

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

BIOLOGIA E POTENCIAL DE *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) PARA O
CONTROLE DE *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792)

Kássia Cristina Freire Zilch
Bióloga/UNISC
Mestre em Fitotecnia/UFRGS

Tese apresentada como um dos requisitos à obtenção
do Grau de Doutor em Fitotecnia
Área de Concentração Sanidade vegetal

Porto Alegre (RS), Brasil
Abril, 2021

CIP - Catalogação na Publicação

Zilch, Kássia Cristina Freire
Biologia e potencial de *Anisopteromalus calandrae*
(Howard, 1881) para o controle de *Lasioderma*
serricornis (Fabricius, 1792) / Kássia Cristina Freire
Zilch. -- 2021.
104 f.
Orientadora: Simone Mundstock Jahnke.

Coorientador: Andreas Köhler.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS,
2021.

1. Controle Biológico. 2. Entomologia. 3. Produtos
armazenados. 4. besouro-do-fumo. I. Jahnke, Simone
Mundstock, orient. II. Köhler, Andreas, coorient.
III. Título.

KÁSSIA CRISTINA FREIRE ZILCH

Bacharel em Ciência Biológicas - UNISC
Mestra em Fitotecnia - UFRGS

TESE

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

DOCTORA EM FITOTECNIA

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

Aprovado em: 30.04.2021
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 01.10.2021
Por (via videoconferência)

SIMONE MUNDSTOCK JAHNKE
Orientadora - PPG Fitotecnia
UFRGS

CARLA ANDRÉA DELATORRE
Coordenadora do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia

ANDREAS KÖHLER
Coorientador
UNISC

LUIZA RODRIGUES REDAELLI
PPG Fitotecnia/UFRGS

ROSANA MATOS DE MORAIS
SEAPDR/RS

RAFAEL DA SILVA GONÇALVES
Partamon

CARLOS ALBERTO BISSANI
Diretor da Faculdade de
Agronomia

AGRADECIMENTOS

Considerando esta tese 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. 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 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. Gratidão!

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

À empresa JTI, por todo o apoio logístico, por ceder pessoal e fornecer os armazéns para realização dos experimentos. Aos produtores de tabaco pelo auxílio, colaboração e por conceder os galpões para realização deste estudo.

Ao CNPq pelo suporte financeiro durante o período de bolsa.

Ao amigo Cleder Pezzini por todo auxílio e suporte no desenvolvimento deste trabalho, pela companhia nas disciplinas, nas inúmeras viagens pra PoA e pela amizade desde 2009. Valeu Cleder!

Aos amigos e colegas atuais e antigos do Laboratório de Entomologia da UNISC, José Lemes, Grazielle Stumm, Sheila Puntel, Karine Schöeninger, Evelise Fritsch, Thaís Silva, Tuanne Carvalho, Milena Rauber e Régis Bohn. Obrigada pelos momentos de trabalho juntos, pelo chimarrão, pelas risadas e pela amizade. Especialmente a minha querida amiga Duda Bender, por toda ajuda de sempre, pela paciência pra abrir casulos, disposição, alto astral e pela companhia e amizade todos esses anos. E para minhas super ajudantes Karine Erath e Ana Júlia Stäler pela amizade e companheirismo e por toda ajuda na criação e nos experimentos. Valeu gurias!

Aos amigos e colegas do Laboratório de Controle Biológico da UFRGS, pela amizade, apoio e auxílio. Aos queridos professores da Ento, Luiza Redaelli e Josué Sant’Ana por todo conhecimento transmitido, pelo apoio e incentivo nessa caminhada.

Á todos aqueles que tiveram participação em minha vida acadêmica, meu muito obrigada pelo convívio e amizade.

BIOLOGIA E POTENCIAL DE *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) PARA O CONTROLE DE *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792)¹

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

RESUMO

O controle biológico de insetos praga em produtos armazenados é um grande desafio. O parasitoide *Anisopteromalus calandrae* é um importante inimigo natural de coleópteros como *Lasioderma serricorne*, conhecido como besouro-do-fumo. Este himenóptero parasitoide é um agente promissor para ser utilizado em programas de controle de *L. serricorne* e outras pragas de produtos armazenados. Dessa forma, objetivou-se aferir aspectos biológicos de *A. calandrae* parasitando larvas de *L. serricorne*, com a influência da alimentação com mel; avaliar a capacidade de busca das fêmeas por larvas do hospedeiro em diferentes profundidades de tabaco seco armazenado; e quantificar a densidade do besouro-do-fumo em galpões de armazenamento de tabaco de produtores rurais e da indústria, sob a ação do parasitoide a partir de liberações massais. Foram registrados parâmetros de longevidade, emergência da prole, parasitismo e razão sexual, para adultos do parasitoide alimentados com mel e comparados aos sem alimentação. Foi registrado o índice de parasitismo e mortalidade de larvas com casulo de *L. serricorne* oferecidos aos parasitoides em tubos de PVC preenchidos de tabaco seco e picado, em diferentes profundidades e em fardos de tabaco em folha, prensados. Nos galpões dos produtores (safra 2019/20) e da indústria (2017/18 e 2018/19) foi realizado o monitoramento semanal da infestação do besouro-do-fumo por 15 semanas. A cada três ou 4 semanas, realizou-se liberações massais de parasitoides. Parasitoides alimentados com mel foram mais longevos e férteis, sobrevivendo por até 35 dias e gerando uma prole média de 4,5 indivíduos por fêmea. As fêmeas foram capazes de encontrar as larvas de *L. serricorne* em todas as profundidades testadas, obtendo valores de parasitismo de até 84%. Nos fardos, *A. calandrae* também foi capaz de encontrar as larvas e parasitá-las, sendo que quando maior o tempo de exposição, maior foi a taxa de parasitismo. As liberações tanto no produtor, como na indústria de tabaco diminuíram significativamente a infestação do besouro nos galpões. Os resultados desta tese demonstram o potencial de utilização deste parasitoide em ambientes de armazenamento de tabaco.

¹ Tese de Doutorado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (104 f.). Abril, 2021.

**BIOLOGY AND POTENTIAL OF *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881)
FOR THE CONTROL OF *Lasioderma serricornis* (Fabricius, 1792)¹**

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

ABSTRACT

Biological control of pest insects in stored products is a major challenge for integrated pest management. The parasitoid *Anisopteromalus calandrae* is an important natural enemy of beetles such as *Lasioderma serricornis*, known as tobacco beetle. This parasitoid hymenopteran is a promising agent to be used in control programs for *L. serricornis* and other pests of stored products. This study aimed to assess biological aspects of *A. calandrae* parasitizing larvae of the *L. serricornis* with the influence of feeding with honey; to evaluate the ability of females to search for host larvae at different depths of stored dry tobacco; and, to quantify the density of the tobacco beetle in tobacco storage warehouses of farmers and industry under the action of parasitoids mass releases. Parameters of longevity, offspring emergence, parasitism and sex ratio were recorded for adult parasitoids fed with honey and compared to those without food. The parasitism and mortality index of *L. serricornis* larvae with cocoon offered to parasitoids in PVC tubes filled with dry and chopped tobacco, at different depths and in bales of pressed leaf tobacco, was recorded. In the farmers warehouses (harvest 2019/20) and of the tobacco industry (2017/18 and 2018/19) weekly monitoring of the infestation of the tobacco beetle was carried out for 15 weeks. Every three or four weeks there were mass releases of parasitoids. Honey-fed parasitoids were more long-lived and fertile, surviving for up to 35 days and generating an average offspring of 4.5 individuals per female. Females were able to find *L. serricornis* larvae at all depths tested, obtaining parasitism values of up to 84%. In the bales, *A. calandrae* was also able to find and parasitize the larvae, being that longer the exposure time, the higher the parasitism rate. The releases, both at the farmers and in the tobacco industry, significantly reduce the infestation of the beetle in the warehouses. The results of this thesis demonstrate the potential for using this parasitoid in tobacco storage environments.

¹ Doctoral Thesis in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (104 p.). April, 2021.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Cultura do tabaco	4
2.2 Insetos praga de produtos armazenados	6
2.2.1 <i>Lasioderma serricorne</i>	7
2.3 Tipos de controle	9
2.4 Pteromalidae - <i>Anisopteromalus calandrae</i>	13
2.5 Fatores que influenciam o desenvolvimento de inimigos naturais	17
2.6 Referências.....	21
3 ARTIGO 1 - Effect of pure honey on longevity and morphometric characteristics of <i>Anisopteromalus calandrae</i> Howard (Hym., Pteromalidae).....	29
3.1 Introduction.....	31
3.2 Material and methods.....	34
3.3 Results	36
3.4 Discussion	40
3.5 Acknowledgements.....	44
3.6 References.....	44
4 ARTIGO 2 - Search ability of <i>Anisopteromalus calandrae</i> (Howard, 1881) (Hymenoptera: Pteromalidae) for larvae of <i>Lasioderma serricorne</i> at different depths and over time in stored tobacco.....	49
4.1 Introduction.....	51
4.2 Material and methods.....	54
4.3 Results	60
4.4 Discussion	62
4.5 Acknowledgements	66
4.6 References.....	67
5 ARTIGO 3 - Efeito de liberações de <i>Anisopteromalus calandrae</i> (Howard, 1881) (Hym.: Pteromalidae) para controle de <i>Lasioderma serricorne</i> (Fabricius, 1792) (Col: Ptiniidae) em armazenamento de tabaco.....	70
5.1 Introdução	73
5.2 Material e métodos.....	76
5.3 Resultados	81
5.4 Discussão	84
5.5 Conclusão	88
5.6 Agradecimentos	89
5.7 Referências.....	89
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	93

RELAÇÃO DE TABELAS

Página

ARTIGO 1

1. Mean longevity (\pm SE) in days of females and males of *Anisopteromalus calandrae* in treatments with and without honey feeding..... 37
2. Mean parasitism rate/per larvae offered (\pm SE), mean number of offspring per live female (\pm SE), and sex ratio up to the 12th day of evaluation of *Anisopteromalus calandrae* in the treatments with honey daily (Hd), with honey on the first day of emergency (H1) and without honey (NH) feeding with a daily offer of 10 cocoons/couple of *Lasioderma serricorne*. N = 15 couples per treatment 39
3. Mean size (mm) (\pm SD) of *Anisopteromalus calandrae* adults (females ♀ and males ♂) emerged from treatments with honey daily (Hd), with honey on the first day of emergency (H1) and without honey (NH) parasitizing *Lasioderma serricorne*. N = 40. 40

ARTIGO 2

1. Mean (\pm SE) of adults of *Anisopteromalus calandrae* and *Lasioderma serricorne* that emerged at the four depths evaluated and of apparent parasitism and mortality (%) of larvae of *Lasioderma serricorne* by the action of *Anisopteromalus calandrae* (Parasitized + paralyzed) at different depths and in the control treatment (N=20 cocoons and 12 females per replication). 61
2. Mean number (\pm SE) of emerged individuals of *Anisopteromalus calandrae* and *Lasioderma serricorne* with the presence of parasitoids (P) and without (Control) and mortality of larvae of *Lasioderma serricorne* by the action of *Anisopteromalus calandrae* and in the control treatment and apparent parasitism at different exposure times in tobacco bales (N= 180 cocoons and 50 couples of *A. calandrae* per replication)..... 62

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
1. Larva (A), pupa (B) e adulto (C) de <i>Lasioderma serricorne</i>	9
2. Adultos de <i>Anisopteromalus calandrae</i> , macho (A), fêmea (B).....	14
ARTIGO 1	
1. Survival curve of females and males of <i>Anisopteromalus calandrae</i> in treatments with and without honey. *Curves identified with uppercase letters for females and lowercase letter for males differed by the log rank test ($p < 0.05$) Legend: Hd: fed with honey daily; H1: fed with honey only on the first day; NH: Treatment without honey.....	38
2. Mean number of individuals (\pm SD) emerged from eggs placed on <i>Lasioderma serricorne</i> larvae in the days of larval exposure to <i>Anisopteromalus calandrae</i> couples Legend: Hd: fed with honey daily; H1: fed with honey only on the first day; NH: Treatment without honey.	39
ARTIGO 2	
1. Steps taken during the assembly to evaluate the search ability of <i>Anisopteromalus calandrae</i> at different depths of tobacco. Plate adapted with a screen for the passage of parasitoids (A); interior of the PVC tube showing the disposition of the plate in one of the evaluated depths (B); inside of the tobacco-filled PVC tube (C); closed PVC tube with organza fabric for ventilation and preventing the escape of parasitoids (D); tubes stored in an air-conditioned room (E).	56
2. Bale of tobacco used in the usual storage dimensions (cm) (A); detail of the placement of the plate containing the larvae of <i>Lasioderma serricorne</i> in the bale packed in an organza-type fabric bag (B); release of parasitoids inside the bag (C); closed tissue bag after releasing parasitoids inside (D).....	57
3. 3D sketch of the layout of plates within the tobacco bale. Dotted arrow indicates the location of parasitoid release	58
4. Correlation between the mean number (\pm SE) of <i>Anisopteromalus calandrae</i> emerged by depth of <i>Lasioderma serricorne</i> larvae location in tobacco (N=20 cocoons and 12 females per replication)	61
ARTIGO 3	
1. Quantidade de tabaco armazenado por metro quadrado dentro dos armazéns da indústria ao longo das semanas durante as duas safras avaliadas.	79

	Página
2. Croqui dos armazéns utilizados no experimento. (A) armazém tratamento, com disposição das armadilhas de feromônio para monitoramento de <i>Lasioderma serricorne</i> e dos recipientes com parasitoides, <i>Anisopteromalus calandrae</i> utilizados para as liberações. (B) armazém testemunha, com a disposição das armadilhas de monitoramento.	80
3. Número médio (\pm EP) de <i>Lasioderma serricorne</i> capturados nas armadilhas colocadas nos galpões de tabaco de produtores durante o período monitoramento na safra de 2019/20 (de 11/12/2019 à 28/03/2020). Setas (\blacktriangledown) indicam as ocasiões de liberação, chave ({} indica o monitoramento inicial (sem liberação) e barras com asterisco (*) indicam diferença significativa entre tratamento e testemunha pelo teste Mann-Withney ($p < 0,05$).....	82
4. Número médio (\pm EP) de <i>Lasioderma serricorne</i> por m ² de tabaco estocado capturados nas armadilhas colocadas nos armazéns de tabaco da empresa durante o período monitoramento da safra 2017/18 (03/03/19 à 16/06/19). Legenda: Setas (\blacktriangledown) indicam as ocasiões de liberação, chave ({} indica o monitoramento inicial (sem liberação) e barras com asterisco (*) indicam diferença significativa entre tratamento e testemunha pelo teste mann-withney ($p < 0,05$).	83
5. Número médio (\pm EP) de <i>Lasioderma serricorne</i> por m ² de tabaco estocado capturados nas armadilhas colocadas nos galpões de tabaco da empresa durante o período monitoramento da safra 2018/19. Setas (\blacktriangledown) indicam as ocasiões de liberação, chave ({} indica o monitoramento inicial (sem liberação) e barras com asterisco (*) indicam diferença significativa entre tratamento e testemunha pelo teste Mann-Withney ($p < 0,05$).....	84

1 INTRODUÇÃO

Os produtos advindos da produção agrícola, em sua maioria, são armazenados em grandes quantidades, como é o caso dos grãos, farinhas, especiarias, entre outros. Por conta da abundância dos recursos disponíveis, alguns insetos se adaptaram muito bem a esses ambientes, proliferando-se com rapidez, causando danos aos produtos e se tornando pragas.

Um exemplo é o besouro-do-fumo, *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Col.: Ptiniidae), que, apesar de seu nome popular, relacionado à principal cultura à qual causa dano, também ataca uma grande variedade de outros produtos armazenados, tais como soja, farinhas, cacau, frutas secas e oleaginosas. No tabaco, suas larvas se alimentam das folhas secas, danificando e depreciando o produto, desde o armazenamento nos galpões do produtor até a comercialização de cigarros e charutos.

Inseticidas químico-sintéticos, a base de fosfeto de alumínio e magnésio, são os únicos produtos indicados para o controle de *L. serricorne* no Brasil. Entretanto, já se sabe que existem populações resistentes às doses máximas desses produtos. Isso evidencia a necessidade urgente da utilização de um Manejo Integrado de Pragas (MIP) no armazenamento para reduzir o número de espécies resistentes ou, no mínimo, retardar o aparecimento do problema da resistência e também diminuir o uso de defensivos químicos para mitigar infestações.

Uma das alternativas que vem se mostrando promissora, é o controle biológico com a utilização de parasitoides que se destacam como o principal grupo de inimigos naturais em sistemas agrícolas. O controle biológico aplicado, utilizando himenópteros parasitoides, tem crescido nos últimos tempos. O seu uso é mais frequente no controle de pragas agrícolas a campo, com liberações massais de parasitoides de ovos ou larvas. Na Europa existem empresas que comercializam algumas espécies de parasitoides para controle de pragas agrícolas de armazenamento, como é o caso de *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hym.: Pteromalidae), parasitoide de vários coleópteros praga, incluindo *L. serricornis*.

Entretanto, apesar do potencial que esses agentes de controle biológico possuem, no Brasil ainda são pouco aplicados em função dos problemas técnicos envolvidos na sua produção e utilização, como por exemplo, a dificuldade de criação em grande escala, o controle de qualidade e os métodos de liberação. Além disso, agricultores e técnicos agrícolas ainda possuem uma cultura fundamentada na utilização de agroquímicos, somada a inexistência de políticas públicas específicas que auxiliem e divulguem a tecnologia do controle biológico aos agricultores e à sociedade em geral, fazendo com que essa metodologia ainda seja pouco explorada.

Sendo assim, a investigação de fatores que auxiliem na elaboração de estratégias e metodologias de utilização desses inimigos naturais em ambientes de armazenamento, específicas de cada espécie praga, torna-se cada vez mais necessária para levar alternativas econômicas e sustentáveis a produtores e indústria.

Dessa forma, objetivou-se com o presente estudo, investigar aspectos da biologia e ecologia de *A. calandrae*, e avaliar o seu potencial de controle sobre populações de *L. serricornis*, levando em consideração os seguintes aspectos: a) a influência da adição de mel na alimentação de parasitoides adultos em parâmetros reprodutivos e morfométricos;

b) a capacidade de busca de fêmeas de *A. calandrae* por hospedeiros em diferentes profundidades de tabaco armazenado; e, c) o efeito de liberações de *A. calandrae* em galpões de produtores de tabaco e da indústria no controle de infestações por *L. serricorne*.

Os resultados da tese estão apresentados na forma de três artigos: Effect of pure honey on longevity and morphometric characteristics of *Anisopteromalus calandrae* Howard (Hym., Pteromalidae); Search ability of *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hymenoptera: Pteromalidae) for hosts at different depths of stored tobacco; e Efeito de liberações de *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hym.: Pteromalidae) para controle de *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Col: Ptiniidae) em locais de armazenamento de tabaco.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultura do tabaco

Nativo das Américas tropical e subtropical, o tabaco é atualmente produzido com fins comerciais no mundo todo. No Brasil, é plantado principalmente na Região Sul e no estado do Rio Grande do Sul estão as áreas mais importantes de cultivo (Landoni, 2018; Kist *et al.*, 2020). A cultura apresenta grande importância econômica, devido ao elevado valor comercial e à capacidade de empregar um grande número de pessoas, tanto no cultivo, como na industrialização (Specht *et al.*, 2006).

Muitas famílias produzem tabaco com base num sistema de produção integrada que assegura a compra de toda a safra pelas indústrias (Guilhoto *et al.*, 2006). Essa verticalidade pode evitar prejuízos com a oscilação de mercado que afeta outras culturas e ajuda a dimensionar a lavoura conforme a demanda (Carvalho *et al.*, 2014; SINDITABACO, 2020). No sul do Brasil, o tamanho médio das propriedades produtoras de tabaco é em torno de 15 hectares (Mendes *et al.*, 2015). A renda do cultivo representa para o produtor, expressivos 53% da sua receita anual (Carvalho *et al.*, 2014). Esse retorno econômico reflete o motivo de 150 mil famílias de produtores possuírem fidelidade à atividade (Kist *et al.*, 2016). A safra de tabaco 2019/20, no sul do Brasil, foi produzida por 146.430 famílias produtoras, numa área plantada de 260.606 ha, gerando uma produção total de 603.410 toneladas de tabaco e uma renda bruta de R\$ 5,6 bilhões (AFUBRA, 2019; SINDITABACO, 2021).

Após a colheita, o tabaco passa por um processo de secagem no qual as folhas do fumo são acondicionadas em estufas ou galpões, dependendo da variedade de fumo e sofrem um processo de cura, ou seja, perda de água, mudança de cor e uma série de transformações bioquímicas (Souza Cruz, 2010; Carvalho *et al.*, 2014). Após esse período de cura, o tabaco é armazenado imediatamente sendo colocado em filas duplas com as pontas das folhas sempre para dentro da pilha e cobertas por lona ou aniagem, para evitar o reumedecimento. Para a comercialização, o produtor classifica o tabaco conforme a qualidade e o empacota em fardos de, aproximadamente, 50 kg (Souza Cruz, 2010; Carvalho *et al.*, 2014). O período de armazenagem nos galpões pode durar até seis meses, e posteriormente, quando vendido à indústria, também fica estocado em fardos ou caixas por vários meses até ser transportado para exportação ou para produção de cigarros. Durante este período, surgem insetos que, ao se alimentarem do tabaco, causam danos expressivos na qualidade do produto (Guedes & Costa, 2006). Estimativas apontam que as perdas podem variar de 10% a 50% (Pimentel *et al.*, 2011).

