2010 ; Carvalho *et al.*, 2014).

Nas empresas fumageiras, os fardos são abertos e, com o auxílio de debulhadores, é realizado a separação das folhas e dos talos, obtendo assim, pedaços de lâminas e talos maiores, em seguida são passados separadamente pelos secadores que garantem a umidade ideal do produto. O embalamento é realizado em caixas específicas e o fumo é encaminhado para as fábricas visando produções de derivados ou a exportação. Dessa forma, o produto apresenta considerável tempo de armazenamento, seja na forma inicial, em folhas acondicionadas em fardos, ou em forma de produtos manufaturados, como cigarros e charutos (Souza Cruz, 2010 ; Carvalho *et al.*, 2014).

Nas etapas de secagem e armazenamento do produto na propriedade rural (fornos e galpões) e, posteriormente, nas empresas fumageiras que beneficiam e exportam o produto, ocorrem danos por pragas que podem causar grandes prejuízos (Guedes & Costa, 2006) e, são consideradas severas (Lorini, 2008), ou seja, sua densidade populacional está sempre acima do nível de dano econômico (Parra *et al.*, 2002). Dentre estas, os insetos destacam-se como um dos mais importantes agentes responsáveis por perdas e desvalorização de produtos e subprodutos (Faroni *et al.*, 1995).

Para o tabaco armazenado as mais importantes, são o besouro *L. serricorne* e as traças *Ephestia elutella* (Hübner, 1796) e *E. kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) (Guedes & Costa, 2006). As três espécies reduzem a produtividade, pois as larvas se alimentam das folhas, além de formar extensas galerias nos fardos de tabaco (Carvalho, Pereira & Mexia, 2003 ; Saglam, Edde & Phillips, 2015). As larvas das traças podem, ainda durante a formação do casulo, deixar fios de seda por onde se locomovem, resultando em teias

nas quais se acumulam restos de alimentos e excreções nos produtos armazenados (Athié & Paula, 2002 ; Saglam, Edde & Phillips, 2015).

O alto grau de proliferação destas e de outras pragas nos ambientes de armazenagem de tabaco, deve-se a uma série de características peculiares tais como alto potencial biótico, habilidade de sobreviver em ambientes secos e escuros, a polifagia (capacidade para atacar diversos produtos e seus derivados) (Faroni & Silva, 2008). Estima-se que os danos mundiais causados por pragas no tabaco armazenado atinjam 2 a 3% do valor da sua produção, correspondendo cerca de 300 milhões de dólares (Carvalho, Pereira & Mexia, 2003).

## **2.2 *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792)**

*Lasioderma serricorne* é um coleóptero da família Ptinidae, conhecida como o bicho-do-fumo ou caruncho-do-fumo (Athié & Paula, 2002). Embora o nome popular se refira ao tabaco, segundo Athié & Paula (2002) e Loeck (2002) diversos produtos armazenados são fontes de alimentação para a espécie, como os de origem animal (couro e seda), oleaginosas, cereais, grãos de cacau, farinhas, especiarias e tabaco seco *in natura* ou processado (charutos e cigarros), sendo considerado um inseto generalista. Além disso, tem sido constatado, com certa frequência, em soja armazenada, causando sérios prejuízos aos produtores, afetando a qualidade do produto e comprometendo o comércio dos mesmos (Lorini, 2012). Segundo o mesmo autor, não ataca plantas vivas. O primeiro registro de sua associação com o tabaco armazenado é datado em 1848 em Paris (Runner, 1919).

Essa é uma espécie cosmopolita, que pode ser encontrada nas regiões tropicais, subtropicais e temperadas do mundo, comumente transportada de um país para outro por meio do comércio, especialmente de tabaco (Loeck, 2002). No Brasil apresenta uma

ampla distribuição geográfica, tendo registro em vários estados produtores de cereais e oleaginosas, como a soja (Lorini *et al.*, 2010).

Apontada com uma praga primária externa, no tabaco armazenado, a origem das infestações nos armazéns das empresas é o fumo recebido do produtor com a presença da espécie, sendo os principais danos causados pelas larvas devido principalmente à alimentação das folhas secas. Já os adultos causam danos indiretos, perfurando as embalagens após o processamento (Howe, 1957). Além desses, existe a contaminação por meio de fragmentos e excrementos dos insetos, podendo tornar o produto inapropriado para o consumo (Mahroof & Phillips, 2007). Em cereais, em geral, esta espécie fura o grão ou semente para se alimentar, a semente perde peso e o furo vira uma porta de entrada para os microorganismos, representando um sério problema para a indústria (Lorini *et al.*, 2015). Apesar dos danos causados durante o armazenamento serem elevados, é difícil quantificá-los, sendo que em culturas como soja, essas perdas podem variar de 2 a 10% (Lorini *et al.*, 2010).

As fêmeas de *L. serricorne* realizam a postura isoladamente próximo ou no meio do alimento (produtos) (Loeck, 2002). No tabaco, as fêmeas colocam seu ovos em pequenas fendas nos fardos ou nos charutos (Lorini *et al.*, 2015). O ovos medem cerca de 0,2 - 0,4 mm de comprimento e 0,2 mm de largura. Quando colocados apresentam forma oval, são opacos ou brancos, tornando-se amarelo fosco pouco antes da eclosão (Campbell, Mullen & Dowdy, 2002). A casca do ovo serve de alimento para as larvas (Campbell, Mullen & Dowdy, 2002). Em média, as fêmeas colocam de 40 a 50 ovos por dia, em condições ótimas de temperatura, os quais podem eclodir em 5 a 6 dias a 35 °C e aproximadamente 22 dias a 22 °C (Velasquez & Trivelli, 1983).

As larvas passam por quatro ínstares e, no último, chegam a medir 4,5 mm de comprimento (Athié & Paula, 2002). A sua coloração, nos primeiros ínstares, é branco-

leitosa e são recobertas de pelos finos (Athié & Paula, 2002). São do tipo escarabeiforme com cabeça proeminente não retraída para dentro do protórax, com corpo robusto, acentuadamente curvado (Collier, 1981). Estas são muito ativas desde o primeiro ínstar e abrem galerias nos produtos alimentando-se de extensas áreas (Campbell, Mullen & Dowdy, 2002). A fase larval dura em torno de 20 dias e, no momento de empupar quando as larvas estão no último ínstar, as mesmas tecem um casulo construído a partir do material alimentar onde se encontram associado a secreções produzidas pelo intestino médio, permanecendo nesse casulo até a emergência (Howe, 1957).

As pupas dentro do casulo inicialmente apresentam coloração branca, assumindo gradualmente a coloração parda, medindo cerca de 4,0 mm de comprimento (Halstead, 1963). Durante essa fase é possível realizar a sexagem dessa praga por meio das papilas genitais, que são órgãos globulares e não se projetam nos machos, enquanto nas fêmeas são trissegmentados e distintamente divergentes (Halstead, 1963). A fase de pupa dura em média nove dias (Evans, 1981).

O inseto adulto permanece alguns dias no interior do casulo pupal antes de emergir (Evans, 1981), para endurecer e ficar sexualmente maduro, após emergir, apresenta o corpo ovalado com a coloração castanho-avermelhada recoberto por pelos claros, medindo cerca de 2 - 4 mm de comprimento, sendo as fêmeas sempre maiores que os machos (Figura 1).



FIGURA 1. Larva, pupa e adulto de *Lasioderma serricorne* (Fonte: Zilch, 2019)

O inseto completa seu ciclo em 35 dias e possui cerca de 3 a 11 gerações por ano (Howe, 1957). As antenas são serreadas e têm a mesma espessura da base à ponta, sendo usadas como uma característica de identificação da espécie. As mandíbulas são triangulares, com dois dentes apicais e nenhuma projeção molar (Collier, 1981; Gallo *et al.*, 2002). De modo geral, os adultos vivem em média 25 dias, dependendo das condições de criação e não se alimentam, apresentam uma boa capacidade de voo, evitando a luz e permanecendo escondidos em frestas (Evans, 1981).

O controle do bicho-do-fumo no tabaco armazenado, usualmente, é feito com a utilização de inseticidas químicos sintéticos, como a fumigação com o gás fosfeto de hidrogênio (PH<sup>3</sup>) (fosfina) nos galpões de empresas, que também pode ser usado para controlar outras pragas, como por exemplo, as traças (Coresta, 2013; Saglam, Edde & Phillips, 2015). Já para desinsetização nas paredes, frestas e pilares, são utilizados alguns piretroides como cipermetrina (Brasil, 2019). Nas propriedades rurais, o uso da fosfina não é permitido, por se tratar de ambientes que não são totalmente vedados, visto sua alta toxicidade e necessidade de uma pessoa capacitada para aplicação do produto (Coresta, 2013).

Neste cenário, o controle biológico com uso de parasitoides nos ambientes de armazenamento, deve ser entendido como uma medida de prevenção de pragas que poderá ser efetiva quando integrado com outras táticas de manejo disponíveis (Gonçalves, Faroni & Guedes, 2002).

### **2.3 Hymenoptera parasítica: *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881)**

A ordem Hymenoptera inclui o maior número de espécies com hábito parasítico, conhecidos como parasitoides (Triplehorn & Johnson, 2011). Espécies com esse hábito são organismos que provocam a morte de seus hospedeiros para completar o seu desenvolvimento e atuam como parasitas apenas no estágio larval, quando se desenvolvem em apenas um hospedeiro, tendo os adultos vida livre (Godfray, 1994). Com mais de 22.000 espécies descritas, Chalcidoidea é uma das maiores e mais diversas superfamílias dentro de Hymenoptera e está dividida em 19 famílias, sendo as principais: Eulophidae, Encyrtidae e Pteromalidae (Triplehorn & Johnson, 2011).

Pteromalidae inclui aproximadamente 3.100 espécies conhecidas, distribuídas por diversas regiões do mundo (Rafael *et al.*, 2012). Inclui parasitoides primários e secundários, espécies solitárias e gregárias, ectoparasitoides, endoparasitoides, coinobiontes e idiobiontes e, ainda, hiperparasitoides (Triplehorn & Johnson, 2011). As principais características dos indivíduos da família são a venação alar reduzida, antenas geralmente geniculadas que contém 13 artículos, pronoto um pouco quadrado que não atinge as tégulas e prepecto grande e exposto presente na lateral do mesossoma (Triplehorn & Johnson, 2011). As asas são totalmente desenvolvidas e os tarsos apresentam cinco segmentos, o metassoma é subpeciolado a distintamente peciolado e o ovipositor pode ser completamente oculto ou exposto, variando entre os indivíduos da família (Hanson & Heydon, 2006).

Os pteromalídeos são insetos pequenos, medindo cerca de 1,2 mm de comprimento, apresentando diferentes formas, sendo a maioria das espécies parasitoides (Rafael *et al.*, 2012). Os adultos são de vida livre e alimentam-se de mel, pólen e dos nutrientes absorvidos na fase imatura ou da hemolinfa durante o processo de oviposição (Menon, Flinn & Dover, 2002). De acordo com Godfray (1994), os pteromalídeos inserem o seu ovipositor na cavidade contendo o hospedeiro e um líquido viscoso é exsudado da ponta do ovipositor. O fluído forma uma fina camada ao redor do ovipositor que seca para formar um tubo, após, a fêmea estende o tubo até que ele toque a larva hospedeira, a hemolinfa sobe pelo tubo por ação capilar e assim a vespa se nutre, em seguida o ovipositor é retirado. Atacam ovos, larvas, pré pupas, pupas e raramente, adultos, sendo alguns representantes usados em programas de controle biológico como é o caso de *Lariophagus distinguendus* (Förster, 1841), *Theocolax elegans* (Westwood, 1874) e *A. calandrae* que são frequentemente encontrados atacando besouros praga de produtos armazenados (Hanson & Gauld, 1995).

O gênero *Anisopteromalus* (Howard) é fácil de ser reconhecido devido a uma combinação de caracteres, como antena das fêmeas com três anéis e machos com dois anéis, estrutura do propódio e a margem posterior estendida do primeiro tergito (Sureshan, 2010). Comumente ataca diferentes espécies praga dentre elas: *Sitophilus oryzae* L. (gorgulho-do-arroz), *S. granarius* L. (caruncho-celeiro), *S. zeamais* Motsch (gorgulho-do-milho) (Coleoptera: Curculionidae), *Ryzopertha dominica* Fabricius (broca-do-grão) (Coleoptera: Bostrichidae) e *L. serricornis* (Belda & Riudavets, 2010). Alguns registros deste gênero também são parasitas de duas famílias de lepidópteros, Plutellidae e Lymantriidae (Beccaloni *et al.*, 2003).

*Anisopteromalus calandrae* é um ectoparasitoide, idiobionte, possui preferência em atacar larvas em estágio avançado de desenvolvimento que permanecem dentro de um

casulo ou escondidas dentro do alimento do hospedeiro, como um grão, mas também pode atacar pupas (Steidle & Schöller, 1997; Menon, Flinn & Dover, 2002). A coloração do adulto pode variar de verde ou azul brilhante, a preta ou amarela (Hanson & Heydon, 2006) (Figura 2).



FIGURA 2. Macho (A) e fêmea (B) de *Anisopteromalus calandrae*

O parasitismo de *A. calandrae* acontece quando as fêmeas localizam o hospedeiro e paralisam-no, introduzindo o ovipositor no corpo da larva e injetando um veneno paralítico (Menon, Flinn & Dover, 2002). Esse comportamento tem a intenção de imobilizar as larvas e, em seguida, a fêmea pode pôr um único ovo sobre ela (Menon, Flinn & Dover, 2002). Os hospedeiros paralisados serão consumidos pela larva do parasitoide e normalmente apenas um parasitoide se desenvolve a partir de cada larva hospedeira (Arbogast & Mullen, 1990).

Ahmed (1996) em seu estudo, observou que a porcentagem de parasitismo de *A. calandrae* variou entre as espécies *R. dominica* (69,5%), *S. granarius* (43,3%), *Bruchus rufimanus* (Bohemann, 1833) (Coleoptera: Chrysomelidae) (30,1%), *Trogoderma granarium* (Everts, 1898) (Coleoptera: Dermestidae) (16,8%). Já Cline *et al.* (1985) avaliando o parasitismo de *A. calandrae* em *S. oryzae* em trigo espalhado, sacos de

algodão e sacos de aniagem, obtiveram um parasitismo de 76, 30,0 e 47,0%, respectivamente. Gredilha *et al.* (2006) registraram um parasitismo de 84,0% sobre *L. serricorne* em rações de animais. Zilch *et al.* (2017) avaliando diferentes tipos de dieta e densidades de larvas de *L. serricorne*, obtiveram um parasitismo variando de 92 a 96%, nas densidades maiores (50 e 10 larvas).

Para localizar as larvas hospedeiras e assim realizar o parasitismo, a fêmea de *A. calandrae* utiliza-se de pistas químicas, sinais visuais, vibracionais e táteis (Vinson, 1976; Menon, Flinn & Dover, 2002). Depois de detectar o hospedeiro, a fêmea faz uma punctura e decide se a larva é adequada para oviposição ou se ela será usada somente para nutrição (Belda & Riudavets, 2012). De acordo com Smith (1993), a escolha da larva determina o parasitismo, a fecundidade, o tempo de desenvolvimento, e a razão sexual da prole é feita com base em alguns fatores, como o tamanho da larva.

