

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

BIOLOGIA E MORFOLOGIA DE *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881)
(HYM.: PTEROMALIDAE) EM *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (COL.:
ANOBIIDAE)

Kássia Cristina Freire Zilch
Bióloga/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 2017

CIP - Catalogação na Publicação

Zilch, Kássia Cristina Freire
BIOLOGIA E MORFOLOGIA DE *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (HYM.: PTEROMALIDAE) EM *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (COL.: ANOBIIDAE) / Kássia Cristina Freire Zilch. -- 2017. 100 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, 2017.

1. *Anisopteromalus calandrae*. 2. *Lasioderma serricorne*. 3. Controle Biológico. 4. Bionomia. I. Jahnke, Simone Mundstock, orient. II. Köhler, Andreas, coorient. III. Título.

KÁSSIA CRISTINA FREIRE ZILCH
Bacharel em Ciências Biológicas - 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: 07.03.2017
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 16.05.2017
Por

SIMONE MUNDSTOCK JAHNKE
Orientadora - PPG Fitotecnia

SIMONE MUNDSTOCK JAHNKE
Coordenadora do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia

ANDREAS KÖHLER
Coorientador - UNISC/RS

LUIZA RODRIGUES REDAELLI
PPG Fitotecnia/UFRGS

RAFAEL GOMES DIONELLO
PPG Fitotecnia/UFRGS

DORI EDSON NAVA
EMBRAPA Clima Temperado
Pelotas/RS

CARLOS ALBERTO BISSANI
Diretor da Faculdade de
Agronomia

AGRADECIMENTOS

Considerando esta dissertação como resultado de uma pequena caminhada, mas cheia de novos desafios, agradecer pode não ser tarefa fácil, nem justa. Para não correr o risco da injustiça, agradeço de antemão a todos que de alguma forma passaram pela minha vida e contribuíram para a construção de quem sou hoje. E agradeço, particularmente, a algumas pessoas pela contribuição direta na construção deste trabalho:

Aos meus pais Milton S. Zilch e Elisabete F. M. Zilch, pelo apoio e incentivo incondicional, por acreditar no meu potencial e investir no meu conhecimento. Muito obrigada! Amo vocês!

Ao namorado e amigo Humberto Lange, pelo carinho, apoio, incentivo, compreensão, paciência e por estar ao meu lado nessa importante etapa da minha vida. Muito obrigada! Te amo!

À minha dinda e orientadora querida, Simone M. Jahnke. Muito obrigada por acreditar em mim, me incentivar, apoiar, auxiliar e pelo privilégio de ser sua orientada.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Andreas Köhler, por todo apoio, incentivo, conhecimento, amizade e pelas oportunidades me dadas para trabalhar com parasitoides. Muito obrigada!

À empresa JTI, por ceder a área para coleta e ao CNPq pelo suporte financeiro durante o período de bolsa.

Ao amigo Cleder Pezzini pelo auxílio e suporte no desenvolvimento deste trabalho, pela companhia nas disciplinas, nas viagens pra PoA e pela amizade. Valeu Cleder!

À minha querida “estagiária”, Daiane Muller pela disponibilidade, disposição, paciência e companhia no quentinho do inverno, para abrir casulos, contar e sugar parasitoides. Muito obrigada!

Aos amigos e colegas atuais e antigos do Laboratório de Entomologia da UNISC, José Lemes, Marina Rauber, Emanuela Somavilla, Raquel de Oliveira, Matheus Halmenschlager, Fabiele Hintz, Daiana Oliveira, Grazielle Stumm, Patricia Kumm, Karine Erath, Sheila Puntel e Kethyn Vojahn. Obrigada pelos momentos de trabalho juntos, pelo chimarrão, pelas risadas e pela amizade. Especialmente a minha querida amiga Duda Bender, pela ajuda e paciência pra abrir casulos, disposição, alto astral e pela companhia e amizade todos esses anos.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Controle Biológico de Insetos da UFRGS, em especial à Gisele Silva, Viviane Pretz e Roberta Rohr e por todos aqueles que tiveram participação em minha vida acadêmica, um muito obrigada pelo convívio e amizade.

**BIOLOGIA E MORFOLOGIA DE *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881)
(HYM.: PTEROMALIDAE) EM *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (COL.:
ANOBIIDAE)¹**

Autora: Kássia Cristina Freire Zilch
Orientadora: Simone Mundstock Jahnke
Coorientador: Andreas Köhler

RESUMO

O controle dos insetos praga de produtos armazenados é um dos grandes desafios do manejo integrado de pragas em ambientes de armazenamento. Alternativas que ultrapassem barreiras com eficiência e custos mais baixos se tornam estritamente necessárias. Nesse contexto, o controle biológico utilizando parasitoides vem se tornando uma opção atrativa. Entretanto, se este ainda está sendo aperfeiçoado em sistemas a campo, o uso de parasitoides em produtos armazenados é ainda mais incipiente. Dessa forma, objetivou-se avaliar aspectos biológicos e descrever morfologicamente as fases imaturas do parasitoide *Anisopteromalus calandrae* em larvas do hospedeiro *Lasioderma serricorne*, praga de produtos armazenados. Os bioensaios foram realizados em laboratório, sob condições controladas (27±2 °C, 60±10%UR e fotofase de 12 h). Avaliou-se a influência de diferentes dietas do hospedeiro (farinha de trigo, farinha de trigo + levedo e farinha de trigo + tabaco seco) e os fotoperíodos (0:24h, 12:12h e 24:0h) no parasitismo de diferentes densidades de larvas hospedeiras, por *A. calandrae*. Foram registrados parâmetros de emergência da prole, parasitismo aparente e razão sexual. A longevidade e potencial reprodutivo foram determinados. As fases imaturas de *A. calandrae* foram descritas morfologicamente com auxílio de imagens obtidas através de microscópio eletrônico de varredura e estereomicroscópio e, os ínstaras larvais foram determinados com base na largura da cápsula cefálica. Observou-se que para a criação em laboratório de *A. calandrae* os fatores que proporcionaram melhores condições de desenvolvimento foram a dieta de farinha de trigo, a fotofase de 12h e o oferecimento de densidades superiores a 50 larvas hospedeiras por casal. As fêmeas avaliadas produziram em média uma prole de 35 indivíduos durante a vida e, o máximo potencial reprodutivo foi observado nos 12 primeiros dias de vida da fêmea. Com relação às fases imaturas, foi possível determinar quatro ínstaras larvais. O ciclo total de *A. calandrae* em larvas de *L. serricorne* foi concluído após 13 dias, sendo que a pupa apresenta o período mais longo, que pode durar até sete dias.

¹ Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (100f.) Março, 2017.

**BIOLOGY AND MORFOLOGY OF *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881)
(HYM.: PTEROMALIDAE) IN *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (COL.:
ANOBIIDAE)¹**

Author: Kássia Cristina Freire Zilch
Adviser: Simone Mundstock Jahnke
Coorientator: Andreas Köhler

ABSTRACT

Controlling insect pests from stored products is one of the major challenges in integrated management on storage products. Alternatives that overcome barriers with efficiency and lower costs become strictly necessary. In this context, the biological control using parasitoids has become an attractive option. However, if this is still being improved in field systems, the use of parasitoids in stored products is even more incipient. Thereby, it was objectified to evaluate biological aspects and morphologically describe the immature stages of the parasitoid *Anisopteromalus calandrae* in host larvae and stored product pests, *Lasioderma serricorne*. The bioassays were performed in the laboratory under controlled conditions ($27 \pm 2^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ RH and 12h photophase). The influence of different host diets (wheat flour, wheat flour + yeast and wheat flour + dry tobacco) and photoperiods (0:24h, 12:12h and 24:0h) in the parasitism of different host larval densities by *A. calandrae* were evaluated. Parameters of emergence of offspring, apparent parasitism and sexual ratio were recorded. The longevity and reproductive potential was determined. The immature phases of *A. calandrae* were described morphologically with the aid of images obtained by scanning electron microscope and stereomicroscope and the larval instars were determined based on the width of the cephalic capsule. It was observed that for the rearing of *A. calandrae* in laboratory, the factors that provided better development conditions were the wheat flour diet, the photophase of 12h and offering hosts densities greater than 50 larvae per couple. The females produced an average progeny of 35 individuals during the life and the maximum reproductive potential was observed in the first 12 days of life of the female. Regarding immature phases, it was possible to determine four larval instars. The total cycle of *A. calandrae* in *L. serricorne* larvae was completed after 13 days, being that the pupa presents the longest period, which may last up to seven days.

¹ Master's dissertation in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (100 p.) March, 2017.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Insetos praga de produtos armazenados	3
2.2 <i>Lasioderma serricorne</i>	6
2.3 Controle biológico	8
2.4 Pteromalidae - <i>Anisopteromalus calandrae</i>	11
2.5 Fatores que influenciam o desenvolvimento de inimigos naturais.....	15
2.6 Referências Bibliográficas.....	18
3 ARTIGO 1 - Influência da dieta e do fotoperíodo no parasitismo de <i>Anisopteromalus calandrae</i> (Howard, 1881) (Hym.: Pteromalidae) em <i>Lasioderma serricorne</i> (Fabricius, 1792) (Col.: Anobiidae).....	24
Introdução.....	28
Material e métodos	30
Resultados	33
Discussão	36
Agradecimentos	41
Referências	41
4 ARTIGO 2 - Longevidade e potencial reprodutivo de <i>Anisopteromalus calandrae</i> (Howard, 1881) (Hym., Pteromalidae) em larvas de <i>Lasioderma serricorne</i> (Fabricius, 1792) (Col., Anobiidae).....	49
1 Introdução.....	52
2 Material e métodos	54
3 Resultados	55
4 Discussão	56
Agradecimentos	59
Referências	60
5 ARTIGO 3 - Caracterização morfológica das fases imaturas e desenvolvimento de <i>Anisopteromalus calandrae</i> (Hymenoptera: Pteromalidae) em larvas de <i>Lasioderma serricorne</i> (Coleoptera: Anobiidae).	66
Introdução.....	70
Material e métodos	72
Resultados.....	73
Discussão.....	78
Agradecimentos	80
Referências citadas	81
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	89

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
ARTIGO 1	
I. Emergência média (\pm DP) (média/tratamento) e parasitismo aparente médio (%) de <i>Anisopteromalus calandrae</i> de acordo com a densidade de larvas de <i>Lasioderma serricorne</i> e dieta oferecida ao hospedeiro.....	46
II. Emergência média de parasitoides (\pm DP) (média/tratamento) e porcentagem média (%) de parasitismo de acordo com o fotoperíodo durante a fase adulta do parasitoide <i>Anisopteromalus calandrae</i> e a densidade do hospedeiro <i>Lasioderma serricorne</i>	46
ARTIGO 3	
1. Dimensões médias (\pm DP) das diferentes fases de desenvolvimento de <i>A. calandare</i> em larvas de <i>L. serricorne</i> . Fotofase 12h, temperatura 27 ± 2 °C e umidade relativa $60 \pm 10\%$	83

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
1. Pupa, adulto e larva de <i>Lasioderma serricorne</i> , respectivamente (Fonte: forestryimages.org).....	8
2. Fêmea de <i>Anisopteromalus calandrae</i> (Fonte: Max E. Badgley).....	13
ARTIGO 1	
1. Correlação entre o parasitismo de <i>Anisopteromalus calandrae</i> e a densidade de larvas de <i>Lasioderma serricorne</i> nas três dietas avaliadas	47
2. Proporção de machos e fêmeas de <i>Anisopteromalus calandrae</i> emergidos nas diferentes densidades do hospedeiro (larvas de <i>Lasioderma serricorne</i>) e nas dietas avaliadas. Letras minúsculas diferentes dentro de cada tratamento diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Kruskal-Wallis seguido de Dunn. Se ausentes, densidades dentro do tratamento não diferem estatisticamente entre si. Números dentro das barras indicam a quantidade total de machos e fêmeas nos tratamentos	47
3. Proporção de machos e fêmeas de <i>Anisopteromalus calandrae</i> emergidos nas diferentes densidades do hospedeiro (larvas de <i>Lasioderma serricorne</i>) e nas fotofases avaliadas. Números dentro das barras indicam a quantidade total de machos e fêmeas nos tratamentos.....	48
ARTIGO 2	
1. Curva de sobrevivência de machos e fêmeas de <i>Anisopteromalus calandrae</i> em condições de laboratório	64
2. Emergência média de machos, fêmeas e total da prole (\pm EP) relativa ao dia de exposição das larvas às fêmeas	65
ARTIGO 3	
1. Larva de primeiro ínstar (vista ventral) ilustrando a terminologia utilizada no texto. As letras referem-se às seguintes estruturas: T1 – T3, segmentos torácicos; A1 – A9, segmentos abdominais e SA, segmento anal	84
2. Tempo de desenvolvimento total das fases imaturas do parasitoide <i>Anisopteromalus calandrae</i> em larvas de <i>Lasioderma serricorne</i> . Fotofase 12h, temperatura 28 ± 2 °C e umidade relativa $60 \pm 10\%$	85
3. Imagens das fases imaturas de <i>Anisopteromalus calandrae</i> criados sobre larvas de <i>Lasioderma serricorne</i> . Eletromicrografias obtidas através de	

microscópio eletrônico de varredura (M.E.) e fotografias de visualizações em estereomicroscópio (F.E.). O1 (M.E.) e O2 (F.E.): Ovos; L1a (M.E.) e L1b (F.E.): Larvas de primeiro ínstar, vista ventral e lateral; L2a (M.E.) e L2b (F.E.): Larvas de segundo ínstar em vista lateral; L3a (M.E.) e L3b (F.E.): Larvas de terceiro ínstar em vista dorsal e lateral; D1 (M.E.): Detalhe da superfície externa do ovo; D2 (M.E.): Detalhe da superfície externa geral das larvas; D3 (M.E.): Detalhe da cápsula cefálica da larva de primeiro ínstar.	86
4. Imagens das fases imaturas de <i>Anisopteromalus calandrae</i> criados sobre larvas de <i>Lasioderma serricorne</i> . Eletromicrografias obtidas através de microscópio eletrônico de varredura (M.E.) e fotografias de visualizações em estereomicroscópio (F.E.). L4a (M.E.) e L4b (F.E.): larvas de quarto ínstar em vista lateral; PP1 (M.E.) e PP2 (F.E.): pré-pupas em vista lateral; Pf1 (M.E.) e Pf2 (F.E.): pupas fêmea em vista ventral; Pm1 (M.E.) e Pm2 (F.E.): pupas macho em vista ventral. D4 (M.E.): Pupa fêmea em diferentes tempos de desenvolvimento, mostrando alterações na coloração.....	87
5. Desenho da cápsula cefálica de larva de quarto ínstar ilustrando a quetotaxia em vista frontal. Lenda: AM: cerda antero-medial da região antenal; CLP 1 e CLP 2: cerdas clipeais; GN1 e GN2: cerdas genais; HS: cerda hipostomal.....	88

1 INTRODUÇÃO

As espécies “pragas” associadas aos produtos armazenados estão, de forma rápida, adaptando-se aos ambientes de pós-colheita, aos manejos utilizados e reproduzindo-se rapidamente, prejudicando produtores e empresas beneficiadoras, desde a produção (perda de peso para venda às empresas) até sua exportação (estocagem e certificado negativo de presença do inseto). Sendo assim, estudos básicos sobre novas tecnologias de controle, preferencialmente biológicos e ecologicamente sustentáveis, são cada vez mais importantes.

A resistência a inseticidas está aumentando mundialmente e se constitui num dos maiores problemas de controle de pragas na atualidade. Existem muitas espécies de insetos que desenvolveram resistência a um ou mais grupos químicos. Isso evidencia a necessidade urgente de utilizar o manejo integrado de pragas no armazenamento para que esses inseticidas sejam preservados pelo maior tempo possível, tendo em vista a grande dificuldade de substituição desses produtos. O manejo adequado pode reduzir o número de espécies resistentes ou, no mínimo, retardar o aparecimento deste problema. Por outro lado, a resistência dos parasitoides de pragas de produtos armazenados a inseticidas poderá ser empregada como estratégia de controle complementar ao convencional.

Apesar do grande potencial que os agentes de controle biológico possuem, no Brasil, ainda são usados em um nível muito baixo em função dos problemas técnicos

envolvidos na sua produção e utilização como, por exemplo, a dificuldade de se produzir em grande escala, o controle de qualidade e os métodos de liberação em campo. Ademais, agricultores e técnicos agrícolas ainda possuem uma cultura fundamentada na utilização de agroquímicos, além da inexistência de políticas públicas específicas que auxiliem e divulguem a tecnologia do controle biológico aos produtores agrícolas e à sociedade em geral.

Os parasitoides são importantes reguladores populacionais de insetos e destacam-se como o principal grupo de inimigos naturais em sistemas agrícolas. Estão distribuídos em inúmeras famílias e sua adaptação ao modo de vida parasítico é mais diversa e abundante em Hymenoptera. As diversas restrições impostas pelo hospedeiro e seu habitat levaram os himenópteros parasitoides a se tornar um dos grupos mais bem adaptados na exploração de seus recursos.

O estudo das características dos parasitoides que atuam sobre insetos pragas de produtos armazenados, poderá ampliar o conhecimento a respeito dessas interações trazendo novas possibilidades no controle biológico, de forma menos impactante à saúde pública e ao meio ambiente. Dessa forma, objetivou-se no presente estudo, avaliar a influência da dieta e de diferentes fotoperíodos no desenvolvimento pós-embriônico, emergência, tamanho da prole, razão sexual e taxa de parasitismo de *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hym., Pteromalidae), criados em larvas de 4º ínstar de *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Col.: Anobiidae) em diferentes densidades. Além de determinar a longevidade e o potencial reprodutivo e descrever morfológicamente as fases imaturas de *A. calandrae*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Insetos praga de produtos armazenados

Segundo Periotto (2001) praga é qualquer espécie, biótipo ou raça de animal, vegetal ou outro agente patogênico nocivo aos vegetais e seus subprodutos.

A condição de praga de uma população de insetos depende da abundância de indivíduos assim como, o tipo de perda ou danos causados por ela (Gullan & Cranston, 1994). A maioria desses insetos reduz a produtividade e qualidade do produto através do consumo dos tecidos ou órgãos da planta, frutos e sementes para sua alimentação ou, no caso de insetos sugadores, ocasionam injúrias através da sucção da seiva, causando a redução do vigor e do crescimento da planta, podendo também ser vetores de vírus e bactérias (Seebold *et al.*, 2010).

As pragas podem ocorrer em qualquer fase de desenvolvimento da cultura, atacando diferentes partes da planta e também, após a colheita, no armazenamento dos produtos (Azevedo, 2009). Segundo o mesmo autor, algumas espécies que atacam os grãos e produtos vegetais armazenados podem também ser encontradas em campo, onde ocorre a infestação inicial dos grãos. Durante a colheita os insetos são levados na forma de ovo e no armazém, pelas condições ótimas de temperatura, se desenvolvem rapidamente, podendo atingir níveis populacionais elevados.

Segundo Menten (1982), as características mais comuns dos insetos praga de produtos armazenados, são o alto potencial de reprodução em um curto período de

tempo, a polifagia e a reprodução cruzada. Para iniciar uma infestação que pode provocar a deterioração dos produtos, é necessário um pequeno número de insetos, graças à alta capacidade de reprodução e por poderem permanecer em repouso no estágio intermediário de desenvolvimento quando as condições forem adversas (Menten, 1982). Normalmente as larvas desses insetos consomem grandes quantidades de alimento, danificando e deteriorando o produto (Borror & DeLong, 1988).

O conhecimento do hábito alimentar de cada praga constitui um elemento importante para definir o manejo a ser implementado no produto que está sendo infestado (Lorini *et al.*, 2010). Dessa forma, segundo os autores, as pragas de grãos armazenados podem ser classificadas conforme seu hábito alimentar em primárias e secundárias.

As pragas primárias são aquelas que atacam grãos inteiros e sadios e, dependendo da parte do grão que atacam, podem ser denominadas pragas primárias internas ou externas (Lazzari & Lazzari, 2002). As internas perfuram os grãos e neles penetram para completar seu desenvolvimento. As externas destroem a parte exterior do grão (casca) e depois se alimentam da parte interna sem, no entanto, se desenvolverem no interior do grão (Lorini, 2003). Um exemplo de praga primária é *L. serricorne* (Loeck, 2002). As pragas secundárias, por outro lado, não conseguem atacar grãos inteiros, pois precisam que eles estejam danificados ou quebrados para conseguirem se alimentar (Lazzari & Lazzari, 2002). O coleóptero *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Col.: Tenebrionidae) é um exemplo de praga secundária de grãos armazenados (Lorini *et al.*, 2010).

As densidades populacionais destas pragas podem variar em função de fatores abióticos como temperatura e umidade. Normalmente a temperatura ideal é entre 23 a 35° C e a faixa favorável de umidade é de 12~15% (Ramos, 2009).

De acordo com Copatti *et al.* (2013) os produtos armazenados estão sujeitos a deteriorações e perdas em virtude das interações entre os fenômenos físicos, químicos e biológicos. Segundo os mesmos autores, a ausência de boa estrutura para armazenagem, umidade inadequada, temperatura em torno de 30° C, abundância de abrigo e alimento estão entre as principais causas da deterioração dos grãos pelo ataque de insetos.

Como a atividade desses insetos é muito sensível à temperatura e em estruturas de armazenamento ela pode ser controlada, muitas vezes, se diminui a temperatura desses locais para evitar o ataque, mas nas regiões de climas tropicais ou subtropicais durante os meses mais quentes essa metodologia se torna pouco efetiva (Loeck, 2002).

Os produtos armazenados tais como grãos, sementes, farinhas, café, chocolate, fumo, rações animais, especiarias, plantas desidratadas, frutas secas entre outros, podem ser infestados por carunchos, besouros e traças (Ramos, 2009). As espécies que se destacam são os coleópteros *L. serricorne*, *T. castaneum*, *Sitophilus* spp. (Col.: Curculionidae) e *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Col.: Bostrichidae) e os lepidópteros *Plodia interpunctella* (Hübner, 1813), *Ephestia* spp., *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1866) (Lep.: Pyralidae) e *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1789) (Lep.: Gelechiidae) (Pacheco & Paula, 1995).