Algumas medidas preventivas são indicadas aos produtores antes de iniciar o armazenamento do tabaco no galpão, para evitar a infestação de insetos, como a limpeza geral, o forramento com lonas plásticas nas paredes e no assoalho e a eliminação de todo o tabaco que por ventura ficou remanescente de safras passadas ou outros restos de culturas, pois estes se transformam em focos de infestação (Guedes & Sulzbach, 2006). O tabaco não deve ser armazenado, mesmo que temporariamente, com outros produtos, como grãos e rações. Também é recomendável fechar bem o galpão, impedindo a entrada de animais domésticos. Todas essas ações auxiliam a prevenir as pragas, ao mesmo tempo que colaboram para manter a qualidade desejada do produto (Collins & Hawks, 2011).

2.2 Insetos praga de tabaco armazenado

No tabaco produzido no Brasil, há registro de 93 espécies animais que utilizam suas estruturas vegetais como alimento (Silva *et al.*, 1968). Nesta cultura, o conceito de praga é ainda mais rigoroso que em outras, pois a maioria causa danos diretos ao produto final, que são suas folhas e, portanto, a tolerância às populações é ainda menor (Guedes & Costa, 2006).

O cultivo é acometido por um grupo de insetos praga que podem ser divididos nos que danificam as raízes e caule, os que cortam as folhas, os que sugam a seiva e os que atacam o produto seco (Guedes & Sulzbach, 2006). Estes últimos relacionam-se especificamente ao período de transporte e armazenamento. Segundo Menten (1982), uma das características mais comuns dos insetos praga de produtos armazenados é o alto potencial de reprodução em um curto período de tempo. Para iniciar uma infestação que pode provocar a deterioração dos produtos, segundo o mesmo autor, é necessário um pequeno número de insetos, graças à alta capacidade de reprodução e por poderem permanecer em repouso em algum dos estágios imaturos com condições adversas.

No armazenamento em galpões da propriedade rural ou mesmo nos depósitos das empresas beneficiadoras de tabaco, as principais pragas que atacam o produto são o besouro-do-fumo, *L. serricornis* e as traças *Ephestia elutella* (Hübner, 1796) e *Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879) (Lep.: Pyralidae) (Guedes & Costa, 2006). Os estragos provocados pelas três espécies no tabaco são devidos principalmente às larvas que, ao se alimentarem, consomem as folhas, formam galerias e seus excrementos e exúvias contaminam o produto (Carvalho *et al.*, 2003; Saglam *et al.*, 2015).

Em ambas as espécies de traças são as larvas, de modo geral, que se desenvolvem sobre resíduos deixados pela ação de outras pragas. No fumo, alimentam-se diretamente das folhas secas e seu ataque prejudica a qualidade e torna o produto inviável para o

consumo, em razão da grande quantidade de resíduos dos insetos (Athié & Paula, 2002). Sua presença prejudica também a qualidade dos produtos por causa da formação de uma teia na superfície dos mesmos, que serve de refúgio e pode causar problemas operacionais em equipamentos durante o beneficiamento (Loeck, 2002; Mariano, 2005).

Assim como as traças, são as larvas de *L. serricorne* que causam os principais danos (Athié & Paula, 2002; Loeck, 2002; Lorini *et al.*, 2015).

2.2.1 *Lasioderma serricorne*

O coleóptero *L. serricorne*, popularmente conhecido como o besouro-do-fumo, é encontrado em regiões tropicais, subtropicais e temperadas do mundo (Loeck, 2002). É considerado um inseto cosmopolita, e um fato curioso citado por Ashworth (1993), em sua revisão da biologia de *L. serricorne*, é que em 1931 houve a descrição da presença de exemplares da espécie em resinas desidratadas na tumba do faraó egípcio Tutancámon (1332-1322 a. C.) e junto à múmia de Hamsés II (1279-1213 a. C.) encontrada em 1982. Assim foi revelada a presença desse besouro a mais de 3 mil anos, vinculado à atividade humana desde o mundo antigo e evidenciando sua distribuição cosmopolita nos tempos atuais (Silva, 2017).

O besouro do fumo é uma praga primária que se alimenta de fumo armazenado e é também relatada consumindo produtos de origem animal, oleaginosas, cereais, grãos de cacau, farinhas, especiarias e frutas secas (Athié & Paula, 2002; Loeck, 2002). Também está se tornando um sério problema em grãos de soja armazenados (Lorini *et al.*, 2015).

Os adultos apresentam formato ovalado com comprimento entre 2 a 3,7 mm (Fig.1 C). A cabeça é defletida sob o protórax, os élitros são lisos sem estrias ou pontuações a antena tem onze segmentos com os anterômeros do 4º ao 10º serreados, tarsos com cinco segmentos e o corpo apresenta pelos claros, finos e sedosos (Collier,1981; Gallo *et al.*,

2002). São bons voadores, dispersam-se com facilidade e possuem uma coloração que varia de marrom claro a escuro (Ramos & Nanya, 2009).

O tempo de desenvolvimento de *L. serricorne* pode variar de 6 a 35 dias, dependendo da temperatura, da umidade e do substrato no qual está se desenvolvendo (Howe, 1957; Velasquez & Trivelli, 1983). O fotoperíodo também pode influenciar o desenvolvimento, como evidenciado no estudo de Kismali & Göktay (1988), que registraram que em contínua escuridão houve um atraso na eclosão, ocorrendo em 68 dias mesmo à uma temperatura de 27 °C.

O ovo desta espécie é colocado isoladamente no meio do substrato, onde, posteriormente, as larvas irão se alimentar. Assim que eclode, a larva também pode se alimentar do córion do ovo, devido às proteínas presentes nessa estrutura (Kismali & Göktay, 1988; Loeck, 2002). A larva passa por quatro ínstaes, ocorrendo a seguir a fase de pupa em uma célula ou casulo, construída no substrato ou dentro de um grão, a qual dura cerca de nove dias a 32,5 - 35 °C (Evans, 1981). A coloração das larvas é branco-amarelada e são do tipo escarabeiforme, com cabeça proeminente não retraída para dentro do protórax (Fig.1A). Apresenta corpo robusto, acentuadamente curvado e coberto por fina pilosidade, com pernas segmentadas (Collier, 1981; Evans, 1981). Segundo Munro (1966), as larvas de *L. serricorne* diferem das de outros ptnídeos encontrados em produtos armazenados por não possuírem fileiras de espinhos nos segmentos abdominais.

Antes de iniciarem a transformação para o estágio pupal, as larvas produzem um casulo, composto por uma película fina de partículas de alimento unidas por uma secreção produzida pelo trato digestivo (Howe, 1957; Silva, 2017). As larvas dentro do casulo, transformam-se em pupas e a duração desse estágio é em média de 4 à 6 dias (Yu *et al.*, 2010). As pupas, exaratas, apresentam coloração esbranquiçada, comprimento médio de 4,5 mm e é possível realizar a sexagem da espécie nessa fase (Fig. 1B). Os

machos apresentam papilas genitais globulares e não protuberantes, enquanto as fêmeas apresentam papilas genitais protuberantes, trissegmentadas e distintamente divergentes (Halstead, 1963).

O adulto permanece alguns dias no interior do casulo pupal antes de emergir e, assim que emerge, evita a luz se escondendo em frestas (Evans, 1981). Em condições de 30 a 35 °C e umidade relativa de 60 a 70% sua longevidade fica em torno de 25 dias, condição mais favorável para a espécie (Howe, 1957; Silva, 2017).

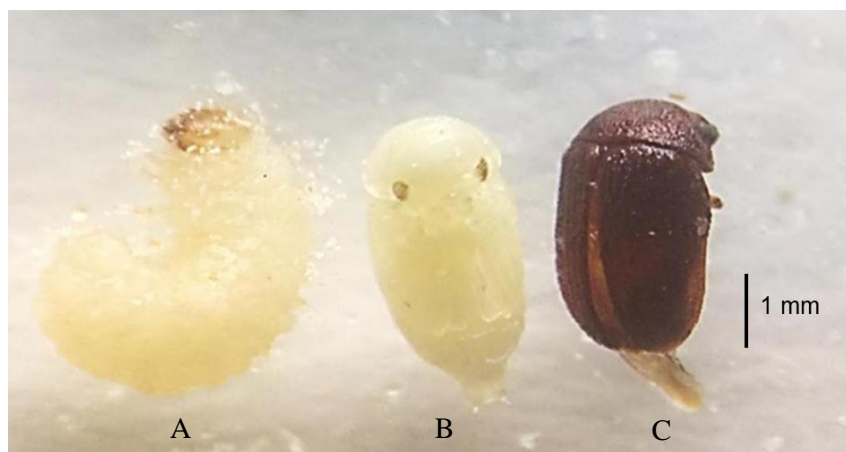


FIGURA 1. Larva (A), pupa (B) e adulto (C) de *Lasioderma serricorne*.

2.3 Tipos de controle

Os produtos químicos continuam a ser a principal ferramenta para o controle desta praga devido à facilidade na aplicação, rapidez de ação e baixo custo financeiro (Lorini *et al.*, 2015; Edde, 2019). Entretanto, apresentam uma série de desvantagens, como alta periculosidade aos aplicadores e trabalhadores, permanência de resíduos químicos e contaminação do meio ambiente. Consequentemente, a resistência à fumigação e a inseticidas de contato foi relatada em algumas espécies que atacam produtos

armazenados, incluindo o besouro-do-fumo (Saglam *et al.*, 2015; Sitthichaiyakul & Amornsak, 2017).

A fumigação com o gás fosfeto de hidrogênio (PH³), comumente conhecido como fosfina, é utilizada no armazenamento na indústria ou transporte fechado com tabaco infestado e tem como vantagem a fácil penetração no material, eficácia na eliminação da infestação e por deixar pouco resíduo do gás no produto após o tratamento (Saglam *et al.*, 2015). Entretanto, a resistência à fosfina por *L. serricorne* foi registrada pela primeira vez na década de 1990 na Índia e se espalhou globalmente com a distribuição internacional do tabaco. Atualmente, a indústria tabagista, por prolongar o tempo de exposição e aumentar a concentração na fumigação, vem enfrentando sérios problemas por causa do aumento da resistência (Saglam *et al.*, 2015; Fukazawa & Takahashi, 2017). A preocupação com a resistência à fosfina por *L. serricorne* em tabaco, estimularam o CORESTA (Centro de Cooperação para Pesquisa Científica Relativa ao Tabaco) a recomendar estratégias de gestão da fumigação para minimizar este processo, mas a informação é limitada sobre a eficácia dessas recomendações (Saglam *et al.*, 2015), até porque não há opções de diferentes grupos químicos para o controle, impedindo a alternância de ingredientes ativos, recomendáveis para evitar a seleção de insetos resistentes (Lorini, 2008). Para a desinsetização de paredes e frestas dos galpões, alguns piretróides de contato são utilizados como tratamento preventivo (Lorini *et al.*, 2015).

Além do problema da resistência, existe uma crescente preocupação da sociedade em minimizar o uso desses produtos por conta da alta toxicidade, sendo que pesquisas têm investigado novas estratégias, incluindo controle por temperatura e radiação ionizante, o uso de óleos essenciais, de semioquímicos com armadilhas de feromônio, além do controle biológico, também em produtos armazenados (Silva, 2017; Saeed *et al.*, 2017). Em ambientes de armazenamento, é conhecida uma variedade de inimigos

naturais entre eles predadores, parasitoides ou patógenos, mas geralmente, as citações limitam-se apenas à identificação do agente (Lorini *et al.*, 2015).

O primeiro patógeno isolado e identificado de uma praga de armazenamento (*E. kuehniella*) foi *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1915) (Bac.: Bacillaceae) (Brower *et al.*, 1996). No entanto, seu uso em programas de controle biológico de pragas em armazenamento é pouco estudado. Os fungos são patógenos facultativos de insetos, os contaminam por ingestão e por penetração da cutícula. A espécie *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Hyp.: Cordycipitaceae) engloba a maioria dos estudos de controle de pragas na agricultura. No entanto esse fungo é altamente dependente de condições ambientais e pode deixar resíduos no produto, o que torna difícil seu uso como agente de controle de pragas em produtos armazenados (Soares *et al.*, 2009).

No uso de predadores e parasitoides, também existe a preocupação da presença desses insetos e seus fragmentos como contaminantes nos produtos e subprodutos armazenados. Segundo Cox & Wilkin (1996), entretanto, a remoção desses fragmentos pode ser feita em procedimentos normais de limpeza ou através de peneiras que retém os mesmos.

Uma espécie de predador estudada em ambiente de armazenamento é *Xylocoris flavipes* (Reuter, 1875) (Hemiptera: Anthocoridae) que se mostrou um eficiente agente de controle biológico de *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Col.: Tenebrionidae), atacando essa espécie nos estágios de ovo e larva em trigo armazenado (Lecato, 1976; Brower *et al.*, 1996). Alguns ácaros relatados como inimigos naturais em ambientes de armazenamento são *Cheyletus eruditus* (Schrank, 1781) (Acari: Cheyletidae) (Gerson *et al.*, 1999) e *Acarophenax lacunatus* (Cross & Krantz, 1964) (Protigmata: Acarophenacidae) em populações de *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens, 1831)

(Coleoptera: Cucujidae) no armazenamento de grãos (Cross & Krantz, 1964; Soares *et al.*, 2009).

Dentre os insetos agentes de controle, os mais utilizados e efetivos são parasitoides da ordem Hymenoptera (Gallo *et al.*, 2002). As vespas parasitoides pertencentes às famílias Pteromalidae, Bethyidae, Ichneumonidae, Braconidae e Trichogrammatidae são as mais frequentemente encontradas e citadas parasitando pragas de produtos armazenados (Athié & Paula, 2002). Porém, esses autores ressaltaram que ainda existe uma grande necessidade de pesquisas para se conhecer mais sobre a biologia dessas espécies, a fim de serem utilizadas com sucesso em programas de controle biológico.

Para uso em produtos armazenados, especificamente, ainda não existem espécies comercializadas no Brasil, mas alguns trabalhos que estudam parasitoides potenciais foram realizados, como o estudo de Inoue & Parra (1998), que demonstrou o potencial de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hym.: Trichogrammatidae) para controlar *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819). (Lep.: Gelechiidae) 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.

Em parasitoides da família Pteromalidae, Flinn *et al.* (1996) demonstraram que, após realizada uma liberação aumentativa de *Theocolax elegans* (Westwood, 1874) (Hym.: Pteromalidae), ocorreu uma redução de cerca de duas a três vezes o custo com aplicações de agrotóxicos contra *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Col.: Bostrichidae) em grãos armazenados. Niedermayer *et al.* (2016), avaliando a capacidade de detecção de *Sitophilus granarius* (L., 1758) (Col.: Curculionidae) pelos parasitoides *Lariophagus distinguendus* (Forster, 1841) (Hym., Pteromalidae) e *A. calandrae* em instalações de armazenamento de grãos vazias, observaram que indivíduos de *A.*

calandrae 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. calandrae* pode ter sido influenciada pela luz.

2.4 Pteromalidae - *Anisopteromalus calandrae*

Pteromalidae, pertencente à Chalcidoidea, contém mais de 600 gêneros e aproximadamente 3.500 espécies descritas (Hanson & Gauld, 1995). São himenópteros de tamanho pequeno, entre 1 e 7 mm de comprimento e sua coloração varia de verde brilhante ou azul, a preta ou amarela (Hanson & Heydon, 2006 *in* Fernández & Sharkey, 2006). A maioria 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, com parasitismo solitário e gregário e parasitismo primário e secundário. Segundo Hanson & Heydon (2006) *in* Fernández & Sharkey, (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 parasitam ovos ou mesmo adultos (Mbata *et al.*, 2005).

Alguns representantes da família são usados em programas de controle biológico de pragas, como por exemplo, três espécies cosmopolitas que são frequentemente encontradas atacando besouros praga de produtos armazenados: *Theocolax elegans* (Westwood, 1874), *L. distinguendus* e *A. calandrae* (Quicke, 1997; Hanson & Gauld, 1995).

O gênero *Anisopteromalus* é facilmente reconhecido por uma combinação de caracteres: a antena, nas fêmeas possui três anéis, a estrutura do propódeo e a margem

traseira alargada do primeiro tergito abdominal (Sureshan, 2010). 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 das famílias Chrysomelidae, Bruchidae, Ptiniidae e Curculionidae que se alimentam de grãos armazenados e sementes de leguminosas (Fabaceae: Faboideae e Caesalpinioideae), mas também podem ser criados a partir de lepidópteros hospedeiros, como 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), alguns aspectos são bem conhecidos, pois parasita várias pragas de produtos armazenados (Gredilha *et al.*, 2006). Esta espécie tem sido objeto de 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).

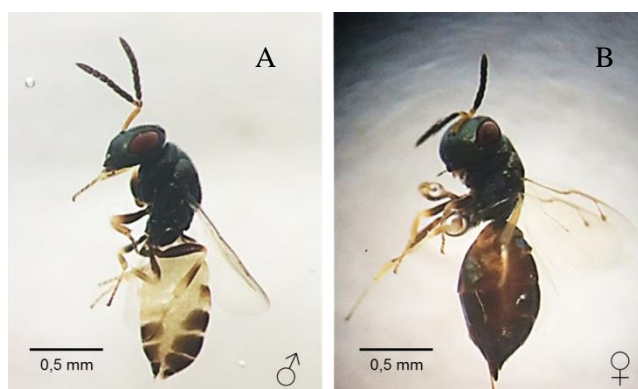


FIGURA 2. Adultos de *Anisopteromalus calandrae*, macho (A), fêmea (B).

Anisopteromalus calandrae possui uma distribuição cosmopolita e é um ectoparasitoide idiobionte que ataca larvas de último ínstar e pupas de coleópteros praga, incluindo: *Sitophilus oryzae* (L., 1763) (gorgulho-do-arroz), *S. granarius* (caruncho-

celeiro), *S. zeamais* (Motschulsky, 1855) (gorgulho-do-milho) (Col.: Curculionidae), *R. dominica* (broca-do-grão) e *L. serricorne* (Menon *et al.*, 2002; Belda & Riudavets, 2010; Benkhellat *et al.*, 2015).

Apenas um parasitoide se desenvolve a partir de cada larva hospedeira (Belda & Riudavets, 2010). O desenvolvimento total completa-se após 13 dias, compreendendo os estágios de ovo, quatro ínstaes larvais, pré-pupa e pupa, em condições controladas (28 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ UR e 12 h de fotoperíodo) (Zilch *et al.*, 2017).

A fêmea de *A. calandrae* (Fig. 2.B) usa certas pistas para localizar as larvas do hospedeiro, podendo esta responder a vários odores, como as fezes dos insetos e também pode detectar o movimento ou o som da alimentação do hospedeiro por antenação nos grãos infestados (Press, 1988; Menon *et al.*, 2002). Também, a detecção do hospedeiro por *A. calandrae* pode ser influenciada positivamente pela luz do ambiente, em armazéns vazios, nas populações remanescentes após a retirada dos produtos armazenados (Niedermayer *et al.*, 2016). Uma vez que as larvas do hospedeiro são localizadas, 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 (Belda & Riudavets, 2012). A fêmea usa seu ovipositor para perfurar a superfície do grão, faz uma punctura na larva, injetando uma toxina que imobiliza os movimentos e posteriormente causa a morte da larva. Após a larva estar imóvel, a fêmea oviposita sobre ela (Ozelame *et al.*, 2011).

Além disso, a fêmea pode se nutrir da hemolinfa da larva para obter quantidade adequada de proteínas para a maturidade do ovo (Belda & Riudavets, 2012). 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 ovos que darão origem a machos ou para a alimentação (Menon *et al.*, 2002; Belda & Riudavets, 2012). Segundo Smith (1993), o

tamanho da larva do hospedeiro pode influenciar em 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.

Na natureza, *A. calandrae* utiliza principalmente as larvas de besouros da família Curculionidae, que geralmente ocorrem em alta densidade (Belda & Riudavets, 2012). As fêmeas põem muitos ovos durante um longo período, por conta disso, *A. calandrae* é considerada uma r-estrategista (Sasakawa *et al.*, 2013). Gokhman *et al.* (1999), por exemplo, relataram que 271 ovos foram colocados durante 40 dias (ambos os valores médios), embora os valores possam variar dependendo das condições da criação.

Em laboratório, fêmeas e machos apresentam longevidade média de 10 dias (Zilch *et al.*, 2017). Segundo os autores, as fêmeas geram uma prole média de 35,5 indivíduos durante sua vida adulta, sendo que expressam seu máximo potencial reprodutivo entre os três e sete dias de vida. Em larvas de *S. zeamais* a temperatura base e a constante térmica do parasitoide foram de 11,85 graus e 209,64 graus-dia (Ozelame *et al.*, (2011).

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, Chaisaeng *et al.* (2010), determinaram que o tamanho da população do hospedeiro deve ser estimado 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 a ação dos parasitoides na busca e controle dos hospedeiros

A tolerância às condições ambientais de temperatura, luz e umidade, a capacidade de busca, a quantidade do hospedeiro disponível, a fonte de alimento, entre outros, são fatores que interferem na eficiência desses organismos em programas de controle biológico e são essenciais de serem estudados e avaliados (Mcdougall & Mills, 1997; Nascimento, 2011; Lessard & Boivin, 2013). Além disso, a nutrição e obtenção de requisitos quali e quantitativos pelos insetos influencia diretamente no seu desenvolvimento, crescimento e reprodução (Mitsunaga *et al.*, 2004). Geralmente, os alimentos naturais, como o néctar das plantas, são as melhores dietas para os parasitoides adultos (Salmah *et al.*, 2012). Segundo Hagen *et al.* (1984), o néctar floral, o extrafloral, o mel de abelha e o pólen servem de alimento para muitos adultos de Diptera e Hymenoptera. Com relação aos imaturos, a qualidade e tamanho do hospedeiro em que o parasitoide se desenvolve, podem influenciar significativamente na fase adulta (Kasamatsu & Abe, 2015).