*Anisopteromalus calandrae* possui em média de 25 gerações por ano, com ciclo de vida de aproximadamente 13 a 15 dias nas temperaturas entre 24-28 °C, podendo haver variações no tempo de desenvolvimento em função da espécie hospedeira, tamanho e temperatura (Menon, Flinn & Dover, 2002). Um estudo realizado por Zilch *et al.* (2017) demonstrou que fêmeas de *A. calandrae* apresentaram, em média, 11 dias de vida, enquanto os machos vivem, em média, 9 dias. Uma fêmea coloca em torno de 271 a 450 ovos, durante toda a vida adulta (Gokhman, Fedina & Timokhov, 1999, Menon, Flinn & Dover, 2002), podendo haver variação nesses valores conforme as condições de criação. Além disso, colocam muitos ovos durante um longo período de tempo, sendo consideradas r-estrategistas (Sasakawa *et al.*, 2013).

Vários estudos foram realizados avaliando uma ampla variedade de aspectos de *A. calandrae*, como o impacto de produtos químicos, história de vida e comportamento,

incluindo aprendizagem e fisiologia, assim como sua atividade no controle biológico de coleópteros praga (Belda & Riudavets, 2010).

Autores como Menon, Flinn & Dover (2002) avaliando a capacidade *A. calandrae* em encontrar e parasitar *R. dominica* em diferentes faixas de temperatura, mencionaram o potencial deste inimigo natural no controle natural de pragas de produtos armazenados. Ademais, um estudo avaliando a compatibilidade de *A. calandrae* e *Acarophenax lacunatus* (Cross & Krantz) (Prostigmata: Acarophenacidae), um parasita de ovos, sobre *R. dominica* evidenciou que o uso do parasitoide sozinho ocasionou numa redução no crescimento da população da praga e maior proteção aos grãos de trigo. Quando *A. calandrae* foi associado ao ácaro, além de preservar seu potencial, houve maior redução no número de indivíduos de *R. dominica*, demonstrando a importância dessa interação como ferramenta de manejo integrado de pragas em unidades de armazenamento (Gonçalves, Faroni & Guedes, 2002).

Benkhellat *et al.* (2015) também confirmaram o potencial de *A. calandrae* como agente de controle biológico. No seu estudo, demonstraram que fêmeas do parasitoide são capazes de distinguir entre hospedeiros parasitados e não parasitados. De acordo com os autores, esse comportamento depende das pistas olfativas presentes nos ambientes dando as fêmeas uma maior capacidade de busca e parasitismo.

#### **2.4 Comunicação química dos parasitoides**

A seleção do hospedeiro pelo parasitoide é mediada por dois passos principais: a localização e o reconhecimento deste (Godfray, 1994 ; Vinson, 1998). Pode ser uma tarefa difícil, tendo em vista o tamanho dos organismos envolvidos e a complexidade do ambiente no qual estão inseridos (Vinson, 1998 ; Steidle & Van Loon, 2002).

Os parasitoides são capazes de perceber uma grande variedade de estímulos químicos (semioquímicos) e físicos (som, vibração, cor, tamanho, forma e textura) potencialmente importantes e determinar sua significância no ambiente em que se encontram (Vinson, 1985 ; Fatouros *et al.*, 2008). Dessa forma, conseguem encontrar várias espécies hospedeiras no mesmo ambiente que podem ou não ser adequadas ao parasitismo, e conseqüentemente, a sobrevivência de sua prole está diretamente relacionada com a escolha correta durante essa busca (Fatouros *et al.*, 2008).

Os estímulos visuais e olfativos são responsáveis pela percepção ambiental e interferem no comportamento dos parasitoides (Lewis & Martin, 1990). Estes estímulos são percebidos por receptores localizados nas antenas e olhos compostos e o comportamento do parasitoide é manifestado através do voo, sondagem e oviposição (Lewis & Martin, 1990). Os estímulos químicos podem ser de curta ou longa distância (Rojas, Castillo & Virgen, 2006). Para localizar os hospedeiros, as pistas de longa distância, são as primariamente identificadas e utilizadas pelos parasitoides e geralmente são emitidas pela planta atacada ou alimento do hospedeiro (Vinson, 1976). Já as de curta distância são emitidas pelo próprio hospedeiro, como por exemplo os feromônios, as fezes ou o *frass*, que são utilizadas pelo parasitoide para localizá-lo e identificar o estágio de desenvolvimento específico ou preferido para parasitá-lo (Vet & Dicke, 1992).

As repostas dos parasitoides a determinados odores que os guiam até os seus hospedeiros são influenciadas por alguns fatores relacionados às fêmeas, como idade e maturação sexual e ao ambiente, influenciado pela intensidade de luz, velocidade e direção do vento, distância entre o parasitoide e a fonte de odor e outros odores presentes no ar. Estes fatores, associados a características específicas, definem a escolha por determinados hospedeiros e substratos (Vinson, 1976).

Estudos sobre preferência por hospedeiro e substrato têm sido realizados com parasitoides da família Pteromalidae como, por exemplo, *L. distinguendus*, um parasitoide generalista que ataca larvas de onze espécies de besouros praga (Steidle & Schöhler, 1997). De acordo com os mesmos autores, este parasitoide reconhece e tem preferência pelas larvas quando associadas às dietas ou aos produtos armazenados.

Assim como *L. distinguendus*, *A. calandrae* também é um parasitoide generalista, de acordo com Steidle (2001) ainda não está claro como esses parasitoides são capazes de localizar uma variedade de hospedeiros e substratos. Para Vet & Dicke (1992) considera-se que para sistemas generalistas, os parasitoides usam inatamente componentes gerais que são comuns a todos os hospedeiros ou plantas hospedeiras. Assim, é provável que os parasitoides generalistas respondam a cada complexo de planta/hospedeiro dentro de sua faixa de hospedeiros. Ainda, é concebível que os mesmos não usem pistas específicas, mas localizem hospedeiros para uma primeira oviposição aleatoriamente. Isto é, sinais que são percebidos durante a oviposição são então associados a essa experiência positiva e usados para uma localização direcionada do hospedeiro no futuro (Turlings *et al.*, 1990).

Durante o processo de busca e seleção de hospedeiros, a resposta dos parasitoides é influenciada pela preferência inata, experiência e aprendizagem associativa (Vinson, 1998). A resposta inata corresponde a um comportamento herdado geneticamente, em resposta aos estímulos que não foram experimentados previamente, contudo, esse comportamento pode ser modificado pela experiência (Vet & Dicke, 1992; Vinson, 1998). A experiência é definida pela redução do tempo exigido para manipular e aceitar o hospedeiro após um contato prévio (sensibilização) ou pela aprendizagem (Godfray, 1994).

De acordo com Wajnberg & Colazza (2012), a experiência de um parasitoide está associada com a aquisição de informações e estímulos durante o processo de forrageamento e parasitismo, dando a este a capacidade de aumentar a sua performance reprodutiva (índices de parasitismo, fecundidade, longevidade) e sua habilidade de procura em uma situação específica no ambiente.

Os parasitoides na presença do hospedeiro, são capazes de associar um estímulo experimentado para localizar os próximos hospedeiros e parasitá-los com maior eficiência e rapidez (Nurindah & Gordh, 1999). Assim, independente dos padrões inatos, as espécies de parasitoides podem modificar seu comportamento ao perceberem sinais do ambiente em que conviveram antes e durante a fase adulta. Essa associação de novos estímulos experimentados é conhecida como aprendizagem associativa (Vinson, 1998; Nurindah & Gordh, 1999).

Como já mencionado anteriormente, o sucesso do parasitismo depende de uma série de estímulos, sendo um dos aspectos que deve ser levado em consideração é o relacionado ao hospedeiro de origem, especialmente em criações massais. Pode este fornecer pistas químicas que influenciam na escolha pelas espécies alvos e maximizam a capacidade reprodutiva do parasitoide em campo (Sujii *et al.*, 2002).

Este aspecto foi demonstrado por Vargas *et al.* (2017) avaliando a aprendizagem de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* (Riley, 1869) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criado em ovos de *E. kuheniella* (hospedeiro de origem) para parasitar ovos de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Os autores observaram que fêmeas sem experiência parasitaram mais o hospedeiro de origem no qual foram criadas, enquanto as fêmeas com experiência prévia nas duas espécies, parasitaram as duas espécies de forma similar, mostrando que após um contato prévio com um novo hospedeiro, os índices de parasitismo foram diferentes.

De modo geral, fêmeas de parasitoides, como por exemplo, *T. preotisum* em contato prévio com o seu hospedeiro entre cinco a 24 horas adquirem experiência na busca deste, apresentando uma resposta exploratória superior às fêmeas inexperientes ou em contato menor com o hospedeiro (Vargas *et al.*, 2017). Já que em ambientes de armazenamento pode existir mais de uma espécie hospedeira, a experiência e aprendizagem pelo parasitoide é uma estratégia que auxilia na busca por outros hospedeiros e pode vir a incrementar o parasitismo em programas de controle biológico (Steidle & Van Loon, 2002).

Estudos abrangendo a comunicação química de parasitoides e as interações existentes entre hospedeiro-parasitoide vem sendo promissoras. Ainda há dúvidas em relação ao emprego de parasitoides no manejo de pragas agrícolas tanto em ambientes de armazenamento como campo (Meiners & Peri, 2013 ; Schneider, 2017).

## 2.5 Referências

- ABIFUMO. Associação Brasileira da Indústria do Fumo. **Produção de fumo**. [2012]. Disponível em: <<http://www.abifumo.org.br/produ.htm>>. Acesso em: 14 jul. 2017.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **AGROFIT - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários** [Base de dados]. Consulta de ingrediente ativo. [2019]. Disponível em: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 15 jan. 2019.
- AHMED, K. S. Studies on the ectoparasitoid, *Anisopteromalus calandrae* How. (Hymenoptera: Pteromalidae) as a biocontrol agente against the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (Fab.) in Saudi Arabia. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 32, n.2, p. 137-140, 1996.
- ARBOGAST, R. T.; MULLEN, M. A. Interaction of maize weevil (Coleoptera: Curculionidae) and parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) in a small bulk of stored corn. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 83, n.6, p. 2462–2468, 1990.
- ATHIÉ, I.; PAULA, D. C. de. **Insetos de grãos armazenados: aspectos biológicos e identificação**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2002. 244 p.

BECCALONI, G. et al. (ed.). **The global Lepidoptera names index (LepIndex)**. 2003. Disponível em: <<http://www.nhm.ac.uk/entomology/lepindex>>. Acesso em: 23 set. 2018.

BELDA, C.; RIUDAVETS, J. Attraction of the parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Howard) (Hymenoptera: Pteromalidae) to odors from grain and stored product pests in a Y-tube olfactometer. **Biological Control**, Dordrecht, v. 54, n.1, p. 29-34, 2010.

BELDA, C.; RIUDAVETS, J. Reproduction of the parasitoids *Anisopteromalus calandrae* (Howard) and *Lariophagus distinguendus* (Förster) on arenas containing a mixed population of the coleopteran pests *Sitophilus oryzae* and *Rhyzopertha dominica*. **Journal of Pest Science**, Berlin, v. 85, n.3, p. 381–385, 2012.

BENKHELLAT, O. et al. Host discrimination and egg laying in *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) ectoparasitoid of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 64, p. 48-53, 2015.

CAMPBELL, J. F.; MULLEN, M. A.; DOWDY, A. K. Monitoring stored-product pest in food processing plants with pheromone trapping, contour mapping, and markrecapture. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 95, n.5, p. 1089-1101, 2002.

CARVALHO, C. et al. **Anuário brasileiro do tabaco**. Santa Cruz do Sul: Ed. Gazeta Santa Cruz, 2014. 128 p.

CARVALHO, M. O.; PEREIRA, A. P.; MEXIA, A. Adoção de protecção integrada em tabaco armazenado em Portugal. In: ENCONTRO NACIONAL DE PROTECÇÃO INTEGRADA, 6., 2003, Castelo Branco. **Anais...** Castelo Branco: ENPI, 2003. p. 297-306.

CLINE, L.D.; PRESS, J.W.; FLAHERTY, B. R. Suppression of the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) inside and outside of burlap, woven polypropylene, and cotton bags by the parasitic wasp *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae). **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 78, n.4, p. 835–838, 1985.

COLLIER, D. J. Identification of adult Coleoptera found in stored products. In: AUSTRALIAN DEVELOPMENT ASSISTANCE COURSE ON THE PRESERVATION OF STORED CEREALS, 1981, Canberra. **Proceedings...** Canberra: CSIRO, 1981. p. 70-95.

CORESTA. **Phosphine fumigation parameter for the control of the cigarette beetles and tobacco moth**. Paris: CORESTA, 2013. 4 p. (CORESTA: Guide, n. 2)

EVANS, D. E. The biology of stored product Coleoptera. In: AUSTRALIAN DEVELOPMENT ASSISTANCE COURSE ON THE PRESERVATION OF STORED CEREALS, 1981, Canberra. **Proceedings...** Canberra: CSIRO, 1981. p. 149-185.

- FARONI, L. R. A. et al. Utilização de produtos naturais no controle de *Acanthoscelides obtectus* em feijão armazenado. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 20, p. 44-48, 1995.
- FARONI, L. R. D.; SILVA, J. S. Manejo de pragas no ecossistema de grãos armazenados. In: SILVA, J.S. (org.). **Secagem e Armazenagem de produtos agrícolas**. 2 ed. Viçosa: Aprenda Fácil, 2008. v. 1, p.371-406.
- FATOUROS, N. E. et al. Foraging behavior of egg parasitoids exploiting chemical information. **Behavioral Ecology**, Oxford, v. 19, n. 3, p. 677-689, 2008.
- GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.
- GODFRAY, H. C. J. **Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology**. Princeton, New Jersey: Princeton University Press, 1994. 461p. (Monographs in Behavior and Ecology).
- GOKHMAN, V. E.; FEDINA, T. Y.; TIMOKHOV, A. V. Live-history strategies in parasitic wasps of the *Anisopteromalus calandrae* complex (Hymenoptera: Pteromalidae). **Russian Entomological Journal**, Moscou, v. 8, p. 201-211, 1999.
- GONÇALVES, J. R.; FARONI, L. R. D.; GUEDES, R. N. C. Pyrethroid- *Acarophenax lacunatus* interaction in suppressing the beetle *Rhyzopertha dominica* on stored wheat. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v.26, n.3-4, p. 231-242, 2002.
- GREDILHA, R. et al. Parasitismo de *Anisopteromalus calandrae* Howard, 1881 (Hymenoptera: Pteromalidae) sobre formas imaturas de *Lasioderma serricorne* Fabricius, 1792 (Coleoptera: Anobiidae) na cidade do Rio de Janeiro, RJ. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.4, p. 489-491, 2006.
- GUEDES, J. V. C.; COSTA, I. F. D. da. **Guia de identificação e manejo integrado das pragas e doenças do fumo**. Santa Maria: Orium, 2006. 88 p.
- HALSTEAD, D. G. H. External sex differences in stored-products Coleoptera. **Bulletin of Entomological Research**, Cambridge, v. 54, n.1, p. 119-134, 1963.
- HANSON, P. E.; GAULD, I. D. **The hymenoptera of Costa Rica**. Oxford: Oxford University Press, 1995. 893 p.
- HANSON, P. E.; HEYDON, S. L. **Introducción a los hymenoptera de la región neotropical**. Bogotá: Sociedad Colombiana de Entomología y Universidad Nacional de Colombia, 2006. 894 p.
- HOWE, R. W. A Laboratory study of the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (F.) (Col. Anobiidae) with a critical review of the literature on its biology. **Bulletin of Entomological Research**, Cambridge, v. 48, n.1, p. 9-56, 1957.
- LANDONI, J. H. *Nicotiana tabacum* L. In: OMS,CCOHS. **IPCS INCHEM** [Base de Dados], [1990]. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/pims/plant/nicotab.htm>>. Acesso em: 04 jun. 2018.