Na década de 1960, na cultura do tabaco brasileira, já eram registradas 93 espécies animais que utilizam as estruturas vegetais como alimento, em todo o processo produtivo. Entretanto, no armazenamento em galpões da propriedade rural ou mesmo nos depósitos das empresas beneficiadoras, as principais pragas que atacam o produto seco são o besouro do fumo, *L. serricorne* e a traça *Ephestia elutella* (Hübner, 1796) (Lep.: Pyralidae) (Guedes & Costa, 2006). Os danos provocados no tabaco e seus subprodutos são realizados principalmente, pelas larvas que ao se alimentarem,

consomem as folhas, formam galerias e seus excrementos e exúvias contaminam o produto (Carvalho *et al.*, 2003).

2.2 *Lasioderma serricorne*

Popularmente conhecida como o bicho-do-fumo, a espécie *L. serricorne* é encontrada em regiões tropicais, subtropicais e temperadas do mundo (Loeck, 2002). É uma praga primária que não apresenta preferência alimentar, sendo relatada consumindo produtos de origem animal, oleaginosas, cereais, grãos de cacau, farinhas, especiarias, frutas secas e tabaco seco *in natura* ou processado em forma de charutos e cigarros (Athié & Paula, 2002; Loeck, 2002).

Quando estes insetos são submetidos à temperatura de 35 °C, a eclosão se dá após cinco a seis dias, enquanto a 22 °C ocorre após cerca de 20 dias (Velasquez & Trivelli, 1983). Howe (1957) manteve uma criação com temperatura de 30 °C e UR de 70% com alimentação à base de trigo, obtendo postura média de 100 ovos por fêmea. A duração do período larval foi de 19 dias e o pupal de sete dias.

Kismali & Göktay (1988) numa criação em tabaco com temperatura de 26-28 °C e UR de 70-85% e em contínua escuridão, obtiveram 90% de eclosão de larvas com período de incubação de oito dias, período larval de 50 dias e fase de pupa com duração de seis dias. O ciclo total teve média de 68 dias. Assim que eclode, a larva pode se alimentar da casca do ovo, devido às proteínas presentes nessa estrutura (Kismali & Göktay, 1988). Segundo Loeck (2002) o ovo desta espécie é colocado isoladamente no meio do alimento.

Avaliando a atratividade, taxa de sobrevivência e oviposição de *L. serricorne* em diversos produtos armazenados, Hori *et al.* (2011) observaram que a maior taxa de oviposição foi registrada em produtos que o inseto se alimentava, como folhas de tabaco

e farinha de trigo, mas também ocorreu postura em produtos não alimentares, ou seja, que não servem de substrato para o desenvolvimento das larvas (chá verde e café). Entretanto, só se desenvolveram até a fase adulta indivíduos advindos de ovos colocados em produtos alimentares. Isso, segundo os autores sugere que o substrato pode ser atraente para alimentação, oviposição ou ambos, mas nem sempre possibilita o desenvolvimento total do inseto.

De acordo com Evans (1981) a larva passa por quatro instares, ocorrendo a seguir a fase de pupa em uma célula um tanto frágil, construída no substrato ou dentro de um grão, a qual dura cerca de nove dias a 32,5-35 °C. A coloração das larvas é branco-amarelada e são do tipo escarabeiforme com cabeça proeminente não retraída para dentro do protórax. Apresenta corpo robusto, acentuadamente curvado e coberto por fina pilosidade (Fig.1). Quando estão no último ínstar essas larvas apresentam comprimento médio de 4,5 mm (Collier, 1981; Evans, 1981). Segundo Munro (1966) as larvas de *L. serricorne* diferem das larvas de outros anobiídeos encontrados em produtos armazenados por não possuírem fileiras de espinhos nos segmentos abdominais.

As pupas apresentam coloração esbranquiçada (Fig.1), comprimento médio de 4,5 mm e é possível realizar a separação dos sexos nesta fase. Segundo Halstead (1963) os machos apresentam papilas genitais globulares e não protuberantes, enquanto as fêmeas apresentam papilas genitais protuberantes, trissegmentadas e distintamente divergentes.

O adulto permanece alguns dias no interior do casulo pupal antes de emergir, assim que emerge evita a luz se escondendo em frestas (Evans, 1981). Segundo o autor, em criações com temperaturas entre 32,5 a 35 °C apresenta uma longevidade em torno

de duas a seis semanas e, em condições de 30 °C e 70% UR sua longevidade fica em torno de 25 dias.

Os adultos apresentam formato ovalado com comprimento entre 2 a 3,7 mm. A cabeça é defletida sob o protórax, os élitros são lisos sem estrias ou pontuações (Fig.1), a antena apresenta onze segmentos com os anterômeros do 4° ao 10° serrados, tarsos com cinco segmentos e o corpo apresenta pêlos claros, finos e sedosos (Collier,1981; Gallo *et al.*, 2002). São bons voadores e se dispersam com facilidade, possuem uma coloração que varia de marrom claro a escuro (Ramos & Nanya, 2009).



Figura 1. Pupa, adulto e larva de *Lasioderma serricorne*, respectivamente (Fonte: forestryimages.org)

2.3 Controle biológico

O controle biológico é um fenômeno natural que consiste na regulação do número de plantas e animais por inimigos naturais, que são os agentes de mortalidade biótica (Santos *et al.*, 2011). Segundo Debach & Rosen (1991) o controle biológico é um fenômeno dinâmico que sofre influência de fatores climáticos, disponibilidade de alimento e competição.

Quando se discute a produção integrada rumo a uma agricultura sustentável, o controle biológico assume importância cada vez maior em programas de manejo

integrado de pragas (MIP) (Parra *et al.*, 2002). Em sistemas que utilizam este manejo, o controle biológico é uma importante tática e deve ser utilizada onde quer que seja viável pois, apresenta vantagens que minimizam a presença de resíduos de pesticidas capazes de contaminar a cultura ou o meio ambiente (Norris *et al.*, 2003).

Por outro lado, se o MIP com uso de controle biológico ainda está sendo aperfeiçoado em sistemas a campo, em produtos armazenados é pouco utilizado (Schöller *et al.*, 1997). Alguns trabalhos avaliaram essa técnica, como exemplo, o estudo de Flinn & Hagstrum (2001) que utilizaram liberações inundativas do parasitoide *Theocolax elegans* (Westwood, 1874) (Hym.: Pteromalidae) em farinha de trigo e reduziram a população de *R. dominica* e o número de resíduos de insetos, de forma expressiva.

Segundo Soares *et al.* (2009) o uso dos agentes de controle biológico associado a outras estratégias de controle, foi muito estudada por vários autores, no entanto, existem poucos relatos na literatura científica de técnicas econômicas para criação massal, armazenamento, transporte e liberação da maioria desses agentes.

Dentre os insetos agentes de controle, os mais utilizados e efetivos são parasitoides da ordem Hymenoptera. Segundo Quicke (1997), as fêmeas de himenópteros parasitoides ovipositam em outros artrópodes, normalmente em formas jovens de outros insetos. As larvas durante seu desenvolvimento consomem o hospedeiro e na maioria dos casos levam-no à morte. Por esse motivo, conforme Rafael *et al.* (2012), são denominados parasitoides, uma vez que se comportam mais como predadores do que parasitas propriamente ditos, mas agem diferentemente dos predadores no sentido clássico, uma vez que consomem apenas um único indivíduo como hospedeiro e na fase adulta, tem vida livre.

Atualmente a criação de parasitoides sobre um hospedeiro natural é a forma mais utilizada mundialmente, o que traz a necessidade de manutenção de criações das duas espécies. Dessa forma, para se criar o parasitoide, necessita-se da disponibilidade de seu hospedeiro, que pode ser facilitada pela utilização de dietas artificiais para essas espécies. Contudo, essas dietas devem ser testadas para a verificação da qualidade dos insetos produzidos, tanto os hospedeiros quanto os inimigos naturais obtidos a partir destes (Vacari *et al.*, 2012).

Após obter o domínio de criações massais e de liberações inundativas, o controle biológico poderá ser considerado uma medida emergencial, quando outras formas de controle não estiverem disponíveis (Parra *et al.*, 2002).

Os parasitoides mais frequentemente empregados são representantes das famílias Braconidae, Ichneumonidae, Eulophidae, Pteromalidae, Encyrtidae, Trichogrammatidae e Aphelinidae (Pinto *et al.*, 2006). Duas espécies já produzidas em larga escala e comercializados para liberações em campo no Brasil são *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891 (Hym.: Braconidae) para o controle de larvas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lep.: Crambidae) e *Trichogramma* spp. no combate de ovos de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lep.: Noctuidae) e *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lep.: Gelechiidae) entre outras lagartas (Parra *et al.*, 2011).

Especificamente para produtos armazenados ainda não existem espécies comercializadas no Brasil, mas trabalhos que estudam parasitoides potenciais foram realizados, como estudos de Inoue & Parra (1998) que demonstraram o potencial de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hym.: Trichogrammatidae) para controlar *S. cerealella* em milho armazenado. Esse parasitoide, apesar de ser desenvolvido para liberações em campo, é capaz de parasitar ovos com até 40 cm de profundidade na massa de grãos. Flinn *et al.* (1996) também demonstraram que após realizada uma

liberação aumentativa de *T. elegans* ocorreu uma redução de cerca de duas a três vezes o custo com aplicações de agrotóxicos contra *R. dominica* em grãos armazenados.

Niedermayer *et al.* (2016), avaliando a capacidade de detecção de *Sitophilus granarius* (L., 1758) pelos parasitoides *Lariophagus distinguendus* (Forster, 1841) e *A. calandreae* em instalações de armazenamento de grãos vazias, observaram que indivíduos de *A. calandreae* foram capazes de localizar o hospedeiro a 10 metros do local de liberação e *L. distinguendus* a 15 m. Os autores também mencionam que a detecção do hospedeiro por *A. calandreae* pode ter sido influenciada pela luz.

2.4 Pteromalidae - *Anisopteromalus calandreae*

Segundo Hanson & Gauld (1995), *A. calandreae* possui uma distribuição cosmopolita e pertence a uma das famílias mais abundantes de Chalcidoidea, Pteromalidae, contendo mais de 600 gêneros e aproximadamente 3.500 espécies descritas.

Os indivíduos de Pteromalidae são himenópteros de tamanho pequeno, entre 1 e 7 mm de comprimento com coloração variando de verde brilhante ou azul, a preta ou amarela (Hanson & Heydon, 2006). As antenas têm de 8 a 13 segmentos, incluindo 1-3 anéis e 5-7 segmentos funiculares. De acordo com Hanson & Heydon (2006), as asas são totalmente desenvolvidas e as anteriores possuem veia marginal várias vezes mais longa que larga e as veias pós-marginal e estigmal bem desenvolvidas. O metassoma é subpeciolado a distintamente peciolado e o ovipositor pode variar nos indivíduos da família, de completamente oculto a exposto e os tarsos têm usualmente cinco segmentos.

A grande maioria dos pteromalídeos é parasitoide, mas alguns são predadores e poucos são fitófagos (Rafael *et al.* 2012). Na família, segundo os autores, as classes de

parasitismo são muito diversas e compreendem cenobiontes, idiobiontes, ecto e endoparasitoides, parasitismo solitário e gregário e parasitismo primário e secundário. Segundo Hanson & Heydon (2006) seus hospedeiros variam desde aranhas, blatódeos, dermápteros, hemípteros, neurópteros, coleópteros, strepsípteros, lepidópteros, dípteros, siphonápteros a outros himenópteros. A maioria das espécies parasita larvas e pupas de insetos holometábolos (especialmente Diptera e Coleoptera) e poucas espécies parasitam ovos ou mesmo adultos.

Alguns representantes da família são usados em programas de controle biológico de pragas, como por exemplo, as três espécies cosmopolitas *L. distinguendus*, *T. elegans* e *A. calandrae* que são frequentemente encontradas atacando besouros praga de produtos armazenados (Hanson & Gauld, 1995).

Espécies de *Anisopteromalus* ocorrem principalmente no Velho Mundo, onde foram encontrados a partir da África tropical, Ásia e Europa Ocidental. Costumam parasitar larvas de besouros (por exemplo, Chrysomelidae: Bruchinae, Anobiidae, Curculionioidea) que se alimentam de grãos armazenados e sementes de leguminosas (Fabaceae: Faboideae e Caesalpinioideae), mas também podem ser criados a partir de lepidópteros hospedeiros (Gelechiidae e Pyralidae) (Baur *et al.*, 2014).

Enquanto que para a maioria das espécies de *Anisopteromalus* as publicações restringem-se somente a descrição original ou um registro de hospedeiro ocasional, para *A. calandrae* (Fig. 2) vários aspectos são bem conhecidos, pois parasita diversas pragas de produtos armazenados (Gredilha *et al.*, 2006). Esta espécie tem sido objeto de numerosos estudos que abrangem uma grande variedade de tópicos, tais como controle biológico, impacto dos pesticidas e herbicidas, traços de história de vida, comportamento, incluindo adaptações e fisiologia (Baur *et al.*, 2014).



Figura 2. Fêmea de *Anisopteromalus calandrae* (Fonte: Max E. Badgley)

Segundo Belda & Riudavets (2010), *A. calandrae* é um parasitoide que ataca uma grande variedade de hospedeiros, incluindo os coleópteros: *Sitophilus oryzae* (L., 1765) (gorgulho do arroz), *S. granarius* (caruncho celeiro), *S. zeamais* (Motschulsky, 1855) (gorgulho do milho), *R. dominica* (broca do grão) e *L. serricorne*.

A espécie é um ectoparasitoide idiobionte que ataca larvas de último ínstar (Menon *et al.*, 2002). O parasitismo ocorre quando a fêmea perfura a larva do hospedeiro com seu ovipositor, paralisa-o e deposita um ovo fora do tegumento. Normalmente apenas um parasitoide se desenvolve a partir de cada larva hospedeira (Belda & Riudavets, 2010).

A fêmea de *A. calandrae* usa certas pistas para localizar as larvas do hospedeiro, podendo responder a vários odores, como fezes de insetos. Também pode detectar o movimento ou o som da alimentação do hospedeiro por antenação nos grãos infestados antes do parasitismo (Menon *et al.*, 2002). Quando a larva do hospedeiro é localizada, a fêmea a paralisa e põe um ovo nela (Ozelame *et al.*, 2011). A fêmea se alimenta da hemolinfa da larva para obter quantidade adequada de proteínas para a maturação do ovo. A capacidade de oviposição é de cerca de 450 ovos durante a vida. Geralmente um ovo é colocado por hospedeiro (Menon *et al.*, 2002).

Segundo Smith (1993), o tamanho da larva do hospedeiro pode influenciar algumas características do parasitismo, incluindo a fecundidade, o tempo de desenvolvimento e razão sexual da progênie de *A. calandrae*, e também pode afetar a dinâmica populacional do parasitoide-hospedeiro.

Após a detecção do hospedeiro, a fêmea deve decidir se a larva é adequada para oviposição de um ovo macho ou fêmea, ou se ele será usado somente para a alimentação. Esta escolha determina a proporção entre os sexos descendentes e é realizada com base em vários fatores. Larvas grandes são normalmente usadas para oviposição de ovos fêmeas, enquanto que as menores são usadas para oviposição de ovos que darão origem a machos ou para a alimentação (Belda & Riudavets, 2012).

Na natureza, *A. calandrae* utiliza principalmente as larvas de besouros de produtos armazenados da família Curculionidae, que geralmente ocorrem em alta densidade. As fêmeas põem muitos ovos durante um longo período. Por conta disso *A. calandrae* é considerada uma r-estrategista (Sasakawa *et al.*, 2013). Por exemplo, Gokhman *et al.*, (1999) relataram que 271 ovos foram colocados durante 40,6 dias (ambos os valores médios), embora os valores possam variar dependendo das condições da criação.

Ngamo *et al.* (2007) observaram que *A. calandrae* desenvolve-se em larvas de quarto ínstar de *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Col.: Chrysomelidae). A fase de larva do parasitoide foi alcançada 14 dias após a oviposição e seu desenvolvimento completo foi de $18 \pm 1,97$ dias.

Em um estudo de Ozelame *et al.* (2011), foi avaliado o efeito da temperatura sobre o desenvolvimento de *A. calandrae* em larvas de *S. zeamais*. A temperatura base e a constante térmica observada foram de 11,85 dias e 209,64 graus dia, respectivamente.

Liberações avaliativas de *A. calandrae* em armazéns de grãos de feijão infestados com *Callosobruchus chinensis* (L., 1758) e *C. maculatus* (Col.: Chrysomelidae), e de grãos de trigo infestados com *R. dominica* e *S. oryzae* demonstraram que esse parasitoide possui capacidade de reduzir a taxa mensal de aumento desses coleópteros praga de 35 a 42% em feijão, e 29 a 46% em grãos de trigo (Abd El-Gawad *et al.*, 2009).

O parasitoide *A. calandrae* pode ser um agente de controle biológico eficaz, se for introduzido em número suficiente e no início do período de armazenagem, de modo a suprimir o aumento inicial das populações de gorgulho do milho (Chaisaeng *et al.*, 2010). Levando em conta que a relação hospedeiro-parasitoide afeta muito o controle biológico neste e em outros sistemas, os autores determinaram que o tamanho da população do hospedeiro deve ser estimada e o número ideal de parasitoides deve ser calculado antes da liberação. Para períodos longos de armazenamento, pode ser necessária a liberação adicional do parasitoide para impedir que o hospedeiro se desenvolva quando o número de parasitoides diminuir (Nascimento, 2011).

2.5 Fatores que influenciam o desenvolvimento de inimigos naturais

As características comportamentais dos insetos estão relacionadas a fatores abióticos e bióticos, que direta ou indiretamente, influenciam a eficiência dos inimigos naturais. A capacidade de “busca”, tolerância às condições ambientais de temperatura, luz e umidade, preferência, quantidade do hospedeiro disponível, entre outros, são fatores necessários para avaliar a eficiência desses organismos em programas de controle biológico (Nascimento, 2011).

Alguns fatores biológicos, como características físicas e químicas, tamanho e quantidade do hospedeiro, também influenciam o ciclo de vida e criação de

parasitoides. Estes aspectos são demonstrados em estudos como o de Barbosa *et al.* (2008), que avaliaram aspectos do desenvolvimento e reprodução de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera, Pteromalidae) em diferentes densidades de pupas de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (Diptera, Calliphoridae). Os autores observaram que o parasitoide se desenvolveu mais lentamente quando exposto a uma densidade maior de pupas hospedeiras e conseqüentemente, houve uma diminuição na produção da prole em densidades elevadas. Em oposição, Mbata *et al.* (2005) avaliaram o parasitismo de *Pteromalus cerealellae* (Ashmead, 1902) (Hymenoptera: Pteromalidae) sobre *C. maculatus* e observaram que quanto maior a densidade de larvas hospedeiras expostas, maior era o parasitismo e a emergência de prole.

Um dos fatores que pode limitar o desenvolvimento da prole e o crescimento da população é o superparasitismo, como relatado por Hanan *et al.* (2016), em que o parasitoide *Eretmocerus warrae* Naumann & Schmidt, 2000 (Hymenoptera: Aphelinidae), tendo como hospedeiro a mosca-branca (Hem.: Aleyrodidae), exposto a diferentes densidades de ninfas hospedeiras e com o aumento da oferta de ninfas de 20 para 140, diminui significativamente sua taxa de superparasitismo.

Neste sentido, ressalta-se a importância da densidade adequada de hospedeiros em criações de inimigos naturais em laboratório, o que também é frisado por Parra *et al.* (2002) que afirmam que é necessário existir uma relação ótima hospedeiro/parasitoide que, por determinado período, não permita o superparasitismo.

A temperatura também pode influenciar o desenvolvimento do parasitoide, como relatado no trabalho de Mbata *et al.* (2005), em que, quanto mais alta a temperatura, menos parasitoides da espécie *P. cerealellae* conseguiam se desenvolver sobre *C. maculatus*.

Segundo Meneses *et al.* (2014), a dieta do hospedeiro pode ter participação importante no desempenho dos inimigos naturais, como exposto por Pratisoli *et al.* (2000), que avaliaram a influência do substrato alimentar do hospedeiro *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lep.: Pyralidae) no parasitismo de *T. pretiosum*, e concluíram que não houve efeito significativo das diferentes dietas na oviposição de *T. pretiosum*. Entretanto, ocorreu um efeito prejudicial na proporção de fêmeas e capacidade de parasitismo dos indivíduos oriundos da dieta com somente farinha de milho em comparação as demais, diminuindo a qualidade da criação massal desse parasitoide.

A razão sexual também é um dos indicativos para se determinar uma boa condição de criação de inimigos naturais. A manutenção de um grande número de fêmeas do parasitoide, com valores superiores a 0,5 é fundamental para a qualidade da prole gerada (Navarro, 1998). Se a razão sexual for desviada para machos, pode indicar condições de criação inadequadas, influenciadas por fatores bióticos e abióticos (Parra *et al.*, 2002).

Avaliando a influência de diferentes fotoperíodos no parasitismo de *T. pretiosum* em *A. kuehniella*, Zart *et al.* (2012), observaram que nos fotoperíodos de 12:12 e 0:24, a razão sexual manteve-se alta, indicando que a obtenção de fêmeas é favorecida quando o número de horas de luz é igual ao número de horas de escuro. Da mesma forma, outros grupos de parasitoides podem responder ao fotoperíodo, como demonstrado no trabalho de Silva-Torres *et al.* (2009), onde observaram que a exposição contínua do hospedeiro *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lep.: Plutellidae) à luz ou ao escuro por 12 h não afetou a taxa de parasitismo por *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov, 1912) (Hym.: Eulophidae), porém o parasitoide apresentou maior atividade após 3 h de exposição à luz.

Dessa forma, a busca por maiores informações sobre a biologia e a influência de fatores bióticos e abióticos na interação parasitoide/hospedeiro, são de suma importância para a manutenção da qualidade de criações massais em laboratório e na organização de programas e metodologias de manejo e controle de insetos praga em produtos armazenados.