Para utilização de parasitoides em programas de MIP, são necessárias criações massais para posterior liberação no ambiente em que ocorre a praga (Nascimento, 2011). Especialmente em ambientes de armazenamento, o conhecimento do hábito alimentar do parasitoide adulto apresenta importância, pois na natureza, eles buscam diferentes fontes nutricionais, como açúcares e carboidratos de plantas, enquanto no laboratório ou em armazéns, dependem dos alimentos fornecidos durante o processo de criação massal, que devem suprir essa demanda nutricional (Harvey *et al.*, 2012; Souza *et al.*, 2016).

As dietas artificiais, com solução de mel, ou mel puro, por serem fontes alimentares, podem aumentar a longevidade e fecundidade dos parasitoides (Salmah *et al.*, 2012; Souza *et al.*, 2016;). O consumo de alimentos, especialmente com açúcares,

fornece aos insetos energia para manter o metabolismo e atividade de vôo, permitindo que eles procurem seus hospedeiros por períodos mais longos e, portanto, aumentem a probabilidade de parasitismo (Souza *et al.*, 2016; Marshal *et al.*, 2019). A qualidade alimentar dos progenitores pode influenciar também no tamanho corporal da prole gerada (Benzemer *et al.* (2005). Esse aspecto é importante pois o tamanho também é um indicador de *fitness* em insetos. Em geral, os indivíduos maiores vivem mais e têm maior sucesso reprodutivo do que seus coespecíficos, menores (Beukeboom, 2018). Segundo o mesmo autor, os machos maiores têm uma vantagem competitiva e o tamanho das fêmeas também é conhecido por estar positivamente relacionado à fecundidade. Entretanto, fatores ambientais, como a disponibilidade de alimento e diferenças nos padrões de crescimento que têm base genética podem colocar restrições importantes na determinação do tamanho corporal dos insetos (Beukeboom, 2018).

A razão sexual também é um indicativo para se determinar uma boa condição de criação de inimigos naturais. Esta é, para várias espécies de vespas parasitoides, influenciada pela luz, temperatura e umidade ambiental (Godfray, 1994). A manutenção de um maior número de fêmeas do parasitoide, com valores superiores a 50% 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, como a alimentação e vigor dos parasitoides e das condições ambientais em que eles se encontram (Parra *et al.*, 2002).

Outro fator muito importante é a capacidade de busca dos parasitoides. A maioria dos estudos sobre dispersão no ambiente de armazenamento tem se concentrado em pequenas instalações, ou em bioensaios de laboratório (Steidle & Schöller, 2002). Mas como a maior parte dos produtos é frequentemente armazenada em grandes espaços, os parasitoides devem ser capazes de encontrar hospedeiros em longas distâncias e em várias

profundidades em meio aos produtos (Steidle & Schöller, 2002; Adarkwah *et al.*, 2012). Segundo Steidle & Schöller (2002), avaliando a capacidade de busca de *L. distinguendus*, o número de hospedeiros encontrados pelo parasitoide diminuiu com o aumento da profundidade em cilindros contendo grãos. Em contrapartida, Niedermayer *et al.*, (2016) avaliando a capacidade dos parasitoides *L. distinguendus* e *A. calandrae* em localizar populações do gorgulho do trigo *S. granarius* em resíduos de grãos em armazéns vazios, observaram que os parasitoides conseguiram encontrar e parasitar larvas hospedeiras em até 10 m de distância do ponto de liberação.

Os voláteis produzidos pelo hospedeiro e pela planta ou substrato que o hospedeiro se encontra estão diretamente ligados ao processo de busca pelo parasitoide (Li *et al.*, 1992; Rojas *et al.*, 2006; Belda & Riudavets 2010). Bender *et al.* (2019), registraram, em testes de olfatométria, que um maior número de fêmeas de *A. calandrae* acasaladas preferiu larvas de *L. serricorne* do que a dieta deste. Em armazéns com grandes quantidades de produto estocado, o parasitoide é capaz de detectar as larvas do hospedeiro e diferenciá-las do substrato em que se encontram. Além do uso de semioquímicos associados ao próprio hospedeiro, como secreções mandibulares fezes e exúvias das larvas, o movimento do corpo e os sons da alimentação, são também pistas de curto alcance utilizadas para guiar as fêmeas na busca pelo hospedeiro no habitat (Vinson, 1976; Vet & Dicke, 1992; Vilela & Della Lucia, 2001). Estas pistas físicas, detectadas principalmente por sensilas táteis dos parasitoides (Vinson, 1984) certamente variam de intensidade de acordo com o substrato em que se encontra o hospedeiro.

A capacidade de *A. calandrae* encontrar seus hospedeiros em ambientes de armazenamento já foi estudada, como por exemplo por Niedermayer *et al.* (2016) na Alemanha, que realizaram liberações em armazéns de estocagens de produtos e verificaram que o parasitoide foi capaz de se dispersar pelo ambiente e parasitar as larvas

dos hospedeiros. No Egito, Abd El-Gawad *et al.* (2009), liberaram o parasitoide dentro de sacos de trigo e fava infestados por coleópteros praga e observaram que a infestação diminuiu no decorrer do período de armazenamento por causa da ação do parasitoide, indicando a eficiência em localizar o hospedeiro.

Muitos estudos realizados em laboratório ou semi-campo, auxiliam na tomada de decisão de manejo, embora esta seja somente preview. Por conta disso, avaliações em grande escala, ou nos locais em que há produtos armazenados, são fundamentais para se determinar a efetividade dos parasitoides nesses ambientes (Saeed *et al.*, 2017).

Considerando a complexidade das interações que afetam o sucesso dos programas de controle biológico, as condições de criação de agentes de controle precisam ser melhor estudadas para que auxiliem na obtenção de organismos mais competitivos e eficientes (Lorini *et al.*, 2015). Os programas de controle de pragas podem se beneficiar do conhecimento e seleção de fatores bióticos e ambientais a fim de maximizar a ação dos parasitoides (Beukeboom, 2018; Bueno *et al.*, 2015). Dessa forma, a busca por maiores informações sobre a biologia e a influência de fatores bióticos e abióticos na interação parasitoide/hospedeiro, incluindo a ação do parasitoide em ambientes naturais de ocorrência do 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 (Beukeboom, 2018).

2.6 Referências

- ABD EL-GAWARD, H. A.S.; ABD EL-AZIZ, E. A.; 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**, Abbasia, v. 2, n. 2, p. 211- 219, 2009.
- ADARKWAH, C. *et al.* Potential of *Lariophagus distinguendus* (Förster) (Hymenoptera: Pteromalidae) to suppress the maize weevil *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) in bagged and bulk stored maize. **Biological Control**, Dordrecht, v. 60, p. 175–181, 2012.
- AFUBRA – ASSOCIAÇÃO DOS FUMICULTORES DO BRASIL. **Fumicultura Brasil e perfil do fumicultor**. Santa Cruz do Sul, 2019. Disponível em: <http://www.afubra.com.br>. Acesso em: 13 jan. 2019.
- ASHWORTH, J. R. The biology of *Lasioderma serricorne*. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 29, p. 291-303, 1993.
- ATHIÉ, I.; PAULA, D. C. **Insetos de grãos armazenados aspectos biológicos e identificação**. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2002.
- 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**, Dordrecht, v. 54, p. 29–34, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.02.005>. Acesso em: 6 jun. 2017.
- 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.
- BENKHELLAT, O. *et al.* Host discrimination and egg laying in *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) ectoparasitoid of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 61, p. 48-53, 2015.
- BENZEMER, T. M.; HARVEY, J. A.; MILLS, N. J. Influence of adult nutrition on the relationship between body size and reproductive parameters in a parasitoid wasp. **Ecological Entomology**, New York, v. 30, p. 571–580, 2005.
- BEUKEBOOM, L. W. Size matters in insects – an introduction. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Edinburgh, v. 166, p. 2–3, 2018.

BROWER, J. H. *et al.* Biological control. *In*: SUBRAMANYAM, B.; HAGSTRUM, D. W. (ed.). **Integrated management of insects in stored products**. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 223-286.

BUENO, V. H. P. *et al.* **Controle biológico e manejo de pragas na agricultura sustentável**. Lavras: UFLA, Departamento de Entomologia, 2015. Disponível em: <http://www.den.ufla.br/attachments/article/75/ApostilaCB%20%28final%29.pdf>. Acesso: 27 jan. 2021.

CARVALHO, C. *et al.* **Anuário brasileiro do tabaco**. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2014. 128 p. Disponível em: <http://www.editoragazeta.com.br/produto/anuario-brasileiro-do-tabaco-2014/>. Acesso: 13 mar. 2017.

CARVALHO, M. O.; PEREIRA, A. P.; MEXIA, A. Adopção de protecção integrada em tabaco armazenado em Portugal. *In*: ENCONTRO NACIONAL DE PROTECÇÃO INTEGRADA - ENPI, 6., 2003, Castelo Branco. **Comunicações orais – Produtos armazenados**. Castelo Branco: IPCB, ESA, 2003. p. 297-305.

CHAI SAENG, P. *et al.* Laboratory studies on control of the maize weevil *Sitophilus zeamais* by the parasitoid *Anisopteromalus calandrae*. **Science Asia**, Bangkok, 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, 1., 1981, Canberra. **Proceedings [...]**. Canberra: CSIRO, 1981. p. 70-95.

COLLINS, W. K.; HAWKS, S. N. **Fundamentos da produção do tabaco de estufa**. Santa Cruz do Sul: EDUNISC, 2011. 308 p.

COX, P. D.; WILKIN, D. R. **The potential use of biological control of pests in stored grain**. London: Home-Grown Cereals Authority, 1996. 53 p. (Research Review, 36).

CROSS, E. A.; KRANTZ, G. W. Two new species of the genus *Acarophenax* (Newstead and Duvall, 1918). **Acarologia**, Montferrieux, v. 6, p. 287-295, 1964.

EDDE, P. Biology, ecology, and control of *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae): a review. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 112, n. 3, p. 1011-1031, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jee/toy428>. Acesso em: 15 fev. 2020.

EVANS, D. E. The biology of stored products Coleoptera. *In*: AUSTRALIAN DEVELOPMENT ASSISTANCE COURSE ON THE PRESERVATION OF STORED CEREALS, 1., 1981, Canberra. **Proceedings [...]**. Canberra: CSIRO, 1981. p. 149-185.

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

FUKAZAWA, N.; TAKAHASHI, R. Effect of time and concentration on mortality of the cigarette beetle, *Lasioderma serricornis* (F.), fumigated with phosphine. **Beiträge zur Tabakforschung International Contributions to Tobacco Research**, Warsaw, v. 27, n. 6, p. 97-101, 2017.

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

GERSON, U.; FAIN, A.; SMILEY, R. L. Further observations on the Cheyletidae (Acari), with a key to the genera of the Cheyletinae and a list of all known species in the family. **Bulletin de L'institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique**, Brussels, v. 69, p. 35-86, 1999.

GODFRAY, H. C. J. **Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology**. New Jersey: Princeton University Press, 1994. 461 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**, Moscow, 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.

GUEDES, J. V. C.; SULZBACH, F. **Guia de identificação e manejo integrado das pragas do fumo**. Santa Maria: Orium, 2006. 56 p.

GUILHOTO, J. J. *et al.* Comparação entre o agronegócio familiar do Rio Grande do Sul e o do Brasil. **Teoria e Evidência Econômica**, Passo Fundo, v. 14, p. 9-36, 2006.

HAGEN, K. S.; DADD, R. H.; REESE, J. The food of insects. *In*: HUFFAKER, C. B.; RABB, R. L. (ed.). **Ecological entomology**. New York: John Wiley, 1984. p. 884.

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

HANSON, P. E.; GAULD, I. D. **The Hymenoptera of Costa Rica**. Oxford: Oxford University Press, 1995. 893 p.

HANSON, P. E.; HEYDON, S. L. Família Pteromalidae. *In*: FERNÁNDEZ, F.; SHARKEY, M. J. **Introducción a los Hymenoptera de la región neotropical**. Bogotá: Sociedad Colombiana de Entomología y Universidad Nacional de Colombia, 2006. p. 673-681.

HARVEY, J. A. *et al.* The effect of different dietary sugars and honey on longevity and fecundity in two hyperparasitoid wasps. **Journal of Insect Physiology**, Amsterdam, v. 58, p. 816-823, 2012.

- 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.
- KASAMATSU, E.; ABE, J. Influence of body size on fecundity and sperm management in the parasitoid wasp *Anisopteromalus calandrae*. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 40, p. 223–231, 2015.
- KISMALI, S.; GÖKTAY, M. Investigatins on some characteristics of *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). **Türkiye Entomologi Dergisi**, Bornova/Izmir, v. 12, n. 1, p. 55-59, 1988.
- KIST, B. B. *et al.* **Anuário brasileiro do tabaco 2016**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 2016. 128 p.
- KIST, B. B. *et al.* **Anuário brasileiro do tabaco 2020**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 2020. 132 p.
- LANDONI, J. H. *Nicotiana tabacum* L. Adelaide: IPCS Inchem, Apr. 1991. Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/pims/plant/nicotab.htm>. Acesso em: 10 set. 2018.
- LECATO, G. L. Predation by *Xylocoris flavipes* (Hem.: Anthocoridae): influence of stage, species and density of prey and of starvation and density of predator. **BioControl**, Dordrecht, v. 21, n. 2, p. 217-221, 1976.
- LESSARD, E.; BOIVIN, G. Effect of low temperature on emergence, fecundity, longevity and host-feeding by *Trichogramma brassicae*. **BioControl**, Dordrecht, v. 58, p. 319–329, 2013.
- LOECK, A. E. **Praga de produtos armazenados**. Pelotas: EGUFPEL, 2002. 113 p.
- LORINI, I. **Manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2008. 72 p.
- LORINI, I. *et al.* **Manejo integrado de grãos e sementes armazenadas**. Brasília, DF: Embrapa, 2015. 84 p.
- MARIANO, F. D. **Terra de diatomácea no controle de pragas em grãos armazenados**. 2005. 49 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura Plena em Ciências com habilitação em Química) - Curso de Ciências – Química, Centro Universitário da Fundação Educacional, Guaxupé, 2005.
- MARSHAL, S. *et al.* Effect of honeybee products, as food supplements, on the biological activities of three *Trichogramma* species (Hymenoptera):

Trichogrammatidae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, Cairo, v. 29, [art.] 46, 2019. Disponível em: doi.org/10.1186/s41938-019-0149-1. Acesso em: 1º out. 2020.

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

MCDOUGALL, S. J.; MILLS, N. J. The influence of hosts, temperature and food sources on the longevity of *Trichogramma platneri*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Edinburgh, v. 83, p. 195-203, 1997.

MENDES, L. *et al.* **Anuário brasileiro do tabaco 2015**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 2015. 128 p.

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 Product Research**, Oxford, 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.

MITSUNAGA, T.; SHIMODA, T.; YANO, E. Influence of food supply on longevity and parasitization ability of a larval endoparasitoid, *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae). **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 39, p. 691–697, 2004.

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, 1998. 176 p.

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**, Dordrecht, v. 61, p. 379–386, 2016.

OZELAME, A. L.; NÖRNBERG, S. D.; NAVA, D. E. Exigências térmicas e número de gerações de *Anisopteromalus calandrae*, em *Sitophilus zeamais*. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 12., 2011, São Paulo. **Anais [...]**. São Paulo: Instituto Biológico, 2011. p. 378.

PARRA, J. R. P. *et al.* **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Editora Manole, 2002. 664 p.

- PIMENTEL, M. A. G.; SANTOS, J. P.; LORINI, I. **Cultivo do milho**. 7. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, set. 2011. Disponível em: http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_7_ed/colpragas.htm. Acesso em: 6 dez. 2018.
- PRESS, J. W. Movement of a weevil parasitoid, *Anisopteromalus calandrae* (Howard), within a column of wheat in relation to host location. **Journal of Agricultural Entomology**, Clemson, v. 5, p. 205–208, 1988.
- 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 Editora, 2012. 810 p.
- 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: ENCONTRO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA – EPCC, 6., 2009, Maringá. [Anais ...]. Maringá: UNICESUMAR, 2009. p. 27–30.
- ROJAS, J. C.; CASTILLO, A.; VIRGEN, A. Chemical cues used in host location by *Phymastichus coffea*, a parasitoid of coffee berry borer adults, *Hypothenemus hampei*. **Biological Control**, Dordrecht, v. 37, p. 141–147, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.01.009>. Acesso em: 20 nov. 2020.
- SAEED, M. B. E. E. M. *et al.* Ovicidal, larvicidal and insecticidal activity of strains of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin against the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* Fabricius (Coleoptera: Anobiidae), on rice grain. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 74, p. 78–86, 2017.
- SAGLAM, O.; EDDE, P. A.; PHILLIPS, T. W. Resistance of *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) to Fumigation with Phosphine. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 108, n. 5, p. 2489–2495, 2015.
- SALMAH, M.; BASRI, M. W.; IDRIS, A. B. Effects of honey and sucrose on longevity and fecundity of *Apanteles metesae* (Nixon), a major parasitoid of the oil Palm Bagworm, *Metisa plana* (Walker). **Sains Malaysiana**, Bangi, v. 41, n. 12, p. 1543–1548, 2012.
- SASAKAWA, K. *et al.* Different patterns of oviposition learning in two closely related ectoparasitoid wasps with contrasting reproductive strategies. **Naturwissenschaften**, Heidelberg, v. 100, p. 117–124, 2013.
- SILVA, A. G. *et al.* **Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil, seus parasitos e predadores: insetos hospedeiros e inimigos naturais**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Departamento de Defesa e Inspeção Agropecuária, 1968. 622 p.
- SILVA, A. P. O. **Prospecção de produtos naturais para o manejo integrado de *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae)**. 2017. 157 f. Tese

(Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia – RENORBIO, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2017.

SINDITABACO – SINDICATO DA INDÚSTRIA DO TABACO. **Perfis do produtor e da indústria**. Santa Cruz do Sul, 2020. Disponível em: <http://sinditabaco.com.br/sobre-o-setor>. Acesso em: 28 nov. 2020.

SINDITABACO – SINDICATO DA INDÚSTRIA DO TABACO. **Perfis do produtor e da indústria**. Santa Cruz do Sul, 2021. Disponível em: <http://sinditabaco.com.br/sobre-o-setor>. Acesso em: 12 mar. 2021.

SITTHICHAİYAKUL, S.; AMORNSAK, W. Host-substrate preference of *Theocolax elegans* (Westwood) (Hymenoptera: Pteromalidae), a larval parasitoid of the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae). **Agriculture and Natural Resources**, Bangkok, v. 51, p. 36-39, 2017.

SMITH, L. Host-size preference of the parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Hym.: Pteromalidae) on *Sitophilus zeamais* (Col.: Curculionidae) larvae with a uniform age distribution. **Entomophaga**, Paris, v. 38, n. 2, p. 225-233, 1993.

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. 53-59, 2009.

SOUZA CRUZ. **Plantio - Fases da plantação de fumo**. São Paulo, 2010. Disponível em: http://www.souzacruz.com.br/group/sites/SOU_7UVF24.nsf/vwPagesWebLive/DO7V9KLC?opendocument. Acesso em: 20 nov. 2018.

SOUZA, A. R. *et al.* Longevity of *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae), with various honey concentrations and at several temperatures. **Florida Entomologist**, Lutz, v. 99, n. 1, p. 33-37, 2016.

SPECHT, A. *et al.* Ocorrência de *Rachiplusia nu* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae) em fumo (*Nicotiana tabacum* L.) no Rio Grande do Sul. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 5, p. 705-706, 2006.

STEIDLE, J. L. M.; SCHÖLLER, M. Fecundity and ability of the parasitoid *Lariophagus distinguendus* (Hymenoptera: Pteromalidae) to find larvae of the granary weevil *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) in bulk grain. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 38, p. 43–53, 2002.

SURESHAN, P. M. A new species of *Anisopteromalus* Ruschka (Hymenoptera: Chalcidoidea: Pteromalidae) from Sri Lanka. **Journal of Threatened Taxa**, Coimbatore, v. 2, n. 9, p. 1144–1146, 2010.

VELASQUEZ, C. D.; TRIVELLI, H. D. **Distribucion y importância de los insectos que dañan granos y productos almacenados em Chile**. Santiago, Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuárias, 1983. 67 p.

VET, L.; DICKE, M. Ecology of infochemical use by natural enemies in trophic context. **Annual Review of Entomology**, Annapolis, v. 37, p. 141-172, 1992.

VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. **Feromônios de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas**. 2. ed. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2001. 206 p.

VINSON, S. B. Host selection by insect parasitoids. **Annual Review of Entomology**, Annapolis, v. 21, p. 109-133, 1976.

VINSON, S. B. Parasitoid-host relationships. *In*: BELL, W. J.; CARDÉ, R. T. (ed.). **Chemical ecology of insects**. London: Chapman and Hall, 1984. p. 205-233.

YU, C. *et al.* Ground, pelleted poultry feed: na optimal diet for the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). **Research Kernels**, Manhattan, p. 1, May 2010.

ZILCH, K. C. F. *et al.* Effect of diet, photoperiod and host density on parasitism of *Anisopteromalus calandrae* on the tobacco beetle and biological parameters of the parasitoid. **American Journal of Plant Sciences**, New York, v. 8, n. 12, p. 3218-3232, 2017.

3 ARTIGO 1

Effect of pure honey on longevity and morphometric characteristics of

Anisopteromalus calandrae* Howard (Hym., Pteromalidae)

*Artigo formatado conforme as normas da revista Arquivos do Instituto Biológico

Effect of pure honey on longevity and morphometric characteristics of
Anisopteromalus calandrae Howard (Hym., Pteromalidae)

Efeito do mel puro na longevidade e características morfométricas de
Anisopteromalus calandrae Howard (Hym., Pteromalidae)

Kássia Cristina Freire Zilch^{1,3}, Simone Mundstock Jahnke¹ & Andreas Köhler²

¹ Laboratory of Biological Control of Insects. Department of Plant Health. Federal University of Rio Grande do Sul - UFRGS. Av. Bento Gonçalves, 7712, Porto Alegre, RS, Brazil. E-mail: kassiazilch@gmail.com; mundstock.jahnke@ufrgs.br

² Laboratory of Entomology, University of Santa Cruz do Sul - UNISC. Av. Independência, 2293. Santa Cruz do Sul, RS, Brazil.