- LEWIS, W. J.; MARTIN, J. R. Semiochemicals for use with parasitoids: status and future. **Journal of Chemical Ecology**, Georgia, v. 16, n.11, p. 3067-3090, 1990.
- LOECK, A. E. **Praga de produtos armazenados**. Pelotas, RS: EGUFPEL, 2002. 113 p.
- LORINI, I. et al. **Manejo Integrado de Pragas de Grãos e Sementes Armazenadas**. Brasília, DF: Embrapa, 2015. 84 p.
- LORINI, I. et al. **Principais Pragas e Métodos de Controle em Sementes durante o Armazenamento**. Londrina: Embrapa Soja, 2010. 10 p. (Série Sementes)
- LORINI, I. Insetos que atacam grãos de soja armazenados. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B., CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (ed.). **Soja: Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 421-444.
- LORINI, I. **Manejo Integrado de Pragas de Grãos de Cereais Armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2008. 72 p.
- MAHROOF, R.; PHILLIPS, T. W. Life history parameters of *Lasioderma serricorne* (F.) as influenced by food sources. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 44, p. 219- 226, 2007.
- MEINERS, T.; PERI, E. Chemical ecology of insects parasitoids: essential elements for developing effective biological control programmes. In: WAJNBERG, É.; COLAZZA, C. (ed.). **Chemical Ecology of Insect Parasitoids**. Chichester: Wiley-Blackwell, 2013. p. 193-224.
- MENON, A.; FLINN, P.W.; DOVER, B. Influence of temperature on the functional response of *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae), a parasitoid of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 38, n. 5, p. 463-469, 2002.
- MORAES, J. **Comunidades de Coleoptera em cultivos de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) em Santa Cruz do Sul, RS**. 2014.136 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2014.
- NURINDAH, B. W. C.; GORDH, G. Experience acquisition by *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Australian Journal of Entomology**, Canberra, v. 38, n.2, p. 15-119, 1990.
- OLIVEIRA, F. de.; COSTA, M. C. F. **Cultivo de Fumo (*Nicotiana tabacum* L.)**. São Paulo: USP, 2012, 31 p.
- PARRA, J. R. P. Comercialização de inimigos naturais no Brasil: uma área emergente. In: PARRA, J. R. P. et al. (ed.). **Controle Biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 343-349.

- RAFAEL, J. A. et al. **Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia**. Ribeirão Preto: Holos, 2012. 810 p.
- ROJAS, J. C.; CASTILLO, A.; VIRGEN, A. Chemical cues used in host location by *Phymastichus coffea*, a parasitoid of coffee berry borer adults, *Hypothenemus hampei*. **Biological Control**, Dordrecht, v. 37, n. 2, p. 141–147, 2006.
- RUNNER, G. A. The tobacco Beetle: an important pest in tobacco products. **Bulletin U.S Department of Agriculture**, Washington, n. 737, p. 1-77, 1919.
- SAGLAM, O.; EDDE, P. A.; PHILLIPS, T. W. Resistance of *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) to fumigation with phosphine. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v.108, p. 2489-2495, 2015.
- SASAKAWA, K. et al. Different patterns of oviposition learning in two closely related ectoparasitoid wasps with contrasting reproductive strategies. **Naturwissenschaften**, Heidelberg, v. 100, n. 2, p. 117–124, 2013.
- SCHNEIDER, D. I. D. **Caracterização das vespas parasitoides (Hymenoptera) associadas aos drosofilídeos (Diptera, Drosophilidae) no Cerrado**. 2017. 76 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2017.
- SMITH, L. Host-size preference of the parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Hym.: Pteromalidae) on *Sitophilus zeamais* (Col.: Curculionidae) larvae with a uniform age distribution. **Entomophaga**, Paris, v.38, n. 2, p. 225-233, 1993.
- SOUZA CRUZ. **Plantio - Fases da plantação de fumo**. São Paulo, 2010. Disponível em:<[http://www.souzacruz.com.br/group/sites/SOU\\_7UUVF24.nsf/vwPagesWebLive/D07V9KLC?opendocument](http://www.souzacruz.com.br/group/sites/SOU_7UUVF24.nsf/vwPagesWebLive/D07V9KLC?opendocument)>. Acesso em: 20 nov. 2018.
- SPECHT, A. et al. Ocorrência de *Rachiplusia nu* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae) em fumo (*Nicotiana tabacum* L.) no Rio Grande do Sul. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 5, p. 705-706, 2006.
- STEIDLE, J. L. M. Host recognition cues of the granary weevil parasitoid *Lariophagus distinguendus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Edinburgh, v. 95, n. 2, p. 185-192, 2000.
- STEIDLE, J. L. M.; SCHÖLLER, M. Olfactory host location and learning in the granary weevil parasitoid *Lariophagus distinguendus* (Hymenoptera: Pteromalidae). **Journal of Insect Behaviour**, Berlin, v. 10, p. 331–342, 1997.
- STEIDLE, J. L. M.; VAN LOON, J. J. A. Chemoecology of parasitoid and predator oviposition behavior. In: HILKER, M.; MEINERS, T. (ed.). **Chemoecology of Insect Eggs and Eggs Deposition**. Berlin: Blackwell Publishing, 2002. p. 291-317.
- SUJII, E. R. et al. Inter and intra-guild interactions in egg parasitoid species of the soybean stink bug complex. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 11, p. 1541-1549, 2002.

- SURESHAN, P. M. A new species of *Anisopteromalus* Ruschka (Hymenoptera: Chalcidoidea: Pteromalidae) from Sri Lanka. **Journal of Threatened Taxa**, Coimbatore, v. 2, n. 9, p. 1144–1146, 2010.
- TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. F. **Estudo do Insetos**. São Paulo: Cengage Learning, 2011. 809 p.
- TURLINGS, T. C. et al. How contact foraging experiences affect preferences for host—related odours in the larval parasitoid *Cotesia marginiventris* Cresson (Hymenoptera: Braconidae). **Journal of Chemical Ecology**, Georgia, 16, p. 1577–1589, 1990.
- VARGAS, C. C. et al. Influência da idade do hospedeiro e da aprendizagem no comportamento quimiotáxico e no parasitismo de *Trichogramma pretiosum*. **Iheringia Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 107, e2017015, 2017.
- VELASQUEZ, C. D.; TRIVELLI, H. D. **Distribucion y importância de los insectos que dañan granos y productos almacenados em Chile**. Santiago, Chile: FAO, 1983. 67 p.
- VENCATO, A. Z. et al. **Anuário brasileiro do tabaco 2011**. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2011. 176 p.
- VET, L. E. M.; DICKE, M. Ecology of infochemical use by natural enemies in trophic context. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 37, n. 11, p.141-172, 1992.
- VINSON, S. B. Host selection by insect parasitoids. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 21, p. 109–133, 1976.
- VINSON, S. B. The behaviour of parasitoides. In: **COMPREHENSIVE insect physiology biochemistry and pharmacology**. Oxford: Pergamon Press, 1985. p. 417-469.
- VINSON, S. B. The general host selection behaviour of parasitoid Hymenoptera and a comparison of intial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological control**, Oxford, v.11, p. 79-96, 1998.
- WAJNBERG, E.; COLAZZA, S. (ed.) **Chemical Ecology of Insect Parasitoids**. Chichester: Wiley-Blackwell, 2012. 312 p.
- ZILCH, C. F. K et al. Effect of Diet, Photoperiod and Host Density on Parasitism of *Anisopteromalus calandrae* on the Tobacco Beetle and Biological Parameters of the Parasitoid. **American Journal of Plant Sciences**, New York, v. 8, p. 3218-3232, 2017.

### 3 ARTIGO 1

**Influência do estágio de desenvolvimento e da dieta de *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Ptinidae) no parasitismo de *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hymenoptera: Pteromalidae)\***

---

\*Artigo formatado conforme as normas da Revista Iheringia

**Influência do estágio de desenvolvimento e da dieta de *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Ptinidae) no parasitismo de *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hymenoptera: Pteromalidae)**

Eduarda Bender<sup>1</sup>, Simone M. Jahnke<sup>1,2</sup>, Andreas Köhler<sup>3</sup> & Kássia C. Freire Zilch<sup>1</sup>

1. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 7712, 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil. (bender.ep@gmail.com ; kassiazilch@gmail.com)

2. Laboratório de Controle Biológico de Insetos, Dep. Fitossanidade, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 7712, 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil. (mundstock.jahnke@ufrgs.br)

3. Laboratório de Entomologia, Universidade de Santa Cruz do Sul, Av. Independência, 2293, 96815900, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil. (andreas@unisc.br)

**ABSTRACT. Influence of the development stage and diet of *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Ptinidae) on parasitism by *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hymenoptera: Pteromalidae)**

The ectoparasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hymenoptera: Pteromalidae) has been prominent as a control agent for coleoptera larvae and pupae of stored Products pest such as the tobacco beetle *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Ptinidae). Studies that evaluate the bioecology of parasitoids and their interactions with hosts, taking into account environmental factors, are important for the success of biological control in these environments and crops. This study aimed to evaluate the parasitism rate, emergence and sex ratio of *A. calandrae* parasitizing larvae of last instar and pupae of *L. serricorne* with or without the presence of a diet. The insects used came from laboratory rearing established under ambient controlled conditions ( $28 \pm 2$  °C,  $60 \pm 10\%$  RH and 12h photophase). Thirty larvae of last instar or pupae of *L. serricorne* (with cocoon formation) were exposed to newly emerged (24 h) couples or virgin females in plastic bottles, in four treatment combinations: (L) larvae, (LD) larvae with diet, (P) pupae and (PD) pupae with diet. Each treatment had 20 replicates. The

parasitoids remained in the bottles with each treatment until their death ( $\pm 11$  days), later they were removed and the pots with the hosts were kept in the same conditions of the rearing until the emergence of the offspring ( $\pm 13-15$  days). For both the mean number of emerged parasitoids and average parasitism rate, the highest values were obtained in L treatments (with and without diet), for both virgin and paired females, indicating a preference for this stage of development. Only in P treatment a significant difference in sex ratio was observed, presenting the lowest values.

**KEY WORDS.** Parasitoid, tobacco beetle, biological control.

### **RESUMO.**

O ectoparasitoide *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hymenoptera: Pteromalidae) tem se destacado como agente de controle de larvas e pupas de coleópteros praga de produtos armazenados como o besouro-do-fumo, *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Ptinidae). Estudos que avaliem a bioecologia de parasitoides e suas interações com os hospedeiros, levando em consideração os fatores ambientais, são de suma importância para o sucesso do controle biológico nesses ambientes e culturas agrícolas. Neste contexto, objetivou-se avaliar os índices de parasitismo, emergência e razão sexual de *A. calandrae* parasitando larvas e pupas de *L. serricorne* na presença ou ausência da dieta do hospedeiro. Os insetos utilizados foram provenientes de criação de laboratório mantida sob condições controladas ( $28 \pm 2$  °C,  $60 \pm 10\%$  UR e fotofase de 12 h). Foram expostas 30 larvas ou pupas de *L. serricorne* (com formação de casulo) a um casal ou a uma fêmea virgem recém emergida (24 h) em frascos plásticos, nas seguintes combinações, compondo quatro tratamentos: (L) larvas, (LD) larvas com dieta, (P) pupas e (PD) pupas com dieta. Cada tratamento teve 20 repetições. Os parasitoides permaneceram nos potes com cada tratamento até a sua morte ( $\pm 11$  dias)

posteriormente foram retirados e os potes com os hospedeiros foram mantidos nas mesmas condições da criação até a emergência da prole ( $\pm$  13-15 dias). Tanto para o número médio de parasitoides emergidos quanto o índice médio de parasitismo, os maiores valores foram obtidos nos tratamentos L (com e sem dieta), tanto para as fêmeas virgens como pareadas. Somente no tratamento P foi observada uma diferença significativa na razão sexual ( $p < 0,05$ ), apresentando os menores valores.

**PALAVRAS-CHAVE.** Parasitoide, besouro-do-fumo, controle biológico.

Durante o período de armazenagem de produtos agrícolas, vários destes sofrem com ataque de insetos, que encontram nesses ambientes alimento e condições favoráveis para desenvolver-se e proliferarem rapidamente (FARONI & SILVA, 2008). O besouro *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1872) (Coleoptera: Ptinidae) e as traças *Plodia interpunctella* (Hubner, 1813) e *Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae), estão entre os principais organismos conhecidos por infestar grande variedade de produtos e subprodutos armazenados, causando perdas expressivas na qualidade e acarretando prejuízos de 1,5 até 50% (LORINI, 2008 ; PIMENTEL, SANTOS & LORINI, 2011).

A espécie *L. serricorne*, conhecida como o besouro-do-fumo, é um inseto de ocorrência nas regiões tropicais e subtropicais (LOECK, 2002). Considerado uma praga primária externa, tem sido relatado atacando muitos produtos, entre os quais destacam-se as oleaginosas, cereais, grãos de cacau, farinhas, especiarias e tabaco seco *in natura* ou processado (charutos e cigarros) (ATHIÉ & PAULA, 2002; LOECK, 2002).

Segundo LOECK (2002) o ovo desta espécie é colocado isoladamente no meio do alimento. De acordo com ATHIÉ & PAULA (2002), as larvas passam por quatro ínstares, quando estão no último ínstar, param de se alimentar e constroem uma célula frágil feita de alimentos e resíduos misturados com uma secreção produzida pelo intestino médio, onde empupam durando, esta fase, em torno de nove dias. Os adultos de *L. serricorne* permanecem alguns dias no interior do casulo pupal, quando emergem, evitam a luz se escondendo em frestas.

Em locais de armazenamento de produtos agrícolas, como o tabaco, os métodos amplamente utilizados baseiam-se, de forma geral, na utilização de compostos químicos, como a fumigação com o uso da fosfina, altamente tóxica ao ambiente e ao ser humano (CORESTA, 2013; SAGLAM, EDDE & PHILLIPS, 2015). Além disso, o desenvolvimento da

resistência nos insetos, incluindo a espécie em questão e a redução do número de produtos químicos permitidos para o controle dessas pragas, tornam o controle biológico cada vez mais importante nesses ambientes (BROWER & PRESS, 1990 ; SOARES *et al.*, 2009 ; LORINI *et al.*, 2015).