2.6 Referências

ABD EL-GAWAD, H. A. S.; ABD EL-AZIZ, E.; SAYED, A. M. M. Effect of releasing the parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) on certain coleopteran stored products beetles in Egypt. **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences**, Cairo, v. 2, n. 2, p. 211-219, 2009.

ATHIÉ, I.; PAULA, D. C. **Insetos de grãos armazenados: aspectos biológicos e identificação**. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2002. 237 p.

AZEVEDO; R. de; Manejo integrado de insetos-praga em arroz, milho e soja. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PRAGAS, MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS, DOENÇAS E PLANTAS DANINHAS EM GRÃOS E FRUTEIRAS, 2009, Belém. **Anais...** Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2009, 16 p. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/46112/1/Azevedo00186.pdf>> Acesso em: 24 de ago. 2015.

BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; COELHO, V. M. A. Influência do aumento do número de pupas hospedeiras de *Cochliomyia macellaria* (Diptera, Calliphoridae) no desenvolvimento do parasitóide *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera, Pteromalidae) em laboratório. **Iheringia - Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 98, n.3, p. 339-344, 2008.

BAUR, H. et al. Morphometric analysis and taxonomic revision of *Anisopteromalus Ruschka* (Hymenoptera: Chalcidoidea: Pteromalidae) – an integrative approach. **Systematic Entomology**, London, v.39, p. 691-709, 2014.

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**, Amsterdam, v. 54, 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, p. 381-385, 2012.

BORROR, D. J.; DELONG, D. M. **Introdução ao estudo dos insetos**. São Paulo: Edgard Blucher, 1988. 635 p.

CARVALHO, M. O.; PEREIRA, A. P.; MEXIA, A. Adopção de Proteção Integrada em tabaco armazenado em Portugal. In: ENPI, 6., 2003, Lisboa. **Comunicações Orais – Produtos Armazenados**. Lisboa, Portugal: Instituto de Investigação Científica Tropical/Centro de Estudos de Fitossanidade do Armazenamento, 2003.

CHAISAENG, P. et al. Laboratory studies on control of the maize weevil *Sitophilus zeamais* by the parasitoid *Anisopteromalus calandrae*. **Science Asia**, Langkawi, v. 36, p. 6-11, 2010.

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.

COPATTI, C. E.; MARCON, R. K.; MACHADO, M. B. Avaliação de dano de *Sitophilus zeamais*, *Oryzaephilus surinamensis* e *Laemophloeus minutus* em grãos de arroz armazenados. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.17, n.8, p.855-860, 2013.

DEBACH, P.; ROSEN, D. **Biological control by natural enemies**. 2th ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1991. 440 p.

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.

FLINN, P. W.; HAGSTRUM, D. W. Augmentative releases of parasitoid wasps in stored wheat reduces insect fragments in flour. **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 37, n. 2, p. 179-186, 2001.

FLINN, P. W.; HAGSTRUM, D. W.; MCGAUGHEY, W. H. Suppression of beetles in stored wheat by augmentative releases of parasitic wasps. **Environmental Entomology**, Annapolis, v. 25, n. 2, p. 505-511, 1996.

GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

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.

GREDILHA, R. et al. Parasitismo de *Anisopteromalus calandrae* Howard, 1881 (Hymenoptera: Pteromalidae) sobre formas imaturas de *Lasioderma serricornis* 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. **Guia de identificação e manejo integrado das pragas e doenças do fumo**. Santa Maria: Orium, 2006. 88 p.

GULLAN, P.J.; CRANSTON, P.S. **The insects: an outline of entomology**. London: Chapman & Hall, 1994. 512 p.

HALSTEAD, D. G. H. External sex differences in stored-products Coleoptera. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 54, p. 119-134, 1963.

HANAN, A. et al. Superparasitism and host discrimination behavior of *Eretmocerus warrae* Naumann & Schmidt (Hymenoptera: Aphelinidae). **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, Ankara, v. 40, p. 1-6, 2016.

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.

HORI, M.; MIWA, M.; IIZAWA, H. Host suitability of various stored food products for the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). **Applied Entomology and Zoology**, Berlin, v. 46, p. 463-469, 2011.

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**, London, v. 48, p. 9-56, 1957.

INOUE, M. S. R.; PARRA, J. R. P. Efeito da temperatura no parasitismo de *Trichogramma pretiosum* (Riley, 1879) sobre ovos de *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n. 2, p. 227-232, 1998.

KISMALI, S.; GÖKTAY, M. Investigations on some characteristics of *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). **Türkiye Entomoloji Derneği & Dergisi**, Esmirna, v. 12, n. 1, p. 55-59, 1988.

LAZZARI, F. A.; LAZZARI, S. M. N. **Colheita, recebimento, secagem e armazenamento de milho**. Apucarana: Abimilho, 2002. 22 p.

LOECK, A. E. **Praga de produtos armazenados**. Pelotas, RS: EGUFPEL, 2002. 113 p.

LORINI, I. **Manual técnico para o manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2003. 80 p.

LORINI, I. et al. **Principais pragas e métodos de controle em sementes durante o armazenamento – Série sementes**. Londrina, PR: Embrapa Soja, 2010. 12 p. (Circular Técnica, 73).

MBATA, G. N.; THOMAS, A.; FADAMIRO, H. F. Parasitism by *Pteromalus cerealellae* (Hymenoptera: Pteromalidae) on the Cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae): host density, temperature effects, and host finding ability. **Biological Control**, Amsterdam, v. 33, p. 286-292, 2005.

- MENESES, C. W. G. et al. A dieta alimentar da presa *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pode afetar o desenvolvimento do predador *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae)? **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 81, n.3. p. 250-256, 2014.
- MENON, A. et al. Influence of temperature on the functional response of *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae), a parasitoid of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 38, p. 463-469, 2002.
- MENTEN, L. A. S. **Efeitos da radiação ultravermelho em *Plodia interpunctella* (Hubner, 1913) (Lepidoptera - Pyralidae)**. 1982. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1982.
- MUNRO, J. W. **Pests of stored products**. London: The Rentokil Library, 1966. 234 p.
- NASCIMENTO, J. B. Fatores que afetam a liberação e a eficiência de parasitoides no controle biológico de insetos-praga. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.7, n.13, p. 550-570, 2011.
- NAVARRO, M. A. ***Trichogramma spp.*: producción, uso y manejo en Colombia**. Guadalajara de Buga: Impretec Ltda, 1998. 176 p.
- NGAMO, T. S. L. et al. Potential of *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) as biocontrol agent of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). **African Journal of Agricultural Research**, Nairobi, v. 2, n. 4, p. 168-172, 2007.
- NIEDERMAYER, S.; KROGMANN, L.; STEIDLE, J. L. M. Lost in space? Host-finding ability of the parasitoids *Lariophagus distinguendus* and *Anisopteromalus calandrae* in empty grain storage facilities to control residual pest populations. **BioControl**, Berlin, v. 61, n. 4, p. 379-386, 2016.
- NORRIS, R. F.; CASWELL-CHEN; E. P.; KOGAN, M. **Concepts in integrated pest management**. New Jersey: Prentice Hall, 2003. 608 p.
- OZELAME, A. L.; NÖRNBERG, S. D.; NAVA, D. E. Exigências térmicas e número de gerações de *Anisopteromalus calandrae* em *Sitophilus zeamais*. In: SICONBIOL - SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 12., 2011, São Paulo. **Resumos...** São Paulo, 2011.
- PACHECO, I. A.; PAULA, D. C. de. **Insetos de grãos armazenados: identificação e biologia**. Campinas: Fundação Cargill, 1995. 237 p.
- PARRA, J. R. P. et al. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. 626 p.
- PARRA, J. R. P. Controle Biológico no Brasil: ficção ou realidade? In: SIMPÓSIO CIENTÍFICO SOBRE OCEANOGRAFIA E DEFESA SANITÁRIA ANIMAL E VEGETAL, 2011, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo: FAPESP 2011. Disponível em:

<http://www.fapesp.br/eventos/2011/09/bunge/Jose_Roberto.pdf> Acesso em: 15 jul. 2015.

PERIOTO, N. W. Pragas Quarentenárias. In: REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 4., 2001, Ribeirão Preto. **Anais da...** Ribeirão Preto: Instituto Biológico, 2001. p. 100-103.

PINTO, A. S. et al. **Controle biológico de pragas:** na prática. Piracicaba: ESALQ, 2006. 287 p.

PRATISSOLI, D. et al. Influência do substrato alimentar do hospedeiro alternativo, *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), sobre *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 2, p. 373-378, 2000.

QUICKE, D. L. J. **Parasitic wasps**. London: Chapman & Hall, 1997. 470 p.

RAFAEL, J. A. et al. **Insetos do Brasil:** diversidade e taxonomia. Ribeirão Preto: Holos, 2012. 810 p.

RAMOS, A. C. O. **Aplicação da radiação gama na desinfestação de rações à base de grãos para alimentação de animais domésticos**. 2009, 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações) - Programa de Pós-Graduação do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

RAMOS, A. L.; NANYA, S. Caracterização anatomo-morfológica do sistema digestório de *Lasioderma serricorne* (Fab., 1792), (Coleoptera ; Anobiidae), praga de grãos e produtos armazenados. In: EPCC ENCONTRO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA CESUMAR, 6., 2009, Maringá. **Anais...** Maringá, 2009. p. 27-30.

SANTOS, E. D.; HENDGES, E. A.; MOREIRA, E. F. Controle biológico de pragas agrícolas no Brasil. In: COLÓQUIO INTERNACIONAL EDUCAÇÃO E CONTEMPORANEIDADE, 5., 2011, São Cristovão, SE, Brasil. **Anais...** São Cristovão, SE, Brasil, 2011.

SASAKAWA, K. et al. Different patterns of oviposition learning in two closely related ectoparasitoid wasps with contrasting reproductive strategies. **Naturwissenschaften**, Berlin, v. 100, p. 117-124, 2013.

SCHÖLLER, M. et al. Towards biological control as a major component of integrated pest management in stored product protection. **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 33, n. 1, p. 81-97, 1997.

SEEBOLD, K. et al. **Kentucky & Tennessee tobacco production guide 2009, 2010**. University of Kentucky and University of the Tennessee. Disponível em: <<http://tobaccoinfo.uk.edu/PDFs/2009-2010KYTNProductionGuide/KY-TNProductionGuide2009-2010-ID160.pdf>> Acesso em: 26 ago. 2015.

SILVA-TORRES, C. S. A.; BARROS, R.; TORRES, J. B. Efeito da idade, fotoperíodo e disponibilidade de hospedeiro no comportamento de parasitismo de *Oomyzus sokolowskii* Kurdjumov (Hymenoptera: Eulophidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38, n. 4, p. 512-519, 2009.

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.

SOARES, M. A. et al. Controle biológico de pragas em armazenamento: uma alternativa para reduzir o uso de agrotóxicos no Brasil? **Unimontes Científica**, Montes Claros, v.11, n.1/2, p. 52-59, 2009.

VACARI, A. M. et al. Fonte proteica na criação de *Diatraea saccharalis* e seu reflexo na produção e no controle de qualidade de *Cotesia flavipes*. **Bragantia**, Campinas, v. 71, n. 3, p. 355-361, 2012.

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.

ZART, M. et al. Influência do fotoperíodo e da densidade de ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) sobre aspectos biológicos e parasitismo de ovos por *Trichogramma pretiosum* Riley. **EntomoBrasilis**, Vassouras, v. 5, n. 2, p. 115-119, 2012.

3. ARTIGO 1

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

*Artigo configurado conforme normas da revista Iheringia

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

Kássia C. F. Zilch¹, Simone M. Jahnke², Andreas Köhler³ & Eduarda Bender¹

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

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

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

ABSTRACT. Influence of diet and photoperiod on parasitism of *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hymenoptera: Pteromalidae) on *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae).

Despite its great potential in biological control of pests, hymenopteran parasitoids are underutilized due to technical issues, such as difficulty in mass production. This is mainly due to the lack of artificial diets that provide adequate development and the need to have the host to create the hymenopteran. Some abiotic factors such as temperature, relative humidity and photoperiod may also affect the development of insects in a positive or negative way. The objective of this study was to evaluate the parasitism of *Anisopteromalus calandrae* Howard (Hym. Pteromalidae), parasitoid of insect pest of stored products, in different densities of *Lasioderma serricorne* Fabricius (Col.: Anobiidae) larvae created in three diets and in different photophase. All bioassays were kept in incubator (27 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ RH and photoperiod of 12h). Individuals of *L. serricorne* were created with three types of diet: 1000g of wheat flour (F); 950g of wheat flour and 50g of brewer's yeast (FL); and 950g of wheat flour and 50g of crushed dried tobacco (FT). Different host densities (10, 20,

50 and 100 larvae) from the three diets were exposed to newly emerged parasitoid couples. Three photoperiods were evaluated (A: 24 h scotophase, B: 12 h photophase and C: 24 h photophase). Each treatment had 10 replicates. The couple's longevity was recorded and the quantity and sex ratio of the offspring. It was observed that the highest values of apparent parasitism were obtained in 50 larvae density in the FL diet (96.34%) and 100 larvae density in the diet F (92.91%). There was no significant difference in emergence of parasitoids or in apparent parasitism in the different photoperiods tested in all densities of larvae. However, the treatment in which hosts and parasitoids always remained in scotophase, had a significantly higher sex ratio ($\chi^2 = 12.394$; $gl = 2$; $p = 0.01$). The density associated with the photoperiod, yet, did not influence the sex ratio of offspring.

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

RESUMO.

Apesar de seu grande potencial no controle biológico de pragas, os himenópteros parasitoides são subutilizados em função de questões técnicas, como a dificuldade de produção massal. Isso se deve, principalmente, pela falta de dietas artificiais que proporcionem seu desenvolvimento adequado e a necessidade de possuir o hospedeiro para criar o himenóptero. Alguns fatores abióticos como a temperatura, umidade relativa e o fotoperíodo, também podem afetar o desenvolvimento dos insetos de forma positiva ou negativa. Assim, objetivou-se avaliar o parasitismo de *Anisopteromalus calandrae* Howard (Hym.: Pteromalidae), parasitoide de insetos praga de produtos armazenados, sobre diferentes densidades de larvas de *Lasioderma serricorne* Fabricius (Col.: Anobiidae) criadas em três dietas e diferentes fotoperíodos. Os bioensaios foram mantidos em estufa incubadora (27 ± 2 ° C, $60 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 h).

Indivíduos de *L. serricornis* foram criados com três tipos de dieta: 1000 g de farinha de trigo (F); 950 g de farinha de trigo e 50 g de levedo de cerveja (FL); e 950 g de farinha de trigo e 50 g de tabaco seco triturado (FT). Diferentes densidades do hospedeiro (10, 20, 50 e 100 larvas) oriundas das três dietas, foram expostas a casais de parasitoides recém-emergidos. Foram avaliados três fotoperíodos (A: 24 h escotofase, B: 12 h de fotofase e C: 24 h de fotofase), com 10 repetições. Registrou-se a longevidade do casal e a quantidade e razão sexual da prole. Observou-se que os maiores valores de parasitismo aparente foram obtidos na densidade de 50 larvas nas dietas FL (96,34%) e na de 100 larvas na dieta F (92,91%). Não houve diferença significativa na emergência dos parasitoides ou no parasitismo aparente nos diferentes fotoperíodos avaliados em todas as densidades de larvas. Entretanto, o tratamento em que hospedeiros e parasitoides permaneceram sempre em escotofase, foi o que teve uma razão sexual significativamente maior ($\chi^2 = 12.394$; gl = 2; p = 0,01). A densidade associada ao fotoperíodo, porém, não influenciou a razão sexual da prole.

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

Anisopteromalus calandrae (Howard, 1881) (Hymenoptera: Pteromalidae), é um ectoparasitoide idiobionte que ataca larvas de último ínstar de uma grande variedade de hospedeiros (MENON *et al.*, 2002; BELDA & RIUDAVETS, 2010), incluindo *Sitophilus oryzae* (L. 1765) (gorgulho-do-arroz), *Sitophilus granarius* (L. 1758) (caruncho-do-celeiro), *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1885) (gorgulho-do-milho) (Coleoptera: Curculionidae), *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Bostrichidae) (broca-do-grão) e *L. serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae) (BELDA & RIUDAVETS, 2010).

O parasitismo ocorre quando a fêmea encontra o hospedeiro dentro do grão ou casulo, perfura a larva do hospedeiro com seu ovipositor, paralisa-o e deposita um ovo sobre o tegumento (BELDA & RIUDAVETS, 2010; OZELAME, NÖRNBERG & NAVA, 2011). A capacidade de oviposição é de cerca de 450 ovos durante a vida. Geralmente, um ovo é colocado por hospedeiro (MENON *et al.*, 2002; OZELAME, NÖRNBERG & NAVA, 2011) e apenas um parasitoide se desenvolve a partir de cada larva hospedeira. Além disso, a fêmea se alimenta da hemolinfa da larva parasitada para obter quantidade adequada de proteínas para a maturação dos ovos (MENON *et al.*, 2002).

O desenvolvimento pós-embrionário dos insetos, em geral, é diretamente influenciado pelas condições ambientais. Nos parasitoides, este também é afetado pelo tamanho, composição física e química, assim como pela espécie do hospedeiro (BARBOSA, COURI & COELHO, 2008). Para a produção de inimigos naturais, são necessários estudos da influência de fatores bióticos e abióticos no desenvolvimento de ambos os organismos, hospedeiro e parasitoide (PARRA, 2011).

Critérios morfológicos, nutricionais e biométricos devem ser utilizados para a avaliação de dietas na criação de insetos, possibilitando comprovar se a dieta é adequada ao desenvolvimento destes artrópodes (PARRA, 2009). A temperatura,

umidade relativa e o fotoperíodo também podem afetar o potencial reprodutivo e o desenvolvimento dos insetos, atuando de forma positiva ou negativa sobre o número de indivíduos de uma população (MACEDO *et al.*, 2003).

Estudos básicos, que avaliem as linhagens, exigências bióticas e abióticas, determinação da relação adequada parasitoide/larva hospedeira, capacidade de parasitismo, estudos comportamentais entre outros, são de extrema importância no controle de qualidade de criações em laboratório (PARRA *et al.*, 2002).

Em sistemas de manejo integrado de pragas (MIP), o controle biológico é uma importante tática e deve ser utilizada onde quer que seja viável, pois apresenta vantagens que minimizam a presença de resíduos de pesticidas capazes de contaminar a cultura ou o meio ambiente (NORRIS, CASWELL-CHEN & KOGAN, 2003). O MIP com uso de controle biológico em produtos armazenados ainda é pouco utilizado (SCHÖLLER *et al.*, 1997). Assim, estudos desta natureza são fundamentais para minimizar as perdas da produção no armazenamento e diminuir a contaminação por produtos tóxicos.

A espécie *L. serricornis*, popularmente conhecida como o besouro-do-fumo, é encontrada em regiões tropicais, subtropicais e temperadas do mundo (LOECK, 2002). É uma praga primária normalmente encontrada atacando fumo armazenado, porém não apresenta preferência sendo também relatada consumindo produtos de origem animal, oleaginosas, cereais, grãos de cacau, farinhas, especiarias e frutas secas (ATHIÉ & PAULA, 2002; LOECK, 2002).

Desta forma, o estudo das características dos parasitoides, assim como de fatores bióticos e ambientais que atuam sobre insetos pragas, poderá ampliar o conhecimento a respeito dessas interações trazendo novas possibilidades no controle dos organismos praga, de maneira menos impactante à saúde pública e ao meio ambiente.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência da dieta e de diferentes fotoperíodos no desenvolvimento pós-embrionário, emergência, tamanho da prole, razão sexual e taxa de parasitismo de *A. calandrae* criadas em larvas de 4º ínstar de *L. serricorne* em diferentes densidades.

MATERIAL E MÉTODOS

As criações de *L. serricorne* e *A. calandrae* foram mantidas no Laboratório de Entomologia da Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC em Santa Cruz do Sul, em potes plásticos adaptados com aberturas cobertas por tecido branco de organza cristal para aeração e mantidos em sala climatizada a $27 \pm 2^\circ \text{C}$, $60 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas.

O hospedeiro *L. serricorne* foi obtido a partir de coletas diretas realizadas em fumo seco proveniente de produtores de tabaco do município de Santa Cruz do Sul e região e de armadilhas instaladas na área de recebimento do tabaco junto à empresa Japan Tobacco International (JTI) em Santa Cruz do Sul, RS ($29^\circ 45' 01.3''\text{S}$ $52^\circ 25' 38.3''\text{W}$). As armadilhas eram compostas de um pote de vidro de 10 litros, com um funil plástico acoplado, preenchido com dieta a base de farinha de trigo, levedo de cerveja, uma folha de fumo seco da variedade Virgínia e duas pastilhas de feromônio sexual Bio Serrico®.

Os parasitoides da espécie *A. calandrae* foram obtidos a partir do hospedeiro *S. zeamais* (gorgulho-do-milho) que estava infestando milho em grão seco e armazenado, proveniente de produtores rurais do município de Candelária, RS ($29^\circ 31' 31.62''\text{S}$ $52^\circ 45' 28.70''\text{O}$), sendo levado ao laboratório para início da criação.

Os adultos de *A. calandrae* foram transferidos para potes de criação (120 ml) contendo larvas de quarto ínstar (com formação de casulo) do hospedeiro *L. serricorne* e alimentados com gotículas de mel. Posteriormente, esses potes foram acondicionados

em potes maiores de 11 litros (40,8 x 29 x 12,8 cm de dimensão) com fundo forrado de papel toalha umedecido diariamente e tampa adaptada com tecido organza cristal para ventilação.

Bioensaios

Influência da dieta e da densidade do hospedeiro no parasitismo de *A. calandrae*

Os indivíduos de *L. serricorne* foram criados em três tipos de dietas (a) 1000 g de farinha de trigo (F), (b) 950 g de farinha de trigo e 50 g de levedo de cerveja (FL) e (c) 950 g de farinha de trigo e 50 g de tabaco seco triturado (FT). A cada emergência de adultos, estes eram transferidos a novos potes de criação identificados com data e tipo de dieta.