E-mail: andreas@unisc.br

³ Corresponding author

ABSTRACT

The pteromalid *Anisopteromalus calandrae* has been studied and reared to control coleopteran pests of stored products, including *Lasioderma serricorne*. This study investigates the influence of feeding honey on the size and parasitism rate of *A. calandrae*. Couples of the parasitoid were maintained in the three treatments: (Hd) fed daily with pure honey; (H1) fed with honey only on the first day of life and; (NH) without any food. Ten last instar larvae of *L. serricorne* (with cocoon formation) were exposed for 24 h to couples of each treatment. Daily, the couples were transferred to pots with new larvae until their death. In each treatment, couple longevity, the number of larvae parasitized and parasitoid emerged, and body measurements of progeny adults were recorded. Mean longevity of *A. calandrae* was significantly greater in treatments with the presence of honey. With the presence of honey, the average longevity of females and males of *A. calandrae* was higher than the treatment without honey, being 24.1 ± 2.29 (Hd), 18.0 ± 4.69 (H1) and 10.3 ± 1.16 (NH) days for females, and 14.8 ± 2.54 (Hd), 13.0 ± 3.04 (H1) and 7.1 ± 0.35 (NH) days for males. In both treatments, females started oviposition in the first 24 h. The peak of the number of offspring was on the 8th, 9th, and 3rd days in treatments Hd, H1, and NH, respectively. Both males and females presented a larger body size in the treatments with honey compared to the parasitoids that did not receive food. Parasitoids fed with honey obtained better values in the biological parameters evaluated.

Keywords: Parasitoid nutrition; larval parasitoid; tobacco beetle.

RESUMO

O pteromalídeo *Anisopteromalus calandrae* tem sido estudado e criado para controlar pragas de coleópteros de produtos armazenados, incluindo *Lasioderma serricorne*. Este estudo investigou a influência da alimentação de mel no tamanho e na taxa de parasitismo de *A. calandrae*. Casais do parasitoide foram mantidos nos tratamentos: (Hd) alimentados diariamente com mel puro; (H1) alimentado com mel apenas no primeiro dia de vida e; (NH) sem nenhum alimento. Dez larvas de último ínstar de *L. serricorne* (com formação de casulo) foram expostas por 24 h aos casais de cada tratamento. Diariamente, os casais eram transferidos para potes com novas larvas até a morte. Em cada tratamento, a longevidade do casal, o número de larvas parasitadas e parasitoides emergidos e as medidas corporais de progênes adultas foram registradas. A longevidade média de *A. calandrae* foi significativamente maior nos tratamentos com presença de mel. Com a presença de mel, a longevidade média de fêmeas e machos de *A. calandrae* foi maior que no tratamento sem mel, sendo de $24,1 \pm 2,29$ (Hd), $18,0 \pm 4,69$ (H1) e $10,3 \pm 1,16$ (NH) dias para as fêmeas, e $14,8 \pm 2,54$ (Hd), $13,0 \pm 3,04$ (H1) e $7,1 \pm 0,35$ (NH) dias para machos. Em ambos os tratamentos, as fêmeas iniciaram a oviposição nas primeiras 24 h. O pico do número de descendentes ocorreu no 8º, 9º e 3º dias nos tratamentos Hd, H1 e NH, respectivamente. Tanto machos quanto fêmeas apresentaram maior tamanho corporal nos tratamentos com mel em relação aos parasitoides que não receberam alimento. Parasitoides alimentados com mel obtiveram melhores valores nos parâmetros biológicos avaliados.

Palavras-chave: Nutrição de parasitoides; parasitoide larval; besouro do tabaco.

3.1 INTRODUCTION

Anisopteromalus calandrae (Howard) (Hym., Pteromalidae) is an idiobiont ectoparasitoid that preferably lives parasitizing last instar larvae, although there are records of oviposition also in pupae (Belda; Riudavets, 2010; Benkhellat et al., 2015). Females deposit the egg on the larvae or host pupa inside a grain or a cocoon made by the host larvae itself (Ozelame et al., 2011). The time of development egg-adult is about 13 to 18 days, ranging according to the host, temperature and humidity conditions (Ngamo et al., 2007; Ozelame et al., 2011; Zilch et al., 2017).

There are records of *A. calandrae* parasitizing coleopteran hosts that attack stored products, such as *Sitophilus oryzae* (L.) (rice weevil), *Sitophilus granarius* (L.) (wheat weevil), *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (maize weevil) (Col., Curculionidae), the lesser grain borer *Rhyzopertha dominica* Fabricius (Col., Bostrichidae), and the tobacco

beetle *Lasioderma serricorne* Fabricius (Col., Ptinidae) (Belda; Riudavets, 2010; Benkhellat et al., 2015; Niedermayer et al., 2016).

Popularly known as the tobacco beetle, *L. serricorne* is found in tropical, subtropical, and temperate regions of the world (Loeck, 2002). It is a primary pest that feeds on stored tobacco, animal products, oilseeds, cereals, cocoa beans, flours, spices, and dried fruits (Athié; Paula, 2002; Loeck, 2002), with records also on stored soybeans (Lorini et al., 2015). In Brazil, synthetic chemical insecticides based on aluminum and magnesium phosphides (phosphine) are the only products indicated for the control of this insect pest (Agrofit, 2020). Phosphine is easy to apply, has fast insecticidal action and low cost (Lorini et al., 2015). However, they show a series of disadvantages, such as high degree of danger to applicators and workers, permanence of chemical residues, and environment contamination (Saeed et al., 2017). In addition, due to overuse of the active ingredient, resistance to fumigation and contact formulations has been reported in some species that attack stored products, including *L. serricorne* (Saglam et al., 2015; Sitthichaiyakul; Amornsak, 2017).

Considering the limitations of synthetic chemical control (Saeed et al., 2017), natural enemies such as *A. calandrae* are highlighted as an alternative for the management of this and other species in stored grains. Thus, this species has been the subject of studies that cover a wide variety of topics, such as the evaluation of potential for biological control, impact of pesticides and herbicides, life history, behavior, adaptations, and physiology (Baur et al., 2014).

It is known that the parasitoid *A. calandrae* is influenced by *L. serricorne* diet, having better development in larvae maintained with only wheat flour, for example, and the 12-hour photoperiod is ideal for emergence and parasitism, for this parasitoid (Zilch, et al., 2017). Also, virgin and mated females without experience of parasitism did not

show preference for larvae or pupae in olfactometry. However, after maintaining these females in contact with larvae and pupae of *L. serricornis*, they were more attracted to the development stage of the host in which they were maintained (Bender et al., 2019), indicating that there may be changes in preference through learning.

For the use of parasitoids in integrated pest management (IPM) programs, mass rearing is required for subsequent release into the environment where the pest occurs (Nascimento, 2011). Especially in storage environments, knowledge of the feeding habits of the adult parasitoid is important as they seek different nutritional sources in nature, such as sugars and carbohydrates, while they depend on the food provided during the mass rearing process in the laboratory or in storage environment, which must supply this nutritional demand (Harvey et al., 2012; Souza et al., 2016).

Artificial diets with honey solution or pure honey as food sources can increase parasitoid longevity and fecundity (Salmah et al., 2012; Souza et al., 2016). Consumption of food, especially with sugars, provides individuals with energy to maintain metabolism and flight activity, allowing them to search for their hosts for longer periods and increase the likelihood of parasitism (Souza et al., 2016; Marshal et al., 2019). The food quality of progenitors can also influence the body size of the offspring generated (Benzemer et al., 2005). This aspect is important as size is also a fitness indicator in insects. In general, larger individuals live longer and have more success in reproduction than the smaller conspecific (Beukeboom, 2018). According to the same author, larger males have competitive advantage and female size is also known to be positively related to fecundity.

Although there are records of maintenance of rearing of *A. calandriae* in a laboratory without any kind of diet for adults (Ahmed 1996; Timokhov; Gokhman, 2003) or with honey (Smith, 1993), the studies have not compared the performance of adults or their offspring. Thus, this study evaluated the effect of feeding adults with pure honey in

the development of offspring, longevity, parasitism, and size of adults of *A. calandrae* parasitizing larvae of *L. serricorne*.

3.2 MATERIAL AND METHODS

Insect rearing

The insects' rearing were maintained at the Entomology Laboratory of the University of Santa Cruz do Sul, UNISC, in Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul state, Brazil, in an air-conditioned room at 28 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ RH, and 12-hour photophase.

The host *L. serricorne* was collected directly from dry tobacco from producers in the municipality of Santa Cruz do Sul and its surroundings and from attractive traps consisting of a jar with the diet and a Bio Serrico[®] pheromone trap (Serricornim 24 g/kg) installed in the tobacco receiving area of the company Japan Tobacco International (JTI), also located in Santa Cruz do Sul (29° 45' 01.3" S; 52° 25' 38.3" W). *Lasioderma serricorne* larvae were developed on a dry diet based on a mixture of wheat flour (900 g), beer yeast (50 g), and crushed dry tobacco (50 g). The diet was placed in plastic pots (2.7 L) with an adapted lid, in which the opening was covered with white crystal organza fabric for aeration. Approximately 200 adult individuals were put on the diet to perform egg-laying and remained there for approximately five days, after which they were removed and the diet was homogenized again.

Diets were sieved weekly to visualize larvae instar. Approximately 25 days after exposure of adults to the diet, it was possible to observe last instar larvae (with cocoon formation) at the bottom of the pot. Part of these cocoons was used in bioassays and the remainder was left in the pots for rearing maintenance.

The parasitoid *A. calandrae* was obtained from *S. zeamais* larvae parasitized infesting maize in dry and stored grains from rural producers in the municipality of Candelária, Rio Grande do Sul state (29° 29' 39.99" S; 52° 46' 24.16" W), being taken to

the laboratory to start the rearing. These were placed in plastic pots (1.2 L) in groups of up to 30 couples, for whom approximately 300 cocoons (4th instar larvae of the *L. serricornis*) were offered without diet at the bottom of the pot on a single occasion. The pots were closed with a lid adapted with fabric for ventilation, without offering food or water, following the methodology proposed by Timokhov; Gokhman (2003). Between 12 to 15 days later, the offspring emerged. The adults received new host cocoons, reintroduced in the rearing.

In order to evaluate the influence of honey in the diet, *A. calandriae* adults were maintained in two different conditions, one group with the offer of pure honey in droplets on the inner side surface of the rearing pots (H), and another without any food or water (NH) for 25 generations.

Bioassays

Bioassays were carried out with individuals who emerged from the 26th generation onwards. Parasitoid couples with 24 to 48 hours old were individualized in 120-mL plastic pots receiving 10 cocoons of *L. serricornis* for 24 h, from the same batch. The pots were closed with a lid adapted with organza fabric for ventilation and maintained in an air-conditioned environment in the same conditions of the rearing.

Parasitoids were removed daily from the pots to be placed in other, with another 10 cocoons, so that the female had the possibility to parasitize new hosts every day. The cocoons were offered until the death of the female and when a male died, it wasn't replaced. The host previously offered were maintained in the same environmental conditions as the rearing, until the emergence of *L. serricornis* or the parasitoids.

Three treatments were tested. In the first, adult parasitoids originated from rearing with honey (H), received honey daily (Hd). In the second treatment, only on the first day

they received honey (H1), being transferred in the following days to pots with cocoons but without honey. In the third treatment parasitoids originated from rearing without any food or water (NH), did not receive honey (NH). For each treatment, 15 replicates were performed (15 couples).

The longevity of the parasitoid couple and offspring emergence were recorded. Apparent parasitism was calculated as the number of parasitoids emerged / (number of parasitoids emerged + number of hosts emerged) x 100 and the sex ratio of the offspring was calculated as (number of females emerged/ total number of parasitoids emerged).

To evaluate morphometric differences, 40 males and 40 females emerged from each treatment were killed in ethyl alcohol and subsequently measured with the aid of an eyepiece (scale of 30 x magnification), with the following five measures being observed: (TL - total length; HLTL - hind leg tibia length; HFL - hind femur length; FL - forewing length, and DAn: distance between antennae).

Mean data were tested for normality by Shapiro-Wilk and submitted to analysis of variance (ANOVA) and Kruskal Wallis test, with means being compared by Dunn-Bonferroni test for nonparametric data and by Tukey test for data with normal distribution. The significance level considered was $\alpha = 0.05$. For the analyses, Bioestat 5.0 (Ayres et al., 2007) software was used.

Longevity data were used to construct survival curves using the Kaplan-Meier estimator, which were compared between treatments for each sex using the log-rank test by statistical software SPSS version 22.

3.3 RESULTS

The mean longevity of females and males of *A. calandreae* was significantly greater in treatments with the presence of honey, when compared to the treatment without

honey. Females lived longer than males in all treatments. For females, the presence of daily honey increased longevity compared to those who received honey only on the first day, which did not occur for males (Table 1).

TABLE 1. Mean longevity (\pm SE) in days of females and males of *Anisopteromalus calandrae* in treatments with and without honey feeding

Sex	Hd	H1	NH
♀	24.1 \pm 2.29 aA	18.0 \pm 4.69 bA	10.3 \pm 1.16 cA
♂	14.8 \pm 2.54 aB	13.0 \pm 3.04 aB	7.1 \pm 0.35 bB

Different lowercase letters in the line and uppercase letters in the column differed significantly by Tukey test ($p < 0.01$). Legend: Hd: fed with honey daily; H1: fed with honey only on the first day; NH: Treatment without honey.

The survival curves of *A. calandrae* population, which reflect the mean survival time, indicated significant difference ($H: 73.700$; $p < 0,005$) between treatments for each sex, both between sexes and between treatments (Fig. 1).

Outstanding mortality was observed in the NH treatment for both males and females between six and 12 days, with only 13% of females surviving for more than 12 days and 100% of males dying after 10 days. In the Hd and H1 treatments, mortality was more evenly distributed, gradually increasing over the days (Fig. 1).

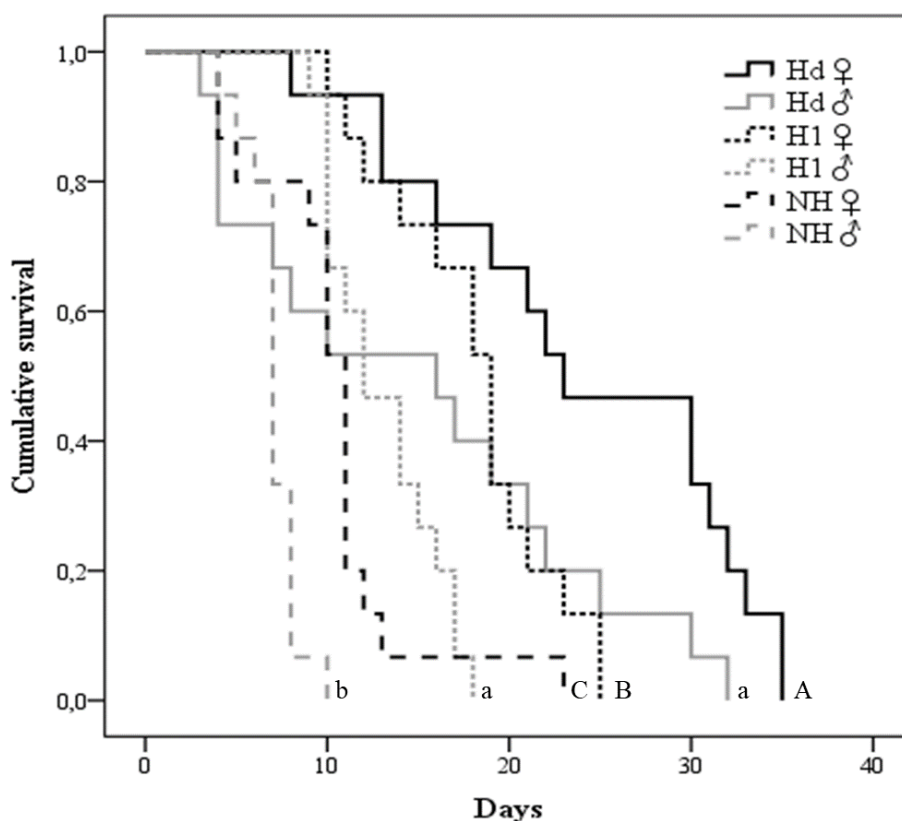


FIGURE 1. Survival curve of females and males of *Anisopteromalus calandrae* in treatments with and without honey. *Curves identified with uppercase letters for females and lowercase letter for males differed between treatments by the log rank test ($p < 0.005$). Legend: Hd: fed with honey daily; H1: fed with honey only on the first day; NH: Treatment without honey.

The maximum reproductive potential of females was observed in the first 12 days of life both for those receiving honey daily and those fed only on the first day of life. For those not fed, maximum reproductive potential occurred up to nine days, with marked and progressive decrease afterwards (Fig. 2). In all treatments, females of *A. calandrae* oviposited in the first 24 hours of exposure to *L. serricornis* cocoons. The peak in the number of offspring (on average 5.4 parasitoids/female) occurred on the eighth day in the Hd treatment. In H1, the peak was on the ninth day (on average 6.0 parasitoids/female) and in the NH treatment on the third day of exposure (on average 5.0) (Fig. 2).

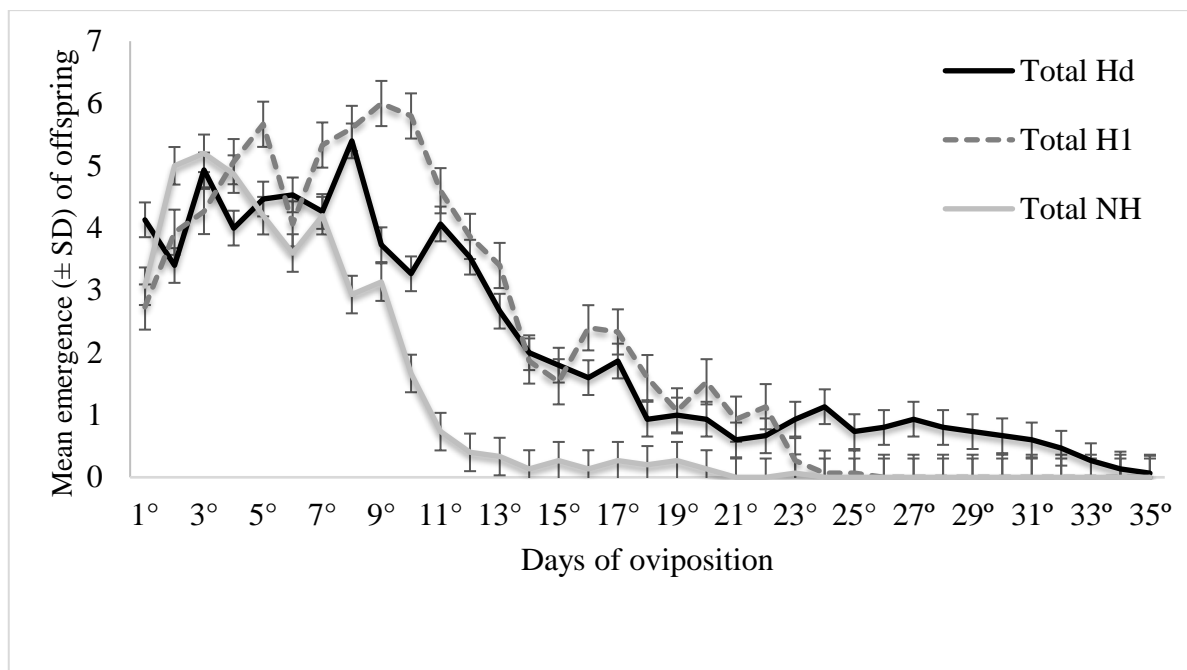


FIGURE 2. Mean number of individuals (\pm SD) emerged from eggs placed on *Lasioderma serricorne* larvae in the days of larval exposure to *Anisopteromalus calandrae* couples. Legend: Hd: fed with honey daily; H1: fed with honey only on the first day; NH: Treatment without honey.

Considering that the greatest reproductive potential occurred in the first 12 days of adult females and decreased similarly in the following days in all three treatments, this period was selected for comparison. Difference was observed between parasitism rate and mean emergence per female between the different treatments (Table 2). In all treatments, the sex ratio of the offspring was female-biased, and NH treatment obtained the highest number of females, differing from the others. (Table 2).

TABLE 2. Mean parasitism rate/per larvae offered (\pm SE), mean number of offspring per live female (\pm SE), and sex ratio up to the 12th day of evaluation of *Anisopteromalus calandrae* in the treatments with honey daily (Hd), with honey on the first day of emergency (H1) and without honey (NH) feeding with a daily offer of 10 cocoons/couple of *Lasioderma serricorne*. N = 15 couples per treatment.

	Hd	H1	NH
Total cocoons offered	1800	1740	1500
Parasitism rate %	41.4 \pm 1.81ab	48.8 \pm 2.78 a	36.6 \pm 4.33 b
Offspring/live female	4.0 \pm 0.18 a	5.0 \pm 0.27 a	3.6 \pm 0.43 b
Offspring's sex ratio	0.58 \pm 0.21b	0.51 \pm 0.21 b	0.63 \pm 0.22 a

Different lowercase letters on the line differ significantly by Kruskal-Wallis followed by Bonferroni ($p < 0.05$).

Influence of honey feeding on the size of *A. calandrae* adults

Male and female offspring of the group that was fed with honey presented longer total body length (TL) than those descendants of adults without food (Table 3). For emerged females, there was no significant differences in the other measurements. To males, besides total length, the distance between antennae was greater in those whose progenitor fed with honey daily, differing from the other treatments. Significant difference was not registered in other parameters (Table 3).