O controle biológico com o uso de parasitoides é um exemplo de alternativa segura e eficiente, que visa reduzir as populações de organismos praga (PARRA *et al.*, 2002) e atualmente tem ganhado representatividade, em especial na cultura do tabaco. Diversos organismos possuem potencial como agentes de biocontrole contra insetos praga de produtos armazenados (ATHIÉ & PAULA, 2002 ; LORINI *et al.*, 2015), como é o caso do parasitoide *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hymenoptera: Pteromalidae), conhecido por parasitar larvas e pupas de diferentes espécies de coleópteros praga, incluindo *L. serricornis* (BELDA & RIUDAVETS, 2010).

*Anisopteromalus calandrae* é um ectoparasitoide, idiobionte, generalista, possui preferência em atacar larvas em estágio avançado de desenvolvimento, que permanecem dentro de um casulo ou escondidas dentro do alimento do hospedeiro, como um grão mas também pode atacar pupas (STEIDLE & SCHÖLLER, 1997 ; MENON, FLINN & DOVER, 2002).

O parasitismo inicia quando as fêmeas localizam o hospedeiro, introduzem o ovipositor no corpo deste e injetam uma substância paralisante (MENON, FLINN & DOVER, 2002). Esse comportamento tem o intuito de imobilizar as larvas, para depois a fêmea depositar um único ovo sobre o corpo do hospedeiro e, assim que eclode, a larva do parasitoide se alimenta do corpo deste (MENON, FLINN & DOVER, 2002). Normalmente apenas um parasitoide se desenvolve a partir de cada larva hospedeira (ARBOGAST & MULLEN, 1990).

Entretanto, o sucesso dos parasitoides em programas de controle biológico, depende do conhecimento de suas características bioecológicas relacionadas à interação com o hospedeiro (SIQUEIRA *et al.*, 2011). Fatores biológicos como a habilidade de localização da praga alvo, a preferência por determinados hospedeiros, o estágio parasitado e a densidade do hospedeiro, além de fatores ambientais, como luz, temperatura, umidade, entre outros, devem ser investigados para que auxiliem nas criações massais e na eficiência desses inimigos naturais quando liberados em campo ou nos ambientes de armazenamento (VINSON, 1998; NASCIMENTO, 2011).

Outro fator relevante nesse cenário é a utilização de dietas artificiais para criação de ambos os organismos (hospedeiro e parasitoide) (VACARI *et al.*, 2012). Contudo, essas dietas devem ser testadas para verificação da qualidade dos insetos produzidos e a influência sobre parâmetros como parasitismo, fecundidade, tempo de desenvolvimento, razão sexual da prole e até mesmo na eficiência desses inimigos na busca e reconhecimento dos seus hospedeiros (NASCIMENTO, 2011; VACARI *et al.*, 2012).

Neste contexto, objetivou-se avaliar os índices de parasitismo, emergência e razão sexual de *A. calandrae* parasitando larvas e pupas do hospedeiro *L. serricorne*, na presença ou ausência da dieta do hospedeiro.

## MATERIAL E MÉTODOS

As criações do hospedeiro e do parasitoide foram mantidas no Laboratório de Entomologia, da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), sob condições controladas de temperatura  $28 \pm 2$  °C, umidade relativa do ar de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas.

No laboratório, adultos de *A. calandrae* foram transferidos para potes plásticos (2,7 litros) contendo larvas de quarto ínstar (com formação de casulo) do hospedeiro *L.*

*serricorne* criadas em dieta seca à base da mistura (460 g de farinha de trigo, 20 g de levedo de cerveja e 20 g tabaco seco triturado, variedade Virgínia) cobertos com tecido do tipo organza cristal a fim de manter a troca de ar. A dieta oferecida ao hospedeiro foi baseada em ZILCH *et al.* (2017).

Após aproximadamente 14 dias emergiram os primeiros parasitoides, os quais eram coletados diariamente com auxílio de um sugador adaptado e transferidos para novos potes (2,7 litros) contendo larvas de quarto ínstar (com formação de casulo) de *L. serricorne* para manutenção da criação, além da realização dos bioensaios. Os adultos de *A. calandrae* receberam como alimento mel puro (100%) inserido em forma de gotículas na parede de cada recipiente.

### **Bioensaio**

Foram utilizados no bioensaio casais (fêmeas pareadas) e fêmeas virgens (sem experiência de parasitismo) de *A. calandrae* com 24 horas de idade. Cada casal ou fêmea virgem foi individualizado e inserido em recipientes plásticos de 120 ml contendo quatro tratamentos separadamente: (L) larvas, (LD) larvas com dieta, (P) pupas, (PD) pupas com dieta. Cada tratamento constou de 30 larvas ( $\pm 25$  dias) ou pupas ( $\pm 30$  dias) (ambas com formação de casulo) (em um único oferecimento) com e sem a presença de dieta, sendo realizadas 20 repetições para cada tratamento.

Os parasitoides permaneceram nos potes com cada tratamento até sua morte ( $\pm 11$  dias) sendo então retirados. Os potes com os hospedeiros foram mantidos em câmara incubadora “Tipo B.O.D.” com as mesmas condições da criação, até a emergência da prole de parasitoides ou de coleópteros ( $\pm 13-15$  dias).

Como testemunha, 20 potes com a mesma quantidade de larvas e pupas hospedeiras foram utilizadas e mantidas sem exposição aos parasitoides, objetivando-se verificar a taxa de mortalidade natural do hospedeiro.

### **Análise dos dados**

Avaliou-se em cada tratamento o número médio de larvas ou pupas mortas, o número médio de parasitoides emergidos, a razão sexual (RS) da prole ( $n^\circ$  de fêmeas/  $n^\circ$  de fêmeas +  $n^\circ$  de machos) e o parasitismo médio ( $n^\circ$  parasitoides emergidos/ [( $n^\circ$  parasitoides emergidos +  $n^\circ$  de hospedeiros emergidos)] x 100). Os casulos nos quais não houve emergência foram dissecados para verificação dos possíveis parasitoides ou hospedeiros não emergidos, que também foram contabilizados.

Os dados médios de mortalidade, emergência e parasitismo foram testados quanto à normalidade por D'Agostino e submetidos ao teste de Kruskal-Wallis, sendo médias comparadas pelo teste de Dunn. O teste utilizado para avaliar a significância das diferenças na razão sexual foi o  $\chi^2$  de heterogeneidade. As análises foram realizadas utilizando os softwares Excel© e Bioestat 5.0 (AYRES *et al.*, 2007)

## **RESULTADOS**

### **Bioensaio**

O número médio de *L. serricorne* emergidos nas testemunhas (sem a presença dos parasitoides) foi significativamente maior, comparado a todos os tratamentos (Tab. I). Esses valores indicam uma mortalidade média em torno de 19%.

Na presença dos parasitoides a emergência do besouro variou de 1,0 a 13,5% nos tratamentos com fêmeas virgens (83% de mortalidade) e de 2,3 a 5,2% para fêmeas

pareadas (88% de mortalidade) Houve diferença significativa na emergência de *L. serricornis* no tratamento PD para fêmeas virgens e pareadas (Tab. I).

### **Tabela I**

O número médio de parasitoides emergidos foi significativamente maior nos tratamentos L e LD do que em P e PD para ambas as condições fisiológica das fêmeas (Tab. II). Comparando fêmeas virgens e pareadas, foi constatada diferença significativa na emergência dos parasitoides, no tratamento PD, sendo maior nas fêmeas pareadas ( $H = 14,55$  ;  $gl = 1$  ;  $p = 0,0001$ ) (Tab. II).

Em relação ao percentual de parasitismo, observou-se que este foi significativamente menor em pupas (com ou sem dieta) do que em relação às larvas (com ou sem dieta) (Tab. II).

Ao comparar os tratamentos entre virgens e pareadas, também foi detectada diferença significativa no parasitismo médio. Os tratamentos com larvas (com e sem dieta) nas fêmeas virgens e pareadas obtiveram os maiores valores de parasitismo médio, diferindo significativamente dos tratamentos com pupas (com e sem dieta) (Tab. II). No tratamento LD, o parasitismo médio foi significativamente maior para fêmeas virgens (91,06 %) quando comparadas às fêmeas pareadas (88,05%) (Tab. II).

### **Tabela II**

Fêmeas virgens geraram somente descendentes machos (100%). Para as fêmeas pareadas, a razão sexual média, foi desviada para as fêmeas nos tratamentos L ( $0,51 \pm 0,26$ ), LD ( $0,63 \pm 0,23$ ) e PD ( $0,59 \pm 0,19$ ). Apenas o tratamento P apresentou o menor valor ( $0,40 \pm 0,23$ ) diferindo significativamente dos demais ( $\chi^2 = 4,9881$  ;  $gl = 1$ ;  $p < 0,05$ ).

### **Figura 1**

## DISCUSSÃO

A mortalidade média dos besouros, abaixo de 20% também foi referida por ZILCH *et al.* (2017) testando diferentes dietas e densidades de larvas.

Assim como no presente estudo, BELDA & RIUDAUVETS (2012), ao avaliar os parasitoides *A. calandrae* e *Lariophagus distinguendus* (Förster, 1841) (Hymenoptera: Pteromalidae) sobre os coleópteros praga *Sitophilus oryzae* L. (1763) (Coleoptera: Curculionidae) e *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Bostrichidae), obtiveram uma menor emergência das pragas nos tratamentos com ambos os parasitoides quando comparados as testemunhas (sem a presença dos parasitoides), fato que era esperado e indica a ação dos inimigos naturais.

Estudos como de UÇKAN & ERGIN (2002) e MENESES *et al.* (2014) tem evidenciado que a dieta na qual o hospedeiro é criado pode ter influência no desempenho dos inimigos naturais, no presente estudo, a dieta não influenciou a emergência da prole, mas sim o parasitismo.

Por outro lado, há estudos que também contestam a influência da dieta do hospedeiro na performance do parasitoide, como o de URRUTIA *et al.* (2007) que não encontraram correlação entre diferentes dietas de *Listronotus bonariensis* (Kuschel, 1955) (Coleoptera: Curculionidae) e o fitness de *Microctonus hyperodae* (Loan & Lloyd, 1974) (Hymenoptera: Braconidae).

Considerando os dois estágios de desenvolvimento (larva e pupa) do hospedeiro *L. serricornis* analisados, pode-se observar que *A. calandrae* teve preferência em parasitar larvas, com e sem a presença de dieta em relação as pupas. Em um estudo realizado por ZILCH *et al.* (2017), avaliando a influência de três tipos de dieta em quatro diferentes densidades de larvas do hospedeiro *L. serricornis*, frente a capacidade de parasitismo de *A. calandrae*, os autores obtiveram um parasitismo de até 96%, indicando que o

parasitoide possui alta capacidade reprodutiva quando exposto a larvas dessa espécie. A preferência por larvas, ao invés de pupas, é também registrada para outros hospedeiros, como *Callosobruchus chinensis* L. (1758) e *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Chrysomelidae), besouros de outra família (SASAKAWA *et al.*, 2013).

De acordo com CONSÓLI & VINSON (2009), as fases de desenvolvimento dos hospedeiros caracterizam ambientes nutricionais diferentes para o parasitoide. Como observado nesse trabalho, houve parasitismo em pupas com e sem a presença de dieta de *L. serricornis*, porém, apresentando valores inferiores aos das larvas.

Além disso, a qualidade nutricional do hospedeiro é um fator determinante para o desenvolvimento e capacidade reprodutiva do parasitoide. Para *A. calandriae* isso fica comprovado no trabalho clássico de OKAMOTO (1972) que, ao avaliar o parasitismo sobre diferente instares larvais, demonstrou que larvas de terceiro e quarto instares são mais adequadas para o fitness do parasitoide, ressaltando a importância do sincronismo temporal entre as espécies. Isso possivelmente se deve ao fato de larvas em estágios avançados de desenvolvimento fornecerem mais nutrientes do que larvas mais jovens, resultando em um rápido crescimento (PASCUA & PASCUA, 2004).

De forma semelhante, SMITH (1993) avaliando a preferência do parasitoide *A. calandriae* pelo tamanho e estágio de desenvolvimento do hospedeiro *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1855) (Coleoptera: Curculionidae) dentro de grãos de milho, demonstrou que o parasitoide também teve uma maior preferência por larvas de terceiro e quarto instar e uma menor preferência por pré-pupas e pupas. O autor registrou o parasitismo de 95% para as larvas e somente poucas pupas parasitadas.

A diferença encontrada em relação ao parasitismo, que foi maior para fêmeas virgens (91%) em relação as pareadas (88%) nos tratamentos com a presença da dieta pode ter ocorrido devido ao impacto que o custo energético do acasalamento exerce sobre

esses parasitoides (PRATISSOLI *et al.*, 2009), e com a escolha na presença do alimento garantindo a sobrevivência da larva hospedeira por mais tempo fazendo que as larvas do parasitoide tivessem o tempo necessário para o seu desenvolvimento. Esse fato foi também exemplificado por PRATISSOLI *et al.* (2014), que avaliaram o efeito do acasalamento nas características biológicas de uma população de *Trichogramma pretiosum* (Ryley, 1879) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e mostraram que fêmeas pareadas (22%) exibiram uma menor porcentagem de parasitismo em relação as fêmeas não pareadas (34%).

A geração de somente machos nos tratamentos com as fêmeas virgens confirma a capacidade desta espécie de reproduzir-se por partenogênese arrenótoca, dando origem, somente a machos (PRATISSOLI *et al.*, 2014). Tendo em vista que são as fêmeas que realizam o controle através do parasitismo, e fêmeas virgens dão origem apenas a machos, a falta de acasalamento pode comprometer a eficiência desses parasitoides no campo e dificultar a criação massal dos mesmos.

Nos tratamentos com fêmeas pareadas, a ocorrência de fêmeas geradas na prole, confirma a realização da cópula. Registros da razão sexual para *A. calandreae*, embora parasitando outras espécies hospedeiras, variam de 0,58 a 0,86, sendo tendenciosamente feminina (CHOY & RYO, 2002), de forma semelhante ao nosso estudo. Avaliando outras densidades de larvas de *L. serricornis*, ZILCH *et al.* (2017) também encontraram diferenças significativas quanto a razão sexual nas dietas e densidades avaliadas, com valores sendo as maiores (0,53 e 0,55) nas densidades de 50 e 100 larvas do hospedeiro.

No presente estudo, os tratamentos sem dieta, a RS foi de 50% ou desviada para machos, indicando que a presença da dieta do hospedeiro, embora não altere a emergência dos parasitoides, pode ser importante para o parasitismo e a manutenção de uma alta razão sexual.