Para avaliar as três diferentes dietas oferecidas ao hospedeiro foram utilizadas larvas de quarto ínstar (com formação de casulo) expostas a casais adultos recém-emergidos (24 a 48 h) de *A. calandrae*.

Diferentes quantidades de larvas do hospedeiro *L. serricorne* (10, 20, 50 e 100) de cada dieta (F, FL e FT) foram colocadas no interior de potes plásticos (120 ml) para exposição ao parasitismo. Os parasitoides permaneceram nos potes de ensaio até sua morte, em torno de 20 dias. Logo após, foram retirados e os potes com as larvas hospedeiras, mantidos em estufa incubadora para observação diária da emergência de *L. serricorne* ou de *A. calandrae*.

Como testemunha (controle), dois potes com a quantidade de larvas hospedeiras utilizadas em cada ensaio (10, 20, 50 e 100) foram mantidos sem exposição aos parasitoides, objetivando-se verificar a taxa de mortalidade natural do hospedeiro.

Os bioensaios foram realizados com 10 repetições por tratamento, com um casal parasitoide por repetição e mantidos em estufa incubadora nas mesmas condições ambientais das criações.

Influência do fotoperíodo no parasitismo de *A. calandrae*

Os parasitoides adultos, todos oriundos de larvas hospedeiras que permaneceram em 12 h horas de luz, foram submetidos aos seguintes fotoperíodos: (a) 0:24, (b) 12:12 e (c) 24:0 (fotofase: escotofase). Em cada tratamento foram expostas 10 larvas de quarto instar de *L. serricorne*, criadas em dieta de farinha de trigo, a um casal de *A. calandrae* recém-emergido (24 a 48 h). Os bioensaios foram realizados com 10 repetições por tratamento e mantidos em estufa incubadora com as mesmas condições de temperatura e umidade descritas acima, variando somente o fotoperíodo.

Hospedeiros e parasitoides permaneceram no mesmo pote durante o período de vida adulto do casal parasitoide e posterior emergência de *L. serricorne* ou de *A. calandrae*.

Como testemunha (controle), dois potes foram mantidos nas mesmas condições e no mesmo período de cada tratamento, mas sem exposição aos parasitoides.

Análise dos dados

A observação dos bioensaios foi diária, registrando-se a data de emergência da prole. Após a emergência, os parasitoides foram contabilizados e classificados conforme o sexo. Os casulos restantes foram abertos para verificação de possíveis parasitoides presos, que também foram contabilizados.

Foram analisados os seguintes fatores:

- Mortalidade do hospedeiro: $[\text{n}^\circ \text{ hospedeiros emergidos nas testemunhas} / \text{densidade do hospedeiro}] \times 100$
- Emergência média da prole: $\text{n}^\circ \text{ parasitoides emergidos} / \text{densidade do hospedeiro}$
- Parasitismo aparente: $[\text{n}^\circ \text{ parasitoides emergidos} / (\text{n}^\circ \text{ parasitoides emergidos} + \text{n}^\circ \text{ de hospedeiros emergidos})] \times 100$
- Razão sexual dos parasitoides: $\text{n}^\circ \text{ de fêmeas} / (\text{n}^\circ \text{ de fêmeas} + \text{n}^\circ \text{ de machos})$

Os dados de emergência e parasitismo aparente foram testados quanto à normalidade por Lilliefors e submetidos à análise de variância (ANOVA) ou Kruskal Wallis, as médias comparadas pelo teste de Dunn. O teste utilizado para significância das diferenças na razão sexual foi o χ^2 de heterogeneidade. Utilizou-se o coeficiente de correlação de Spearman para avaliar a correlação entre a densidade e o parasitismo aparente

As análises foram realizadas utilizando os softwares Excel© e Bioestat 5.0 (AYRES et al. 2007).

RESULTADOS

1. Influência da dieta e da densidade do hospedeiro no parasitismo

A emergência média de *L. serricorne* nas testemunhas (sem a presença dos parasitoides) foi de 78, 80, 95 e 88% nas densidades 10, 20, 50 e 100, respectivamente, na dieta F; 100 (10), 90 (20), 88 (50) e 97% (100) na FL e 100 (10), 85 (20), 77 (50) e 91% (100) na FT, e diferiram significativamente da ocorrida nos tratamentos, que foi de 1, 7, 16 e 4% na dieta F ($H = 40,73$; $p < 0,001$); 4, 1, 1 e 5% na dieta FL ($H = 38,57$; $p < 0,001$) e 18, 4, 6 e 4% na dieta FT ($H = 35,44$; $p < 0,001$), nas densidades 10, 20, 50 e 100, respectivamente.

Atentando para as médias de emergência do besouro-do-fumo nas testemunhas, consideramos a mortalidade natural da espécie em aproximadamente, 16%.

Ao comparar as dietas na mesma densidade, foi detectada diferença significativa na emergência dos parasitoides, sendo maior na dieta FL comparada com a FT nas densidades de 20 e 50. Na densidade de 100 larvas, na dieta FT, a emergência foi menor. No parasitismo aparente também houve variações significativas entre as dietas nas densidades de 20, 50 e 100, somente a densidade de 10 larvas não diferiu (Tab. I).

Considerando a mesma dieta, também houve diferenças nestes parâmetros em relação à densidade de hospedeiros. A média de emergência dos parasitoides nas densidades de 50 e 100 foi significativamente superior às densidades menores (10 e 20).

Em relação ao parasitismo aparente, na dieta F, a densidade de 10 teve um parasitismo significativamente menor que na de 100. Na FL, somente a densidade de 10 larvas foi menor que as demais. Na dieta FT, o parasitismo aparente foi menor nas densidades de 10 e 20, comparado com as maiores de 50 e 100 (Tab. I).

Tabela I

Apesar de observado um aumento do parasitismo conforme a densidade de hospedeiros nas três dietas avaliadas, somente a dieta com levedo (FL) apresentou uma correlação positiva (Fig. 1).

Figura 1

A razão sexual média apresentou diferença significativa entre as três dietas avaliadas ($\chi^2=19.429$; $gl=2$; $\alpha =0,01$), sendo maior na dieta F (0,44) comparada à dieta FL (0,36) ou a FT (0,31) (Fig. 2). Somente nas dietas FL e FT observou-se diferença significativa da razão sexual entre as densidades (FL: $\chi^2 = 8.852$; $gl=3$; $\alpha =0,05$; FT: $\chi^2 = 7.983$; $gl=3$; $\alpha =0,05$).

Figura 2

2. Influência do fotoperíodo na fase adulta no parasitismo de *A. calandrae*

Nas testemunhas (sem a presença dos parasitoides), a emergência média de *L. serricornis* na escotofase foi de 85, 85, 92 e 91% nas densidades 10, 20, 50 e 100, respectivamente; no fotoperíodo de 12:12 de 85 (10), 75 (20), 83 (50) e 95% (100) e no fotoperíodo de 0:24, 75 (10), 82 (20), 90 (50) e 88% (100), respectivamente. Este percentual diferiu significativamente da ocorrida nos tratamentos das três fotofases

avaliadas que apresentaram valores de emergência de 0, 0, 11 e 11% no tratamento com escotofase ($H = 34,39$; $p < 0,001$); 8, 0, 8 e 3% no fotoperíodo de 12:12 ($H = 38,12$; $p < 0,001$) e 10, 1, 4 e 6% no de 24:0, nas densidades 10, 20, 50 e 100, respectivamente ($H = 31,35$; $p < 0,001$).

Levando-se em conta as médias de emergência do besouro-do-fumo nas testemunhas, inferimos que a mortalidade natural da espécie é de aproximadamente 14,5%.

Não houve diferença na média de emergência de parasitoides e no parasitismo aparente entre os diferentes fotoperíodos testados, exceto no parasitismo aparente na densidade de 100 larvas, que foi menor na escotofase do que no fotoperíodo 12:12 (Tab. II). Observou-se que nos fotoperíodos avaliados, assim como nas dietas, tanto na emergência da prole como no parasitismo aparente, as densidades menores (10 e 20 larvas) tiveram, na maioria dos tratamentos, valores significativamente inferiores aos das densidades maiores, de 50 e 100 larvas.

Tabela II

Embora o número total de descendentes não tenha diferido entre os fotoperíodos, o tratamento em que hospedeiros e parasitoides permaneceram sempre em escotofase, foi o que apresentou uma razão sexual significativamente maior ($\chi^2 = 12.394$; $gl = 2$; $\alpha = 0,01$) (Fig. 3). A densidade associada ao fotoperíodo, entretanto, não influenciou a razão sexual da prole ($\chi^2 0:24h = 1.421$; $gl = 3$; $\alpha = 0,05$); ($\chi^2 12:12h = 0.337$; $gl = 3$; $\alpha = 0,05$); ($\chi^2 24:0h = 3.235$; $gl = 3$; $\alpha = 0,05$), mas foi observado um aumento da proporção sexual conforme aumenta a densidade do hospedeiro nos três fotoperíodos (Fig. 3).

Figura 3

DISCUSSÃO

A emergência de *L. serricornis* em cada uma das dietas e nas condições deste experimento mostra que estas são adequadas ao desenvolvimento do hospedeiro, o que era esperado, visto que há registro desta espécie alimentando-se de fumo armazenado, produtos de origem animal, oleaginosas, cereais, grãos de cacau, farinhas, especiarias e frutas secas (ATHIÉ & PAULA, 2002; LOECK, 2002; RAMOS, NANYA & CONTE, 2009).

Embora haja estudos afirmando que a dieta do hospedeiro possa ter influência no desempenho dos inimigos naturais como no de MENESES *et al.* (2014), isso não foi observado em relação ao índice de parasitismo e emergências dos parasitoides neste trabalho.

Resultado semelhante ao presente trabalho, foi encontrado por PRATISSOLI *et al.* (2000), avaliando a influência do substrato alimentar do hospedeiro *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) sobre *Trichogramma pretiosum* (Riley, 1879), que observaram que a utilização dos ovos de *A. kuehniella* criados em diferentes proporções de farinha de trigo e milho (0:100, 25:75, 50:50, 75:25 e 100:0) não caracterizou efeito significativo sobre o parasitismo e emergência dos adultos de *T. pretiosum*.

A razão sexual média apresentou-se estatisticamente maior na dieta com somente farinha (0,44) em relação às outras dietas (FL= 0,36; FT= 0,31). Entretanto, considerando as densidades dentro da mesma dieta, somente em FL e FT observou-se diferença significativa da razão sexual, em que as densidades menores (10 e 20) diferiram das maiores (50 e 100). Segundo PANIZZI & PARRA (2009), o levedo de cerveja é considerado um maturador sexual e por isso tem sido acrescido em algumas dietas, mas talvez seja somente determinante para a maturação das espécies hospedeiras, pois para *A. calandrea* o incremento desse composto na dieta FL não influenciou significativamente na razão sexual.

A combinação da influência da dieta com a densidade na razão sexual dos parasitoides testados não foi claramente identificada neste trabalho. Alguns trabalhos como o de PRATISSOLI *et al.* (2000), registraram que uma dieta composta somente por farinha de milho afetou negativamente a razão sexual de *T. pretiosum*, o que não foi percebido para *A. calandrae*.

Contudo, levando-se em conta as diferentes quantidades de larvas na mesma dieta, observou-se que as quantidades maiores, principalmente a de 100 larvas, apresentaram um efeito positivo no índice de parasitismo e na emergência média de descendentes.

As diferenças apontadas nas densidades podem ter relação com a ocorrência de superparasitismo em densidades baixas, como a de 10 e 20 larvas neste trabalho. Esse fato pode ter ocorrido, pois, como o casal de parasitoides permaneceu até a sua morte em contato com o hospedeiro e uma densidade menor de larvas disponíveis pode ter levado a fêmea a ovipositar mais de uma vez na mesma larva, acarretando num superparasitismo.

A ocorrência de superparasitismo em condições de escassez de hospedeiros é apontada por estudos como o de WU & NOORDLUND (2002) que avaliaram o parasitismo de *Anaphes iole* Girault, 1911 (Hym.: Mymaridae) em relação a densidade do hospedeiro *Lygus hesperus* Knight, 1917 (Hem.: Miridae). Segundo os autores, na relação de 1:40 (parasitoide: ovos do hospedeiro), somente 10% dos ovos foram superparasitados depois de 24 h, já numa relação de 1:9, a proporção de superparasitismo foi em torno de 33, 67 e 82% após exposição de 2, 6 e 24 h, respectivamente.

Neste sentido, ressalta-se a importância da densidade adequada e o tempo de exposição dos hospedeiros em criações de inimigos naturais em laboratório o que

também é frisado por PARRA *et al.* (2002) que afirmam que é necessário existir uma relação ótima hospedeiro/parasitoide que, por determinado período, não permita o superparasitismo.

Desta forma, era esperado que em densidades maiores houvesse um menor superparasitismo, o que de fato ocorreu, pois, a oferta de larvas era maior. HANAN *et al.* (2016), que também avaliaram a densidade do hospedeiro *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood, 1856) (Hem.: Aleyrodidae) sob parasitismo de *Eretmocerus warrae* Naumann & Schmidt, 2000 (Hym. Aphelinidae) e da mesma forma observaram que com o aumento da densidade de ninfas hospedeiras, de 20 para 140, a taxa de superparasitismo diminuiu significativamente.

BARBOSA (2006) observou que a duração do desenvolvimento pós-embrionário também pode ser influenciada pelo superparasitismo. Segundo este autor, provavelmente o número de parasitoides presentes se desenvolvendo em um único hospedeiro é tão elevado, que ocasiona a competição, fazendo com que tanto o parasitoide quanto o hospedeiro não emerjam. Isso pode ter ocorrido nos tratamentos com baixas densidades de larvas do presente trabalho, onde tanto os valores de emergência do parasitoide, quanto os do hospedeiro foram baixos.

Na natureza, *A. calandrae* utiliza principalmente as larvas de besouros de produtos armazenados da família Curculionidae, que geralmente ocorrem em alta densidade (SASAKAWA *et al.*, 2013). As fêmeas do parasitoide põem muitos ovos durante um longo período. Por conta disso *A. calandrae* é considerada uma r-estrategista (SASAKAWA *et al.*, 2013). O que é exemplificado por GOKHMAN, FEDINA & TIMOKHOV (1999), onde *A. calandrae* ovipositou uma média de 271 ovos durante 40 dias, entretanto, os valores podem variar dependendo das condições ambientais da criação. No presente estudo não se realizou a contabilização dos ovos, mas observou-se

que em nenhum dos tratamentos emergiram parasitoides na mesma quantidade de larvas oferecidas, entretanto os valores de emergência de *L. serricorne* foram baixos, mostrando que a paralização das larvas antes da oviposição já é suficiente para realizar o controle.

O aumento da porcentagem do parasitismo com o aumento da densidade pode indicar uma resposta funcional e/ou numérica do parasitoide em relação ao seu hospedeiro. Os termos “resposta funcional” e “resposta numérica” foram propostos por SOLOMON (1949) para denominar respectivamente, as mudanças no comportamento de predadores e o aumento populacional destes, em função da abundância de hospedeiros. O autor chamou ainda de “resposta global” a combinação destes dois tipos de respostas.

Segundo GODFRAY (1994), um inimigo natural será mais efetivo se a resposta funcional por ele demonstrada for dependente da densidade do hospedeiro. Embora neste trabalho não tenha sido avaliada o tipo de resposta funcional, o aumento do parasitismo em maiores densidades indica que *A. calandrae* tem um bom potencial para ser utilizado como agente de controle biológico em ambientes com alta densidade do hospedeiro.

Considera-se que a razão sexual é um dos indicativos para se determinar uma boa condição de criação, na qual há a manutenção de um grande número de fêmeas do parasitoide, com valores superiores a 0,5 (NAVARRO, 1998). Se a razão sexual for desviada para machos, pode indicar condições de criação inadequadas, influenciadas por fatores bióticos e abióticos (PARRA *et al.*, 2002). Levando em conta estes aspectos, considera-se que as densidades maiores (50 e 100), especialmente na dieta de somente farinha, foram as que apresentaram as melhores condições de criação. Deve-se levar em conta, entretanto, que outros fatores podem influenciar estes resultados, como o fotoperíodo.

Diferente dos resultados aqui expostos, nos quais os parasitoides mantidos em escotofase apresentaram a razão sexual da prole significativamente maior, no estudo de ZART *et al.* (2012) avaliando a influência de diferentes fotoperíodos no parasitismo de *T. pretiosum* em *A. kuenhiella*, observaram que nos fotoperíodos de 12:12 e 0:24, a razão sexual manteve-se alta, indicando que a obtenção de fêmeas é favorecida quando o número de horas de luz é igual ao número de horas de escuro. Da mesma forma, outros grupos de parasitoides podem responder ao fotoperíodo, como no trabalho de SILVA-TORRES, BARROS & TORRES (2009) que perceberam que a exposição contínua do hospedeiro *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lep.: Plutellidae) à luz ou ao escuro por 12 h não afetou a taxa de parasitismo por *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov, 1912) (Hym.: Eulophidae), porém o parasitoide apresentou maior atividade após 3 h de exposição à luz.

Os fotoperíodos testados neste trabalho em relação à emergência da prole e no parasitismo não mostraram expressiva influência, levando a sugerir que *A. calandrae* desenvolve-se adequadamente em diferentes regimes de luz. A vantagem da escotofase ficou visível somente na razão sexual, que foi maior neste tratamento, associada às densidades mais elevadas.

Este é um resultado interessante, pois os produtos armazenados de modo geral permanecem estocados em locais fechados e escuros. Desta forma considera-se que os parasitoides conseguirão realizar o parasitismo mesmo com variações no substrato e no fotoperíodo do ambiente.

Baseado nos resultados obtidos é possível inferir que para criação em laboratório de *A. calandrae*, os fatores que proporcionaram as melhores condições de desenvolvimento foram a dieta com somente farinha e o fotoperíodo 12:12. Em relação às densidades do hospedeiro, é mais adequado disponibilizar densidades maiores (a

partir de 50 larvas por casal), promovendo uma oviposição única em cada larva hospedeira, especialmente quando a exposição se dá por um período mais longo, diminuindo, assim, a pressão de superparasitismo e maximizando o fitness do parasitoide.

Considerando os aspectos levantados, pode-se conceber a ideia de que esta espécie de parasitoide seja um potencial organismo para uso em criações massais e um possível agente de controle biológico, especialmente para coleópteros pragas de produtos armazenados, mas o conhecimento de aspectos como capacidade de busca do parasitoide, influência da temperatura e relacionados a liberações em campo, a partir de estudos complementares, devem ser realizados.

Agradecimentos

À Japan Tobacco International – JTI pela disponibilidade do espaço para as coletas. Ao CNPq pelo apoio financeiro nas bolsas DTI-C e bolsa de mestrado e ao José Ricardo Assmann Lemes no auxílio da análise estatística e 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.
- AYRES, M.; AYRES JÚNIOR M.; AYRES D.L. & SANTOS A.A. 2007. **BIOESTAT – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas**. Ong Mamiraua. Belém, PA. Disponível em: <<http://www.mamiraua.org.br/pt-br/downloads/programas/>>. Acesso em: 06.10.2015.
- BARBOSA, L. S. 2006. **Relações quantitativas e temporárias na exposição do hospedeiro *Cochliomya macellaria* (Fabricius, 1775) (Diptera: Calliphoridae) ao parasitoide *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera:**

- Pteromalidae), em laboratório.** Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Museu Nacional. Rio de Janeiro, RJ: Universidade Federal do Rio de Janeiro, p.1- 62.
- BARBOSA, L.S.; COURI, M.S.; COELHO, V.M.A. 2008. Influência do aumento do número de pupas hospedeiras de *Cochliomyia macellaria* (Diptera, Calliphoridae) no desenvolvimento do parasitóide *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera, Pteromalidae) em laboratório. **Iheringia**, Série Zoologia, Porto Alegre, 98(3):339-344.
- BELDA, C.; RIUDAUVETS, 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, 29–34.
- GODFRAY, H. C. G. 1994. **Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology**. New Jersey: Princeton University Press, 461 p.
- GOKHMAN, V. E.; FEDINA, T. Y.; TIMOKHOV, A. V. 1999. Live-history strategies in parasitic wasps of the *Anisopteromalus calandrae* complex (Hymenoptera: Pteromalidae). **Russian Entomological Journal**, 8:201-211.
- HANAN, A.; SHAKEEL, M; HE, X. Z.; RAZZAQ, A. WANG, Q. 2016. Superparasitism and host discrimination behavior of *Eretmocerus warrae* Naumann & Schmidt (Hymenoptera: Aphelinidae). **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**. 40: 1-6.
- LOECK, A. E. 2002. **Praga de produtos armazenados**. Pelotas, RS, EGUFPEL, 113P.
- MACEDO, L.P.M.; SOUZA, B.; CARVALHO, C.F.; ECOLE, C.C. 2003. Influência do fotoperíodo no desenvolvimento e na reprodução de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology** 32(1):091-096.

- 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**, São Paulo, v. 81, n.3. p. 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, 463–469.
- NAVARRO, M. A. 1998. **Trichogramma spp.: producción, uso y manejo en Colombia**. Guadalajara de Buga, Impretec Ltda., 176 p.
- NORRIS, R. F.; CASWELL-CHEN; E. P.; KOGAN, M. 2003. **Concepts in Integrated Pest Management**. Prentice Hall, 608p.
- OZELAME, A. L.; NÖRNBERG, S. D.; NAVA, D. E. 2011. **Exigências térmicas e número de gerações de *Anisopteromalus calandrae*, em *Sitophilus zeamais***. 12º SICONBIOL, Simpósio de Controle Biológico.
- PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. 2009. **Bioecologia e nutrição de insetos. Base para o manejo integrado de pragas**. 1.164 p. Brasília, DF:Embrapa Informação Tecnológica.
- PARRA, J. R. P. 2009. Índices nutricionais para medir consumo e utilização de alimentos por insetos, In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Eds.). **Bioecologia e nutrição de insetos base para o manejo integrado de pragas**. Brasília: Embrapa, p. 37-90.