TABLE 3. Mean size (mm) (\pm SD) of *Anisopteromalus calandrae* adults (females ♀ and males ♂) emerged from treatments with honey daily (Hd), with honey on the first day of emergency (H1) and without honey (NH) parasitizing *Lasioderma serricorne*. N = 40.

Treatments	TL	HLTL	HFL	FL	Dan	
♀	Hd	3.23 \pm 0.190 a	0.60 \pm 0.048 a	0.34 \pm 0.048 a	1.88 \pm 0.099 a	0.05 \pm 0.008 a
	H1	3.29 \pm 0.113 a	0.60 \pm 0.054 a	0.34 \pm 0.029 a	1.84 \pm 0.088 a	0.05 \pm 0.006 a
	NH	3.13 \pm 0.153 b	0.62 \pm 0.055 a	0.32 \pm 0.038 a	1.92 \pm 0.083 a	0.05 \pm 0.006 a
♂	Hd	2.76 \pm 0.105 a	0.51 \pm 0.028 a	0.28 \pm 0.034 a	1.68 \pm 0.065 a	0.06 \pm 0.004 a
	H1	2,75 \pm 0.143 a	0,51 \pm 0.018 a	0,26 \pm 0.027 a	1,64 \pm 0.076 a	0,05 \pm 0.004 b
	NH	2.59 \pm 0.222 b	0.51 \pm 0.041 a	0.26 \pm 0.027 a	1.66 \pm 0.110 a	0.04 \pm 0.004 b

Legend: Hd: fed with honey daily; H1: fed with honey on the 1st day of life; NH: treatment without honey, TL: total body length; HLTL: hind leg tibia length; HFL: hind femur length; FL: forewing length, and DAN: distance between antennae. Different lowercase letters in the column for each sex differed statistically by Kruskal-Wallis followed by Dunn ($p < 0.05$).

3.4 DISCUSSION

Feeding with honey or the absence of food during the adult phase of *A. calandrae* directly influenced longevity and reproductive capacity. Longevity doubled in individuals fed with honey in our study, with some individuals surviving for up to 35 days. This effect was also observed for other parasitoids, such as *Cotesia vestalis* (Haliday) and *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) (Hym., Braconidae), who lived for only two days without food and for up to 17 days when fed with honey (Mitsunaga et al., 2004).

Mean longevity without food had already been recorded for *A. calandrae* parasitizing *L. serricorne* (Zilch et al., 2017) and the authors observed differences

between sex (11.3 ± 4.74 days for females and 9.2 ± 5.45 days for males), corroborating the data of the present study. The difference in longevity between males and females observed for *A. calandrae* in our study was also observed for other species of pteromalids, such as *Pachycrepoideus vindemmiae* Rondani (Hym., Pteromalidae), parasitoid of *Drosophila suzukii* Matsumura (Dip., Drosophilidae), in which the females can survive for up to 40.4 ± 3.4 days, while males live for 24.5 ± 3.1 days when fed with honey (Bezerra da Silva et al., 2019).

Considering that *A. calandrae* parasites several species of coleopteran pests of stored products (Baur et al., 2014), and the female performs the control of these organisms, the trait of living longer can be a factor of importance for parasitoids used in programs of biological control as it can make the intervals between one and another release longer, reducing the number of releases and, consequently, the cost. According to Aung et al. (2010), the longer the survival time in the environment, the greater the chance of finding larvae for oviposition. If we consider that the average longevity of females was around 21 days for those who received honey, and eggs were recorded in up to 23 days on average or more, the action of the parasitoid can be considered prolonged, as in this period the parasitoid also occurs. of the host even if the eggs are not all viable. Thus, the parasitoid remains active in the same environmental conditions in which the host completes its cycle in a similar period of time (27 °C) (Antunes; Dionello, 2010).

We realize that females that were not fed produced a smaller number of offspring and, moreover, concentrated oviposition in the early days of emergency. On the other hand, females that fed on honey, in addition to producing more offspring, distributed them over the days and for a longer period. This could be because in holometabolic insects, such as parasitoids, adipose tissue accumulates during larvae feeding and passes to the adult stage, where it is metabolized for somatic maintenance or egg production (Ellers et

al, 1998). According to Benzemer et al (2005), when adult parasitoids have a larger body size, the availability of fat is more easily available for reproduction and survival functions for a longer period of adulthood. However, in the absence of a carbohydrate source such as honey, female parasitoids use fat stores for metabolic maintenance functions in the body, which can be used in egg production but for a comparatively shorter period. Thus, in places such as tobacco storage where no food is naturally available to adults, feeding them before release can be an advantage.

We observed that the adults that were fed only on the first day (H1) did not differ from those that were fed throughout life, showing that having contact with a food source on only one occasion would already be enough to supply and leverage its action in controlling the host. On the other hand, all treatments in this study indicated a good condition for the emergence of parasitoids regarding to the sex ratio observed, as according to Navarro (1998), the maintenance of sex ratio with values higher than 0.5 is fundamental for the quality of the offspring generated.

Thus, in an applied context, the increase in longevity, reproductive capacity, and a longer reproductive period of parasitoids can decrease the frequency of their release in storage environments (McDougall; Mills, 1997). In addition, honey feed for adult parasitoids is easy to offer in rearing and is economically viable compared to other factors that can influence the longevity of species of natural enemies, such as temperature, for example (Zache, 2012).

Regarding the body size measured, it was observed that females and males fed with honey were larger, and this was also reflected in the size of the male's head indicated by the greater distance between the antennae. Larger body size observed in couples can be an important factor for parasitoids that are used in IPM programs, this is because, in general, larger parents tend to generate a larger number of offspring and of larger size,

considering the same host conditions (Najafpour *et al.*, 2017). Although in this study we have not directly assessed this aspect, this idea is reinforced as studies have shown that the reproduction rate of large females of *A. calandreae* was twice higher than that small females and larger males mated twice more than smaller males (Ji *et al.*, 2004). In fact, there are records that larger male parasitoids have greater fitness and competitive advantage over smaller males (Beukeboom, 2018). According to Sagarra *et al.* (2001), both male and female parasitoids that are larger in size are expected to live longer, be more fertile, and mate more successfully. On the other hand, Kasamatsu; Abe (2015) observed that females of *A. calandreae* with larger size parasitizing *Callosobruchus chinensis* (L.) (Coleoptera., Bruchidae) produced a greater number of male offspring at the end of the oviposition period, suggesting that larger females, which have more resources for reproduction and produce a greater number of offspring, are more prone to undergo sperm depletion and generate males at the end of the cycle. As the sex ratio male-biased was not observed in our study, this does not seem to have occurred with *A. calandreae* parasitizing *L. serricornis*.

As *A. calandreae* is a parasitoid that can reproduce by arrhenotokous parthenogenesis (Melo *et al.*, 2012), mating under laboratory conditions is very important to obtain adequate female production. Thus, the presence of also larger males, fed with honey, can have a positive and direct influence on reproduction, longevity and the ability to control the host.

The other aspect is that there are no food sources within storage environments for parasitoids, different from crops, where you can add floral resources to optimize the action of parasitoids (Heimpel; Jervis, 2005). Also, it is known that the search for food expends energy and slows the demand for hosts, so, previous feeding with honey in laboratory production can increase the survival of adult parasitoids, promoting offspring

of larger body size, more competitive and more fertile, increasing their action in the control of target pests.

The results obtained in this study highlight important aspects related to the species *A. calandrae* parasitizing *L. serricorne*. The principal is that in mass rearing, the increase of honey diet for *A. calandrae* adults provides a life span up to 2.3-fold longer in relation to non-fed adults and increases by 1.8-fold the number of offspring generated. Thus, we consider that to optimize rearing and release and, to ensure efficient control, in mass rearing's honey should be offered daily and, for those who will be released, honey should be offered on the first day of life, which can be done in the pot used to transport parasitoids for release.

3.5 Acknowledgements

To the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for the doctoral scholarship granted to the first author and MCTI/CT-Agro/CNPq 38/2013. To the company Japan Tobacco International (JTI) for the financial support and material provided to conduct the experiment.

3.6 References

AGROFIT - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. [Base de dados] 2020. (Consulta de praga/doença). Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/acesso-a-informacao/cartas-de-servico/defesa-agropecuaria-agrotoxicos/agrotoxicos-registrados-no-agrofit>>. Acesso em: 15 nov. 2020.

AHMED, K. S. Studies on the ectoparasitoid, *Anisopteromalus calandrae* How. (Hymenoptera: Pteromalidae) as a biocontrol agent against the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (Fab.) in Saudi Arabia. *Journal of Stored Products Research*. Oxford, v. 32, p. 137-140, 1996.

ANTUNES, L. E. G.; DIONELLO, R.G. Bioecologia de *Lasioderma serricorne* Fabricius 1792 (Coleoptera: Anobiidae). Artigo em Hypertexto. 2010. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2010_2/Lasioderma/index.htm>. Acesso em: 3 de set. de 2017.

ATHIÉ, I.; PAULA, D. C. *Insetos de grãos armazenados aspectos biológicos e identificação*. Livraria Varela, 2ª ed., 2002. 244 p.

AUNG, K. S. D.; TAKASU, K.; UENO, T. e TAKAGI, M. Effect of Temperature on Egg Maturation and Longevity of the Egg Parasitoids *Ooencyrtus nezarae* (Ishii) (Hymenoptera: Encyrtidae). *Journal Faculty of Agriculture*. Kyushu, v.55 n. 1, p. 87–89, 2010.

AYRES, M.; AYRES, M. Jr; AYRES, D. L.; DOS SANTOS, A. S. *BioEstat 5.0 aplicações estatísticas na área das ciências biológicas e médicas*. Belém: Sociedade Civil Mamirauá/CNPq, 324 p., 2007.

BAUR, H.; KRANZ-BALTENSPERGER, Y.; CRUAUD, A. RASPLUS, J. Y.; TIMOKHOV, A. V.; GOKHMAN, V. E. Morphometric analysis and taxonomic revision of *Anisopteromalus* Ruschka (Hymenoptera: Chalcidoidea: Pteromalidae) – an integrative approach. *Systematic Entomology*, Londres, 39, 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*, Dordrecht 54, p. 29–34, 2010.

BENDER E.; JAHNKE S. M.; KÖHLER A. Chemotaxic Responses of *Anisopteromalus calandrae* (Howard) (Hymenoptera: Pteromalidae) to Odors of Larvae, Pupae, and the Diet of *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (Coleoptera: Ptinidae). *Neotropical Entomology*, v.49, n. 2, p. 171-178, 2019. <https://doi.org/10.1007/s13744-019-00742-0>

BENKHELLAT, O.; JALOUX, B.; MOALI, A.; CHEVRIER, C.; MONGE, J. P. Host discrimination and egg laying in *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) ectoparasitoid of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Stored Products Research*, Oxford, v. 61, p. 48-53, 2015.

BENZEMER, T. M.; HARVEY, J. A.; MILLS, N. J. Influence of adult nutrition on the relationship between body size and reproductive parameters in a parasitoid wasp. *Ecological Entomology*, New York, v.30, p. 571–580, 2005.

BEUKEBOOM, L. W. Size matters in insects – an introduction. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, Edinburgh, v. 166, p. 2-3, 2018.

BEZERRA DA SILVA, C. S.; PRICE, B. E.; SOOHOO- HUI, A.; WALTON, V. M. Factors affecting the biology of *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae), a parasitoid of spotted-wing drosophila (*Drosophila suzukii*). *Plos One*, San Francisco, v.14, n. 7, p. 1-20, 2019.

ELLERS, J.; VAN ALPHEN, J. J. M.; SEVENSTER, J. G. A field study of size–fitness relationships in the parasitoid *Asobara tabida*. *Journal of Animal Ecology*, v. 67, p. 318–324, 1998.

HARVEY, J. A.; CLOUTIER, J.; VISSER, B.; ELLERS, J.; WÄCKERS, F. L.; GOLS, R. The effect of different dietary sugars and honey on longevity and fecundity in two hyperparasitoid wasps. *Journal of Insect Physiology*, Amsterdam, v. 58, p. 816–823, 2012.

HEIMPEL, G. E.; JERVIS, M. A. Dos floral néctar improve biological control by parasitoids? In: *Planta-provided food na planta-carnivore mutualism*. WÄCKERS, F.; VAN RIJN, P.; BRUIN, J. (eds). Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2005, pp 267-304.

JI, J.; CHOI, W. I.; RYOO, M. I. Fitness and sex allocation of *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae): relative fitness of large females and males in a multi-patch system. *Annals of the Entomological Society of America*, Oxford, v. 97, n. 4, p.825-830, 2004.

KASAMATSU, E.; ABE, J. Influence of body size on fecundity and sperm management in the parasitoid wasp *Anisopteromalus calandrae*. *Physiological Entomology*, Oxford, v. 40, p. 223–231, 2015.

LI, Y., DICKENS, J. C., STEINER, W. W. M. 1992. Antennal olfactory responsiveness of *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae) to cotton plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, v. 18, p. 1761–1773. <https://doi.org/10.1007 / BF02751101>

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

LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. B.; HENNING, A. A.; HENNING, F. A. *Manejo integrado de Grãos e Sementes Armazenadas*. Comunicado técnico, Embrapa, Brasília, DF. 2015. 84 p.

MARSHAL, S.; AGAMY, E.; ABOU-BAKR, H.; EL-WAHAB, T.E.A.; EL BEHERY, H. Effect of honeybee products, as food supplements, on the biological activities of three *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, Cairo, p. 29-46, 2019. doi.org/10.1186/s41938-019-0149-1

MCDOUGALL, S. J.; MILLS, N. J. The influence of hosts, temperature and food sources on the longevity of *Trichogramma platneri*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, Edinburgh, v. 83, p. 195 - 203, 1997.

MELO, G. A. R.; AGUIAR, A. P.; GARCETE-BARRETT, B. R. Hymenoptera In: RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R.; CARVALHO, C. J. B.; CASARI, S. A.; CONSTANTINO, R. *Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia*. Ribeirão Preto: Holos, Editora, 2012. 810 p.

MITUNAGA, T.; SHIMODA, T.; YANO, E. Influence of food supply on longevity and parasitization ability of a larval endoparasitoid, *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae). *Applied Entomology and Zoology*, Tokyo, v. 39, p. 691–697, 2004.

NAJAFPOUR, P.; RASEKH, A.; ESFANDIARI, M. Maternal rearing condition and age affect progeny fitness in the parasitoid wasp *Lysiphlebus fabarum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, Edinburgh, v. 166, p. 24–31, 2018.

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, 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*, Dordrecht, v. 61, p. 379–386, 2016.

OZELAME, A. L.; NÖRNBERG, S. D.; NAVA, D. E. Exigências térmicas e número de gerações de *Anisopteromalus calandrae*, em *Sitophilus zeamais*. 12º SICONBIOL, Simpósio de Controle Biológico - 18 a 21 de julho de 2011.

SAEED, M. B. E. E. M.; LAING, M. D.; MILLER, R. M.; BANCOLE, B. Ovicidal, larvicidal and insecticidal activity of strains of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin against the cigarette beetle, *Lasioderma serricornis* Fabricius (Coleoptera: Anobiidae), on rice grain. *Journal of Stored Products Research*, Oxford, v. 74, p. 78 – 86, 2017.

SAGARRA, L. A.; VINCENT, C.; STEWART, R. K. Body size as an indicator of parasitoid quality in male and female *Anagyrus kamali* (Hymenoptera: Encyrtidae). *Bulletin of Entomological Research*, London, v. 91, p. 363–367, 2001.

SAGLAM, O.; EDDE, P. A.; PHILLIPS, T. W. Resistance of *Lasioderma serricornis* (Coleoptera: Anobiidae) to Fumigation with Phosphine. *Journal of Economic Entomology*, Oxford, v. 108, n. 5, p. 2489-2495, 2015.

SALMAH, M.; BASRI, M. W.; IDRIS, A. B. Effects of Honey and Sucrose on Longevity and Fecundity of *Apanteles metesae* (Nixon), a Major Parasitoid of the Oil Palm Bagworm, *Metisa plana* (Walker). *Sains Malaysiana*, Bangi, v. 41, n.12, p.1543–1548, 2012.

SITTHICHAIYAKUL, S. & AMORNSAK, W. Host-substrate preference of *Theocolax elegans* (Westwood) (Hymenoptera: Pteromalidae), a larval parasitoid of the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae). *Agriculture and Natural Resources*, Bangkok, v. 51, p. 36-39, 2017.

SMITH, L. Host-size preference of the parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Hym.: Pteromalidae) on *Sitophilus zeamais* (Col.: Curculionidae) larvae with a uniform age distribution. *Entomophaga*, Paris, v. 38, n. 2, p. 225-233, 1993.

SOUZA, A. R.; CANDELARIA, M. C.; BARBOSA, L. R.; WILCKEN, C. F.; CAMPOS, J. M.; SERRÃO, J. E.; ZANUCIO, J. C. Longevity of *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae), with various honey concentrations and at several temperatures. *Florida Entomologist*, Lutz, v. 99, n. 1, p. 33-37, 2016.

TIMOKHOV; A. V.; GOKHMAN, V. E. Host preferences of parasitic wasps of the *Anisopteromalus calandrae* species complex (Hymenoptera: Pteromalidae). *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae*, Praga, v.67, p. 35–39, 2003.

ZACHE, B. *Técnicas de criação em laboratório e dispersão do parasitoide de pupas Trichospilus diatraeae (Hymenoptera: Eulophidae) no campo*. 2012. 123 f. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP–Campus de Botucatu. 2012.

ZILCH, K. C. F.; JAHNKE, S. M.; KÖHLER, A. BENDER, E. Effect of diet, photoperiod and host density on parasitism of *Anisopteromalus calandrae* on the tobacco beetle and biological parameters of the parasitoid. 2017. 100 f. *American Journal of Plant Sciences*, New York, v. 8, n. 12, p. 3218-3232, 2017.

4 ARTIGO 2

Search ability of *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hymenoptera: Pteromalidae) for larvae of *Lasioderma serricorne* at different depths and over time in stored tobacco*

*Artigo formatado conforme as normas e enviado para a revista Biological Control

Search ability of *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hymenoptera: Pteromalidae) for larvae of *Lasioderma serricorne* at different depths and over time in stored tobacco

Kássia Cristina Freire Zilch^{ab*}, Simone Mundstock Jahnke^a; Andreas Köhler^b

^a Laboratory of Biological Control of Insects. Department of Plant Health. Federal University of Rio Grande do Sul - UFRGS. Av. Bento Gonçalves, 7712, Porto Alegre, RS, Brazil.

^b Entomology Laboratory, University of Santa Cruz do Sul - UNISC. Av. Independência, 2293. Santa Cruz do Sul, RS, Brazil.

* Corresponding author

E-mail addresses: kassiazilch@gmail.com (K. C. F. Zilch), mundstock.jahnke@ufrgs.br (S. M. Jahnke), andreas@unisc.br (A. Köhler).

ABSTRACT

During storage time of agricultural products, the attack of insect pests may cause great losses. In tobacco, it occurs in the producer's warehouses and in processing companies and one of the species that cause damage is *Lasioderma serricorne*. Its control is usually done with synthetic chemical insecticides and a single active ingredient. Because of this, the demand for efficient alternatives is increasingly required. Thus, the aim of this study is to evaluate the search ability of a parasitoid, *Anisopteromalus calandrae*, for larvae of *L. serricorne* in tobacco. Couples of *A. calandrae* were released into PVC tubes (50 x 10 cm) filled with crushed dry tobacco on plates containing 20 larvae of *L. serricorne* at four depths (10, 20, 30, and 40 cm). In addition, bales of tobacco were placed in tissue bags. Six plates contained 30 larvae of *L. serricorne* and 50 couples of *A. calandrae* were released in each bag. After one, three, or seven days), the plates were removed and kept in an air-conditioned room (28 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ RH, and photophase of 12 h) to wait for the offspring. In all bioassays, *A. calandrae* was able to find and parasitize the larvae offered. In the experiment in the tubes, the parasitism level was up to 84% in the larvae closest to the surface, decreasing gradually as the depth increased. In bales, the longer the larvae were exposed to the parasitoid, the higher the rate of infestation control. This shows that *A. calandrae* is able to find and parasitize larvae of *L. serricorne* in tobacco storage environments.

Keywords: Larval parasitoid; stored products; biological control.

4.1 Introduction

Anisopteromalus calandrae (Howard) (Hym.: Pteromalidae) has a cosmopolitan distribution and is a solitary idiobiontic ectoparasitoid. Attacks larvae at the last instar, prepupae and pupae, only when they are inside a cocoon or grain, of coleopteran pests of stored products, including *Sitophilus oryzae* L. (rice weevil), *Sitophilus granarius* (L.) (granary weevil) and *Sitophilus zeamais* Motschulsky (maize weevil) (Col.: Curculionidae); *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Col.: Bostrichidae) (lesser grain borer) and *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (Col.: Ptinidae) (cigarette beetle) (Menon et al., 2002; Belda and Riudavets, 2010; Benkhellat et al., 2015).

Lasioderma serricorne is a primary pest, commonly known as tobacco beetle. However, despite its popular name, related to the main crop in which it causes damage, it also attacks a wide variety of stored products such as soybean, flour, cocoa, dry fruits and oilseed seeds (Hagstrum and Subramanyam, 2009). In tobacco, their larvae feed on dry leaves, damaging and depreciating the product, from the storage of leaves in the producer's warehouses, to the cigarettes and cigars that are processed (Saglam et al., 2015). The female of *L. serricorne* lays isolated eggs in the middle of the substrate, on which, later, the larvae will feed. (Loeck, 2002). According to Evans (1981), the larva has four to six instars and, before pupating, it builds a cocoon around its own body using the substrate where it is found. Inside the cocoon, the larva advances to the pupal stage, which lasts about nine days at 32-35 °C. The adult stays for a few days inside the cocoon and, as soon as it leaves, avoids the light by hiding in cracks (Evans, 1981).

Considering the limitations of chemical control and the growing concern of society to minimize the use of these products due to their toxicity, research has investigated new strategies, including biological control also in stored products (Saeed et al., 2017).