De acordo com NAVARRO (1998), o valor mínimo satisfatório para a razão sexual é de 0,5, sendo considerado um fator indicativo para determinar boa condição de criação, no qual há manutenção de um grande número de parasitoides. Nos resultados obtidos da presente pesquisa, observou-se uma redução desse valor, somente no tratamento P, sendo desviada para machos. Conforme PARRA *et al.* (2002), caso a razão sexual seja desviada para machos, pode indicar condições de criação inadequadas, influenciada por fatores abióticos e bióticos, como nesse caso, o estágio do hospedeiro parasitado e a ausência de dieta, indicando que a pupa não é a mais adequada para o desenvolvimento do parasitoide.

A partir dos resultados obtidos, é possível inferir que a dieta oferecida ao hospedeiro *L. serricorne* não interferiu na emergência de *A. calandrae*, mas sim no parasitismo e na razão sexual da prole gerada. O estágio de larva é mais adequado para multiplicação do parasitoide, pois proporciona um maior número de prole e desempenho dos parasitoides.

### **Agradecimentos**

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de Mestrado e DTI-C (306435/2015-2) concedidas ao primeiro autor e bolsa de doutorado para o quarto autor. À Paula Nicolay pelo auxílio na revisão do texto.

### **REFERÊNCIAS**

- ATHIÉ, I.; & PAULA, D. C. 2002. Insetos de grãos armazenados aspectos biológicos e identificação. **Livraria Varela**, 2ª edição. p. 28-34.
- ARBOGAST, R. T.; MULLEN, M. A. 1990. Interaction of maize weevil (Coleoptera: Curculionidae) and parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) in a small bulk of stored corn. **Journal of Economic Entomology** 83 (6): 2462–2468.
- AYRES, M. ; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES D. L. & SANTOS A. A. 2007. **BIOESTAT – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas**. Ong Mimiraua.

Belém, PA. Disponível em: <<http://www.mamiraua.org.br/pt-br/downloads/programas/>>. Acesso em: 06 de outubro de 2018.

- BELDA, C. & RIUDAVETS, J. 2010. Attraction of the parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Howard) (Hymenoptera: Pteromalidae) to odors from grain and stored product pests in a Y-tube olfactometer. **Biological Control** 54 (1): 29–34.
- BELDA, C. & RIUDAVETS, J. 2011. Reproduction of the parasitoids *Anisopteromalus calandrae* (Howard) and *Lariophagus distinguendus* (Förster) on arenas containing a mixed population of the coleopteran pests *Sitophilus oryzae* and *Rhyzopertha dominica*. **Journal of Pest Science** 85 (3): 381–385.
- BROWER, J. H. & PRESS, J. W. 1990. Interaction of *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in suppressing stored-product moth populations in small in shell peanut storages. **Journal of Economic Entomology** 83 (3): 1096–1101.
- CHOY, W & RYOO, M. 2002. Regulation of progeny sex by *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) in relation to host preference, host vulnerability and host size. **Journal of Asia-Pacific Entomology** 5 (2): 193–200.
- CÔNSOLI, F. L. & VINSON, S. B. 2009. Parasitoides (Hymenoptera). In: PANIZZI, A. R. **Manejo integrado de pragas**. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, p. 837-873.
- CORESTA - CENTRO DE COOPERAÇÃO PARA PESQUISA CIENTIFICA RELATIVO AO TABACO. 2013. **Phosphine fumigation parameter for the control of the cigarette beetles and tobacco moth**. CORESTA, Guide, 4 p.
- FARONI, L. R. D. & SILVA J. S. 2008. **Manejo de Pragas no Ecosistema de Grãos Armazenados**. In: SILVA, J. S. (Org.). Secagem e Armazenagem de produtos agrícolas. 2 ed. Viçosa, Editora Aprenda Fácil, v. 1, p.371-406.
- LOECK, A. E. 2002. **Praga de produtos armazenados**. Pelotas, RS, EGUFPEL, 113 p.
- LORINI, I. 2008. **Manejo Integrado de Pragas de Grãos de Cereais Armazenados**. Passo Fundo, Embrapa Trigo, 72 p.
- LORINI, I.; KRZYŻANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. B.; HENNING, A. A. & HENNING, F. A 2015. Manejo Integrado de Pragas de Grãos e Sementes Armazenadas. Brasília, DF, Embrapa, 81p.
- MENESES, C.; W. G.; CAMILO, S. S.; FONSECA, A. J.; ASSIS JÚNIOR, S. L.; BISPO, D. F. & SOARES, M. A. 2014. A dieta alimentar da presa *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pode afetar o desenvolvimento do predador *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae)? **Arquivos do Instituto Biológico** 81 (3): 250-256.
- MENON, A.; FLINN, P. W.; BARRY, A. & DOVER, B. A. 2002. Influence of temperature on the functional response of *Anisopteromalus calandrae*

- (Hymenoptera: Pteromalidae), a parasitoid of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). **Journal of Stored Product Research** 38 (5): 463–469.
- NASCIMENTO, J. B. 2011. Fatores que afetam a liberação e a eficiência de parasitoides no controle biológico de insetos praga. **Enciclopédia Biosfera** 7 (13): 550-570.
- NAVARRO, M. A. 1998. *Trichogramma* spp.: **producción, uso y manejo en Colombia**. Guadalajara de Buga, Impretec Ltda, 176 p.
- OKAMOTO, K. 1972. The synchronization of the life cycles between *Callosobruchus chinensis* (L.) and its parasite, *Anisopteromalus calandrae* (Howard). **Japanese Journal of Ecology** 22 (6): 233-237.
- PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. & BENTO, J. M. S. 2002. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. ed. Manole, São Paulo.
- PASCUA, M. E. & PASCUA, L. T. 2004. Ichneumonid wasp, *Eriborus argenteopilosus* Cameron (Hymenoptera: Ichneumonidae) on the different larval stages of cotton bollworm *Helicoverpa armigera* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Science** 132: 103-108.
- PIMENTEL, M. A. G.; SANTOS, J. P. & LORINI, I. 2011. **Cultivo do Milho**. Embrapa Milho e Sorgo, Versão Eletrônica 7ª ed. Disponível em: <[http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho\\_7\\_ed/colpragas.htm](http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_7_ed/colpragas.htm)>. Acesso em: 14 de julho de 2017.
- PRATISSOLI, D.; KLOSS, T. G.; ZINGER, F. D.; CARVALHO, J. R. D.; VIANNA, U. R. & PAES, J. P. P. 2014. Does mating interfere in the biological characteristics of a population of *Trichogramma pretiosum*? **Anais da Academia Brasileira de Ciências** 86 (1): 459-464.
- PRATISSOLI, D.; OLIVEIRA, H. N. DE.; POLANCZYK, R. A.; HOLTZ, A. M.; BUENO, R. C. O. DE F.; BUENO, A. DE F. & GONÇALVES, J. R. 2009. Adult Feeding and Mating Effects on the Biological Potential and Parasitism of *Trichogramma pretiosum* and *T. acacioi* (Hym.: Trichogrammatidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology** 52(5):1057-1062.
- SAGLAM, O.; EDDE, P. A. & PHILLIPS, T. W. 2015. Resistance of *Lasioderma serricornis* (Coleoptera: Anobiidae) to fumigation with phosphine. **Journal of Economic Entomology** 108 (5): 2489-2495.
- SASAKAWA, K.; UCHIJIMA, K.; SHIBAO, H. & SHIMADA, M. 2012. Different patterns of oviposition learning in two closely related ectoparasitoid wasps with contrasting reproductive strategies. **Naturwissenschaften** 100 (2): 117–124.
- SIQUEIRA, J. R.; BUENO, R. C. O. DE F.; BUENO, A. F. & VIEIRA, S. S. 2011. Preferência hospedeira do parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum*. **Ciência Rural** 42 (1):1-5.

- SMITH, L. 1993. Host-size preference of the parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Hym.: Pteromalidae) on *Sitophilus zeamais* (Col.: Curculionidae) larvae with a uniform age distribution. **Entomophaga** 38 (2): 225–233.
- STEIDLE, J. L. M.; SCHÖLLER, M. 1997. Olfactory host location and learning in the granary weevil parasitoid *Lariophagus distinguendus* (Hymenoptera: Pteromalidae). **Journal of Insect Behaviour** 10: 331–342.
- SOARES, M. A.; ZANUNCIO, J. C.; LEITE, G. L. D.; REIS, T. C. & SILVA, M. A. 2009. Controle biológico de pragas em armazenamento: uma alternativa para reduzir o uso de agrotóxicos no Brasil? **Unimontes Científica** 11 (1/2): 52-59.
- UÇKAN, F. & ERGIN, E. 2002. Effect of host diet on the immature developmental time, fecundity, and size of *Apanteles galleriae* (Hymenoptera: Braconidae). **Environmental Entomology** 31 (1): 168-171.
- URRUTIA, C. M. A.; WADE, M. R.; PHILIPS, C. B. & WRATTEN, S. D. 2007. Influence of host diet on parasitoid fitness: unravelling the complexity of a temperate pastoral agroecosystem. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 123 (1): 63-71.
- VACARI, A. A.; GENOVEZ, G. DE S.; LAURENTIS, V. L. DE. & BORTOLI, S. A. D. 2012. Fonte proteica na criação de *Diatraea saccharalis* e seu reflexo na produção e no controle de qualidade de *Cotesia flavipes*. **Bragantia** 71 (3): 355-361.
- VINSON, S. B. 1998. The general host selection behaviour of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological control** 11 (2): 79-96.
- ZILCH, K. C. C.; MUNDSTOCK, S. J.; KÖHLER, A & BENDER, E. 2017. Effect of Diet, Photoperiod and Host Density on Parasitism of *Anisopteromalus calandrae* on the Tobacco Beetle and Biological Parameters of the Parasitoid. **American Journal of Plant Sciences**, 8 (12): 3218-3232.

## TABELAS

Tab. I. Número médio ( $\pm$  DP) de *Lasioderma serricorne* emergidos nas testemunhas (sem a presença de parasitoides) e nos tratamentos (com parasitoides) para fêmeas virgens ou pareadas

| Tratamentos      | Nº médio ( $\pm$ DP) de <i>L. serricorne</i> |                    |                   |
|------------------|--|--------------------|-------------------|
|                  | Testemunha                                   | Fêmeas virgens     | Fêmeas pareadas   |
| Larvas           | 24,4 $\pm$ 0,48 aA                           | 2,8 $\pm$ 0,69 bB  | 2,5 $\pm$ 0,90 bB |
| Larvas com dieta | 23,7 $\pm$ 0,70 aA                           | 1 $\pm$ 0,29 bB    | 2,3 $\pm$ 0,30 bB |
| Pupas            | 26,6 $\pm$ 0,58 aA                           | 2,9 $\pm$ 0,44 cB  | 4,4 $\pm$ 0,65 cB |
| Pupas com dieta  | 24,9 $\pm$ 0,83 aA                           | 13,5 $\pm$ 1,02 aB | 5,2 $\pm$ 0,80 aC |

\* Letras minúsculas diferentes na coluna e maiúsculas na linha para o mesmo parâmetro, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis seguido de Dunn

Tab. II. Número médio ( $\pm$  DP) de adultos e parasitismo médio (%) (emergidos + dissecados) de *Anisopteromalus calandrae* de acordo com o estágio de desenvolvimento do hospedeiro e, em presença ou ausência da dieta

| Tratamentos      | Fêmeas virgens     |                       | Fêmeas pareadas     |                       |
|------------------|--------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|
|                  | Emergência média   | Parasitismo médio (%) | Emergência média    | Parasitismo médio (%) |
| Larvas           | 0,60 $\pm$ 0,18 aA | 85,07 aA              | 0,63 $\pm$ 0,15 aA  | 88,34 aA              |
| Larvas com dieta | 0,57 $\pm$ 0,16 aA | 91,06 aA              | 0,63 $\pm$ 0,14 aA  | 88,05 aB              |
| Pupas            | 0,34 $\pm$ 0,08 bA | 78,25 bA              | 0,36 $\pm$ 0,10 bcA | 71,86 bA              |
| Pupas com dieta  | 0,36 $\pm$ 0,14 bB | 44,73 cB              | 0,43 $\pm$ 0,14 acA | 70, 74 bA             |

\* Letras minúsculas diferentes na coluna e maiúsculas na linha para o mesmo parâmetro, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis seguido de Dunn

FIGURA

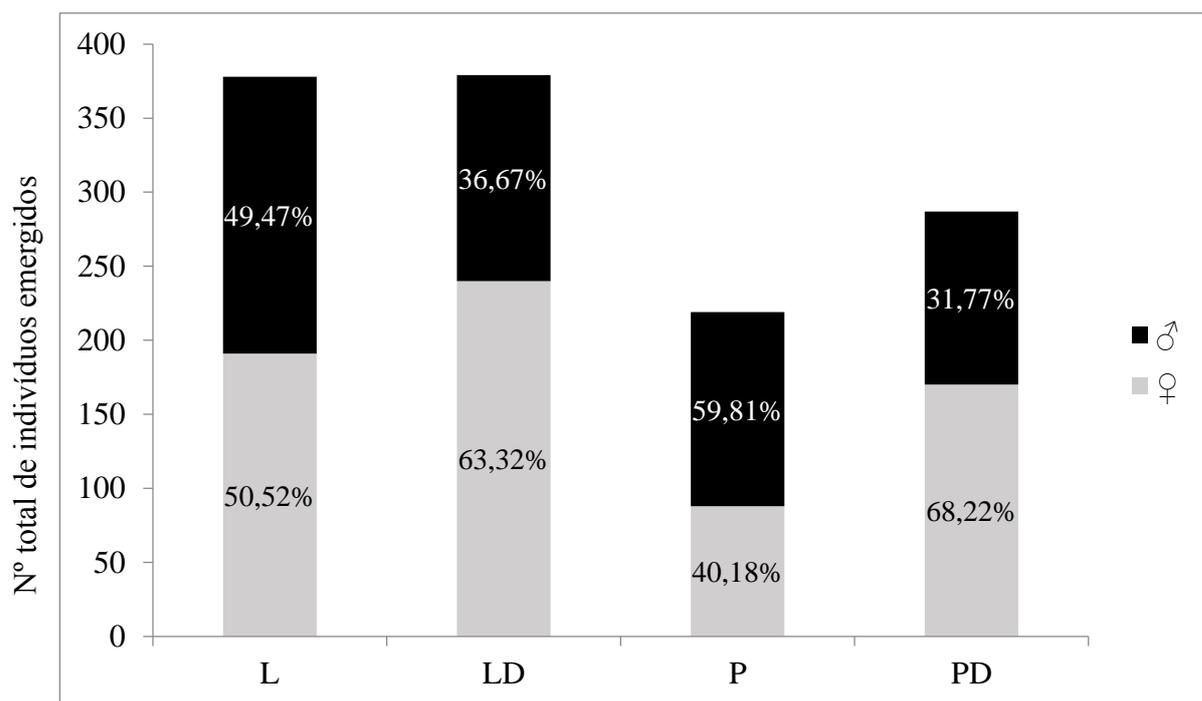


Figura 1. Número de machos e fêmeas de *Anisopteromalus calandrae* emergidos nos tratamentos (L) larvas, (LD) larvas com dieta, (P) pupas e (PD) pupas com dieta. Letras minúsculas diferentes sobre as barras de cada tratamento diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de  $\chi^2$  de heterogeneidade. Números dentro das barras indicam a proporção de machos e fêmeas nos tratamentos