- PARRA, J. R. P. 2011. **Desafios para a produção e comercialização de agentes de controle biológico de pragas no Brasil**. Disponível em:
<http://www.cnpma.embrapa.br/eventos/2011/cobradan/palestras/palestra_Jose_Roberto_Parra.pdf> Acesso em: 28/09/16.
- 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.
- PRATISSOLI, D.; HOLTZ, A. M.; GONÇALVES, J. R.; ZANÚNCIO, J. C. 2000. Influência do substrato alimentar do hospedeiro alternativo, *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), sobre *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879. **Ciência agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.2, p.373-378.
- RAMOS, A. L.; NANYA, S.; CONTE, H. 2009. Caracterização anatomo-morfológica do sistema digestório de *Lasioderma serricorne* (Fab., 1792), (Coleoptera; Anobiidae), praga de grãos e produtos armazenados. **Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar** – Centro Universitário de Maringá, PR, (ISBN 978-85-61091-05-7).
- SASAKAWA, K.; UCHIJIMA, K.; SHIBAO, H.; SHIMADA, M. 2013. Different patterns of oviposition learning in two closely related ectoparasitoid wasps with contrasting reproductive strategies. **Naturwissenschaften**, 100:117–124.
- SCHÖLLER, M.; PROZELL, S.; AL-KIRSHI, A. G.; REICHMUTH, C.H. 1997. Towards biological control as a major component of integrated pest management in stored product protection. **Journal of Stored Products Research**, Vol. 33, No. I, pp. 81-97.
- SILVA-TORRES, C. S. A.; BARROS, R.; TORRES, J. B. 2009. Efeito da idade, fotoperíodo e disponibilidade de hospedeiro no comportamento de parasitismo de *Oomyzus*

sokolowskii Kurdjumov (Hymenoptera: Eulophidae). **Neotropical Entomology**.

Vol.38, No.4, pp.512-519.

SOLOMON, M. E. 1949. The natural control of animal populations. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 18, p. 1-35.

WU, Z. X.; NORDLUND, D. A. 2002. Superparasitism of *Lygus hesperus* Knight Eggs by *Anaphes iole* Girault in the Laboratory. **Biological Control**, 23, 121-126.

ZART, M.; BERNARDI, O.; NUNES, A. M.; ANDERSSON, F. S.; MANFREDI-COIMBRA, S.; BUSATO, G. R.; GARCIA, M. S. 2012. Influência do fotoperíodo e da densidade de ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) sobre aspectos biológicos e parasitismo de ovos por *Trichogramma pretiosum* Riley. **EntomoBrasilis** 5 (2): 115-119.

TABELAS

Tab. I. Emergência média (\pm DP) (média/tratamento) e parasitismo aparente médio (%) de *Anisopteromalus calandrae* de acordo com a densidade de larvas de *Lasioderma serricorne* e dieta oferecida ao hospedeiro.

Número de larvas	DIETA					
	Farinha		Farinha + Levedo		Farinha + Tabaco	
	Emergência	Parasitismo aparente (%)	Emergência	Parasitismo aparente (%)	Emergência	Parasitismo aparente (%)
10	0,02 \pm 0,042 cA	20 bA	0,06 \pm 0,126 cA	23 bA	0,08 \pm 0,131 bA	17,93 bA
20	0,04 \pm 0,043 bcAB	54 abAB	0,11 \pm 0,099 bcA	73 aA	0,02 \pm 0,035 bB	19,16 bB
50	0,33 \pm 0,102 abAB	68,1 abB	0,41 \pm 0,071 abA	96,34 aA	0,22 \pm 0,105 aB	89,09 aA
100	0,51 \pm 0,142 aA	92,91 aA	0,44 \pm 0,156 aA	89,2 aAB	0,25 \pm 0,069 aB	84,98 aB

*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. Emergência média de parasitoides (\pm DP) (média/tratamento) e porcentagem média (%) de parasitismo de acordo com o fotoperíodo durante a fase adulta do parasitoide *Anisopteromalus calandrae* e a densidade do hospedeiro *Lasioderma serricorne*.

Número de larvas	FOTOPERÍODO					
	0:24		12:12		24:0	
	Emergência	Parasitismo aparente (%)	Emergência	Parasitismo aparente (%)	Emergência	Parasitismo aparente (%)
10	0,09 \pm 0,223 bA	20 bA	0,09 \pm 0,099 cA	43,2 bA	0,03 \pm 0,048 cA	25 bA
20	0,13 \pm 0,105 bA	90 aA	0,11 \pm 0,062 bcA	90 aA	0,11 \pm 0,183 bcA	68 abA
50	0,50 \pm 0,216 aA	85,3 aA	0,38 \pm 0,155 abA	90,8 abA	0,29 \pm 0,162 abA	92,1 aA
100	0,35 \pm 0,143 aA	73,6 abB	0,48 \pm 0,136 aA	93,6 abA	0,40 \pm 0,233 aA	74,2 abAB

*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

FIGURAS

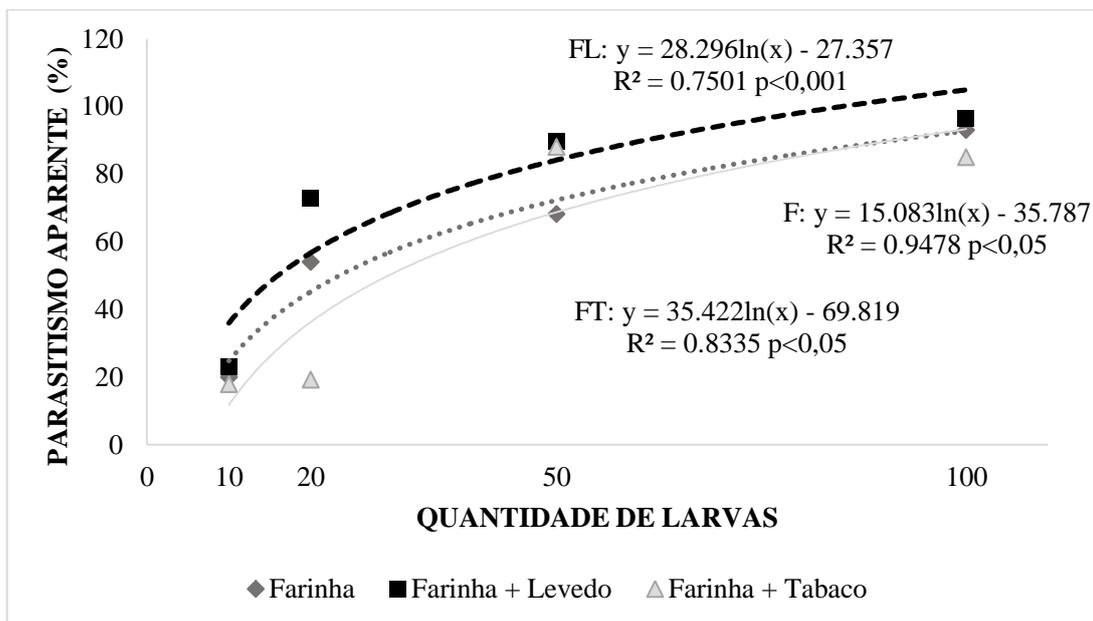


Figura 1. Correlação entre o parasitismo de *Anisopteromalus calandrae* e a densidade de larvas de *Lasioderma serricorne* nas três dietas avaliadas

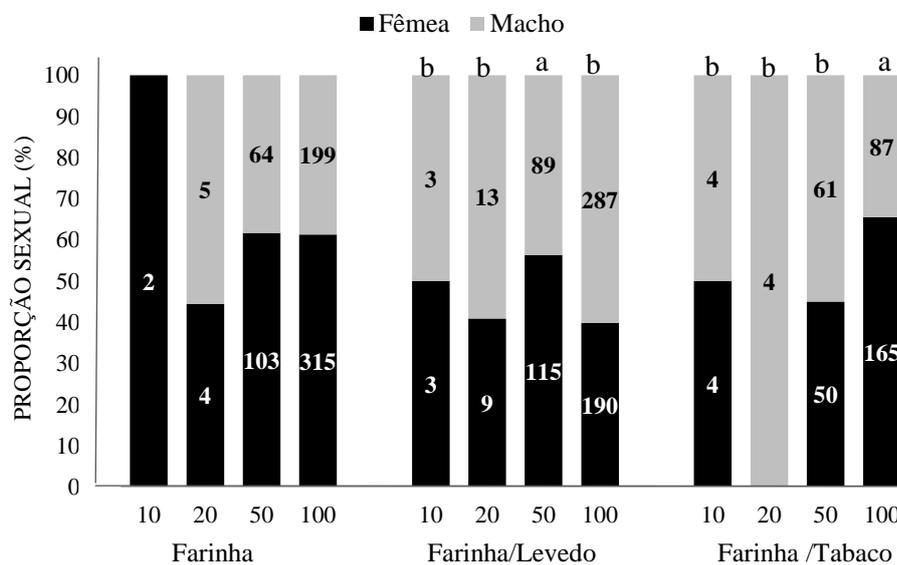


Figura 2. Proporção de machos e fêmeas de *Anisopteromalus calandrae* emergidos nas diferentes densidades do hospedeiro (larvas de *Lasioderma serricorne*) e nas dietas avaliadas. Letras minúsculas diferentes dentro de cada tratamento diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Kruskal-Wallis seguido de Dunn. Se ausentes, densidades dentro do tratamento não diferem estatisticamente entre si. Números dentro das barras indicam a quantidade total de machos e fêmeas nos tratamentos.

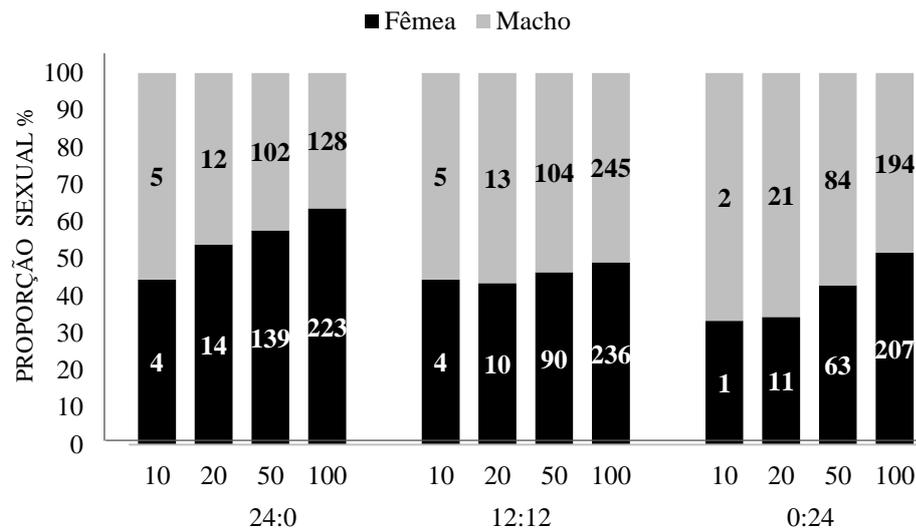


Figura 3. Proporção de machos e fêmeas de *Anisopteromalus calandrae* emergidos nas densidades do hospedeiro (larvas de *Lasioderma serricorne*) e nas fotofases avaliadas. Números dentro das barras indicam a quantidade total de machos e fêmeas nos tratamentos.

4. ARTIGO 2

Longevidade e potencial reprodutivo de *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hym., Pteromalidae) em larvas de *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Col., Anobiidae)*

*Artigo configurado conforme normas da revista Brazilian Journal of Biology

LONGEVIDADE E POTENCIAL REPRODUTIVO DE *Anisopteromalus calandrae* (HOWARD, 1881) (HYM., PTEROMALIDAE) EM LARVAS DE *Lasioderma serricorne* (FABRICIUS, 1792) (COL., ANOBIIDAE)

Kássia C. F. Zilch¹, Simone M. Jahnke² e Andreas Köhler³

1. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS Av. Bento Gonçalves, 7712, Porto Alegre, RS, Brasil. (kassiazilch@gmail.com)

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

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

Figuras: duas (2)

Palavras-chave: Aspectos biológicos, parasitismo, fertilidade, tempo de vida.

Keywords: Biological aspects, parasitism, fertility, lifetime.

Título abreviado: Longevidade e potencial reprodutivo de *A. calandrae*.

Abstract

The pteromalid *Anisopteromalus calandrae* (Hym.: Pteromalidae) is a cosmopolitan ectoparasitoid that parasitizes coleopteran larvae. One of its hosts is the smoke beetle (*Lasioderma serricorne*) (Col.: Anobiidae), well known for attacking a wide variety of stored products, causing damage with economic losses. The objective of this study was to evaluate the longevity and reproductive potential of *A. calandrae* parasitizing larvae of *L. serricorne*. The bioassays were performed with individuals from the laboratory rearings (27 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ RH and 12h photophase). Fifteen couples of the parasitoid were exposed to groups of 10 fourth instar larvae of *L. serricorne* for 24 hours. After this time, couples were transferred to pots containing a new group of host larvae. This process was repeated until the mortality of all parasitoids. Females showed longer longevity than the males, reaching up to 25 days of life. On the fourth day of exposure of larvae, occurred the maximum number of descendants generated, obtaining an apparent parasitism rate of 21.13%. The sex ratio of the total offspring emerged was 0.95: 1 (female to male). *A. calandrae* can be considered as an agent with potential to control of coleopteran pests in integrated pest management programs.

Longevidade e Potencial Reprodutivo de *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hym., Pteromalidae) em larvas de *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Col., Anobiidae)

Resumo

O pteromalídeo *Anisopteromalus calandrae* é um ectoparasitoide cosmopolita que parasita larvas de coleópteros. Um de seus hospedeiros é o besouro-do-fumo (*Lasioderma serricorne*) (Col.: Anobiidae), bastante conhecido por atacar uma grande variedade de produtos armazenados, causando danos com perdas econômicas. O objetivo desse estudo foi avaliar a longevidade e o potencial reprodutivo de *A. calandrae* parasitando larvas de *L. serricorne*. Os bioensaios foram realizados com indivíduos oriundos das criações em laboratório (27 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ U.R. e 12 h de fotofase). Quinze casais do parasitoide foram expostos a grupos de 10 larvas de quarto instar de *L. serricorne* durante 24 h. Após esse período, os casais eram transferidos para potes contendo um grupo novo de larvas do hospedeiro. Esse processo foi repetido até a morte de todos os parasitoides. As fêmeas se mostraram mais longevas que os machos, alcançando até 25 dias de vida. No quarto dia de exposição das larvas, ocorreu o

máximo número de descendentes gerados, com um parasitismo aparente de 21,13%. A razão sexual da prole total emergida foi de 0,95:1 (fêmea para macho). *A. calandrae* pode ser considerado como um agente com potencial para controle de coleópteros praga em programas de manejo integrado de pragas.

1. Introdução

Anisopteromalus calandrae (Howard, 1881) (Hymenoptera: Pteromalidae) é um ectoparasitoide idiobionte que ataca larvas de último ínstar (Menon et al., 2002). O parasitismo ocorre quando a fêmea usa seu ovipositor para perfurar a superfície do grão e paralisar a larva hospedeira. Logo após, ela deposita um ovo fora do tegumento da larva (Belda e Riudavets, 2010; Ozelame et al., 2011). A fêmea se alimenta da hemolinfa da larva para obter quantidade adequada de proteínas para a maturação dos ovos. A capacidade de oviposição é de cerca de 450 ovos durante a vida e geralmente, um ovo é colocado por hospedeiro (Menon et al., 2002).

Esta espécie de parasitoide ataca uma grande variedade de hospedeiros, incluindo: *Sitophilus oryzae* (L. 1765) (gorgulho-do-arroz), *S. granarius* (L. 1758) (caruncho-celeiro), *S. zeamais* (Motschulsky, 1885) (gorgulho-do-milho) (Coleoptera: Curculionidae), *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Bostrichidae) (broca-do-grão) e *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae) (Belda e Riudavets, 2010).

A espécie *L. serricorne*, popularmente conhecida como besouro-do-fumo, ocorre em regiões tropicais, subtropicais e temperadas do mundo (Loeck, 2002). É uma praga primária, normalmente encontrada atacando fumo armazenado, porém não apresenta preferência sendo também relatada consumindo produtos de origem animal, oleaginosas, cereais, grãos de cacau, farinhas, especiarias e frutas secas (Athié e Paula, 2002).

Segundo Loeck (2002) o ovo desta espécie é colocado isoladamente no meio do alimento. De acordo com Antunes e Dionello (2010), a larva passa por quatro ínstaes, ocorrendo a seguir a fase de pupa em uma célula um tanto frágil, construída no substrato ou dentro de um grão, a qual dura cerca de nove dias em temperaturas de 32-35 °C. O adulto permanece alguns dias no interior do casulo pupal antes de emergir. Assim que emerge, evita a luz se escondendo em frestas (Antunes e Dionello, 2010). Os adultos apresentam formato ovalado com comprimento entre 2 a 3,7 mm. São bons voadores, se dispersam com facilidade e possuem uma coloração que varia de marrom claro a escuro (Ramos e Nanya, 2009).

Embora haja registro da ocorrência de parasitismo por *A. calandrae* em *L. serricorne* (Gredilha et al., 2006), existe uma lacuna sobre a biologia do parasitoide neste hospedeiro.

A compreensão de atributos reprodutivos como a taxa reprodutiva e longevidade dos inimigos naturais, é essencial para o sucesso no aumento dos parasitoides e para seu uso comercial como agente de controle biológico (Pacheco e Corrêa-Ferreira, 1998; Aung et al., 2010). Estudos laboratoriais, visando avaliar a taxa de oviposição e o número da progênie, entre outras características biológicas, são importantes fatores utilizados para se organizar as liberações massais, tanto em campo, quanto em instalações de armazenamento rurais (Thomazini e Berti Filho, 2000).

Objetivou-se com esse trabalho conhecer a longevidade e o potencial reprodutivo de *A. calandrae* no hospedeiro *L. serricorne* para avaliar a possível utilização desse parasitoide como agente de controle de coleópteros de produtos armazenados.

2. Material e Métodos

As criações de *L. serricorne* e *A. calandrae* foram mantidas no Laboratório de Entomologia da Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC no município de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil em potes plásticos de capacidade de 1,5 kg com tampas adaptadas com tecido branco de organza cristal para aeração e mantidos em sala climatizada à 27 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas.

O coleóptero *L. serricorne* foi obtido a partir de coletas realizadas em fumo seco proveniente de produtores de tabaco de Santa Cruz do Sul e região e de armadilhas instaladas na área de recebimento do tabaco junto à empresa Japan Tobacco International (JTI) em Santa Cruz do Sul. As armadilhas eram compostas de um pote de vidro de 10 litros com um funil plástico acoplado, preenchido com dieta a base de farinha de trigo, levedo de cerveja, uma folha de fumo seco da variedade Virgínia e duas pastilhas de feromônio sexual Bio Serrico®.

Os parasitoides da espécie *A. calandrae* foram obtidos a partir do hospedeiro *S. zeamais* que estava infestando milho em grão seco e armazenado, proveniente de produtores rurais do município de Candelária, RS, sendo levados ao laboratório para início da criação.

No laboratório, adultos de *A. calandrae* foram transferidos para potes de criação (120 ml) contendo larvas de quarto ínstar (com formação de casulo) do hospedeiro *L. serricorne* (criadas em dieta de farinha de trigo), tampados com tecido organza, fechados com elástico e contendo gotículas de mel para alimentação dos parasitoides. Posteriormente, estes frascos foram acondicionados em potes maiores, de 11 litros (40,8 x 29 x 12,8 cm de dimensão), com fundo forrado de papel toalha umedecido diariamente e a tampa adaptada com tecido organza para ventilação.

Os bioensaios foram realizados nas mesmas condições descritas para a manutenção das criações. Utilizou-se 15 casais do parasitoide *A. calandrae* individualizados e recém-emergidos (24 a 48 h), sendo que a fêmea não possuía experiência de oviposição. A cada casal foram oferecidas 10 larvas de quarto ínstar de *L. serricorne*, que ficaram expostas ao parasitismo por 24 horas. Diariamente os casais eram transferidos para um novo pote com outro grupo de 10 larvas, fazendo com que a fêmea tivesse a possibilidade de parasitar novas larvas todo dia. A observação foi diária registrando-se a longevidade do casal de parasitoides, assim como a data de emergência, quantidade e razão sexual da prole.

Os dados de longevidade foram utilizados para a construção das curvas de sobrevivência por meio do estimador de Kaplan-Meier no software estatístico SPSS versão 22. O parasitismo aparente foi calculado a partir da fórmula $PA = \frac{[n^\circ \text{ de parasitoides}]}{[n^\circ \text{ de parasitoides} + n^\circ \text{ de hospedeiros emergidos}]} \times 100$. A razão sexual (RS) da prole foi calculada pela fórmula $RS = \frac{\text{fêmeas}}{(\text{machos} + \text{fêmeas})}$. Os dados de longevidade foram testados quanto a normalidade por Lilliefors e submetidos ao teste Kruskal-Wallis e as médias comparadas pelo teste de Dunn no software Bioestat 5.0 (Ayres et al., 2007).

3. Resultados

As fêmeas se mostraram mais longevas que os machos apresentando uma média de vida de $11,3 \pm 4,74$ dias, enquanto os machos viveram em média $9,2 \pm 5,45$ dias (Fig.1). Não apresentando diferença significativa entre eles $p > 0,05$ ($H = 5.664$).

Observou-se uma mortalidade acentuada das fêmeas entre os 7 e 12 dias, sendo que somente 20% das fêmeas sobreviveram por mais de 20 dias. Levando-se em conta os machos, a mortalidade foi distribuída de forma mais homogênea durante o período de exposição, aumentando gradativamente ao longo dos dias (Fig. 1).

Figura 1

Com relação a fertilidade, as fêmeas de *A. calandrae* produziram em média uma prole de $35,5 \pm 1,68$ indivíduos sobre *L. serricorne*, durante toda a vida adulta. O máximo potencial reprodutivo das fêmeas foi alcançado nos primeiros 10 dias de exposição, havendo queda acentuada e progressiva em seguida (Fig. 2). Considerando que as fêmeas foram inseridas nos bioensaios com no máximo 48 h de vida, infere-se que elas expressam seu máximo potencial reprodutivo quando apresentam de 4 a 12 dias de vida.