For use in storage of agricultural products, there are still no biological control agents for beetle pest species commercialized in Brazil. However, some studies on the potential parasitoids have been carried out, such as the made by Inoue and Parra (1998), which demonstrated the potential of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae) to control *Sitotroga cerealella* Olivier (Lep.: Gelechiidae) in stored corn. This parasitoid, despite being used for field release, is capable of parasitizing eggs up to 40 cm deep in grain piles. Flinn et al. (1996) also demonstrated that after an incremental release of *Theocolax elegans* (Westwood) (Hym.: Pteromalidae), there was a reduction of about two to three times the cost of pesticide applications against *R. dominica* in stored grains. A study also demonstrated that *A. calandrae* individuals were able to locate the host *S. granarius* ten meters from the release site, and *Lariophagus distinguendus* (Forster) (Hym., Pteromalidae), 15 m from the release site in empty facilities of grain storage (Niedermayer et al., 2016). For parasitoids to be successful in pest population control, they must be able to find hosts over long distances and at various depths of stored products (Steidle and Schöller, 2002; Adarkwah et al., 2012).

Tobacco, specifically is stored first in piles of loose leaves in sheds and storerooms of producers and soon after it is classified, baled (bales of approx. 50 kg), and transported to processing companies. There, the leaves are packed in bales or crushed and packed in cardboard boxes, and are stored in warehouses (average of 5,000 m² of area) (Souza Cruz, 2010). However, there are few records of studies of the search ability by parasitoids in the stored tobacco environment.

Therefore, this study aims to investigate the ability of the female of *A. calandrae* to search for *L. serricorne* larvae at different depths and over time of stored tobacco.

4.2 Material and methods

Insect rearing

The insects rearing was kept at the Entomology Laboratory of the University of Santa Cruz do Sul - UNISC in Santa Cruz do Sul, in an air-conditioned room at $28 \pm 2^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ RH, and a 12-hour photoperiod.

Lasioderma serricorne

The host *L. serricorne* was obtained from direct collections made in the dry tobacco of producers in the municipality of Santa Cruz do Sul and its surrounding region and from traps installed in the tobacco receiving area at the company Japan Tobacco International (JTI) in Santa Cruz do Sul, RS ($29^\circ 45' 01.3''$ S $52^\circ 25' 38.3''$ W).

The larvae of *L. serricorne* were fed with a dry diet based on a mixture of wheat flour (900 g), brewer's yeast (50 g), and crushed dry tobacco (50 g). Approximately five centimeters of diet was stored in plastic pots (2.7 liters) with an adapted lid lined with white organza crystal fabric for aeration. Around 100 couples were put over the feed for approximately five days to lay the eggs, after which they were removed, and the diet was homogenized.

Approximately 20 days after the adults were removed from the diet, it was possible to observe the last instar larvae or prepupae (with cocoon formation) at the bottom of the pot. Part of these larvae were used in the bioassays, and the rest remained in the pots to obtain adults. Before performing the bioassays, some cocoons from the same batch were opened to confirm that the host was in the larva or prepupa stage. The adults were transferred using an adapted vacuum cleaner to other pots containing a new diet to continue maintaining the rearing.

Anisopteromalus calandrae

The individuals of *A. calandrae* were obtained from the host *S. zeamais*, that was infesting dry and stored corn, from farmers in the municipality of Candelária, RS (29°29'39.99" S 52°46'24.16" W) and taken to laboratory to start the rearing. The confirmation of the species was made by Dr. Marcio Luiz de Oliveira, Curator of the INPA's Invertebrate Collection.

Around 30 couples of *A. calandrae* remained in pots (1200 ml) containing approximately 300 larvae or prepupae of *L. serricorne*, inside the cocoon, and fed with honey droplets, placed on the inner wall of the pots. The pots were closed with a lid adapted with fabric for ventilation.

After 12 to 15 days, the offspring of parasitoids emerged. Part of the adults were used in the bioassays and part was transferred to new pots containing host larvae to maintain the rearing.

Bioassays

Search ability of *A. calandrae* for hosts at different depths of dry tobacco in tubes

PVC tubes (10 cm diameter/50 cm height) were filled with 1 kg of dried and chopped tobacco leaves. At four different depths (10, 20, 30, and 40 cm), plates were placed containing 20 last-instar larvae (with cocoon formation) of *L. serricorne*. Only one depth per tube was tested. The plates were adapted with a fine mesh screen at the top (0.3 cm) (Fig. 1A) to prevent the larvae escaping from the plates, but allowing the parasitoid to pass through. For the 40 cm depth, the plates containing the larvae inside the cocoons were placed at the bottom of the tube and a layer of tobacco was deposited over it, without pressure. For the depth of 30 cm, a layer of tobacco of 10 cm was placed in the tube, and

on this layer, a plate containing the cocoons of *L. serricornis* was deposited. On top of this plate, a new layer of tobacco was placed covering the entire depth of the tube and so on to all other depths (Figs. 1B and 1C). To ascertain the host's natural viability, there was used three tubes in which the same procedures were performed, without the release of parasitoids (Control),

In the upper opening, 12 newly emerged (24 - 48 h) and paired parasitoid couples were released per tube. After the release, the tubes were closed with organza fabric, fixed with rubber bands and adhesive tape (Fig. 1D), and placed in an air-conditioned room ($28 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\% \text{ RH}$, and 12-hour photoperiod) for five days (Fig. 1E). After that period, the tubes were opened, the plates removed, and the cocoons with the larvae transferred to containers (120 ml), which were labeled and covered with tissue and kept in the air-conditioned room for later counting of the offspring of the parasitoids or the hosts. Each treatment consisted of 20 replications.

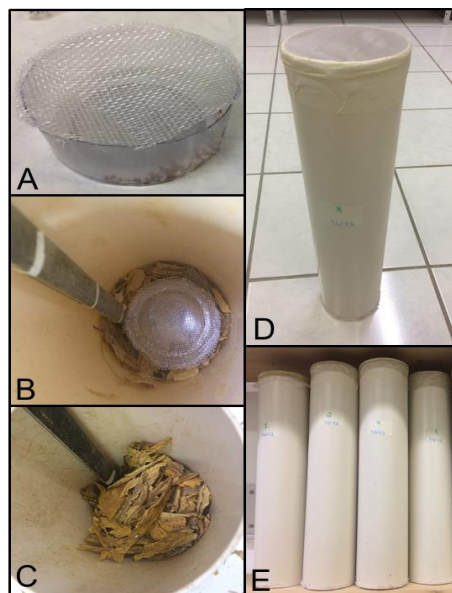


Fig 1. Steps taken during the assembly to evaluate the search ability of *Anisopteromalus calandrae* at different depths of tobacco. Plate adapted with a screen for the passage of parasitoids (A); interior of the PVC tube showing the disposition of the plate in one of the evaluated depths (B); inside of the tobacco-filled PVC tube (C); closed PVC tube with organza fabric for ventilation and preventing the escape of parasitoids (D); tubes stored in an air-conditioned room (E).

Search ability of *A. calandrae* for hosts at different depths and in bales of dry tobacco

Twenty-four bales of 50 kg tobacco, approximately 40 cm high, 90 cm long and 60 cm wide (standard for storage tobacco companies) of the Virginia type (with low nicotine concentration) were used. (Fig. 2 A). Each bale was placed in an organza-type bag (2 m long/1.5 m wide) (Fig. 2 B and D). These bales were placed in a tobacco storage warehouses of a tobacco industry in the municipality of Santa Cruz do Sul, RS, Brazil. The bales did not undergo any type of sanitary treatment prior to the bioassay. They were used as they were stored in the warehouse.

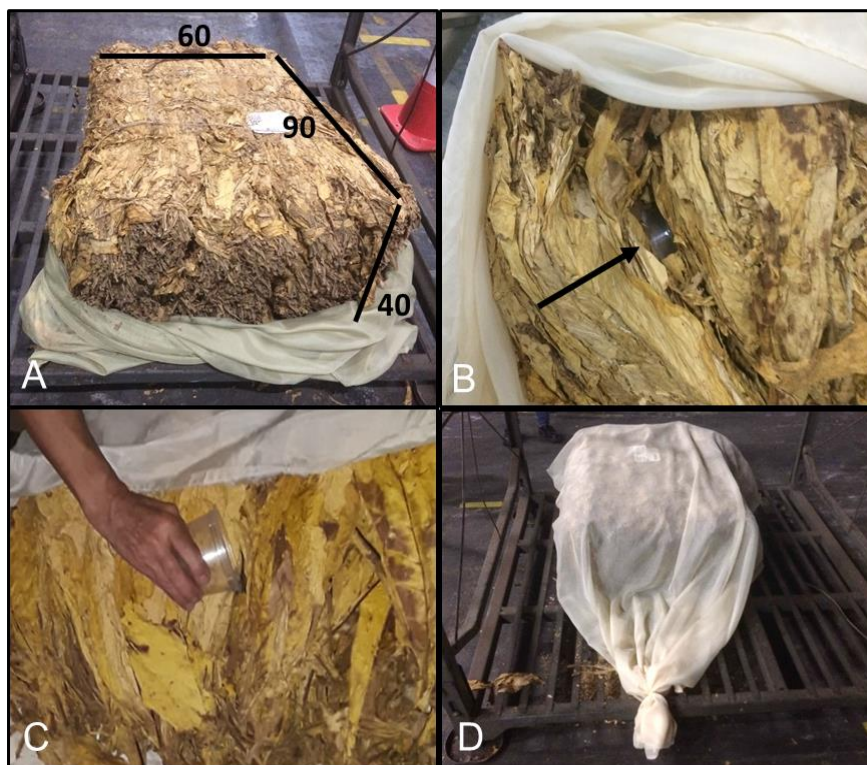


Fig 2. Bale of tobacco used in the usual storage dimensions (cm) (A); detail of the placement of the plate containing the larvae of *Lasioderma serricorne* in the bale packed in an organza-type fabric bag (B); release of parasitoids inside the bag (C); closed tissue bag after releasing parasitoids inside (D).

Six plates containing 30 cocoons with larvae or prepupae of *L. serricorne* each, covered with a mesh, were placed inside each bale of tobacco making two rows of 3 plates

at a depth of 20 cm. The plates were approximately 20 cm from the edge, and a 20cm from one another (Fig. 3). To place the plates, the string around the bale was removed and the tobacco leaves push away. After, the bale was closed again and the string replaced.

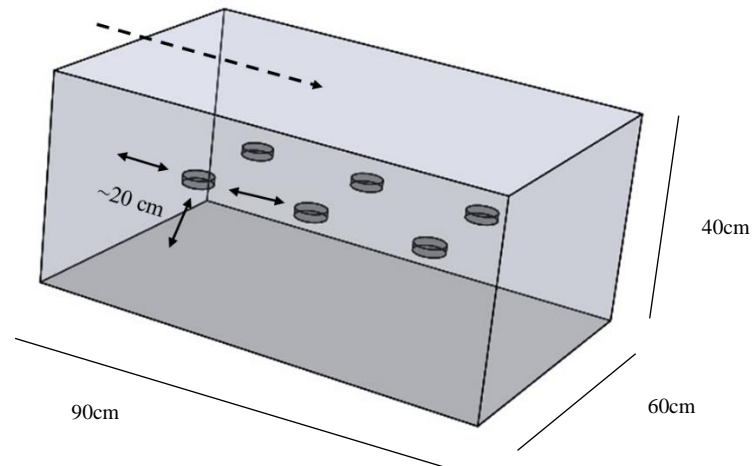


Fig. 3. 3D sketch of the layout of plates within the tobacco bale. Dotted arrow indicates the location of parasitoid release.

Inside each bag, 50 newly emerged (24 - 48 h) couples of *A. calandreae* were released over the bale, with plates already placed in the bales (Fig. 2 C) and the bag was closed, preventing the escape of parasitoids (Fig. 2 D). The plates containing larvae were exposed to parasitism during three different periods: one, three, and seven days. There were six replications (bales) for each exposure time, each considering six pseudo-replications (plates with 30 larvae). The control consisted of six bales in which the same procedures and periods were performed, without the release of parasitoids, to assess the natural mortality of *L. serricorne*.

After each exposure periods, the plates of the six bales from a specific period, were removed and the cocoons were transferred to closed pots containing tissue and kept in an acclimatized room, in the same ambient conditions as the rearing, to register the offspring.

Statistical analysis

In the control treatments, in the two bioassays were evaluated:

Mean emergency of *L. serricornes* = total number of *L. serricornes* emerged/ number of replications

Natural mortality de *L. serricornes* = number of *L. serricornes* not emerged in the control treatment.

In the other treatments, in the two bioassays, the following parameters were evaluated:

Mean emergency of *A. calandrae* = total number of *A. calandrae* emerged/ number of replications

Apparent parasitism = number of emerged parasitoids/total number of emerged insects x 100

Sex ratio of *A. calandrae* = number of females/total number offspring

Number of paralyzed larvae (which were not parasitized, but death) = n° of larvae offered – n° of emerged parasitoids - n° of emerged *L. serricornes* - average value of natural mortality of *L. serricornes*

Action of *A. calandrae* = Apparent parasitism + n° of paralyzed larvae

Mean data were tested for normality by Shapiro-Wilk and homoscedasticity by the Hartley test, and subjected to analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey or the Kruskal Wallis test, followed by Dunn. A statistical significance level of 5% was adopted. The differences in the proportion of emerging females (reflecting the sex ratio of the group) in each treatment were tested by χ^2 of heterogeneity. Spearman's correlation coefficient was used to assess the correlation between the mean number of *A. calandrae* emerged by depth of *L. serricornes* larvae location in tobacco. For the analyses, the software Bioestat 5.0 was used (Ayres et al., 2007).

4.3 Results

Search ability of *A. calandrae* for hosts at different depths of dry tobacco in tubes

Anisopteromalus calandrae females were able to find, paralyze and parasitize the larvae at all depths evaluated. However, the apparent parasitism and the mortality rate of *L. serricorne* by the action of *A. calandrae* females (by paralyzation and parasitism) decreased according to the depth (Table 1). The total mean parasitism rate per female was 28.0, 19.9, 15.9 and 7.4% at the depths of 10, 20, 30, and 40, respectively, with a significant difference between rates ($H = 57.1241$, $p < 0.05$). The average mortality of *L. serricorne* in the treatments was 98.7%. The host's natural mortality (in controls) was 11.1%.

The emergence of *L. serricorne* between the different depths tested with the presence of parasitoids did not differ (Table 1). However, the emergence of *L. serricorne* was significantly higher in control (17.7%) than in treatments (Table 1). In the control treatment, between the depths, the average emergence of *L. serricorne* did not show any difference (Table 1).

There was also a significant difference in the emergence of parasitoids between all depths (Tab. 1). The sex ratio of the offspring was female biased in all treatments (10 cm = 0.74, 20 cm = 0.81, 30 cm = 0.71, and 40 cm = 0.75), with no significant difference between the values ($\chi^2 = 1.686$, $df: 57$, $p > 0.05$).

Table 1. Mean (\pm SE) of adults of *Anisopteromalus calandrae* and *Lasioderma serricorne* that emerged at the four depths evaluated and of apparent parasitism and mortality (%) of larvae of *Lasioderma serricorne* by the action of *Anisopteromalus calandrae* (Parasitized + paralyzed) at different depths and in the control treatment (N=20 cocoons and 12 females per replication).

Depth (cm)	Emergency			Mortality of <i>L. serricorne</i> %		Apparent parasitism%
	<i>Anisopteromalus calandrae</i>	<i>Lasioderma serricorne</i>		By the action of <i>A. calandrae</i>	Control	
		Treatment	Control			
10	16.85 \pm 0.493 a	0.20 \pm 0.091 aB	17.61 \pm 0.280 aA	87.20 \pm 1.956 a	11.90 \pm 1.400 a	84.25 \pm 0.023 a
20	11.95 \pm 0.670 b	0.20 \pm 0.117 aB	17.66 \pm 0.347 aA	67.60 \pm 2.731 b	11.66 \pm 1.736 a	59.75 \pm 0.031 b
30	9.55 \pm 0.831 c	0.30 \pm 0.127 aB	18.04 \pm 0.233 aA	57.90 \pm 3.421 b	9.76 \pm 1.168 a	47.75 \pm 0.039 b
40	4.45 \pm 0.489 d	0.30 \pm 0.127 aB	17.76 \pm 0.285 aA	37.50 \pm 2.002 c	11.42 \pm 1.428 a	22.25 \pm 0.023 c

Caption: Different lower-case letters in columns differ statistically between depths and different capital letters in lines indicate a significant difference in the emergence of *L. serricorne* between the treatment and the Control, according to the Kruskal-Wallis test followed by Dunn test ($p < 0.05$)

It was also possible to record a negative correlation between the number of emerged parasitoids and depth (Fig. 4). The highest emergence mean was at the lowest depths (10 and 20 cm), decreasing as depths increased.

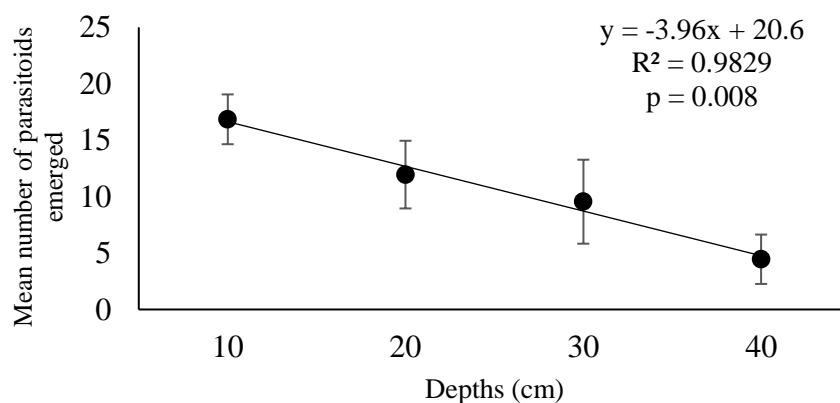


Fig 4. Correlation between the mean number (\pm SE) of *Anisopteromalus calandrae* emerged by depth of *Lasioderma serricorne* larvae location in tobacco (N=20 cocoons and 12 females per replication).

Search ability of *A. calandrae* for hosts at different times in bales of dry tobacco

Females of *A. calandrae* were able to find and parasitize the larvae inside the tobacco bales stored to a depth that ranged from 20 to 40 cm inside the bale, depending

on where the females accessed their host, in a similar way as the storage environments. The female may have accessed the bale from the top, or from the sides, but this aspect was not recorded.

The mean number of emerged *A. calandrae* differed significantly increasing in relation to the time of exposure (Table 2). The emergence of *L. serricorne* was always significantly lower in the treatment than in the control. Among treatments, only the 1-day treatment differed from the others, with the highest emergence of *L. serricorne* (Table 2).

The longer the larvae were exposed, the greater the parasitism and the mortality rates of *L. serricorne* by the action of the females of *A. calandrae* (Table 2).

Table 2. Mean number (\pm SE) of emerged individuals of *Anisopteromalus calandrae* and *Lasioderma serricorne* with the presence of parasitoids (P) and without (Control) and mortality of larvae of *Lasioderma serricorne* by the action of *Anisopteromalus calandrae* and in the control treatment and apparent parasitism at different exposure times in tobacco bales (N= 180 cocoons and 50 couples of *A. calandrae* per replication).

Days	<i>Anisopteromalus calandrae</i>	Emergency		Mortality of <i>L. serricorne</i> %		Apparent parasitism%
		<i>Lasioderma serricorne</i>		By the action of <i>A. calandrae</i>	Control	
		Treatment	Control			
1	1.63 \pm 0.431 a	14.36 \pm 0.683 aB	21.41 \pm 2.343 aA	23.52 \pm 4.346 b	28.61 \pm 2.343 a	5.46 \pm 1.437 c
3	4.88 \pm 0.896 b	9.05 \pm 1.124 bB	22.00 \pm 1.595 aA	43.15 \pm 5.075 ab	26.67 \pm 1.595 a	16.29 \pm 2.989 b
7	9.63 \pm 1.004 c	5.44 \pm 1.091 bB	23.00 \pm 1.977 aA	58.52 \pm 4.382 a	23.33 \pm 1.977 a	32.12 \pm 3.349 a

Different lower-case letters in columns indicate a significant difference between the exposure times. Different capital letters in lines indicate a significant difference in the emergence of *L. serricorne* between treatment and control, according to the Kruskal-Wallis test followed by Dunn test ($p < 0.05$).

4.4 Discussion

The ability to search for the parasitoid by its host at different depths of stored products, as observed for *A. calandrae* in our study, had also been recorded by Press (1988), who observed that this species could move inside 2.2 m wheat columns. However, the author suggests that the parasitoid could show a tendency to move from the bottom to the top within the grains, which in our work this was not observed since the adults were released at the top of the tubes and went down to find *L. serricorne* larvae. On the other

hand, in another work, *A. calandrae* released in columns of 76 cm of grain moved in all directions (Ghani and Sweetmann, 1955).

In fact, in storage, the ability of parasitoids to move inside stored products is an important feature for the success of these organisms in controlling a pest population. This aspect has been tested for different products and species, such as the pteromalid *L. distinguendus*, in a similar work, in which females could parasitize larvae of *S. granarius* infesting wheat grains in containers inserted in cylinders with 20 cm in diameter at one or two meters' depth covered with bulk wheat (Steidle and Schöller, 2002).

Knowing that *A. calandrae* females can search for hosts in different forms of tobacco storage is very important because to forward the tobacco to factories for the production of derivatives or export, the leaves are chopped. The bales are opened and with a grinder, the leaves and stalks are separated into larger pieces of blades and stalks. The packaging after this process is done in specific boxes. Thus, the product has considerable storage time, either in its initial form in bales, in shredded leaves or in the form of manufactured products, such as cigarettes and cigars (Souza Cruz, 2010; Carvalho et al., 2014).