## 4 ARTIGO 2

**Chemotaxic responses of *Anisopteromalus calandrae* Howard (Hymenoptera: Pteromalidae) to odors of larvae, pupae and the diet of *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Ptinidae)\***

---

\* Article formatted according to the norms of Neotropical Entomology

Eduarda Bender – bender.ep@gmail.com, PPG- Plant Science, Federal University of  
Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 7712, Porto Alegre, Rio Grande do Sul  
91540-000, Brazil

Section: Ecology, Behavior and Bionomics

**Chemotaxic Responses of *Anisopteromalus calandrae* (Howard) (Hymenoptera: Pteromalidae) to Odors of Larvae, Pupae and the Diet of *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (Coleoptera: Ptinidae)**

E Bender<sup>13</sup>, SM Jahnke<sup>12</sup>, A Köhler<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Posgraduate Program in Plant Science, Faculty of Agronomy, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

<sup>2</sup>Laboratory of Biological Control of Insects, Phytosanitary Dep. Faculty of Agronomy, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

<sup>3</sup>Laboratory of Entomology, Biology and Pharmacy Dep. Santa Cruz do Sul University (UNISC), Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil

*Anisopteromalus* responses to host semiochemicals

ORCID: 0000-0002-57333143

**ABSTRACT** - Many hymenopteran parasitoid are known as biocontrol agents, such as *Anisopteromalus calandrae* (Howard) (Hymenoptera: Pteromalidae), is known to parasitize larvae and pupae of coleoptera pests including *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (Coleoptera: Ptinidae). The success of these parasitoids is related to their searching ability, which is mediated through chemical stimulus of the habitat, food and the progeny of the host itself. This study aimed to evaluate the chemotaxic responses of *A. calandrae* comparing the physiological state of the insects and the experience of wasp females, to different development stages (larvae and pupae) and the presence or absence of the host diet. The chemotaxic responses of *A. calandrae* individuals with 2 - 4 days old were evaluated in a "Y" type olfactometer. Virgin and paired females (without and with previous experience of parasitism) were exposed to larvae of last instar contrasted with pupae and to the diet of *L. serricorne*. Both virgin and mated males were tested only for diet. As control, only air was used. Virgin females showed a preference to the diet in contrast to the larvae or, to the pupae in contrast to the diet. Paired females without experience, choose larvae than diet and made no distinction between pupae and diet. Experienced mated females, showed preference for the host to which it has access instead of any other contrast, indicating that there may be changed the preference through learning.

**Keywords:** Chemical communication, tobacco beetle, parasitoids, development stages

## INTRODUCTION

*Anisopteromalus calandrae* (Howard) (Hymenoptera: Pteromalidae) is a parasitoid that outstanding as control agent of pest coleopteran larvae and pupae in stored products, including *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (Coleoptera: Ptinidae) (Belda & Riudavets 2010). The beetle is a cosmopolitan pest often found in storage environments (Loeck 2002), causing losses in a large variety of products after harvest, such as oilseeds, cereals, cocoa beans, flours, spices and tobacco, *in natura*, dried or processed (cigars and cigarettes) (Athié & Paula 2002).

The egg of this species is laid separately in the middle of the food (Loeck 2002) and, in stored tobacco, females lay their eggs in small rifts of bales (Lorini *et al* 2015). The larvae undergo four instars. When they reach the last instar, they stop eating and build a fragile cell made of foods and residues mixed with a secretion produced by the midgut, where they pupate. This phase lasts around nine days and thereafter *L. serricorne* adults remain some days inside the pupa cocoon, and when they emerge, they avoid light hiding in cracks (Athié & Paula 2002).

*Anisopteromalus calandrae* (Howard) is an ectoparasitoid, idiobiont, and generalist, prefer to attack larvae in advanced stage of development (fourth instar) that remain inside a cocoon or hidden inside the host, like a grain, but can also attack pupae (Steidle & Schöller 1997, Menon *et al* 2002).

Pteromalidae females use chemical leads, visual, vibration and tactile signs to find the hosts (Godfray 1994, Steidle 2000). When the host larva is found, the female injects, through its ovipositor, a paralyzing substance intended to immobilize the larva (Menon *et al* 2002). Later, the female makes a puncture and decides whether the larva is appropriate for oviposition or whether it will be used only for its nutrition (Belda & Riudavets 2012). One single egg is laid on each host larva (Menon *et al* 2002).

Usually, only one parasitoid develops from each host larva (Arbogast & Mullen 1990), thus, the reproductive performance of females and the survival of its offspring depend, chiefly, on its ability to locate and efficiently parasitize its hosts (Schöller & Prozell 2002). The search behavior has several successive stages, namely: localization of the host habitat, localization of the host, recognition and acceptance (Vinson 1998).

The selection of the host is determined and influenced by different stimuli, mainly chemical substances (semiochemicals) (Schöller & Prozell 2002). Semiochemicals are released by the hosts' habitat, like plants or foods, and those associated to the host itself, like mandibular secretions produced by larvae, faeces, molts, among others, generating physiological or behavioral change in these organisms (Vinson 1976, Vet & Dicke 1992, Vilella & Della - Lúcia 2001). So, these odors are chemical clues that will be used by the parasitoids to successfully locate and parasitize the target species (Godfray 1994).

According to Vet & Dicke (1992) and Vinson (1998), the search and parasitism behavior can be innate, that is, a behavior genetically inherited as response to stimuli that were not previously experienced, or can develop patterns to be learnt, as consequence of the experience. Many studies have demonstrated that certain parasitoid species are able to learn and improve the responses to stimuli to which they are subject in the adult phase or during embryonic or larval development, thus generating learning (Corbet 1985, Nurindah & Gordh 1999).

Understanding the relation involving parasitoid *A. calandrae* and its host *L. serricorne*, the mediator factors in the parasitoid attraction in different development stages of the host, and the influence of the food in which it is created for several generations, can contribute to the effective implantation of this agent in managing pest beetles' populations in storage environments (Vet & Dicke 1992, Schöller & Prozell 2002). Our hypothesis is that parasitoid *A. calandrae* is able to recognize chemical signs

emitted both by the host and its food, and that females behavior can be changed through experience. Therefore, the present study aimed to assessing *A. calandrae* chemotaxic responses comparing the physiological state of females and males and females experience, to *L. serricorne* larva and pupa stages inside the cocoon, in the presence or absence of the host diet.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **Insects breeding**

The insect breedings were kept in the Entomology Laboratory of Santa Cruz do Sul University (UNISC), in controlled environmental conditions ( $28 \pm 2$  °C,  $60 \pm 10\%$  RH and photophase of 12 hours).

The breeding of *L. serricorne* was done according to the methodology proposed by Zilch *et al* (2017), kept under dry diet containing wheat flour (460 g), beer yeast (20 g) and crushed dried tobacco (Virgínia variety) (20 g). The diet was homogenized and then inserted in plastic pots (2.7 L) adapted with openings covered by white crystal organza fabric and kept under the same conditions described above.

*Anisopteromalus calandrae* (Howard) adults were reared in *L. serricorne* larvae. When large part of *L. serricorne* larvae were in the last instar (fourth instar) (with formation of cocoon, approximately 25 days) they were transferred to new pots (2.7 L), within which around ten couples of the parasitoid were released. After approximately 14 days, the first parasitoids emerged, which were collected on a daily basis, with the help of an adapted sucker and transferred to pots containing new larvae (with formation of cocoon) of *L. serricorne*, aiming the breeding maintenance and performance of bioassays. The adults parasitoids received as food pure honey (100%), inserted as little drops on the wall of each recipient.

## Bioassay

Bioassays were conducted in double choice test using a type “Y” glass olfactometer, with 1 cm in diameter, initial arena of 12 cm and 5 cm in each arm, in controlled environmental conditions at 28 °C, during photophase, under white compact fluorescent lamp (60W, 980 luxes).

Chemotactic responses of wasps from 2 - 4 days old were assessed. Virgin and paired females (without previous parasitism experience) and virgin and paired males of *A. calandrae* were used. The parasitoids were submitted to different combinations of treatments (Table 1).

In treatments with larvae (25 days) and pupae (30 days approximately) of *L. serricorne* without diet, they were inserted as cocoons (30 of each), released in the olfactometer glass recipient. In treatments with diet, 1 g of the diet offered to the host (flour + yeast + tobacco) was added, along with the 30 cocoons of larvae or pupae. In the control treatments only air flow was used, without odors.

Before starting the bioassay, the parasitoids were individually placed in 1.5 ml “Eppendorf” type micro tubes without food, for one hour in the testing room, with no previous contact with the host for acclimatization. After this, one individual at a time was placed in the olfactometer arena and exposed to each one of the treatments. The treatment with paired females of *A. calandrae* was made after they remained with males for 24 hours.

In all treatments with olfactometer, the protocol was conducted as follows: one air flow previously filtered with active carbon was placed inside the system with a vacuum pump connected to a flowmeter and a humidifier, at 0.5 L/min rate. After the evaluation of five insects, the olfactometer was inverted to avoid any position deviation. The glass material was washed at each 10 repetitions with neutral soap and waters, dipped in hexane

solution (solvent) for five minutes to eliminate any existing source of odor and dried in convection oven at 100 °C.

Each insect was observed for up to 10 min, the parasitoids that moved at least three centimeters in one of the arms and remained there for at least one minute were recorded as responsive. If no choice were made during this time, the insect was considered as non-responsive. Each treatment comprised at least 40 responsive insects.

*Anisopteromalus calandrae* (Howard) couple with up to 24 hours old were kept in constant contact with the host for 24 hours, so that paired females could acquire previous experience of parasitism, in plastic pots (120 ml) with 10 larvae or pupae (with cocoon formation) of *L. serricorne*, with and without diet.

After this period, females were removed and individually accommodated in “Eppendorf” type 1.5 ml micro tubes, remaining under acclimatization for one hour. Then, they were tested in olfactometer. The same treatments as described above were performed (Table 1), except for the diet x control contrast (air). The chemotaxis assay was made according to previously described protocol.

#### Data analysis

Percentages of chemotaxis responses were compared with nonparametric adhesion  $\chi^2$  test with equal expected proportions. Differences in averages of non-responsive insects in contrasts evaluated against paired females of *A. calandrae* (with and without previous experience of parasitism) were tested for normality by D’ Agostino and since there was no normal distribution, they were submitted to Kruskal-Wallis compared by Dunn test. Analyses were performed by Bioestat 5.0® software (Ayres *et al* 2007), at significance level of 5%.

## RESULTS

### Chemotaxic responses of males

Virgin and paired males of *A. calandrae* were significantly more attracted to the diet (flour + yeast + tobacco), 95% ( $\chi^2 = 32.40$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.0001$ ) and 100% ( $\chi^2 = 40.00$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.0001$ ) respectively, than the control (air) (Fig 1), and there was no difference in their physiological state ( $p > 0.05$ ).

### Chemotaxic responses of females

Virgin and paired females of *A. calandrae*, without previous experience with the host, in treatments using *L. serricorne* larvae and pupas, when tested in contrast with control (air) were significantly more responsive to treatments, regardless of the diet and their state, virgin (Fig 2) or paired (Fig 3) against control (air) ( $p < 0.05$ ). Similarly, the result found for paired females with experience, which showed superior values against control (air) ( $p < 0.05$ ) (Fig 4).

When contrasted with odors of larvae without diet and host diet, virgin females showed no preferences, and they responded similarly to both contrasts, 45 and 55% ( $\chi^2 = 0.40$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.5271$ ) (Fig 5). Paired females (with and without experience) were more responsive to larvae without diet, 70% ( $\chi^2 = 6.40$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.0114$ ) (Fig 5).

By contrasting *L. serricorne* pupas with diet, virgin and paired females with experience in pupas preferred the side with the host 67.5% ( $\chi^2 = 4.90$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.0269$ ) instead of the diet side (32.5%) of *L. serricorne* (Fig 6). Paired females without experience, on the other hand, did not distinguish the volatile substances released by both contrasts ( $\chi^2 = 3.60$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.0578$ ) (Fig 6).

No significant difference was observed in *A. calandrae* females chemotaxic responses when larvae were confronted with pupas, both without diet, for virgin ( $\chi^2 =$

0.10 ;  $df = 1$ ;  $p = 0.7518$ ) and paired ( $\chi^2 = 0.40$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.5271$ ) (Fig 7). On the other hand, in treatments where paired females of *A. calandrae* had experience with parasitism in both stages, it was observed a change of behavior, with females responding significantly to the treatment where they had experience ( $p < 0.05$ ) (Fig 7).

In the treatments with the presence of diet, the response of the females was similar in all conditions (virgin, paired with or without experience), with a preference for larvae in contrast to the pupas ( $p < 0.05$ ). It was only different when females had received experience parasitizing pupas in diet ( $\chi^2 = 6.40$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.0114$ ) (Fig 8).

For paired females of *A. calandrae* with previous parasitism experience in larvae and pupas of *L. serricornis* (with and without diet), it was observed that a mean number of non-responsive individuals ( $0.4 \pm 0.16$ ) was significantly lower than that of the group of paired females without experience ( $3.8 \pm 0.65$ ) ( $F = 9.0778$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0.0004$ ).

## DISCUSSION

The attractiveness to the host diet (flour + yeast + tobacco) of virgin and paired males, compared to control (air) recorded in the present work was the expected response. That because volatile substances emitted by the host food are the first traces used by the parasitoids (Rojas *et al* 2006).

Similar behavior was reported by Germinara *et al* (2016) while assessing the response of *Theocolax elegans* (Westwood) (Hymenoptera: Pteromalidae) to volatile substances of wheat grains and three extracts of hexane. The authors also observed higher preference for wheat grains volatiles by males against control with hexane extracts. Also, according to Li *et al* (1992), females of parasitoids use volatile substances emitted by products or host plant to locate the host habitat, while males use the same chemical leads to locate females.

Similarly to males, virgin and paired females (without previous parasitism experience) were significantly more attracted to treatments containing host larvae and pupas (with and without diet), when compared to control (air). This result proves that the species recognizes the volatiles emitted both by the host and the substrate where it is. *Anisopteromalus calandrae* (Howard), also had record of attractiveness to other products like paddy rice and wheat flour against control with air (Belda & Riudavets 2010). With these results, one can infer that the parasitoid is attracted by its host habitat regardless of its presence. This demonstrates that chemical stimuli to which a parasitoid responds are generally complex mixtures, able to play an important role in the parasitoid attraction, assisting in the process of search for hosts (Turlings *et al* 1990).

Results indicate that virgin females prefer pupae when compared with diet, but do not distinguish larvae and diet. For paired females (with and without experience), their choice is the host, larva or pupa, with detriment to simply diet. The greatest difference effectively found was for virgin females that preferred diet instead of larvae. Maybe their physiological state (non-paired) increases their attractiveness to the substrate (or food) of the host rather than itself, which would indicate in this stage a search for the environment before the larva. Similarly, females of *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae), that were not mated were less attracted to seek the host than those mated (Guertin *et al* 1996). For Darwish *et al* (2003), some parasitoids respond to chemical substances emitted from the intact habitat, others to an environment contaminated by its hosts and this behavior can be changed in paired females, which may have occurred in our study.