O parasitismo aparente total diário foi de 7,11% em média e a razão sexual da prole total emergida foi de 0,95:1 (fêmea para macho). A maior emergência da prole ocorreu entre o 3º e o 10º dia de exposição (Fig. 2).

Figura 2

As fêmeas de *A. calandrae* ovipositaram já nas primeiras 24 horas de exposição às larvas hospedeiras. Entretanto, as emergências relativas ao primeiro dia de oviposição, indicaram que foram geradas somente fêmeas nesse dia, numa média de $0,2 \pm 0,56$. A partir do segundo dia de vida, o número de descendentes gerados aumentou 13,3 vezes sendo que no quarto dia de exposição das larvas, ocorreu o pico no número de descendentes, obtendo um parasitismo aparente de 21,13%.

4. Discussão

Levando-se em conta as condições em que foram realizados os bioensaios, as fêmeas se mostraram mais longevas que os machos. Segundo Sahin e Ozkan (2007), a longevidade e a fecundidade podem ser afetadas por vários fatores, incluindo o fotoperíodo, a temperatura entre outros. Esses fatores podem influenciar muitos aspectos da biologia e da ecologia dos parasitoides, como comportamento, capacidade

de busca e oviposição, que por sua vez podem afetar diretamente a eficiência desses organismos em ações de liberação em campo.

Segundo Aung et al. (2010) o aumento na longevidade pode melhorar potencialmente o desempenho dos parasitoides, considerando que quanto maior o tempo de sobrevivência do parasitoide no ambiente, maior será a chance de encontrar larvas adequadas para a oviposição. Dessa forma, pode-se considerar que *A. calandrae* possa ser um agente de controle de coleópteros praga eficiente, pois pode sobreviver até 25 dias nas mesmas condições ambientais onde *L. serricornis* completa seu ciclo em torno de 35 dias (27° C) (Antunes e Dionello, 2010).

Belda e Riudavets (2012) avaliando o potencial de *A. calandrae* e *Lariophagus distinguendus* (Foster, 1841) (Hym.: Pteromalidae) sobre os hospedeiros *S. oryzae* e *R. dominica*, observaram que, após uma semana de exposição ao parasitismo, 73% dos casais de *A. calandrae* e 90% dos casais de *L. distinguendus* ainda estavam vivos. Sendo, os machos mais longevos que as fêmeas em *A. calandrae*. Já no presente estudo, também se observou que após uma semana, cerca de 80% dos casais expostos ao parasitismo ainda estavam vivos, mas nesse caso foram as fêmeas que se mostraram mais longevas, sugerindo que em hospedeiros diferentes o mesmo parasitoide pode apresentar comportamentos distintos.

Zart et al. (2012) observaram que no parasitismo de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lep.: Pyralidae) por fêmea de *Trichogramma pretiosum* (Riley, 1879) (Hym.: Trichogrammatidae), o número máximo de ovos parasitados foi atingido no quinto dia de vida da fêmea, em densidades de 10 ovos. Dados semelhantes aos do presente estudo, onde na mesma densidade, mas nesse caso com larvas, *A. calandrae* teve seu máximo potencial de parasitismo no quarto dia.

Alguns estudos como o de Visarathanonth et al. (2010) avaliando o parasitismo de *A. calandrae* no hospedeiro *S. zeamais*, observaram que as fêmeas tiveram um período reprodutivo de 11 dias com pico no número de prole no 5º dia e produziram em média 37 ± 14 fêmeas e 42 ± 14 machos num total de 79 ± 13 indivíduos. Corroborando o presente estudo no qual, o mesmo parasitoide, mas no hospedeiro *L. serricorne*, apresentou um período reprodutivo equivalente. Isso demonstra, que independente dos diferentes hospedeiros que *A. calandrae* utiliza, os parâmetros reprodutivos são semelhantes.

Da mesma forma como observado para *L. serricorne*, a razão sexual de *A. calandrae* parasitando *S. zeamais* foi desviada para machos, 0,44 (fêmeas) (Visarathanonth et al., 2010). Avaliando a reprodução de *A. calandrae* e *L. distinguendus*, Belda e Riudavets (2012) encontraram uma prole total de 528 e 411 parasitoides, respectivamente. A razão sexual também foi desviada para machos (0,45 fêmeas) em *A. calandrae* e para fêmeas (0,65 fêmeas) para *L. distinguendus*.

As diferenças na razão sexual podem ser explicadas, pois, após a detecção de um hospedeiro, a fêmea é capaz de decidir se a larva é adequada para oviposição de um macho ou fêmea, ou se ele será usado somente para a alimentação (Wajnberg et al., 2008). Esta escolha determina a proporção entre os sexos descendentes e é realizada com base em vários fatores. Larvas grandes são normalmente usadas para oviposição de fêmeas, enquanto as menores são usadas para dar origem a machos, ou para a alimentação (Belda e Riudavets, 2012). Além disso, a qualidade nutricional do hospedeiro, condições abióticas e também características genéticas da espécie, podem atuar na razão sexual da prole (Wajnberg et al., 2008).

A temperatura, umidade relativa e o fotoperíodo também podem afetar o potencial reprodutivo e o desenvolvimento dos insetos, atuando de forma positiva ou

negativa sobre o número de indivíduos de uma população (Macedo et al., 2003). Assim como a duração do desenvolvimento pós-embrionário é diretamente influenciada pelas condições ambientais, no caso de insetos parasitoides, o desenvolvimento também é afetado pelo tamanho, bem como pela espécie do hospedeiro (Barbosa et al., 2008)

A postura realizada a partir do primeiro dia de exposição ao hospedeiro, também é referida para outras espécies de pteromalídeos, como avaliado por Thomazini e Berti Filho (2000) em que o parasitoide *Muscidifurax uniraptor* (Kogan e Legner, 1970) (Hymenoptera: Pteromalidae) efetuou postura em pupas de *Musca domestica* (L., 1758) (Diptera: Muscidae) já no primeiro dia. Para esta espécie, a longevidade total foi de 25 dias e a média estimada foi 13,17 dias, assim como observado em *A. calandrae* que apresentou um padrão reprodutivo e de longevidade semelhantes.

A partir dos resultados obtidos e pela comparação com trabalhos anteriores, foi possível inferir que *A. calandrae* possui potencial para ser usado como agente de controle de coleópteros que atacam produtos armazenados, pois possui características necessárias e exigidas à organismos que atuam no controle biológico.

Para um melhor resultado no controle, os parasitoides devem ser liberados tendo no máximo 10 dias de vida, pois é nesse período que as fêmeas apresentam seu máximo potencial reprodutivo e podem se mostrar mais eficientes em liberações a campo.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer o Conselho Nacional de Pesquisa-CNPq pelo apoio financeiro nas bolsas DTI-C e bolsa de mestrado. À Japan Tobacco International – JTI pela disponibilidade do espaço para as coletas e à Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC) pela utilização dos laboratórios.

Referências

- ANTUNES, L.E.G. e DIONELLO, R.G., 2010. [viewed 6 February 2012]. Bioecologia de *Lasioderma serricorne* Fabricius 1792 (Coleoptera: Anobiidae). *Infobibos*. [online]. Available from: http://www.infobibos.com/Artigos/2010_2/Lasioderma/index.htm
- ATHIÉ, I. e PAULA, D.C, 2002. *Insetos de grãos armazenados aspectos biológicos e identificação*. Livraria Varela, 2ª edição, p. 28-34.
- AUNG, K.S.D., TAKASU, K., UENO, T. e TAKAGI, M., 2010. [viewed 12 January 2017]. Effect of Temperature on Egg Maturation and Longevity of the Egg Parasitoids *Ooencyrtus nezarae* (Ishii) (Hymenoptera: Encyrtidae). *Journal Faculty of Agriculture, Kyushu University*. [online]. Available from: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.655.6616&rep=rep1&type=pdf>
- AYRES, M., AYRES JÚNIOR M., AYRES D.L. e SANTOS A.A. 2007. . [viewed 12 March 2015]. *BIOESTAT – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas*. Ong Mamiraua. Belém, PA. [online]. Available from: <http://www.mamiraua.org.br/pt-br/downloads/programas>
- BARBOSA, L.S., COURI, M.S. e COELHO, V.M.A. 2008. Influência do aumento do número de pupas hospedeiras de *Cochliomyia macellaria* (Diptera, Calliphoridae) no desenvolvimento do parasitóide *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera, Pteromalidae) em laboratório. *Iheringia, Série Zoologia*, Porto Alegre, vol.98, n.3, pp.339-344. <http://dx.doi.org/10.1590/S0073-47212008000300008>
- BELDA, C. e 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*, vol. 54, no. 1, pp. 29–34.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.02.005>

BELDA, C. e RIUDA VETS, 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*. *Journal of Pest Science*, vol. 85, no. 3, pp. 381–385. [http://dx.doi.org/10.1007/s10340-](http://dx.doi.org/10.1007/s10340-011-0401-2)

[011-0401-2](http://dx.doi.org/10.1007/s10340-011-0401-2)

GRE DILHA, R., CARVALHO, A.R., LIMA, A.F. e MELLO, R. P., 2006. [viewed 15 November 2014]. 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, vol.73, no.4, p.489-491. [online]. Available from:

http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v73_4/gredilha.pdf

LOECK, A.E., 2002. *Praga de produtos armazenados*. Pelotas, RS, EGUFPEL, 113P.

MACEDO, L.P.M., SOUZA, B., CARVALHO, C.F. e ECOLE, C.C. 2003. Influência do fotoperíodo no desenvolvimento e na reprodução de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). *Neotropical Entomology*, vol. 32, no. 1, pp. 91-96.

<http://dx.doi.org/10.1590/S1519-566X2003000100013>

MENON, A., FLINN, P.W., BARRY, A. e 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* vol. 38, no. 5, pp. 463–469.

[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(01\)00050-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(01)00050-9)

OZELAME, A.L., NÖRNBERG, S.D. e NAVA, D.E., 2011. Exigências térmicas e número de gerações de *Anisopteromalus calandrae*, em *Sitophilus zeamais*. 12º SICONBIOL, *Simpósio de Controle Biológico*, July 18 – 21, Palácio das Convenções do Anhembi, São Paulo, SP.

PACHECO, D.J.P. e CORRÊA-FERREIRA, B.S., 1998 Potencial reprodutivo do parasitoide *Telenomus podisi* Ashmead, em ovos de diferentes espécies de percevejos. *Anais da Sociedade Entomologica Brasileira = Annals of the Brazilian Entomological Society*, vol. 27, no. 4, pp. 585-591. <http://dx.doi.org/10.1590/S0301-80591998000400011>

RAMOS, A.L. e NANYA, S., 2009. Caracterização anatomo-morfológica do sistema digestório de *Lasioderma serricorne* (Fab., 1792), (Coleoptera; Anobiidae), praga de grãos e produtos armazenados. VI EPCC *Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar*, October 27–30, Maringá, PR, Brazil, pp. 27 - 30 .

SHAIN, A.K. e OZKAN. C., 2007. [viewed 20 December 2016] Effect of Light on the Longevity and Fecundity of *Venturia canescens* (Gravenhorst) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Zoological Society of Pakistan*, vol. 39, no. 5, pp. 315-319. [online]. Available from: [http://zsp.com.pk/pdf3/315-319%20\(7\).pdf](http://zsp.com.pk/pdf3/315-319%20(7).pdf)

THOMAZINI, M.J. e BERTI FILHO, E., 2000. Tabela de Vida de Fertilidade de *Muscidifurax uniraptor* Kogan & Legner (Hymenoptera: Pteromalidae) em Pupas de *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Anais da Sociedade Entomologica Brasileira = Annals of the Brazilian Entomological Society*, vol. 29, no. 4, pp. 715-721, 2000. <http://dx.doi.org/10.1590/S0301-80592000000400011>

VISARATHANONTH, P.; KENGKANPANICH, R.; URAICHUEN, J. e THONGPAN, J., 2010. Suppression of *Sitophilus zeamais* Motschulsky by the

ectoparasitoid, *Anisopteromalus calandrae* (Howard). *Julius-Kühn-Archiv*, Nr. 425, pp. 755-759 <http://dx.doi.org/10.5073/jka.2010.425.196>

WAJNBERG, E. BERNSTEIN, C. e VAN ALPHE, J. 2008. *Behavioral Ecology of Insect Parasitoids: From Theoretical Approaches to Field Applications*. Wiley – Blackwell. 445 pp.

ZART, M.; BERNARDI, O.; NUNES, A.M.; ANDERSSON, F.S.; MANFREDI-COIMBRA, S.; BUSATO, G.R. e GARCIA, M.S., 2012. [viewed 4 September 2014]. Influência do fotoperíodo e da densidade de ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) sobre aspectos biológicos e parasitismo de ovos por *Trichogramma pretiosum* Riley. *EntomoBrasilis*, vol. 5, no. 2 pp. 115-119. [online]. Available from: <http://www.periodico.ebras.bio.br/ojs/index.php/ebras/article/viewFile/197/182>

LEGENDA DAS FIGURAS

Figura 1. Curva de sobrevivência de machos e fêmeas de *Anisopteromalus calandrae* em condições de laboratório.

Figura 2. Emergência média de machos, fêmeas e total da prole (\pm EP) relativa ao dia de exposição das larvas às fêmeas.

FIGURAS

Figura 1

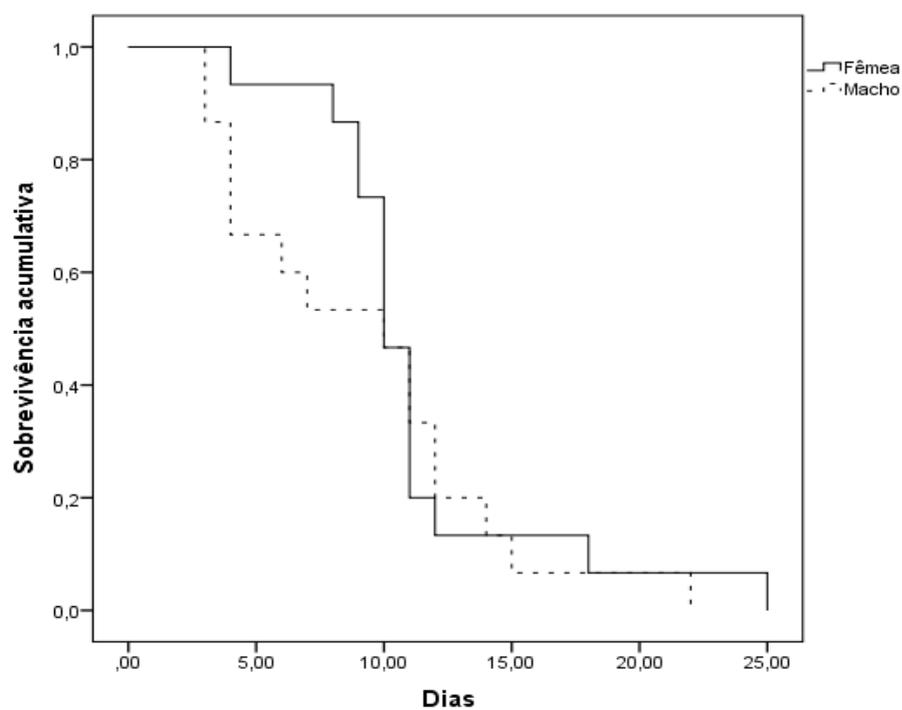
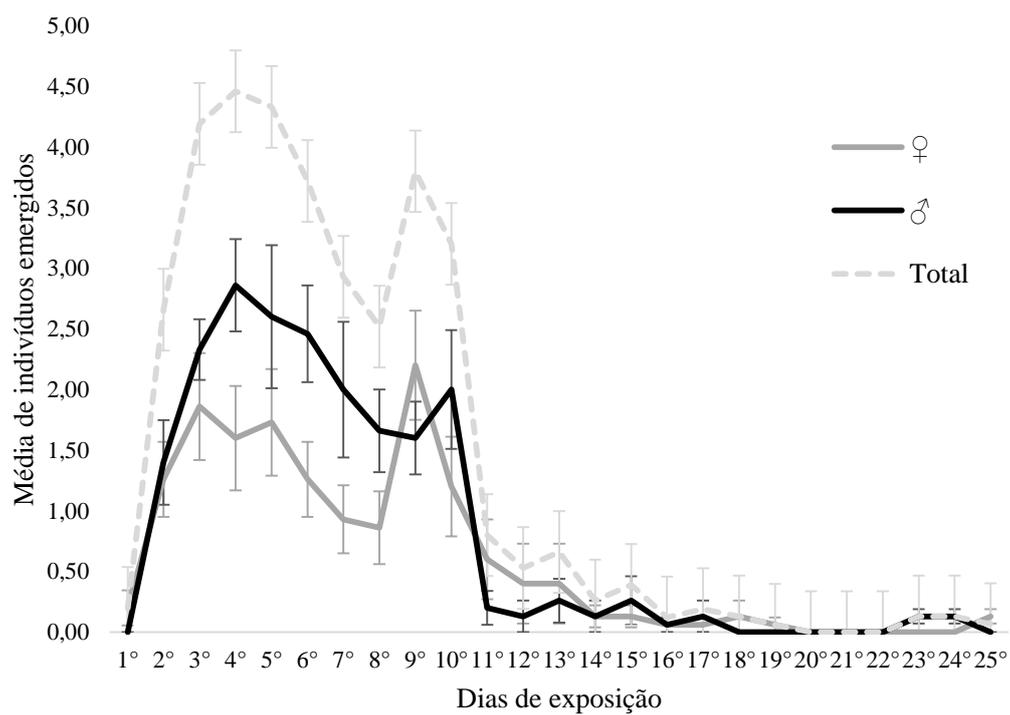


Figura 2



5. ARTIGO 3

Caracterização morfológica das fases imaturas e desenvolvimento de *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) em larvas de *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae)*

*Artigo configurado nas normas da revista Annals Entomological Society of America

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22

23
24
25
26
27
28
29

30
31

32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42

K. C. F. Zilch
UFGRS – PPG Fito
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Av. Bento Gonçalves, 7712, Porto Alegre,
RS, Brasil CEP: 91540-000
Phone: 0055 51 98014-1411
E-mail: kassiazilch@gmail.com

**Caracterização morfológica das fases imaturas e desenvolvimento de
Anisopteromalus calandrae (Hymenoptera: Pteromalidae) em larvas de *Lasioderma
serricorne* (Coleoptera: Anobiidae)**

K. C. F. Zilch¹, S. M. Jahnke¹ and A. Köhler²

1. Laboratório de Controle Biológico de Insetos. Dep. Fitossanidade. Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS. Av. Bento Gonçalves, 7712, Porto Alegre, RS, Brasil.

2. Laboratório de Entomologia. Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC. Av. Independência, 2293. Santa Cruz do Sul, RS, Brasil.

43 **Resumo**

44 *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) é um ectoparasitoide de larvas de
45 coleópteros que podem atacar produtos armazenados, como o anóbídeo *Lasioderma*
46 *serricorne* (Fabricius, 1792), que causa perdas qualitativas e econômicas em uma
47 grande variedade de mercadorias. O objetivo do trabalho foi caracterizar
48 morfológicamente as fases imaturas e o tempo de desenvolvimento de *A. calandrae*
49 parasitando larvas de *L. serricorne*. Larvas de quarto ínstar (com formação de casulo)
50 do hospedeiro foram expostas aos parasitoides adultos no laboratório (27 ± 2 °C, $60 \pm$
51 10% U.R. e 12 h de fotofase) durante 24 h. Diariamente, casulos foram dissecados para
52 a observação dos parasitoides imaturos que ficam sobre o corpo das larvas hospedeiras.
53 Foram efetuadas medidas da cápsula cefálica, comprimento total e largura destes
54 imaturos, assim como eletromicrografias em microscópio eletrônico de varredura e
55 estereomicroscópio. Foi possível determinar quatro ínstaes larvais de *A. calandrae*, que
56 na morfologia geral se assemelham, diferindo no tamanho e forma dos segmentos,
57 apresentando aumento da opacidade e mudança na coloração de um ínstar para outro. O
58 ciclo total de *A. calandrae* em larvas de *L. serricorne* foi completado após 13 dias. Foi
59 detectado a sobreposição das fases durante o período de desenvolvimento de ovo a
60 adulto, sendo a fase de pupa a mais longa do ciclo de vida, podendo permanecer nessa
61 fase metade do período total de desenvolvimento.

62 **Palavras-chave:** Bionomia, período pré-imaginal, parasitoide larval,
63 eletromicrografias.

64

65 **Abstact**

66 *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) is an ectoparasitoid of coleopteran larvae
67 that can attack stored products, as the Anobiidae *Lasioderma serricorne* (Fabricius,
68 1792), which causes qualitative and economic losses in a wide variety of goods. The
69 objective of this work was to characterize morphologically the immature phases and the
70 development time of *A. calandrae* parasitizing larvae of *L. serricorne*. Larvae of the
71 fourth instar (with cocoon formation) were exposed to adult parasitoids in the laboratory
72 (27 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ RH and 12h photophase) for 24 h. Daily, cocoons were dissected
73 for observation of the immature parasites that are on the body of the host larvae.
74 Measurements were made of the cephalic capsule, total length and width of these
75 immatures, as well as electromicrographs in a scanning electron microscope and
76 stereomicroscope. It was possible to determine four larval instars of *A. calandrae*,
77 which in general morphology resembled, differing in the size and shape of segments,
78 presenting increased opacity and color change from one instar to another. The total
79 cycle of *A. calandrae* in *L. serricorne* larvae was completed after 13 days. Phase
80 overlap was detected during the development period from egg to adult, with the pupa
81 phase being the longest in the life cycle, being able to stay in that phase half of the total
82 development period.

83 **Key words:** Bionomy, preimaginal period, larval parasitoid, electromicrographs.

84

85 Considerada a segunda superfamília mais rica em número de espécies de Hymenoptera,
86 Chalcidoidea contém em torno de 2.000 gêneros e 19.000 espécies descritas, mas
87 estima-se que possam existir mais de 100.000. Esta superfamília inclui o menor de
88 todos os insetos, um tricogramatídeo com 0,17 mm, mas possui indivíduos maiores que
89 podem alcançar até 25 mm (Hanson e Gauld 1995).