The substrate composed of whole or chopped tobacco leaves certainly has a texture and physical structure different from the grains already evaluated. Even so, *A. calandrae* was able to move and find the host at different depths in both the cylinders (Table 1) and in bales (Table 2). For grains, for example, it is known that the grain size of the seeds may influence the dispersion of parasitoids and, consequently, the rate of suppression of the host (Mbata and Warsi, 2019). Lorenz et al. (2010) described that the parasitoid *Holepyris sylvanidis* (Brèthes) (Hym, Bethylidae) found the host *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Col. Tenebrionidae), at different depths in fine or coarse

ground whole wheat grains. However, the frequency of encounter decreased as the evaluated substrate had a finer granulation.

Although parasitism occurred at all depths assessed in our study, it decreased as the depth increased. This fact was also reported for *L. distinguendus* in corn infested by *S. zeamais* at depths of 20 to 100 cm (Adarkwah et al., 2012). The differences observed in relation to the depth can be related to the energy expenditure and the time the females took to find the most “hidden” larvae. This was also observed by Mbata et al. (2005) in an experiment in which the parasitoid *Habrobracon hebetor* (Say) (Hym.: Braconidae) decreased its rate of parasitism as the producer increased storage space where the larvae of *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lep.: Pyralidae) were exposed. The authors consider that they used their time and energy searching for larvae.

On the other hand, a factor that may be related to the ease of encounter of the most superficial larvae was that they were also closer to the release site of the parasitoids, and this may have helped in the dispersion of *A. calandrae* in the tube. Although this factor has not been evaluated in the present study, it is known that the volatiles produced by the host and the plant or substrate, are directly linked to this process of searching for the parasitoid (Li et al., 1992; Rojas et al., 2006; Belda and Riudavets 2010). Bender et al. (2019) reported, using olfactometry tests, that mated females of *A. calandrae* have a greater preference for larvae of *L. serricorne* than for the host's diet. Thus, the volatiles emitted by the larvae placed more superficially in the substrate were easily perceived by the parasitoids. Meantime, larvae that were at greater depths were more difficult to be detected. However, considering a storage environment infested by host larvae, which must be at the most superficial layers of the product as well as at the deepest ones, this gradual presence in the environment can help female parasitoids in the search process,

because when they find larvae on the surface, it is possible that they detect those that are closer to them and thus can be gradually directed to those that are at greater depths.

On the other hand, the decrease in parasitism at greater depths may also have occurred due to the strong odor of these hosts, which could mask the subtler odor of more distant larvae. This idea can be supported if we consider that a very large amount of volatiles can lead the insect to overload the chemoreceptor sensilla (Vilela and Della Lucia, 2001). However, a more detailed investigation of how these volatiles can influence the parasitoids search, must be carried out.

Another aspect to be considered is that, in addition to the use of semiochemicals associated with the host itself, such as frass, mandibular secretions, larval exuvial volatiles the body movement and feeding sounds are also short-range clues used to guide females of some parasitoid species in their search for the host in the habitat (Vinson, 1976; Vet and Dicke, 1992; Vilela and Della Lucia, 2001). These physical clues, detected mainly by tactile sensilla of the parasitoids (Vinson, 1984; 1998), certainly vary in intensity according to the substrate on which the host is found.

Although the rate of parasitism decreased, as the depth increased, the offspring produced at the four depths were predominantly female deflected. This reveals that despite having an energy expenditure to find the most hidden larvae, *A. calandrae* maintained the reproductive quality. According to Navarro (1998), in order to maintain a good quality of the offspring generated, it is essential to produce females of the parasitoid, with rates greater than 0.5.

In tobacco bales, parasitism was also recorded by *A. calandrae*, with the longest exposure period evaluated providing higher parasitism values. Thus, in addition to increasing the time to find the host, it is noteworthy that *A. calandrae* expresses its maximum reproductive potential from 3 to 7 days after emergence (Zilch et al. 2017),

thus, the lower parasitism in the first days was a result expected. So, the time of larvae exposure to parasitism can be an important factor in the search capacity, as observed by Wen and Brower (1994), who evaluated different times of exposure of larvae of *S. zeamais* and reported that parasitism by *A. calandreae* also increased as the period of parasitoids in the environment increased. Furthermore, in the same way as for *L. serricornis* in the present study, the number of *S. zeamais* has always remained lower in the treatments where *A. calandreae* were released, than in the control treatment.

In addition, the parasitoid proved to be efficient in searching and parasitizing at a depth of 20cm, that is, in the innermost part of the bale. Although the parasitoids were released at the top of the bale, we are not sure that it penetrated between the substrate in a vertical line. It may have entered the bale sideways, and in this case, it may have reached approximate distances than 40 cm or more to reach the plates that were inside the line plot (Fig.3). Considering that the bales are made by pressing tobacco leaves, *A. calandreae* was able to find the larvae in this substrate, and the longer the females stayed in the environment, the greater the rate of pest control.

Therefore, considering the two bioassays performed, we conclude that *A. calandreae* is capable of performing the control of *L. serricornis* in tobacco storage as it is done by farmers and industries, thus being a viable and efficient alternative for integrated pest management programs in these stored products.

4.5 Acknowledgements

To the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for the doctoral scholarship granted to the first author and to MCTI/CT-Agro/CNPq 38/2013. To the company Japan Tobacco International (JTI) for the financial support, materials, and location to carry out the experiment.

4.6 References

- ADARKWAH, C., OBENG-OFORI, D., BÜTTNER, C., REICHMUTH, C., SCHÖLLER, M. 2012. Potential of *Lariophagus distinguendus* (Förster) (Hymenoptera: Pteromalidae) to suppress the maize weevil *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) in bagged and bulk stored maize. *Biological Control*, 60, p. 175–181. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.11.003>
- ATHIÉ, I., PAULA, D. C. 2002. Insetos de grãos armazenados aspectos biológicos e identificação. Livraria Varela, 2ª edição, 28-34 p.
- AYRES, M., AYRES, M. Jr., AYRES, D. L., DOS SANTOS, A. S. 2007. BioEstat 5.0 aplicações estatísticas na área das ciências biológicas e médicas. Belém: Sociedade Civil Mamirauá/CNPq, 324 p.
- BAUR, H.; KRANZ-BALTENSPERGER, Y.; CRUAUD, A.; RASPLUS, J. Y.; TIMOKHOV, A. V.; GOKHMAN, V. E. 2014. Morphometric analysis and taxonomic revision of *Anisopteromalus* Ruschka (Hymenoptera: Chalcidoidea: Pteromalidae) – an integrative approach. *Systematic Entomology*, v. 39, p. 691–709. <https://doi.org/10.1111/syen.12081>
- BELDA, C., RIUDAUVETS, J. 2010. Attraction of the parasitoid *Anisopteromalus calandreae* (Howard) (Hymenoptera: Pteromalidae) to odors from grain and stored product pests in a Y-tube olfactometer. *Biological Control*, v. 54, p. 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.02.005>
- BENDER E., JAHNKE S.M., KÖHLER A. 2019. Chemotaxic Responses of *Anisopteromalus calandreae* (Howard) (Hymenoptera: Pteromalidae) to Odors of Larvae, Pupae, and the Diet of *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (Coleoptera: Ptinidae). *Neotropical Entomology*, v. 49, n. 2, p. 171-178. <https://doi.org/10.1007/s13744-019-00742-0>.
- BENKHELLAT, O., JALOUX, B., MOALI, A., CHEVRIER, C., MONGE, J. P. 2015. Host discrimination and egg laying in *Anisopteromalus calandreae* (Hymenoptera: Pteromalidae) ectoparasitoid of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Stored Products Research*, v. 61, p. 48-53. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2015.02.005>
- EVANS, D. E. 1981. The biology of stored products Coleoptera. In: Proc. Aust. Dev. Asst. Course on Preservation of Stored Cereals, p. 149-185.
- FLINN, P. W., HAGSTRUM, D. W., MCGAUGHEY, W. H. 1996. Suppression of beetles in stored wheat by augmentative releases of parasitic wasps. *Environmental Entomology*, v. 25, n. 2, p. 505-511. <https://doi.org/10.1093/ee/25.2.505>
- GHANI, M. A., SWEETMAN, H. L. 1955. Ecological studies on the granary weevil parasite, *Aplastomorpha calandreae* (Howard). *Biologia* v. 1, p. 115–139.

- HAGSTRUM, D. W.; SUBRAMANYAM, B. 2009. Stored-product insect resource. St. Paul, Minnesota, USA, AACC International, Inc. (American Association of Cereal Chemists).
- INOUE, M. S. R., PARRA, J. R. P. 1998. 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. <https://doi.org/10.1590/S0103-90161998000200009>.
- LI, Y., DICKENS, J. C., STEINER, W. W. M. 1992. Antennal olfactory responsiveness of *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae) to cotton plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, v. 18, p. 1761–1773. <https://doi.org/10.1007 / BF02751101>
- LOECK, A. E. 2002. Praga de produtos armazenados. Pelotas, RS, EGUFPEL, 113 p.
- LORENZ, S., ADLER, C., REICHMUTH, C. 2010. Penetration ability of *Holepyris sylvanidis* into the feeding substrate of its host *Tribolium confusum*. *Julius Kühn-Institut, 10th International Working Conference on Stored Product Protection, Berlin, Germany*, p. 425. <https://doi.org/10.5073/jka.2010.425.139>
- MBATA, G. N., THOMAS, A., FADAMIRO, H. F. 2005. Parasitism by *Pteromalus cerealellae* (Hymenoptera: Pteromalidae) on the Cowpea weevil *Callosbruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae): host density, temperature effects, and host finding ability. *Biological Control*, v. 33, p. 286-292. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.03.005>
- MBATA, G., WARSI, S. 2019. *Habrobracon hebetor* and *Pteromalus cerealellae* as Tools in Post-Harvest Integrated Pest Management. *Insects*, v. 10, p. 85. <https://doi.org/10.3390/insects10040085>
- 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*, v. 38, p. 463–469. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(01\)00050-9](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(01)00050-9)
- NAVARRO, M. A. *Trichogramma spp.: producción, uso y manejo en Colombia*. Guadalajara de Buga: Impretec Ltda, 1998. 176 p.
- NIEDERMAYER, S., KROGMANN, L., STEIDLE, J. L. M. 2016. Lost in space? Host-finding ability of the parasitoids *Lariophagus distinguendus* and *Anisopteromalus calandrae* in empty grain storage facilities to control residual pest populations. *Biological Control*, v. 61, p. 379–386. <https://doi.org/10.1007 / s10526-016-9717-4>
- PRESS, J. W. 1988. Movement of a weevil parasitoid, *Anisopteromalus calandrae* (Howard), within a column of wheat in relation to host location. *Journal of Agricultural Entomology* 5, 205–208.

- ROJAS, J. C., CASTILLO, A., VIRGEN, A. 2006. Chemical cues used in host location by *Phymastichus coffea*, a parasitoid of coffee berry borer adults, *Hypothenemus hampei*. *Biological Control*, v. 37, p. 141–147. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.01.009>
- SAEED, M. B. E. E. M., LAING, M. D., MILLER, R. M., BANCOLE, B. 2017. Ovicidal, larvicidal and insecticidal activity of strains of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin against the cigarette beetle, *Lasioderma serricornis* Fabricius (Coleoptera: Anobiidae), on rice grain. *Journal of Stored Products Research*, v. 74, p. 78 – 86. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2017.10.001>
- SAGLAM, O., EDDE, P. A., PHILLIPS, T. W. 2015. Resistance of *Lasioderma serricornis* (Coleoptera: Anobiidae) to Fumigation with Phosphine. *Journal of Economic Entomology*, v. 108, n. 5, p. 2489-2495. <https://doi.org/10.1093/jee/tov193>
- SOUZA CRUZ. 2010. Plantio - Fases da plantaço de fumo. São Paulo, 2010. Disponível em:
http://www.souzacruz.com.br/group/sites/SOU_7UVF24.nsf/vwPagesWebLive/DO7V9KLC?opendocument. Acesso em: 20 de nov. de 2020.
- STEIDLE, J. L. M., SCHÖLLER, M. 2002. Fecundity and ability of the parasitoid *Lariophagus distinguendus* (Hymenoptera: Pteromalidae) to find larvae of the granary weevil *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) in bulk grain. *Journal of Stored Products Research*, v. 38, p. 43–53. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00044-8](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00044-8)
- VET, L.; DICKE, M. 1992. Ecology of infochemical use by natural enemies in trophic context. *Annual Review of Entomology*, v. 37, p. 141–172.
- VILELA, E. F., DELLA LUCIA, T. M. C. 2001. Feromônios de Insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas, 2nd edn. Ribeirão Preto, Holos Editora, 206 p.
- VINSON, S. B. 1976. Host selection by insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, v. 21, p. 109–133.
- VINSON, S. B. 1984. Parasitoid-host relationships. In: *Chemical Ecology of Insects*, (Ed. By Bell, W. J., Cardé, R. T.) pp. 205 – 233. London: Chapman and Hall.
- WEN, B., BROWER, J. H. 1994. Suppression of Maize Weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), Populations in Drums of Corn by Single and Multiple Releases of the Parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, v. 67, n. 4, p. 331-339.

5 ARTIGO 3

**Efeito de liberações de *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hym.:
Pteromalidae) para controle de *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Col.:
Pitiniidae) em armazenamento de tabaco***

*Artigo formatado conforme as normas da revista Crop Protection.

Efeito de liberações de *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) (Hym.: Pteromalidae) para controle de *Lasioderma serricornis* (Fabricius, 1792) (Col.: Ptiniidae) em armazenamento de tabaco

Kássia Cristina Freire Zilch^{1*}, Simone Mundstock Jahnke¹, Andreas Köhler² and Cleder Pezzini¹

¹Laboratório de Controle Biológico de Insetos. Departamento de Fitossanidade. Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS. Av. Bento Gonçalves, 7712, Porto Alegre, RS, Brazil.

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

*Corresponding author

E-mail addresses: kassiazilch@gmail.com (K. C. F. Zilch), mundstock.jahnke@ufrgs.br (S. M. Jahnke), andreas@unisc.br (A. Köhler), clerder.pezzini@gmail.com (C. Pezzini),

Highlights:

- A infestação de *L. serricornis* pode ocorrer, inicialmente, nos galpões do produtor e ser transferida para os armazéns da indústria;
- *A. calandrae* encontra e parasita larvas de *L. serricornis* em tabaco armazenado tanto em pequenos como em grandes áreas;
- Liberações massais de *A. calandrae* reduzem significativamente a infestação *L. serricornis* em galpões de tabaco;

Resumo

Lasioderma serricorne, conhecido como besouro-do-fumo é uma importante praga de tabaco armazenado. O controle desta e outras espécies no armazenamento é basicamente feito com inseticidas químico-sintéticos que, entretanto, apresentam desvantagens, como uma alta periculosidade aos aplicadores, permanência de resíduos químicos e contaminação do meio ambiente. Assim, métodos alternativos de controle como o uso de inimigos naturais, têm sido estudados. O presente estudo teve como objetivo avaliar a densidade populacional do besouro-do-fumo e o efeito de liberações massais do parasitoide *Anisopteromalus calandrae* para controle da praga em ambientes de armazenamento de tabaco em produtores rurais e na indústria. O experimento contou com 22 galpões de produtores de tabaco, sendo que em 16 foram realizadas liberações massais de *A. calandrae* e seis galpões foram mantidos como testemunhas, sem liberação na safra de 2019/20. Na indústria foram utilizados dois armazéns de estocagem de tabaco, sendo um utilizado como testemunha e o outro onde se realizaram as liberações, a cada 4 semanas nas safras 2017/18 e 2018/19. A cada ocasião foram liberados, aproximadamente, 400 parasitoides em cada galpão nos produtores e 6.000 no armazém da indústria. A infestação de *L. serricorne* foi monitorada com uso de armadilhas de feromônio. A média de adultos do besouro-do-fumo capturados foi significativamente menor nos galpões com liberação de *A. calandrae* nos produtores a partir da terceira semana na safra 2019/20. Na indústria, a média de capturas foi menor a partir da quarta semana, na safra 2017/18, e da segunda em 2018/19. Foi possível observar que o parasitoide foi capaz de realizar o controle da infestação de *L. serricorne* no decorrer das semanas.

Palavras-chave: Liberações massais; parasitoide larval; tabaco armazenado, controle biológico.

5. 1 Introdução

Nativo das Américas tropical e subtropical, o tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) é atualmente produzido com fins comerciais no mundo todo (Carvalho et al., 2014). No Brasil, a produção concentra-se na região sul e, em especial, no Rio Grande do Sul, sendo que, atualmente, 73 mil famílias espalhadas por 219 municípios do RS fazem parte desta cadeia produtiva (Afubra, 2019; Kist et al., 2020). A cultura apresenta grande importância econômica, devido ao elevado valor comercial do produto e à capacidade de empregar um grande número de pessoas, tanto no cultivo, como na industrialização (Specht et al., 2006). O cultivo do tabaco responde por 53% da receita anual do produtor no RS (Carvalho et al., 2014).

Após a colheita das folhas e secagem na estufa, o tabaco do tipo Virgínia, que é o mais produzido na região, é armazenado dentro de paióis em fardos empilhados em filas duplas (Carvalho et al., 2014). Segundo os mesmos autores, para a comercialização, o produtor classifica o tabaco conforme a qualidade e o empacota em fardos de 50 kg. O período de armazenagem nos paióis pode durar até seis meses, e posteriormente, quando vendido à indústria, também fica estocado em fardos ou caixas por vários meses até ser transportado para exportação ou para produção de cigarros (Guedes and Costa, 2006).

No armazenamento em galpões da propriedade rural ou mesmo nos depósitos das empresas beneficiadoras, as principais pragas que atacam o tabaco são as traças *Ephestia elutella* Hübner e *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep.: Pyralidae) e o besouro-do-fumo *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (Col.: Ptiniidae) (Guedes and Costa, 2006). Os danos provocados pelas três espécies no tabaco são devidos, principalmente, às larvas que, ao se alimentarem, consomem as folhas e formam galerias. Além disso, seus excrementos e exúvias contaminam o produto (Carvalho et al., 2003; Saglam et al., 2015). Estimativas

apontam que os prejuízos causados por insetos podem variar de 10 a 50% (Pimentel et al., 2011).

O coleóptero *L. serricorne* é uma praga primária que além de atacar o tabaco seco e seus subprodutos, também pode ser encontrada em outros artigos armazenados (Athié and Paula, 2002; Loeck, 2002; Lorini et al., 2015). Para o controle desse inseto, no Brasil, os únicos produtos indicados são os inseticidas químico-sintéticos a base de fosfatos de alumínio e magnésio (fosfina) (Agrofit, 2020) e, para a desinsetização de paredes e frestas dos galpões, alguns piretróides de contato são utilizados como tratamento preventivo (Lorini et al., 2015). Porém, ambos apresentam uma série de desvantagens, como uma alta periculosidade aos aplicadores e trabalhadores, permanência de resíduos químicos e contaminação do meio ambiente (Saeed et al., 2017). Além disso, em decorrência da falta de alternativas no mercado, da facilidade na aplicação, rapidez de ação, baixo custo (Lorini et al., 2015) e, conseqüentemente, do uso excessivo do princípio ativo, a resistência à fumigação e aos inseticidas de contato já foi relatada em algumas populações de *L. serricorne* (Saglam et al., 2015; Sitthichaiyakul and Amornsak, 2017).

Considerando as limitações do controle químico nesses ambientes (Saeed et al., 2017), inimigos naturais como o parasitoide *Anisopteromalus calandrae* (Howard) (Hym.: Pteromalidae) tem se destacado como alternativa para o manejo desta e outras espécies em produtos armazenados. Por conta disso, esta espécie tem sido objeto de estudos que abrangem uma grande variedade de tópicos, tais como avaliação do potencial para controle biológico, impacto dos pesticidas e herbicidas, descrição da história de vida, comportamento, adaptações e fisiologia (Baur et al., 2014). A espécie é um ectoparasitoide idiobionte de distribuição cosmopolita, que ataca larvas de último ínstar e pupas de diversos coleópteros praga de produtos armazenados, como *Sitophilus oryzae* (L.) (gorgulho-do-arroz), *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (gorgulho-do-milho) (Col.:

Curculionidae) e *L. serricorne* (Menon et al., 2002; Belda and Riudavets, 2010; Benkhellat et al., 2015).

Para localizar as larvas do hospedeiro no ambiente, a fêmea de *A. calandrae* utiliza algumas pistas químicas e físicas, como odores liberados pelas fezes dos hospedeiros e também pode detectar o movimento ou o som da alimentação das larvas por antenação nos grãos infestados (Menon et al., 2002). Quando as larvas do hospedeiro são localizadas, a fêmea usa seu ovipositor para perfurar a superfície do grão, paralisa a larva e põe um ovo nela (Ozelame et al., 2011). Normalmente, apenas um parasitoide se desenvolve a partir de cada larva hospedeira (Belda and Riudavets, 2010). O desenvolvimento total completa-se após 13 dias, compreendendo os estágios de ovo, quatro instares larvais, pré-pupa e pupa, em condições controladas de temperatura e umidade (28 ± 2 ° C, 60 ± 10 % UR) e de fotoperíodo (12 h) (Zilch et al., 2017).

A utilização de *A. calandrae* em ambientes de armazenamento já foi estudada, como por exemplo por Niedermayer et al. (2016) na Alemanha, que realizaram liberações em armazéns de estocagens de produtos e verificaram que o parasitoide foi capaz de se dispersar pelo ambiente e encontrar as larvas em distâncias de até 15 m do local de liberação. No Egito, Abd El-Gawad et al. (2009), liberaram o parasitoide dentro de sacos de trigo e fava infestados por coleópteros praga e observaram que a infestação diminuiu no decorrer do período de armazenamento por causa da ação do parasitoide.