Virgin and paired females, without experience, did not show preference with regard to larvae or pupae offered without presence of diet, however, when diet was present, both preferred larvae. This aspect was expected, since there are records that the

species parasitizes preferable larvae inside cocoons (Belda & Riudavets 2010). The choice for larvae in advance stage of development, according to these authors, occurs for other pest coleopteron of stored grains, which serve as hosts for *A. calandrae*. According to Mbata *et al* (2017), the parasitoid that attack different immature stages of the host can discriminate odors and seek specific target to localize it. The presence of diet directed females to larvae, which means that the food can increase their attractiveness to the host in at this stage of development.

This pattern, however, can be changed through learning, since it is clear that females with experience previous to one of the stages of development (with and without diet) are more attracted to this specific stage (Fig 7 and 8). According to Vet & Groenewold (1990), through a previous stimulus with hosts or with volatiles associated to their presence, the parasitoid is able to develop associative learning, increasing its efficiency in the search for hosts.

Responses directed to the odor of the phase where they had experienced parasitism can be explained because the behaviors that led to the selection of the host are triggered by the perception of chemical signs that usually depend on learning processes. The associative learning, where a neutral stimulus (for example, an odor) is perceived during an experience with the host (oviposition) or with host products, ensures to the parasitoid higher probability of finding a host (Vet & Groenewold 1990). Kaiser *et al* (1995) observed that the number of females of *Leptopilina boulardi* (Förster) (Hymenoptera: Figitidae), parasitoid of *Drosophila* (Fallén) (Diptera: Drosophilidae) larvae that responded to odor increased significantly after oviposition experience, with females preferring the smell they had experienced. The association of a specific odor during oviposition experience can change the chemotaxic response behavior of an insect to it, as in the case of *Brachymeria intermedia* (Nees) (Hymenoptera: Chalcididae), parasitoid of

*Lymantria dispar* (L) (Lepidoptera: Lymantriidae) (Kerguelen & Cardé 1996). It happens probably due to the activation of important neurological routes in one single episode of oviposition (Menegasso *et al* 2017). Females of *A. calandrae* that received the oviposition experience had contact with the odor emitted by cocoons with the presence of larvae or pupas of *L. serricorne*, without presence of other artificial odors. Thus, it was expected that they would recognize the odors emitted (*frass*) through the specific phase of development to which they were submitted.

Many studies associate the experience issue to the increase of parasitoids search capacity. One example is the work by Darwish *et al* (2003) who concluded that experienced mated females of *H. hebetor* were more responsive to treatments with larvae of the host *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) than to treatments with host *frass* and flour, contrary to inexperienced mated females, which responded likewise both for pheromones released by the parasitoid and for apneumonia released by their host food products.

This is a very interesting result and reinforces the importance of previous experience with the host before the release of parasitoids in the storage environment. According to Volkl & Mackauer (1993), a parasitoid that forages efficiently has more time for food, selection of higher quality partners and reduces predation risk.

Although in our work the previous experience of virgin females was not evaluated, Parra *et al* (1996) observed that the experience with hosts, particularly the sting and oviposition, increased the response both from mated females and virgin females of *H. hebetor* to *E. kuehniella* *frass*.

All results presented showed that virgin or paired females of *A. calandrae*, without previous parasitism experience with their host use chemical leads emitted by the host itself, in addition to leads from food sources like the diet. After previous contact with the

two stages of development of *L. serricornis*, paired females presented different chemotaxic responses. Females were responsive to stimuli which they had previously experienced.

In applied context, the parasitoids experience allows them to have their behavior manipulated when exposed to the presence of their host or its food, making pest control more efficient (Meirelles *et al* 2009, Vargas *et al* 2017).

#### Acknowledgment

The authors would like to thank Paula Nicolay for the assistance in text review and Camila Corrêa Vargas for the assistance with the statistical analysis. To the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for the Master Degree and DTI-C (306435/2015-2) scholarships granted to the first author.

#### Author Contribution Statement

Eduarda Bender, Simone Mundstock Jahnke and Andreas Köhler, planed this work, Eduarda Bender executed experimental work, Eduarda Bender and Simone Mundstock Jahnke conducted data analyses, Eduarda Bender, Simone Mundstock Jahnke and Andreas Köhler wrote the manuscript.

## REFERENCES

- Arbogast RT, Mullen MA (1990) Interaction of maize weevil (Coleoptera: Curculionidae) and parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) in a small bulk of stored corn. *J Econ Entomol* 83: 2462–2468
- Athié I, Paula DC de (2002) Insetos de grãos armazenados: aspectos biológicos e identificação. 2. ed. São Paulo, Varela Editora, 244 p
- Ayres M, Ayres MJR, Ayres DL, dos Santos AS (2007) BioEstat 5.0 aplicações estatísticas na área das ciências biológicas e médicas. Belém, Sociedade Civil Mamirauá/CNPq, 324 p
- Belda C, Riudavets J (2010) Attraction of the parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Howard) (Hymenoptera: Pteromalidae) to odors from grain and stored product pests in a Y-tube olfactometer. *BioControl* 54: 29-34

- Belda C, Riudavets J (2012) Reproduction of the parasitoids *Anisopteromalus calandrae* (Howard) and *Lariophagus distinguendus* (Förster) on arenas containing a mixed population of the coleopteran pests *Sitophilus oryzae* and *Rhyzopertha dominica*. *J Pest Sci* 85: 381-385
- Corbet SA (1985) Insect chemosensory responses: a chemical legacy hypothesis. *Ecol Entomol* 10:143-153
- Darwish E, El-Shazly M, El-Sherif H (2003) The choice of probing sites by *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) foraging for *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *J Stored Prod Res* 39: 265-276
- Da Silva Menegasso AR, Pratavieira M, Saldanha da Gama Fischer J, Carvalho PC, Roat TC, Malaspina O, Palma MS (2017) Profiling the proteomics in honeybee worker brains submitted to the proboscis extension reflex. *J Proteomics* 151:131–144
- Germinara GS, de Cristofaro A, Rotundo G (2016) Electrophysiological and Behavioral Responses of *Theocolax elegans* (Westwood) (Hymenoptera: Pteromalidae) to Cereal Grain Volatiles. *BioMed Res Int* 1-8
- Godfray HCJ (1994) Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology. In: *Monographs in Behavior and Ecology*. (J.R. Krebs & T. Clutton- Brock Eds). Princeton, University Press, New Jersey 461p
- Guertin DS, Ode PJ, Strand MR, Antolin MF (1996) Host-searching and mating in an outbreeding parasitoid wasp. *Ecol Entomol* 1: 27–33
- Li Y, Dickens JC, Steiner WWM (1992) Antennal olfactory responsiveness of *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae) to cotton plant volatiles. *J Chem Ecol* 18: 1761–1773
- Loeck AE (2002) Praga de produtos armazenados. Pelotas, RS, EGUPEL Editora, 113 p
- Lorini I, Krzyzanowski FC, França-Neto JB, Henning AA, Henning FA (2015) Manejo integrado de pragas de grãos e sementes Armazenadas. Brasília, DF, Embrapa, 81 p
- Kaiser L, Perez- Maluf R, Sandoz JC, Pham- Deleue MH (2003) Dynamics of odour learning in *Leptopilina boulardi*, a hymenopterous parasitoid. *Anim Behav* 66:1077–1084
- Kerguelen V, Cardé RT (1996) Reinforcement mechanisms of olfactory conditioning during parasitization by the parasitoid *Brachymeria intermedia* (Hymenoptera: Chalcididae). *J Insect Behav*, 9:947–960
- Mbata GN, Eason J, Payton ME, Davis MF (2017) Putative Host Volatiles Used by *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) to Locate Larvae of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *J Insect Behav*, 30:287–299
- Meirelles AP, Carneiro TR, Fernandes OA (2009) Efeito de diferentes fontes de carboidrato e da privação de alimento sobre aspectos biológicos de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera, Scelionidae). *Rev Bras Entomol* 53: 457-460
- Menon A, Flinn PW, Dover, BA (2002) Influence of temperature on the functional response of *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae), a parasitoid of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). *J Stored Prod Res* 38: 463-469
- Nurindah Cribb BW, Gordh G (1990) Experience acquisition by *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Aust J Entomol* 38: 15-119
- Parra JRP, Vinson SB, Gomes SM, Cônsoli FL (1996) Flight response of *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) in a wind tunnel to volatiles associated with infestations of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *BioControl* 6: 143-150

- Rojas JC, Castillo A, Virgen A (2006) Chemical cues used in host location by *Phymastichus coffea*, a parasitoid of coffee berry borer adults, *Hypothenemus hampei*. *BioControl* 37: 141–147
- Scholler M, Prozell S (2002) Response of *Trichogramma evanescens* to the main sex pheromone component of *Ephestia* spp. and *Plodia interpunctella*, (Z,E)- 9,12-tetra- decadenyl acetate (ZETA). *J Stored Prod Res* 38: 177–184
- Steidle JLM, Scholler M (1997) Olfactory host location and learning in the granary weevil parasitoid *Lariophagus distinguendus* (Hymenoptera: Pteromalidae). *J. Insect Behav* 10: 331-342
- Steidle JLM (2000) Host recognition cues of the granary weevil parasitoid *Lariophagus distinguendus*. *Entomol Exp Appl* 95: 185-192
- Turlings TCJ, Scheepmaker JWA, Vet Lem, Tumlinson JH, Lewis WJ (1990) How contact foraging experiences affect preferences for host—related odours in the larval parasitoid *Cotesia marginiventris* Cresson (Hymenoptera: Braconidae). *J Chem Ecol* 16: 1577–1589
- Vargas CC, Redaelli LR, Sant’Ana J, Morais RM, Padilha P (2017) Influência da idade do hospedeiro e da aprendizagem no comportamento quimiotáxico e no parasitismo de *Trichogramma pretiosum*. *Iheringia Ser Zool* 107: 1-7
- Vet Lem, Dicke M (1992) Ecology of infochemical use by natural enemies in trophic contexto. *Annu Rev Entomol* 37:141-172
- Vet Lem, Groenewold AW (1990) Semiochemicals and learning in parasitoids. *J Chem Ecol* 16: 3119-3135
- Vilela EF, Della Lucia TMC (2001) Feromônios de Insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas. 2. ed. Ribeirão Preto, Holos Editora, 206 p
- Vinson SB (1976) Host selection by insect parasitoids. *Annu Rev Entomol* 21:109–133
- Vinson SB (1998) The general host selection behaviour of parasitoid Hymenoptera and a comparison of intial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. *BioControl* 11: 79-96
- Volkl W, Mackauer M (1993) Interactions between ants attending *Aphis fabae* spp. cirsiacanthoidis on thistles and foraging parasitoid wasps. *J Insect Behav* 6:301–312

TABLE 1. Combinations of contrasts tested as to attractiveness for *Anisopteromalus calandrae* females and males accommodated at each end of the olfactometer arms. Larvae and pupae of *Lasioderma serricorne*, both inside the cocoon

| <b>End 1</b>     | <b>End 2</b>    |
|------------------|-----------------|
| Larvae with diet | Control (Air)   |
| Larvae           | Control (Air)   |
| Pupae with diet  | Control (Air)   |
| Pupae            | Control (Air)   |
| Diet             | Control (Air)   |
| Larvae           | Diet            |
| Pupae            | Diet            |
| Larvae           | Pupae           |
| Larvae with diet | Pupae with diet |

- Fig 1 Percentage of chemotaxic responses of virgin and mated males of *Anisopteromalus calandrae* to the diet (flour + yeast + tobacco, tested in a double – choice olfactometer. Numbers in the columns represent the number of insects responsive to treatments. NR = number of non-responsive insects. Values followed by an asterisk differ from the control ( $p < 0.05$ )
- Fig 2 Percentage of chemotaxic responses of virgin females of *Anisopteromalus calandrae* to larvae and pupae of *Lasioderma serricorne* (with and without diet) and the diet of the host, tested in a double – choice olfactometer. Numbers in the columns represent the number of insects responsive to treatments. NR = number of non-responsive insects. Values followed by an asterisk differ from the control ( $p < 0.05$ )
- Fig 3 Percentage of chemotaxic responses of paired females (without experience of parasitism) of *Anisopteromalus calandrae* to larvae and pupae of *Lasioderma serricorne* (with and without diet) and the diet of the host, tested in a double – choice olfactometer. Numbers in the columns represent the number of insects responsive to treatments. NR = number of non-responsive insects. Values followed by an asterisk differ from the control ( $p < 0.05$ )
- Fig 4 Percentage of chemotaxic responses of paired females of *Anisopteromalus calandrae* (with experience of parasitism in larvae and pupae) to larvae and pupae of *Lasioderma serricorne* (with and without diet) of the host tested in a double – choice olfactometer. Numbers in the columns represent the number of insects responsive to treatments. NR = number of non-responsive insects. Values followed by an asterisk differ from the control ( $p < 0.05$ )
- Fig 5 Percentage of chemotaxic responses of virgin and paired females of *Anisopteromalus calandrae* (without and with experience in larvae of *Lasioderma serricorne*) to larvae or diet (flour + yeast + tobacco), tested in a double – choice olfactometer. Numbers in the columns represent the number of insects responsive to treatments. NR = number of non-responsive insects. Values followed by an asterisk differ from the treatment ( $p < 0.05$ )
- Fig 6 Percentage of chemotaxic responses of virgin and paired females of *Anisopteromalus calandrae* (without and with experience in pupae of *Lasioderma serricorne*) to pupae or diet (flour + yeast + tobacco), tested in a double – choice olfactometer. Numbers in the columns represent the number of insects responsive to treatments. NR = number of non-responsive insects. Values followed by an asterisk differ from the treatment ( $p < 0.05$ )
- Fig 7 Percentage of chemotaxic responses of virgin and paired females of *Anisopteromalus calandrae* (without and with experience in larvae and pupae of *Lasioderma serricorne* without diet), tested in a double – choice olfactometer. Numbers in the columns represent the number of insects responsive to treatments. NR = number of non-responsive insects. Values followed by an asterisk differ from the treatment ( $p < 0.05$ )
- Fig 8 Percentage of chemotaxic responses of virgin and paired females of *Anisopteromalus calandrae* (without and with experience in larvae and pupae of *Lasioderma serricorne* with diet), tested in a double – choice olfactometer. Numbers in the columns represent the number of insects responsive to treatments. NR = number of non-responsive insects. Values followed by an asterisk differ from the treatment ( $p < 0.05$ )