90 Pteromalidae, incluída em Chalcidoidea, agrupa himenópteros de tamanho
91 pequeno, entre 1 e 7 mm de comprimento e com coloração que varia de verde brilhante
92 ou azul a preta ou amarela. As antenas têm de oito a 13 segmentos, incluindo 1-3 anéis e
93 5-7 segmentos funiculares. As asas são totalmente desenvolvidas (exceto para
94 subfamília Diparine, que é braquíptera) (Hanson e Heydon 2006). Segundo os mesmos
95 autores os tarsos têm usualmente cinco segmentos, o metassoma é subpeciado a
96 distintamente peciolado e o ovipositor pode variar de completamente oculto a exposto.

97 As fases imaturas dos indivíduos dessa família são ovo, larva, podendo variar de
98 três a cinco instares e pupa (Hanson e Gauld 1995). Mesmo em indivíduos da mesma
99 espécie e entre diferentes espécies o número de instares larvais é variável (Costa et al.
100 2006).

101 Os ovos de Pteromalidae possuem formato alongado ou elipsoidal e, de modo
102 geral, com córion liso e fino. O primeiro instar larval geralmente é himenopteriforme,
103 possuindo 13 segmentos, os instares seguintes, geralmente possuem o mesmo formato,
104 somente com tamanho maior (Hanson and Gauld 1995). Na maioria das espécies de
105 himenópteros, o intestino médio é fechado posteriormente até o instar larval final e,
106 pouco antes de empupar, período chamado de pré-pupa, ocorre a fusão dos intestinos
107 médio e posterior e a larva libera o mecônio (Costa et al. 2006).

108 A grande maioria dos pteromalídeos é parasitoide, mas alguns são predadores e
109 poucos fitófagos (Rafael et al. 2012). Segundo os autores, os indivíduos parasitoides da

110 família podem comportar-se como cenobiontes, idiobiontes, ectoparasitoides e
111 endoparasitoides, com parasitismo solitário, gregário, entre outros. Segundo Hanson and
112 Heydon (2006), seus hospedeiros variam desde aracnídeos, blatódeos, neurópteros,
113 lepidópteros, dípteros até outros himenópteros. A maioria das espécies tem como
114 hospedeiros larvas e pupas de insetos holometábolos (especialmente Diptera e
115 Coleoptera) e poucas espécies parasitam ovos ou mesmo adultos.

116 *Anisopteromalus*, dentro de Pteromalidae é reconhecido por uma combinação de
117 caracteres, entre eles, os que se destacam são a antena das fêmeas com três anéis, a
118 estrutura do propódeo e a margem posterior do primeiro tergito abdominal formam um
119 pecíolo em ambos os sexos (Sureshan 2010).

120 Espécies de *Anisopteromalus* ocorrem principalmente no Velho Mundo, onde
121 foram encontrados na África tropical, Ásia e Europa Ocidental. Elas costumam parasitar
122 larvas de besouros como Chrysomelidae, Anobiidae e Curculionidae, que se alimentam
123 de grãos armazenados e sementes de leguminosas (Fabaceae: Faboideae e
124 Caesalpinioideae), mas também podem ser criados em hospedeiros lepidópteros como,
125 por exemplo, Gelechiidae e Pyralidae (Baur et al. 2014).

126 De acordo com Menon et al. (2002), *Anisopteromalus calandrae* (Howard,
127 1881) é um ectoparasitoide idiobionte que ataca larvas de último ínstar de uma grande
128 variedade de hospedeiros. Utiliza larvas de besouros de produtos armazenados, como:
129 *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1855) (gorgulho-do-milho), *S. oryzae* L. 1763
130 (gorgulho-do-arroz) (Col.: Curculionidae), *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792)
131 (Col. Bostrichidae) (broca-do-grão) e *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Col.
132 Anobiidae) (Belda e Riudavets, 2010).

133 O parasitismo ocorre quando a fêmea perfura a larva do hospedeiro com seu
134 ovipositor, paralisa-o e deposita um ovo fora do tegumento (Belda e Riudavets 2010,

135 Ozelame et al. 2011). A capacidade de oviposição é grande, cerca de 450 ovos durante a
136 vida. Geralmente, um ovo é colocado por hospedeiro (Menon et al. 2002).

137 Especificamente a respeito desta espécie parasitoide, existem alguns trabalhos
138 descrevendo características biológicas das fases imaturas, como os de Swetman (1964),
139 Ahmed (1996) e Visarathanonth et al. (2010) que descrevem o período de
140 desenvolvimento de *A. calandrae* nos hospedeiros *R. dominica* e *S. zeamais*,
141 respectivamente.

142 Considerando que essa espécie de parasitoide pode ser um agente de controle
143 biológico eficaz para suprimir o aumento das populações dos insetos praga (Chaisaeng
144 et al. 2010), informações a respeito do desenvolvimento e descrições morfológicas
145 podem ser importantes aspectos para embasar criações massais.

146 Assim, objetivou-se caracterizar morfológicamente as fases imaturas do
147 parasitoide *A. calandrae* criado em *L. serricorne* e registrar o tempo de desenvolvimento
148 de cada fase.

149 **Material e Métodos**

150 O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Entomologia da Universidade de
151 Santa Cruz do Sul – UNISC. Grupos de 10 larvas de quarto ínstar (com formação de
152 casulo) do hospedeiro *L. serricorne* foram expostos, em 43 potes plásticos (120 ml), a
153 casais adultos do parasitoide *A. calandrae* por 24 horas (um casal por pote), mantidos
154 em sala climatizada (27 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ U.R. e 12 h de fotofase). Após esse período
155 retirou-se os casais e iniciaram-se as observações. A cada 12 horas, quatro potes foram
156 utilizados para as observações. Os casulos foram abertos sob microscópio
157 estereoscópico e com o auxílio de uma ocular graduada, foram medidos 10 imaturos de
158 cada uma das fases do desenvolvimento. Mediu-se a maior largura e comprimento nos
159 ovos. Nas larvas, pupas e pré-pupas, foram medidas a largura da cápsula cefálica, o

160 comprimento total e a maior largura corporal. Esse processo foi realizado até a
161 emergência do parasitoide.

162 Os ínstaes larvais foram determinados a partir das medidas do comprimento
163 total, largura total e largura da cápsula cefálica de *A. calandrae*, utilizando o modelo de
164 regressão segmentado (R^2) de 99% conforme Ambrosano et al. (1997). As
165 terminologias morfológicas (Fig. 1) e a quetotaxia seguem Gómez et al. (2008, 2011).

166 Exemplares de todas as fases obtidas (ovos, larvas, pré-pupa e pupa) foram
167 armazenados em fixador a base de glutaraldeído, desidratados e secos em equipamento
168 de ponto crítico, sendo preparados para observação e registro fotográfico em
169 microscópio eletrônico de varredura.

170 Legenda das abreviações:

171 A: Segmento abdominal

172 SA: Segmento anal

173 T: Segmento torácico

174 O material examinado foi tombado junto a Coleção Entomológica de Santa Cruz
175 do Sul (CESC), sob Lotes 79.503 (Ovo), 79.504 (Larva 1° ínstar), 79.505 (Larva 2°
176 ínstar), 79.506 (Larva 3° ínstar), 79.507 (Larva 4° ínstar), 79.508 (Pré-pupa), 79.509
177 (Pupa fêmea), 79.510 (Pupa macho).

178

179 **Resultados**

180 A partir das medições e da análise realizada, foi possível determinar quatro ínstaes
181 larvais (Tabela 1, Fig. 2).

182 Foram utilizados indivíduos com idade e tamanhos médios para as descrições
183 das características de cada fase. Ao final de cada diagnose, incluiu-se observações sobre
184 as mudanças que ocorrem em cada estágio de desenvolvimento, fotografias e

185 eletromicrografias, além de localização e nomenclatura das cerdas presentes na cápsula
186 cefálica.

187 **Ovos**

188 Diagnose: Do tipo himenopteriforme, com formato elíptico alongado, com uma das
189 extremidades mais afunilada que a outra. Aproximadamente três vezes mais longo que
190 largo. A extremidade anterior (que dará origem a cabeça na larva) mais larga, quase
191 duas vezes a largura da extremidade oposta. Coloração branca translúcida (Fig. 3 - O1 e
192 O2). Cório com granulações arredondadas em quase toda sua extensão (Fig. 3 – D1),
193 exceto nas extremidades, onde apresenta uma superfície mais lisa.

194 Medidas: Comprimento total: 0,4 mm. Largura total: 0,14 mm.

195 Comentários: Algumas horas após a oviposição, o embrião pode ser visualizado
196 ao centro do ovo, pois sua coloração é levemente amarelada.

197 **Larva**

198 Todas as larvas são do tipo himenopteriforme. Possuem diferenciação da cápsula
199 cefálica e segmentação já bem evidente. O corpo possui 13 segmentos poscefálicos,
200 incluindo três torácicos (T1-T3) e dez abdominais, compreendendo o segmento anal
201 (A1-A9, SA) (Fig. 1).

202 Possuem dez pares de espiráculos, um no T1, um entre o T2 e T3 e um par em
203 cada segmento de A1 a A8 localizados lateralmente ao corpo, paralelos horizontalmente
204 às antenas. A superfície corporal tem aspecto rugoso (Fig. 3-D2) e a capsula cefálica é
205 lisa (Fig. 3-D3).

206 De forma geral, os diferentes ínstares larvais são semelhantes entre si, diferindo,
207 principalmente no tamanho e forma dos segmentos. Com relação à coloração, as larvas,
208 com o decorrer do tempo e por conta da alimentação, tornam-se mais opacas e variam
209 de brancas translúcidas, leitosas, a cinza. (Fig. 2)

210 Larva de primeiro ínstar

211 Diagnose: Cápsula cefálica esférica, com largura igual ao T1, e mais de três vezes a
212 largura do segmento SA. Superfície do corpo lisa, somente com cerdas esparsas na
213 região frontal da cápsula cefálica (Fig. 5). T1 a T3 com a maior largura do corpo, duas
214 vezes e meia a largura do SA. A1-A3 com larguras semelhantes, A4-A9 com perda
215 gradativa de largura até o SA (Fig. 3 – L1a e L1b).

216 Medidas: Comprimento total: 0,5 mm. Largura total: 0,2 mm. Largura da
217 cápsula cefálica: 0,12 mm.

218 Observações: Logo após a eclosão, a larva é menor que o ovo, mas à medida que
219 vai se alimentando, cresce rapidamente em largura e comprimento. A cápsula cefálica
220 inicialmente é da mesma largura do T1, mas 1,5 vezes mais longa. Com o crescimento
221 da larva, os segmentos se tornam mais largos e podem ultrapassar a largura da cápsula
222 cefálica. Corpo com coloração translúcida, sendo possível visualizar o intestino (Fig. 3
223 – L1b).

225 Larva de segundo ínstar

226 Diagnose: Cápsula cefálica esférica com cerdas esparsas na região frontal e antenas
227 curtas (Fig. 5). T1 uma vez e meia maior que a cápsula cefálica. T1 a T3 com aumento
228 gradativo em largura, o último segmento com quase duas vezes a largura da cápsula
229 cefálica. A1 a A3 com mesma largura, A4 até A9 com perda gradativa de largura,
230 cápsula cefálica com quase uma vez e meia a largura do A9, e com duas vezes a largura
231 do segmento SA. Cápsula cefálica lisa e superfície dos segmentos rugosa (Fig. 3 - L2a e
232 L2b).

233 Medidas: Comprimento total: 0,9 mm. Largura total: 0,4 mm. Largura da
234 cápsula cefálica: 0,2 mm.

235 Observações: Neste período a cápsula cefálica aumenta em largura, porém
236 menos que a dos segmentos torácicos. A coloração corporal varia de branca translúcida
237 a branca opaca, sendo possível visualizar o intestino.

238 **Larva de terceiro ínstar**

239 Diagnose: Cápsula cefálica esférica, duas vezes e meia mais larga que a do primeiro
240 ínstar, com presença de antenas curtas e com cerdas esparsas na região frontal (Fig. 5).
241 Parte posterior da cápsula cefálica encoberta pelo T1. T1 uma vez e meia mais largo que
242 a cápsula cefálica. T2 e T3, 0,3 vezes mais largos que o T1. Largura máxima do
243 segmento A3 mais que duas vezes a largura da cápsula cefálica. A1 a A9 com perda
244 gradual de largura na direção posterior. Cápsula cefálica três vezes maior que o SA.
245 Superfície dos segmentos rugosa (Fig. 3 - L3a e L3b).

246 Medidas: Comprimento total: 1,4 mm. Largura total: 0,7 mm. Largura da
247 cápsula cefálica: 0,3 mm.

248 Observações: O corpo encurva-se em formato de meia lua, a cápsula cefálica,
249 em vista dorsal, fica parcialmente encoberta pelo segmento T1. A coloração do corpo é
250 branca opaca. O intestino é visível, de coloração amarelada ocupando até um terço do
251 tamanho do corpo.

252 **Larva de quarto ínstar**

253 Diagnose: Cápsula cefálica lisa com antenas e cerdas esparsas na região frontal (Fig. 5)
254 encoberta dorsalmente pelo T1. Cápsula cefálica quatro vezes mais larga que a da larva
255 de primeiro ínstar. T1 com duas vezes a largura da cápsula cefálica. T3 uma vez e meia
256 mais largo que T1. A3 três vezes maior que a largura da cápsula cefálica. A1 a A5 com
257 protuberâncias antero dorsais. Superfície rugosa com presença de cerdas esparsas na

258 parte dorsal do corpo. SA voltado para baixo, visível somente em vista dorsal (Fig. 4 –
259 L4a e L4b).

260 Medidas: Comprimento total: 2,2 mm. Largura total: 1,0 mm. Largura da
261 cápsula cefálica: 0,46 mm.

262 Observações: Segmentação torácica e abdominal menos distinguível na parte
263 ventral. Corpo apresenta granulações internas (células de gordura) visíveis,
264 principalmente, na superfície dorsal do corpo. A coloração varia de branca opaca a
265 acinzentada. Nesse estágio a larva já consumiu praticamente todos os tecidos do
266 hospedeiro.

267 **Pré pupa**

268 Diagnose: Cápsula cefálica com presença de cerdas esparsas na região frontal (Fig. 5),
269 sobreposta pela expansão do lobo posterior e, visível somente em vista lateral. T1 três
270 vezes mais largo que a cápsula cefálica e quase tão comprido quando o T2 e T3 juntos.
271 T2 e T3 quatro vezes mais largos que compridos. A1- A5 uma vez e meia maiores que
272 a largura dos segmentos T1 a T3. Largura do SA igual a um terço da largura da cápsula
273 cefálica (Fig. 4 - PP1 e PP2). Presença de cerdas longas, duas vezes o tamanho das
274 antenas e espalhadas por todo o corpo.

275 Medidas: Comprimento total: 1,9 mm. Largura total: 1,0 mm. Largura da
276 cápsula cefálica: 0,4 mm.

277 Observações: A cápsula cefálica sofre uma diferenciação, expandindo o lobo
278 posterior, região onde os olhos serão formados. Segmentação corporal com
279 diferenciação evidente da região torácica e abdominal. Essa fase é caracterizada pela
280 liberação do mecônio (fezes, eliminadas por conta da ligação do intestino médio ao
281 intestino posterior), coloração clara opaca esbranquiçada e ausência de movimentos.

282

283 Pupa

284 Diagnose da fêmea: Do tipo exarata. Antenas com três anéis, flagelômeros três vezes
285 mais largos que longos, sobrepostos na região frontal da cabeça e ventral do tórax.
286 Aparelho bucal mastigador com mandíbulas esclerotizadas As pernas e as asas
287 localizadas lateralmente ao tórax e abdômen, os brotos alares posicionados ao lado das
288 pernas medianas (Fig. 4 – Pf1 e Pf2). Abdômen com nove segmentos, ovipositor
289 interno. Comprimento total: 2,1 mm. Largura total: 0,9 mm. Largura da cápsula
290 cefálica: 0,7 mm.

291 Diagnose do macho: Semelhante à fêmea, mas com tamanho 10% menor e sem
292 ovipositor. Antenas mais longas que as da fêmea, com presença de somente dois anéis e
293 flagelômeros duas vezes mais largos que longos. Abdômen arredondado na parte
294 posterior (Fig. 4 - Pm1 e Pm2).

295 Medidas: Comprimento total: 1,74 mm. Largura total: 0,8 mm. Largura da
296 cápsula cefálica: 0,62 mm.

297 Observações: É a fase imatura mais longa do ciclo de vida, podendo durar até
298 sete dias. Corpo com coloração inicial totalmente amarelada, com o passar do tempo os
299 olhos ficam avermelhados, cabeça, tórax e por último o abdômen escurece, tornando o
300 corpo totalmente escurecido (Fig.4 – D4). O macho apresenta o abdômen com
301 coloração mais clara que a fêmea.

302 A duração de cada fase imatura foi em torno de um dia e meio, principalmente
303 na fase de ovo e nos primeiros ínstaes larvais. Depois de transcorridos quatro dias após
304 a oviposição, as larvas já se encontravam no último ínstar (Fig.2).

305 Discussão

306 O ovo de *A. calandrae* apresenta forma elíptica alongada, caracterizando-se como um
307 típico ovo de Hymenoptera, normalmente ovóide ou em forma de bastonete (Costa et al.

308 2006). Entretanto, diferente da maioria dos pteromalídeos, que apresentam córion liso e
309 fino (Hanson e Gauld 1995), esta espécie tem o cório coberto por protuberâncias em sua
310 superfície. Outro Pteromalidae que apresenta o ovo semelhante é *M. uniraptor*, que
311 também possui formato alongado, elíptico, afilado nas extremidades e com
312 esculpturações em forma de tubérculos distribuídos por toda superfície, exceto em uma
313 das extremidades (Thomazini e Berti Filho 2000).

314 A característica das larvas de apresentar gradual perda de transparência,
315 tornando-se mais opacas a cada ínstar, assim como na fase de pré-pupa, exibir ausência
316 de movimentos e eliminação do mecônio, é referida para outros pteromalídeos
317 (Thomazini e Berti Filho 2000). Da mesma forma, a presença dos dez pares de
318 espiráculos distribuídos entre os segmentos torácicos e abdominais, é característica de
319 larvas de Hymenoptera (Costa et al. 2006).

320 O período de incubação dos ovos, de um dia, assim como a duração das fases de
321 larva e pupa registrados neste estudo, é semelhante ao obtido por Visarathanonth et al.
322 (2010) avaliando a supressão de *S. zeamais* por *A. calandrae*, tendo o ciclo de vida total
323 completo após 11 dias em média, em condições de 32,5 °C e 70% UR.

324 Em outros hospedeiros ou condições ambientais, entretanto, este período pode
325 variar, como no trabalho de Ahmed (1996) estudando o mesmo parasitoide sobre de *R.*
326 *dominica*, que observou que o período de incubação do ovo foi de 36 horas a 26 °C e de
327 27 h a 30 °C. No trabalho de Ahmed (1996), o estágio larval foi semelhante, entretanto,
328 o pupal foi mais curto, durando de 4 a 5 dias somente. O tempo de desenvolvimento
329 total (de ovo a adulto) foi superior ao presente trabalho, ficando entre 18 e 14 dias,
330 respectivamente, a 26 e 30 °C.

331 Semelhante ao encontrado para *L. serricorne* neste estudo, parasitando os
332 hospedeiros *Trogoderma granarium* Everts (Col.: Dermestidae) e *Callosobruchus*

333 *chinensis* (L., 1758) (Col.: Chrysomelidae), *A. calandrae* levou, em média 14 dias para
334 emergir (Sweetman 1964).

335 O desenvolvimento de *A. calandrae* é semelhante ao de outros pteromalídeos e
336 também neste, pode ocorrer variação no tempo, dependente da temperatura. Observou-
337 se, entretanto, que ocorrem variações no tempo de desenvolvimento, de 11 a 18 dias em
338 diferentes hospedeiros e temperaturas, portanto, nas liberações massais e em criações no
339 laboratório, é importante conhecer o hospedeiro utilizado e saber as épocas e condições
340 favoráveis para a realização desses procedimentos. Além disso, o trabalho traz a
341 descrição morfológica incluindo as imagens de todas as fases e ístares do
342 desenvolvimento de *A. calandrae*, contribuindo, desta forma para o conhecimento da
343 biologia dessa espécie.

344 *Anisopteromalus calandrae* possui um ciclo de vida semelhante a outros
345 pteromalídeos, completado após, aproximadamente 13 dias, com fases de ovo, quatro
346 ínstares larvais, pré-pupa e pupa, sendo esta última a fase mais longa do ciclo, podendo
347 durar até sete dias. Entretanto, é importante salientar, que assim como outros insetos, o
348 período de desenvolvimento é dependente da temperatura, podendo influenciar de forma
349 direta a amplitude do ciclo.

350 **Agradecimentos**

351 Ao Conselho Nacional de Pesquisa-CNPq pelo apoio financeiro nas bolsas DTI-C com
352 verba do projeto MCTI/CT-Agronegócio/CNPq nº 38/2013 e bolsa de mestrado, à
353 Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC) pela utilização dos laboratórios, ao Centro
354 de Microscopia e Microanálise – CMM da Universidade Federal do Rio Grande do Sul
355 (UFRGS) pelo suporte técnico na realização das eletromicrografias e ao Dr. Alexandre
356 Somavilla do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) pela revisão do
357 texto.