Fig 1

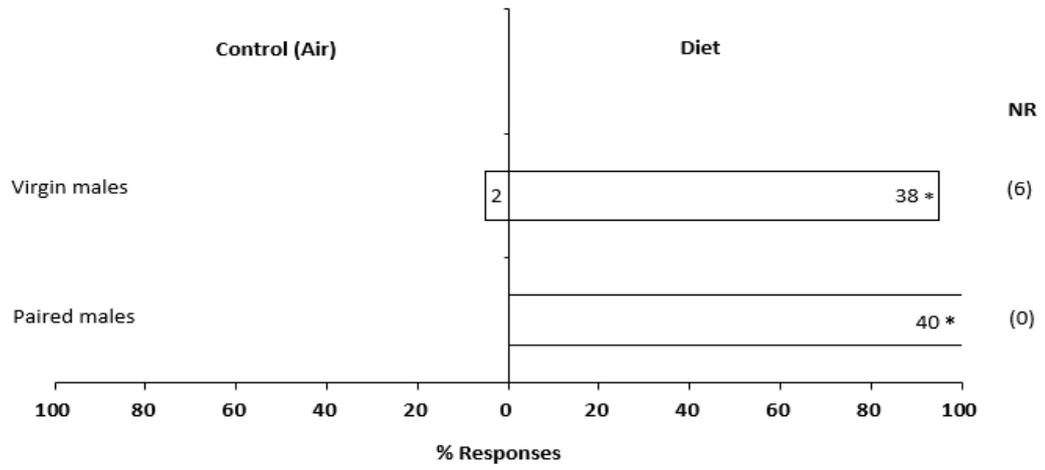


Fig 2

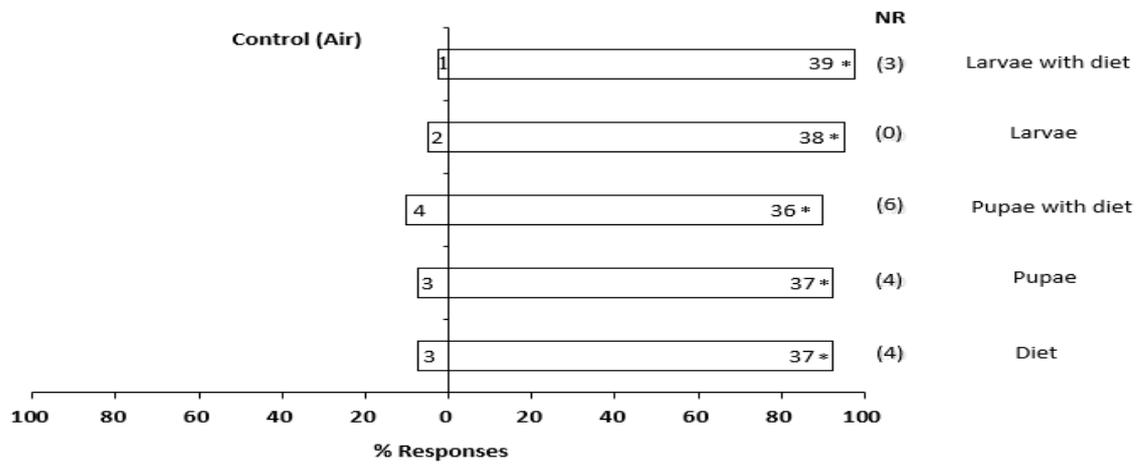


Fig 3

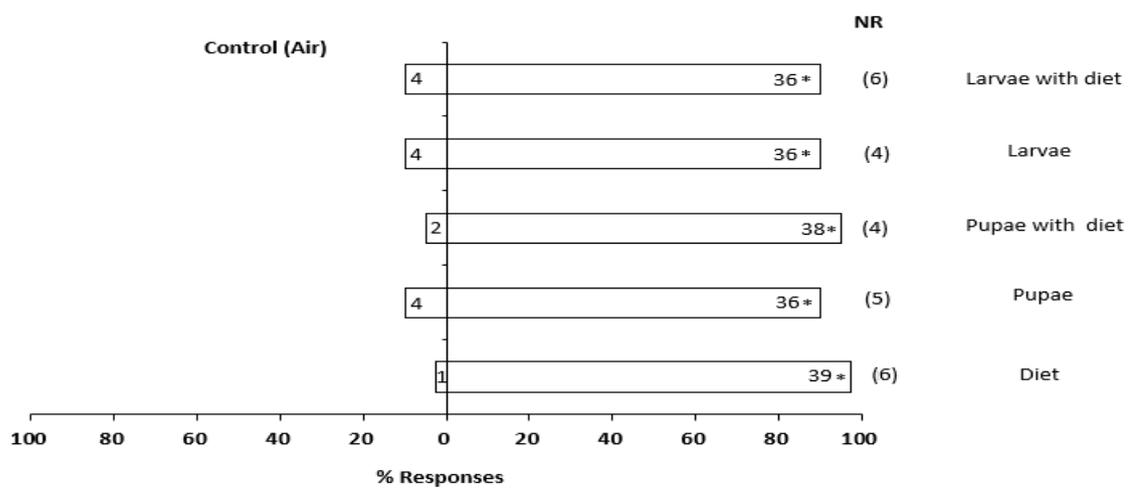


Fig 4

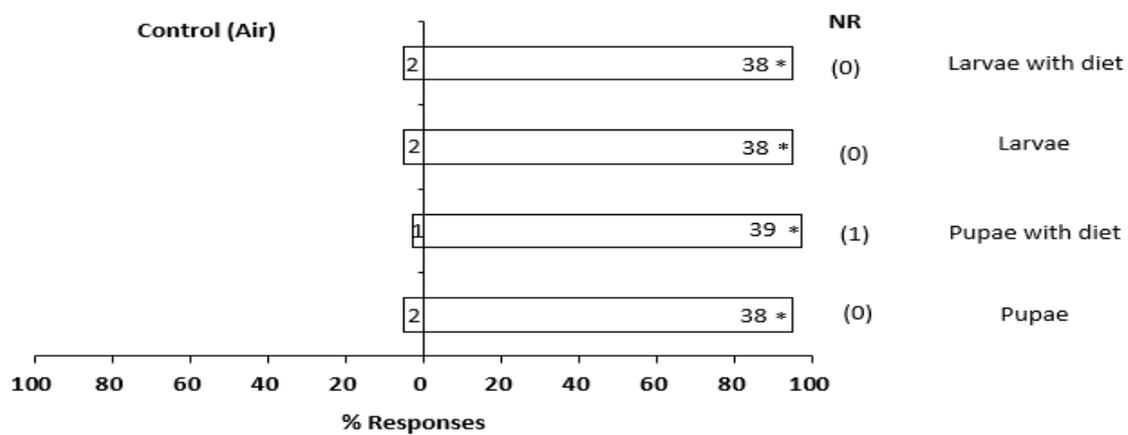


Fig 5

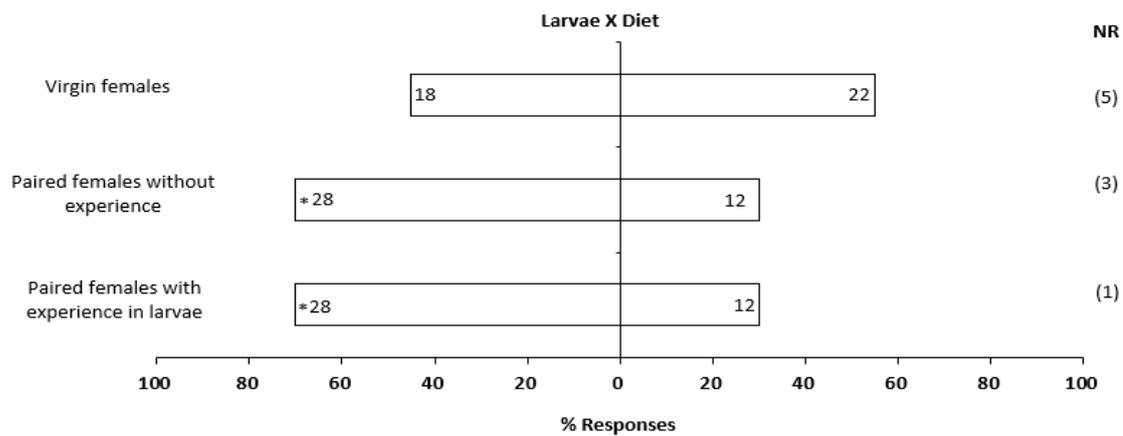


Fig 6

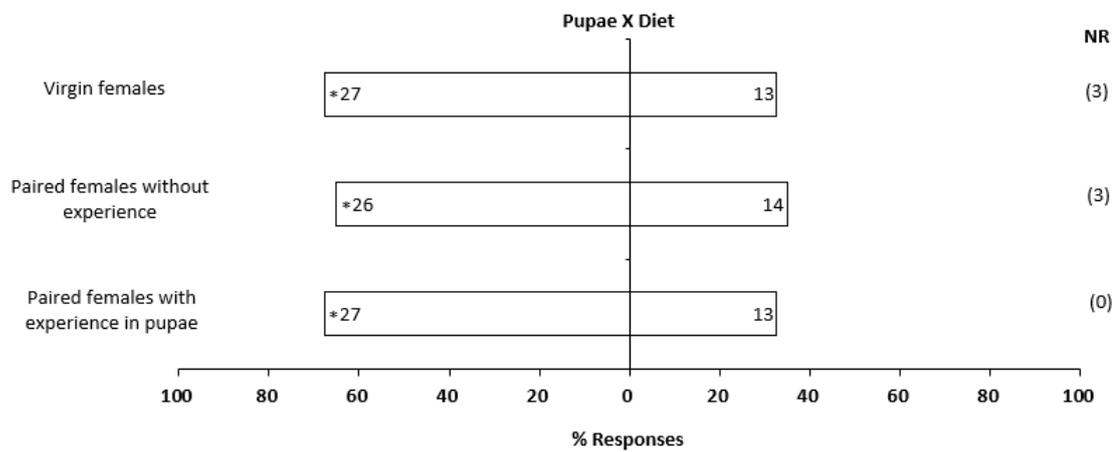


Fig 7

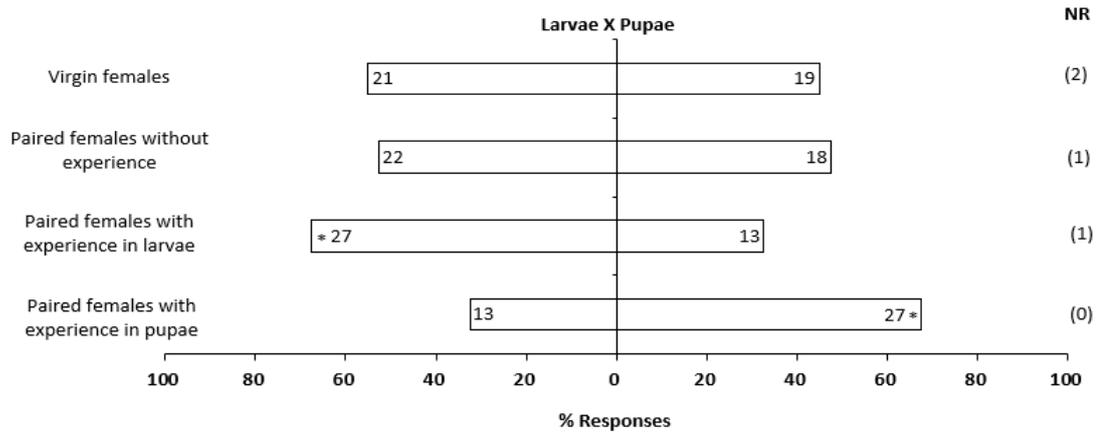
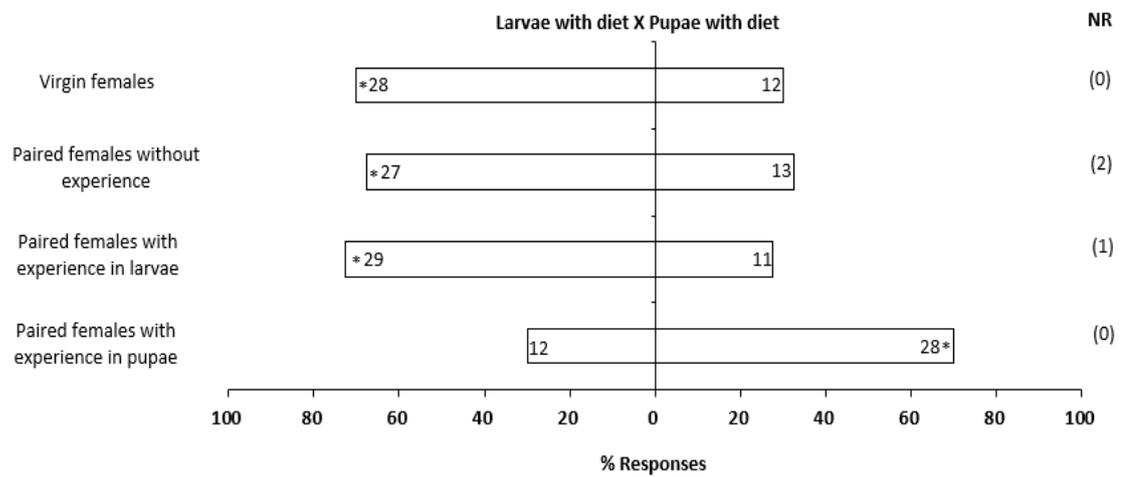


Fig 8



## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos nas condições desse estudo, concluiu-se que quando o parasitoide é exposto às larvas de *L. serricornis*, essas proporcionam maior quantidade de prole e índice de parasitismo em relação às pupas, tanto para fêmeas virgens quanto pareadas. Isso demonstra que o último ínstar do estágio de larva de *L. serricornis* (já com a formação do casulo) é o mais indicado para o desenvolvimento do parasitoide.

Não se observou a influência direta da dieta (farinha + levedo + tabaco) na qual o hospedeiro é criado, em relação à emergência de *A. calandrae*. Entretanto, é possível perceber que a presença da dieta pode proporcionar maior razão sexual, gerando mais fêmeas e esse é um dado interessante para o parasitismo, pois são as fêmeas que realizam o parasitismo, garantindo o controle daquela população de praga.

Com relação aos bioensaios de quimiotaxia, observou-se que, tanto machos como fêmeas, em qualquer condição fisiológica testada, são capazes de reconhecer os voláteis emitidos, tanto por seus hospedeiros, como pelo alimento deste.

Foi possível observar uma mudança na preferência de *A. calandrae* entre fêmeas virgens e pareadas, sem experiência prévia de parasitismo, para aquelas que tiveram experiência prévia para um ou outro estágio de desenvolvimento do hospedeiro. As fêmeas com experiência mostraram preferência pelo estágio de desenvolvimento específico na qual tiveram contato com o hospedeiro.

A partir dos resultados aferidos, considera-se significativo reforçar que para criação massal de *A. calandrae* é importante oferecer somente o estágio de larva de *L. serricornis* e que, se adicionado alimento (dieta) juntamente com o hospedeiro durante a exposição, isso pode favorecer a busca do parasitoide pelo hospedeiro em liberações. Além disso, se os parasitoides forem transportados com larvas do hospedeiro a campo, tendo assim uma experiência prévia de parasitismo, pode-se potencializar a ação deste e assim, aumentar o sucesso dessa espécie em programas de controle biológico de pragas de produtos armazenados, como o tabaco.