358 **Referências citadas**

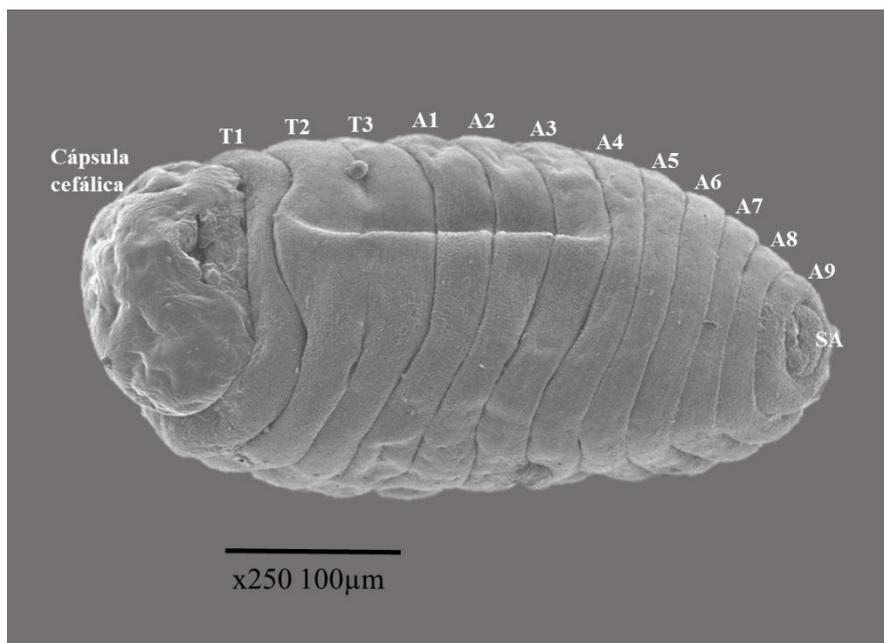
- 359 **Ahmed, K. S. 1996.** Studies on the ectoparasitoid, *Anisopteromalus calandrae* How.
360 (Hymenoptera: Pteromalidae) as a biocontrol agent against the lesser grain borer,
361 *Rhyzopertha dominica* (Fab.) in Saudi Arabia. J Stored Prod Res. 32: 137-140.
- 362 **Anbrosano, G. M. B., T. Igue, e A. L. Lourenção. 1997.** Determinação do número de
363 ínstars de insetos utilizando modelo de regressão segmentado. Anais da Sociedade
364 Entomológica do Brasil. 26: 371-374.
- 365 **Baur, H., Y. Kranz-Baltensperger, A. Cruaud, J. Y. Rasplus, A. V. Timokhov, e V.**
366 **E. Gokhman. 2014.** Morphometric analysis and taxonomic revision of
367 *Anisopteromalus* Ruschka (Hymenoptera: Chalcidoidea: Pteromalidae) – an
368 integrative approach. Syst. Entomol., 39: 691–709.
- 369 **Belda, C., e J. Riudavets. 2010.** Attraction of the parasitoid *Anisopteromalus*
370 *calandrae* (Howard) (Hymenoptera: Pteromalidae) to odors from grain and stored
371 product pests in a Y-tube olfactometer. Biol. Control. 54: 29–34
- 372 **Chaisaeng, P., W. Chongrattanameteekul, P. Visarathanonth, e B. Vajarasathiar.**
373 **2010.** Laboratory studies on control of the maize weevil *Sitophilus zeamais* by the
374 parasitoid *Anisopteromalus calandrae*. Science Asia. 36: 6–11.
- 375 **Costa, C., S. Ide, e C. Simonka. 2006.** E. Insetos Imaturos: Metamorfose e
376 Identificação. Editora Holos, Ribeirão Preto, SP, Brazil.
- 377 **Gómez, J. F., J. L. Nieves-Aldrey, e M. H. Nieves. 2008.** Comparative morphology,
378 biology and phylogeny of terminal-instar larvae of the European species of
379 Toryminae (Hym., Chalcidoidea, Torymidae) parasitoids of gall wasps (Hym.
380 Cynipidae). Zool J Linnean Soc. 154: 676-721.
- 381 **Gómez, J. F., J. L. Nieves-Aldrey, M. H. Nieves, e G. N. Stone. 2011.** Comparative
382 morphology and biology of terminal-instar larvae of some *Eurytoma*
383 (Hymenoptera, Eurytomidae) species parasitoids of gall wasps (Hymenoptera,
384 Cynipidae) in western Europe. Zoosystema. 33: 287-323.
- 385 **Hanson, P. E., e I. D. Gauld. 1995.** The Hymenoptera of Costa Rica. – Oxford
386 University Press.
- 387 **Hanson, P. E., e S. L. Heydon. 2006.** Família Pteromalidae, pp. 673-681. In F.
388 Fernández, and M. J. Sharkey (eds.), Introducción a los Hymenoptera de la Región
389 Neotropical. Sociedad Colombiana de Entomología y Universidad Nacional de
390 Bogotá, Bogotá, Colombia.
- 391 **Menon, A., P. W. Flinn, A. Barry, e B. A. Dover. 2002.** Influence of temperature on
392 the functional response of *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera:

- 393 Pteromalidae), a parasitoid of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). J
394 Stored Prod Res. 38: 463–469.
- 395 **Ozelame, A. L., S. D. Nörnberg, e D. E. Nava. 2011.** Exigências térmicas e número de
396 gerações de *Anisopteromalus calandrae*, em *Sitophilus zeamais*. 12º SICONBIOL,
397 Simpósio de Controle Biológico.
- 398 **Rafael, J. A., G. A. R. Melo, C. J. B. Carvalho, S. A. Casari, e R. Constantino.**
399 **2012.** Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia . Ribeirão Preto: Holos, Editora.
- 400 **Sureshan, P. M. A. 2010.** New species of *Anisopteromalus* Ruschka (Hymenoptera:
401 Chalcidoidea: Pteromalidae) from Sri Lanka. Journal of Threatened Taxa. 2: 1144–
402 1146.
- 403 **Sweetman, H. L. 1964.** The Principles of Biological Control. Brown Comp. Iowa,
404 USA.
- 405 **Thomazini, M. J. e E. Berti Filho. 2000.** Tabela de Vida de Fertilidade de
406 *Muscidifurax uniraptor* Kogan & Legner (Hymenoptera: Pteromalidae) em Pupas
407 de *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Anais da Sociedade Entomologica*
408 *Brasileira*, vol. 29, no. 4, pp. 715-721, 2000.
- 409 **Visarathanonth, P., R. Kengkanpanich, J. Uraichuen, e J. Thongpan. 2010.**
410 Suppression of *Sitophilus zeamais* Motschulsky by the ectoparasitoid,
411 *Anisopteromalus calandrae* (Howard). Julius-Kühn-Archiv, Nr. 425, pp. 755-759.

412 **Tabela 1.** Dimensões médias (\pm DP) das diferentes fases de desenvolvimento de *A.*
 413 *calandare* em larvas de *L. serricorne*. Fotofase 12 h, temperatura 27 ± 2 °C e umidade
 414 relativa $60 \pm 10\%$.

Fase / ínstar	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Largura da cápsula cefálica (mm)
Ovo	$0,40 \pm 0,028$	$0,13 \pm 0,015$	-
Larva	1° ínstar	$0,52 \pm 0,128$	$0,21 \pm 0,066$
	2° ínstar	$0,96 \pm 0,095$	$0,43 \pm 0,048$
	3° ínstar	$1,52 \pm 0,236$	$0,70 \pm 0,095$
	4° ínstar	$2,14 \pm 0,118$	$0,97 \pm 0,066$
Pré-pupa	$1,94 \pm 0,143$	$0,96 \pm 0,068$	$0,40 \pm 0,051$
Pupa ♀	$2,09 \pm 0,209$	$0,91 \pm 0,054$	$0,72 \pm 0,038$
Pupa ♂	$1,78 \pm 0,053$	$0,803 \pm 0,063$	$0,66 \pm 0,072$

415

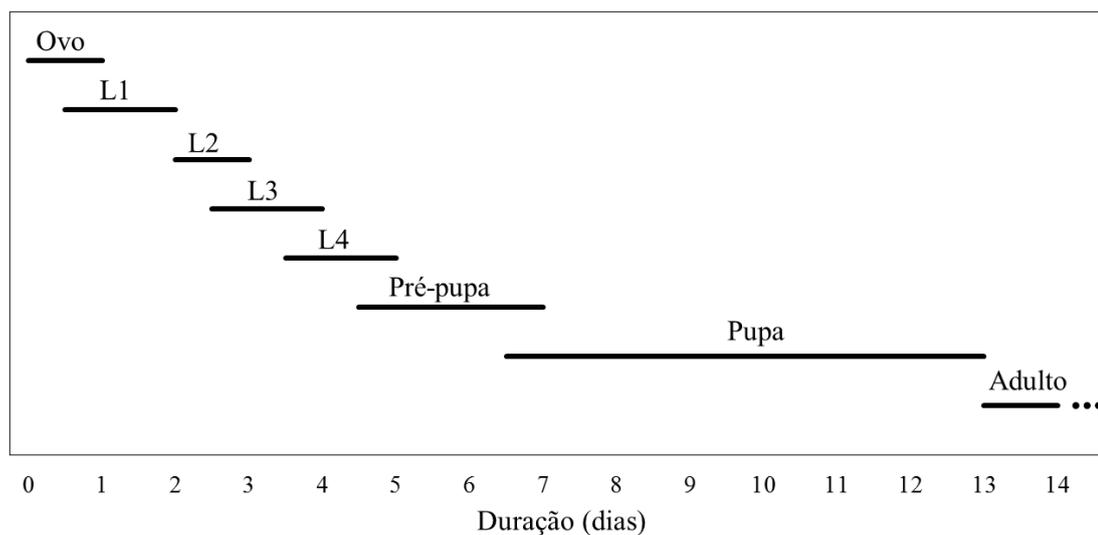


416

417 **Fig. 1.** Larva de primeiro ínstar (vista ventral) ilustrando a terminologia utilizada no
418 texto. As letras referem-se às seguintes estruturas: T1 – T3, segmentos torácicos; A1 –
419 A9, segmentos abdominais e SA, segmento anal.

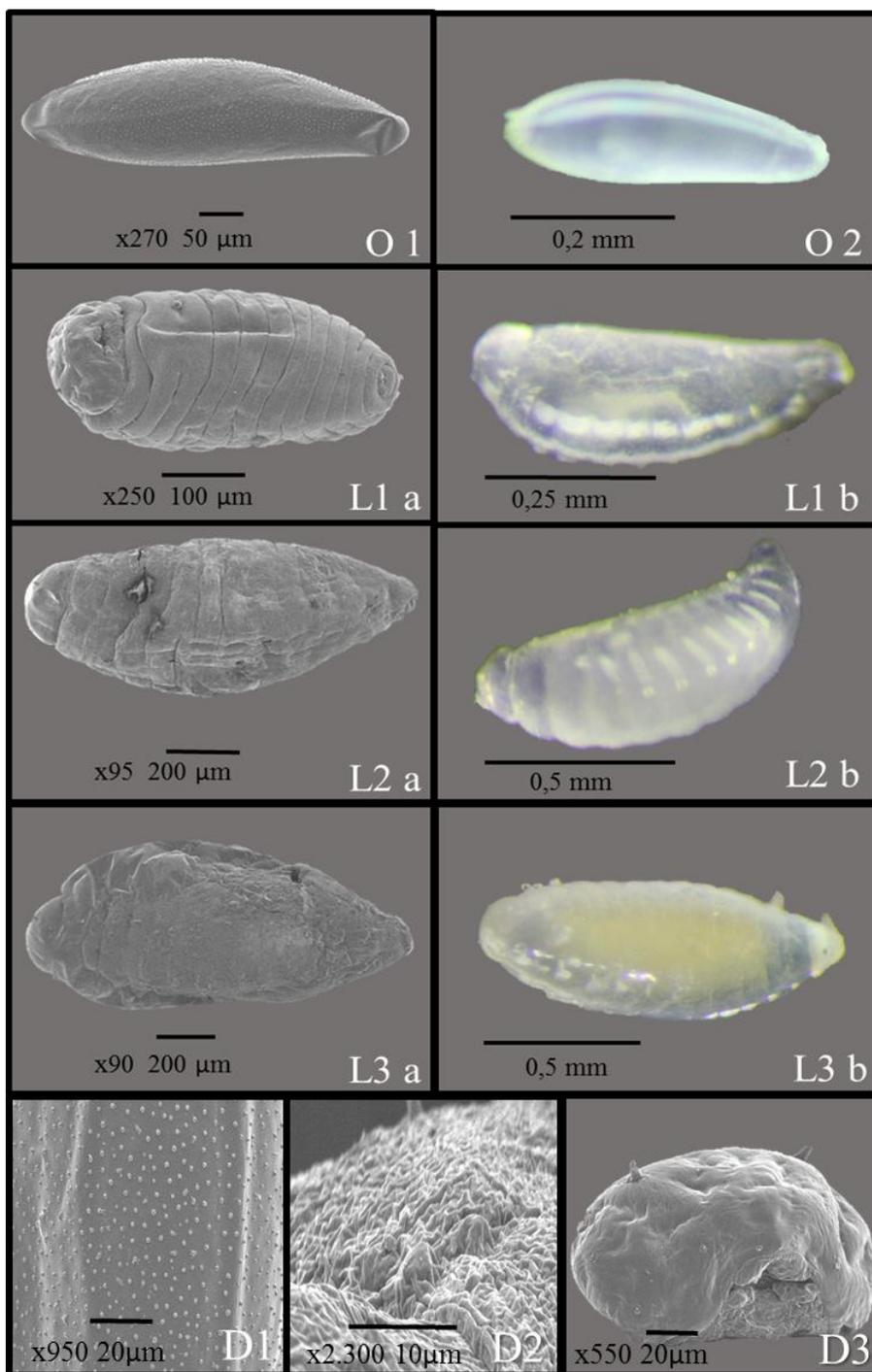
420

421



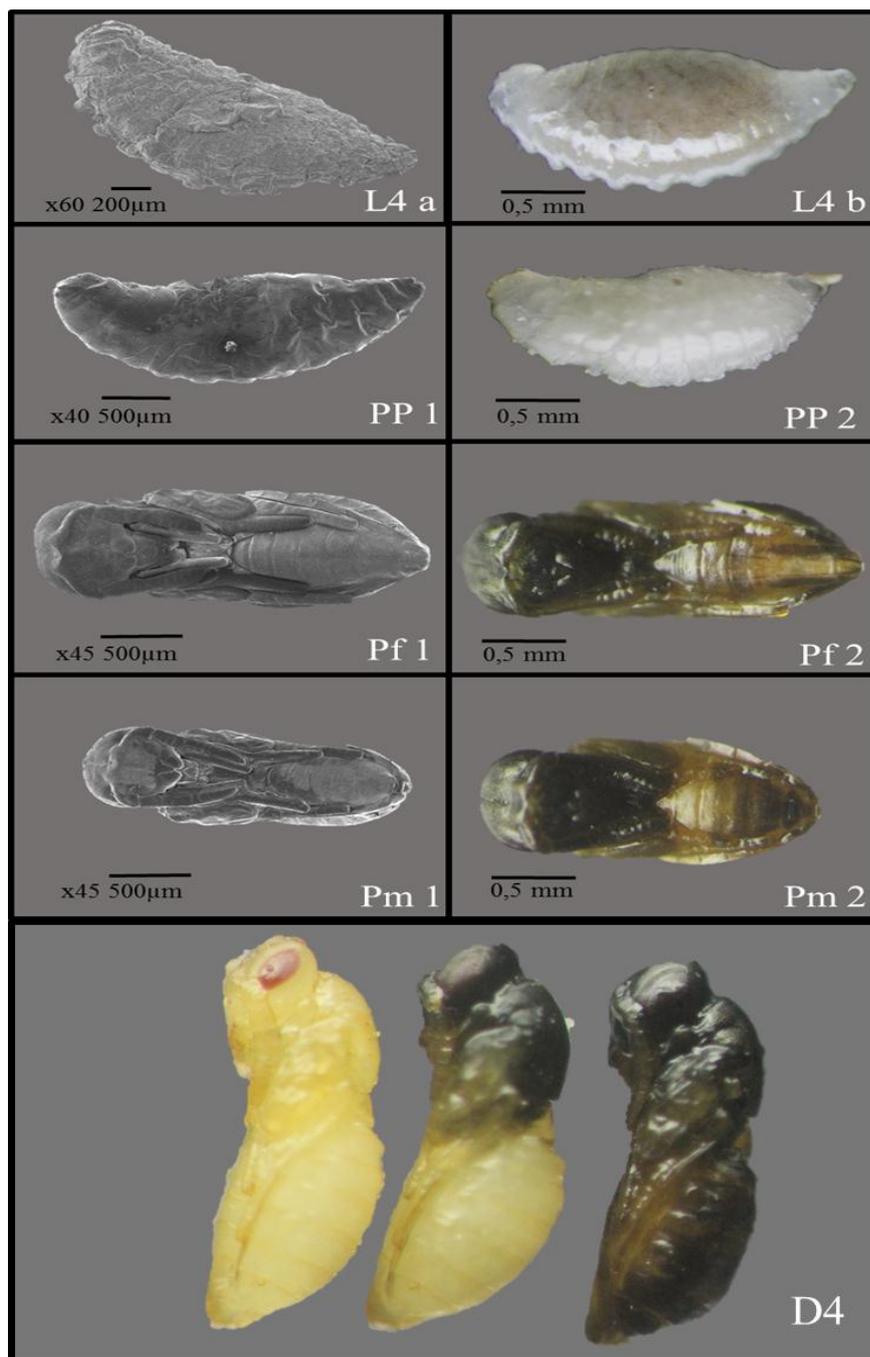
422

423 **Fig. 2:** Tempo de desenvolvimento total das fases imaturas do parasitoide
424 *Anisopteromalus calandrae* em larvas de *Lasioderma serricorne*. Fotofase 12 h,
425 temperatura 27 ± 2 °C e umidade relativa $60 \pm 10\%$.
426



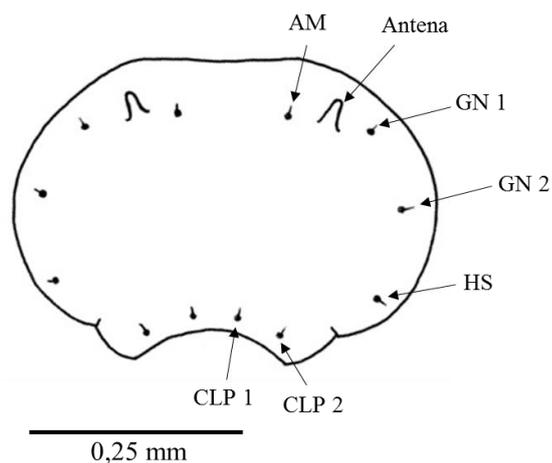
427

428 **Fig. 3.** Imagens das fases imaturas de *Anisopteromalus calandrae* criados sobre larvas
 429 de *Lasioderma serricorne*. Eletromicrografias obtidas através de microscópio eletrônico
 430 de varredura (M.E.) e fotografias de visualizações em estereomicroscópio (F.E.). **O1**
 431 (M.E.) e **O2** (F.E.): Ovos; **L1a** (M.E.) e **L1b** (F.E.): Larvas de primeiro ínstar, vista
 432 ventral e lateral; **L2a** (M.E.) e **L2b** (F.E.): Larvas de segundo ínstar em vista lateral;
 433 **L3a** (M.E.) e **L3b** (F.E.): Larvas de terceiro ínstar em vista dorsal e lateral; **D1** (M.E.):
 434 Detalhe da superfície externa do ovo; **D2** (M.E.): Detalhe da superfície externa geral
 435 das larvas; **D3** (M.E.): Detalhe da cápsula cefálica da larva de primeiro instar.
 436



437

438 **Fig. 4.** Imagens das fases imaturas de *Anisopteromalus calandrae* criados sobre larvas
 439 de *Lasioderma serricorne*. Eletromicrografias obtidas através de microscópio eletrônico
 440 de varredura (M.E.) e fotografias de visualizações em estereomicroscópio (F.E.). **L4a**
 441 (M.E.) e **L4b** (F.E.): Larvas de quarto ínstar em vista lateral; **PP1** (M.E.) e **PP2** (F.E.):
 442 Pré-pupas em vista lateral; **Pf1** (M.E.) e **Pf2** (F.E.): Pupas fêmea em vista ventral; **Pm1**
 443 (M.E.) e **Pm2** (F.E.): Pupas macho em vista ventral; **D4** (M.E.): Pupa fêmea em
 444 diferentes tempos de desenvolvimento, mostrando alterações na coloração.
 445



446

447 **Fig. 5.** Desenho da cápsula cefálica de larva de quarto ínstar de *A. calandrae* ilustrando
448 a quetotaxia em vista frontal. Legenda: AM: Cerda antero-medial da região antenal;
449 CLP 1 e CLP 2: Cerdas clipeais; GN1 e GN2: Cerdas genais; HS: Cerda hipostomal.

450

451

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos nas condições testadas, foi possível observar que no desenvolvimento e reprodução de *A. calandrae* sobre larvas de *L. serricorne* os fatores que proporcionaram melhores condições foram, a dieta do hospedeiro somente composta por farinha de trigo, fotofase de 12 horas durante todo o período de desenvolvimento e exposição de conjuntos de 50 ou mais larvas hospedeiras por casal de parasitoides, principalmente quando esse contato é realizado durante o período de vida adulto do parasitoide. A exposição de quantidades menores de larvas hospedeiras, por um longo período, pode causar superparasitismo e assim inviabilizar o aumento da criação em laboratório.

As fêmeas de *A. calandrae* podem sobreviver por até 25 dias, entretanto, são nos 10 primeiros dias de vida que elas expressam seu máximo potencial reprodutivo. Elas se mostraram mais longevas que os machos apresentando uma média de vida de 11 dias, enquanto os machos viveram em média 9 dias. Não apresentando diferença significativa entre eles.

Anisopteromalus calandrae possui um ciclo de vida em torno de 13 dias, com fases de ovo, quatro ínstaes larvais, pré-pupa e pupa, sendo esta última a mais longa e podendo durar até sete dias.

Embora os dados do presente estudo tragam informações importantes sobre a criação desse parasitoide em laboratório, informações adicionais sobre a capacidade de

busca, influência de fatores abióticos, parasitismo e liberações em armazéns se fazem necessárias para se estabelecer com eficiência, programas de manejo de coleópteros praga de produtos armazenados.

Considerando os aspectos levantados, pode-se conceber a ideia de que esta espécie seja um potencial organismo para uso em criações massais e um bom agente de controle biológico.