A maioria dos estudos, entretanto, são realizados em laboratório, ou semi-campo, o que auxilia no entendimento da forma de aplicação e ação desses parasitoides, contudo, a tomada de decisão baseada nesses resultados é previewal. Por conta disso, avaliações em grande escala, ou nos locais em que há produtos armazenados, são fundamentais para se determinar a efetividade dos parasitoides nesses ambientes. No Brasil, avaliações do uso de parasitoides em grande escala em ambientes de armazenamento de fumo ou de

outros produtos, ainda não foram registradas. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo realizar o levantamento populacional de *L. serricorne* em armazéns de estocagem de tabaco de propriedades particulares de produtores e em armazéns na indústria e avaliar o efeito de liberações do parasitoide *A. calandrae* na densidade populacional da praga.

5. 2 Material e métodos

Criações dos insetos

As criações do parasitoide e do hospedeiro foram mantidas no Laboratório de Entomologia da Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC em Santa Cruz do Sul, em sala climatizada a $28 \pm 2^\circ \text{C}$, $60 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas.

Lasioderma serricorne

O hospedeiro *L. serricorne* foi obtido a partir de coletas realizadas em tabaco seco proveniente de produtores 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 larvas foram criadas em dieta seca composta pela mistura de farinha de trigo (900 g), levedo de cerveja (50 g) e tabaco seco triturado (50 g) (adaptado de Zilch et al., 2017). Em potes plásticos (2,7 litros), a dieta era colocada em uma espessura de aproximadamente cinco centímetros. Sobre a dieta eram colocados em torno de 200 indivíduos adultos para realizar a postura. Os potes eram fechados com tampa adaptada sendo a abertura coberta por tecido branco de organza cristal para aeração. Estes besouros permaneciam ali por aproximadamente cinco dias, após esse período, eram retirados e a dieta homogeneizada.

Aproximadamente 25 dias após a retirada dos adultos, as dietas eram peneiradas para visualização do ínstar das larvas. Aquelas que estavam no último ínstar (já com formação de casulo) eram separadas para utilização na criação dos parasitoides. Alguns potes eram mantidos sem manipulação para aguardar a emergência dos adultos e continuar a criação do hospedeiro. Os adultos emergidos desses potes eram transferidos, com auxílio de um aspirador adaptado, a outros potes com dieta nova, a fim de manter a criação do hospedeiro.

Anisopteromalus calandrae

O parasitoide *A. calandrae* foi obtido inicialmente, de uma infestação de *S. zeamais*, em grãos de milho seco e armazenado, proveniente de produtores rurais do município de Candelária, RS (29°29'39.99"S 52°46'24.16"O).

Após a emergência, os parasitoides, em grupos de até 30 casais, recebiam aproximadamente 500 casulos (larvas de 4º ínstar) de *L. serricone* livres de dieta, no fundo de potes plásticos (1,2 L), em uma única ocasião. Para alimentação dos adultos eram colocadas duas gotículas de mel puro na parede interna dos potes. Os potes eram fechados com tampa adaptada com tecido para ventilação.

Após 12 a 15 dias, ocorria a emergência da prole. Logo após a emergência, com o auxílio de um sugador adaptado, os adultos eram coletados e colocados em novos potes com larvas para realizarem a oviposição e assim, manter a criação. Para as liberações eram utilizados potes com cerca de 200 casais recém emergidos (de 1 a 3 dias).

Liberações em galpões de produtores de tabaco

As avaliações foram feitas na safra de 2019/20 (de 11/12/2019 à 28/03/2020), totalizando 16 semanas. Foram selecionados 22 galpões pertencentes a produtores de

tabaco Virgínia associados à empresa JTI, no município de Agudo (29° 38' 42" S 53° 14' 24" O). A liberação de *A. calandrae* foi realizada em 16 galpões enquanto seis, selecionados aleatoriamente, permaneceram como testemunhas, sem liberação do parasitoide. O tamanho médio (\pm DP) dos galpões era de $65,5 \pm 21,72$ m² com capacidade média (\pm DP) de $5,3 \pm 1,63$ toneladas de tabaco estocado ao final da safra.

Em cada galpão (tratamento) foram realizadas quatro liberações de *A. calandrae* ao longo da safra, sendo a primeira no início da armazenagem, quando as primeiras folhas de tabaco seco eram depositadas nos galpões. As demais foram feitas com intervalo de duas semanas. Cada liberação foi constituída de dois recipientes com aproximadamente 400 parasitoides adultos (não sexados). Os recipientes foram abertos sobre as pilhas de tabaco, a uma altura média de 1,5 m, em dois pontos distintos dentro de cada galpão.

Para verificar a infestação de *L. serricorne* dentro dos galpões, foi realizado o monitoramento semanal da população com o uso de armadilhas de feromônio Bio Serrico © (Serricornim 240 g/kg) colocadas em uma das paredes do galpão a uma altura de 1,8 m. Em cada galpão foi utilizada somente uma armadilha, visto que a recomendação do fabricante é xx armadilhas/ xx metros. Esta foi instalada na segunda-feira de cada semana e permaneceu exposta por sete dias, sendo retirada na segunda-feira seguinte.

As armadilhas foram instaladas uma semana antes de iniciar as liberações de parasitoides, para verificar a infestação inicial de adultos de *L. serricorne*. Esse monitoramento se prolongou até o produtor iniciar a comercialização do tabaco com as empresas do setor fumageiro.

Liberação em armazéns de tabaco na indústria

O experimento foi realizado nas safras 2017/18 (de 14/04/18 a 22/07/2018) e 2018/19 (de 03/03/19 a 16/06/2019) totalizando 16 semanas em cada safra. Para as liberações na indústria, a empresa Japan Tobacco International (JTI) disponibilizou dois

armazéns de tabaco seco cru (produto não processado/beneficiado), localizados no município de Santa Cruz do Sul (29°45'01.3"S; 52°25'38.3"W). Cada armazém apresentava uma área de aproximadamente 8.000 m² e capacidade de armazenamento de 5,5 mil toneladas de tabaco. Um armazém foi utilizado para as liberações do parasitoide e outro como testemunha, sem liberações. O volume de tabaco estocado dentro dos armazéns durante as safras aumentou conforme era realizada a compra do tabaco pela indústria (Fig. 1). Em ambas as safras os dois armazéns recebiam o mesmo volume de tabaco para ser estocado, ou seja, quando tabaco chegava na indústria e era destinado a armazenagem, metade era colocada no armazém testemunha e a outra no armazém com liberação. Desde a chegada e durante o período de armazenagem, o tabaco não recebeu nenhum tipo de tratamento.

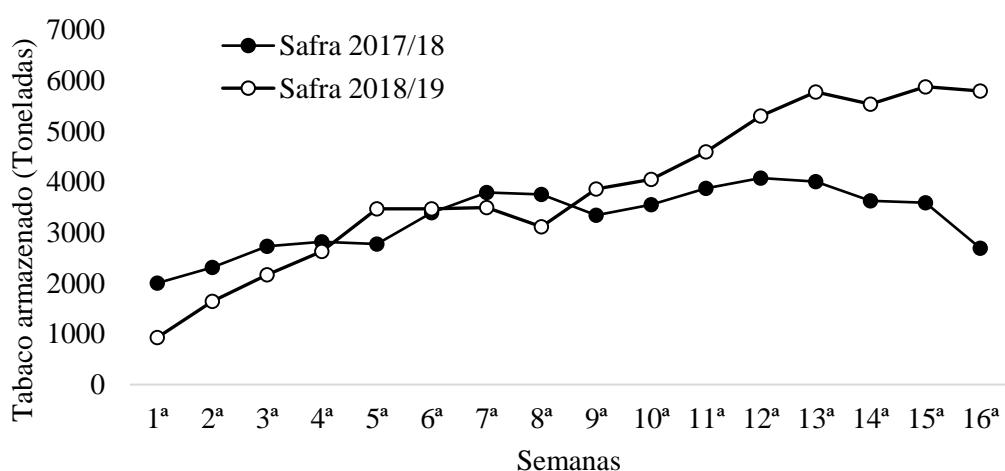


Figura. 1. Quantidade de tabaco armazenado por metro quadrado dentro dos armazéns da indústria ao longo das semanas durante as duas safras avaliadas.

Foram realizadas cinco liberações de parasitoides ao longo das safras, sendo a primeira quando a empresa iniciou a compra e armazenagem do tabaco dos produtores e as demais com intervalo de duas a três semanas. Na safra 2017/18 foram liberados 15 potes por ocasião, que juntos totalizaram, aproximadamente, 6.000 parasitoides adultos

(não sexados) em cada liberação. Na safra 2018/19 dobrou-se o número de potes, liberando-se 12.000 parasitoides por vez.

Devido à circulação de empilhadeiras dentro do armazém, os recipientes com os parasitoides adultos eram abertos e dispostos no chão, em linha, próximos a uma parede lateral, com distância de oito metros entre cada recipiente (Fig. 2), permanecendo no local até a data da próxima liberação, quando eram recolhidos. Pelo mesmo motivo, as 10 armadilhas de feromônio Bio Serrico[®] para monitoramento da densidade dos adultos de *L. serricorne* foram instaladas na mesma parede onde ocorreram as liberações em cada armazém, a uma altura de 1,8 m, com distância de dez metros entre cada armadilha (Fig. 2).

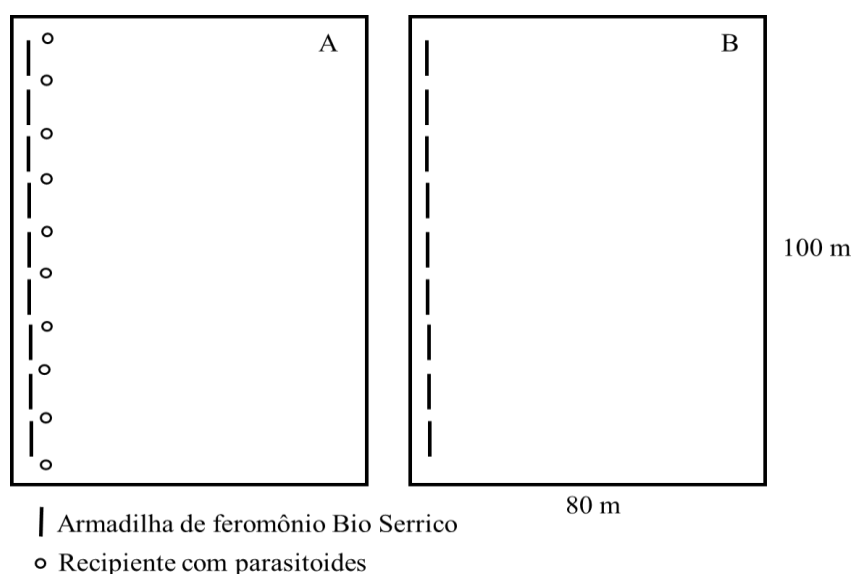


Figura 2. Croqui dos armazéns utilizados no experimento. (A) armazém tratamento, com disposição das armadilhas de feromônio para monitoramento de *Lasioderma serricorne* e dos recipientes com parasitoides, *Anisopteromalus calandrae* utilizados para as liberações. (B) armazém testemunha, com a disposição das armadilhas de monitoramento.

As armadilhas ficaram expostas por 48 horas, após esse período, foram retiradas e os insetos coletados, contabilizados. Este monitoramento iniciou uma semana antes da

primeira liberação de *A. calandrae* para verificar a infestação inicial e seguiu até o início do processo de beneficiamento do tabaco.

Análise estatística

Para os dados obtidos das armadilhas de monitoramento de *L. serricorne* nos galpões da empresa, foi realizado o cálculo da proporção de indivíduos presentes na área por volume de tabaco estocado, calculado pelas fórmulas:

- Área em m² ocupada com tabaco = Volume de tabaco por semana / área do armazém
- N° de indivíduos por m² = n° de indivíduos coletados/ área ocupada com tabaco por m²

Os dados médios do número de adultos de *L. serricorne* capturados nos dois experimentos foram testados quanto à normalidade por Shapiro-Wilk, a homocedasticidade pelo teste de Hartley e comparados pelo teste Mann-Whitney. Os dados médios de captura semanal foram comparados entre safras para os armazéns da indústria por Kruskal Wallis, seguido de Dunn. O nível de significância considerado foi de $\alpha = 0,05$. Para as análises foi utilizado o aplicativo Bioestat 5.0 (Ayres et al., 2007).

5.3 Resultados

Liberações em galpões de produtores de tabaco

Foi possível registrar que as liberações de *A. calandrae* realizadas nos galpões dos produtores causaram um decréscimo na infestação de *L. serricorne* no tabaco estocado (Fig. 3). Após a terceira semana de monitoramento, observou-se que nos galpões onde não foi realizada a liberação (testemunha) o número de *L. serricorne* aumentou para, em média, 4.54 ± 0.444 , enquanto que no galpão com liberação os valores médios

permaneceram em média 1.48 ± 0.199 indivíduos por armadilha, apresentando diferença significativa em relação às testemunhas ($p < 0,05$) (Fig.3).

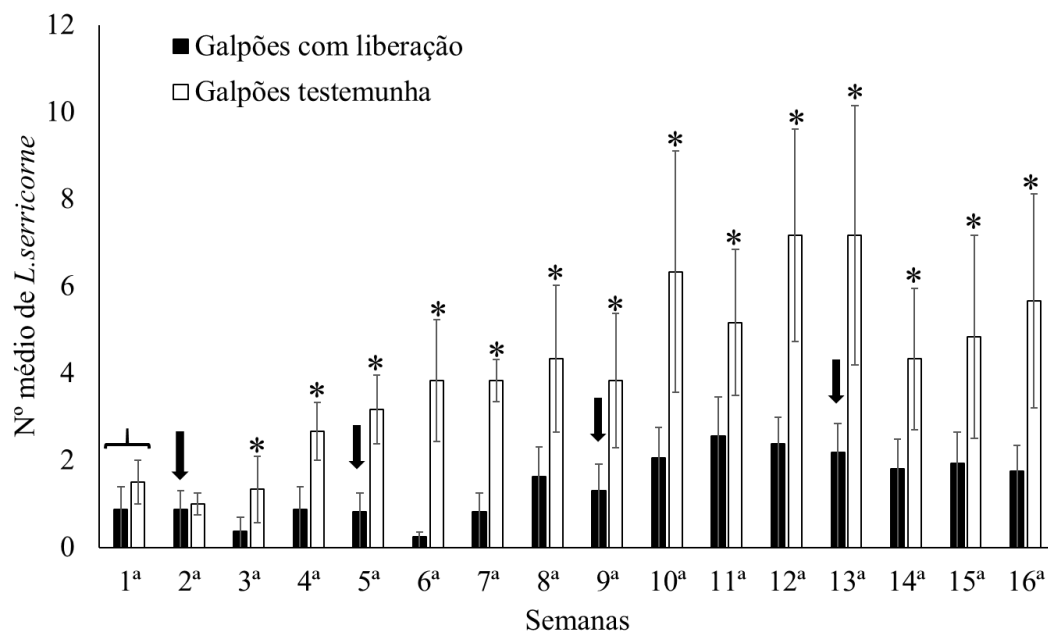


Figura 3. Número médio (\pm EP) de *Lasioderma serricorne* capturados nas armadilhas colocadas nos galpões de tabaco de produtores durante o período monitoramento na safra de 2019/20 (de 11/12/2019 à 28/03/2020).

Setas (⬇) indicam as ocasiões de liberação, chave ({} indica o monitoramento inicial (sem liberação) e barras com asterisco (*) indicam diferença significativa entre tratamento e testemunha pelo teste Mann-Withney ($p < 0,05$).

Nos galpões sem liberação houve um aumento gradativo da população capturada a partir da quarta semana. Naqueles com liberação observou-se um aumento de capturas a partir da oitava semana, permanecendo, entretanto, sempre abaixo da média registrada nos galpões sem liberação.

Liberação em armazéns de tabaco na indústria

Nos armazéns da empresa, em ambas as safras, também ocorreu uma diminuição significativa do número de *L. serricorne* capturados pelas armadilhas no armazém onde foram realizadas as liberações de *A. calandreae* (Figs. 4 e 5).

Na safra 2017/18 observou-se que houve uma queda acentuada no número de indivíduos por m² de tabaco a partir da quinta semana em ambos os armazéns. A partir da segunda liberação (4^a semana), o parasitoide foi capaz de realizar o controle de *L. serricorne* (Fig. 4), apresentando valores menores estatisticamente que os obtidos no armazém testemunha no decorrer das semanas.

Na safra de 2018/19 foi possível averiguar que os níveis de infestação por *L. serricorne* foram menores estatisticamente que o do armazém testemunha a partir da primeira liberação, na segunda semana, exceto na 13^a e 14^a semana em que as médias não diferiram (Fig. 5). No armazém sem liberação houve um aumento no número de besouros capturados a partir da sexta semana, apresentando um pico na oitava semana. Já no armazém onde foram realizadas as liberações, não ocorreu esse aumento, os valores médios de *L. serricorne* capturados se mantiveram equilibrados (Fig. 5).

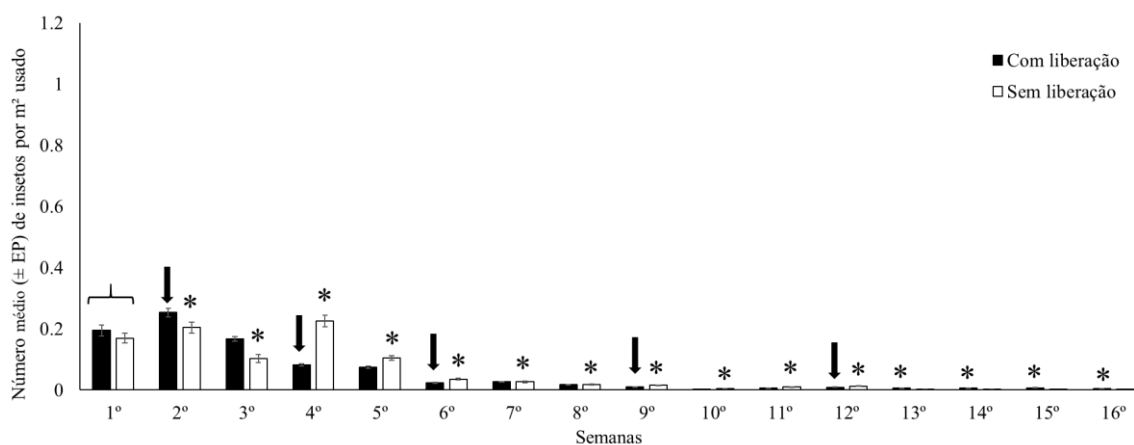


Figura 4. Número médio (\pm EP) de *Lasioderma serricorne* por m² de tabaco estocado capturados nas armadilhas colocadas nos armazéns de tabaco da empresa durante o período monitoramento da safra 2017/18 (14/04/18 à 22/07/18). Setas (↓) indicam as ocasiões de liberação, chave ({} indica o monitoramento inicial (sem liberação) e barras com asterisco (*) indicam diferença significativa entre tratamento e testemunha pelo teste Mann-Withney ($p < 0,05$).

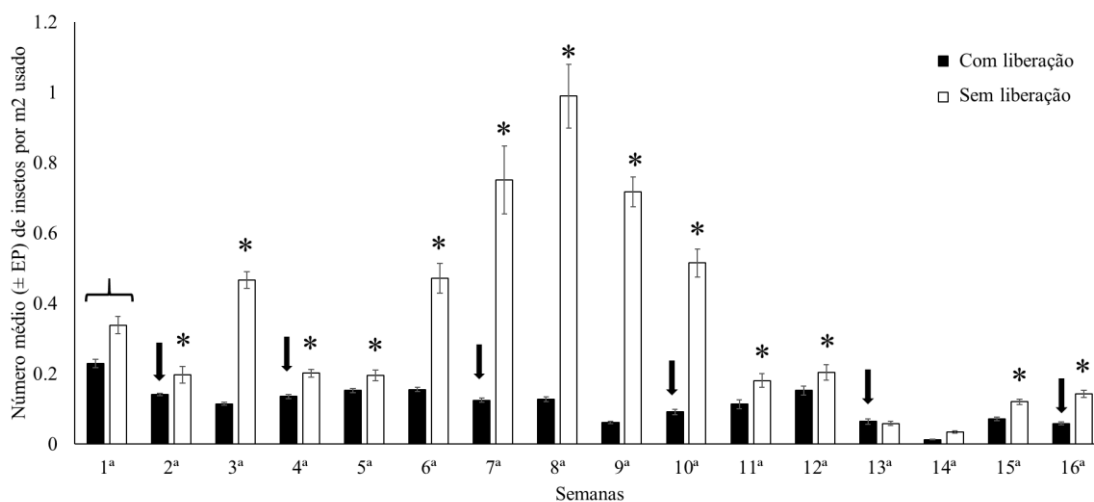


Figura 5. Número médio (\pm EP) de *Lasioderma serricorne* por m² de tabaco estocado capturados nas armadilhas colocadas nos galpões de tabaco da empresa durante o período monitoramento da safra 2018/19 (03/03/18 à 16/06/18). Setas (↓) indicam as ocasiões de liberação, chave ({}) indica o monitoramento inicial (sem liberação) e barras com asterisco (*) indicam diferença significativa entre tratamento e testemunha pelo teste Mann-Whitney ($p < 0,05$).

Comparando as duas safras em que ocorreram amostragem, nos armazéns sem liberação a média de captura semanal de *L. serricorne* foi maior na safra (2018/19) ($H=195,37$; $gl=29$; $p < 0,0001$), exceto nas semanas 2, 4 e 5 em que a média não diferiu ($H=4,254$; $gl=5$; $p=0,513$). Nos armazéns com liberação, a média de capturas também foi maior na segunda safra, comparada com a primeira ($H=203,06$; $gl=29$; $p < 0,0001$), exceto na segunda semana que não apresentou diferença significativa entre os anos ($H=1,65$; $gl=1$; $p=0,198$).

5.4 Discussão

O aumento da densidade de insetos praga ao longo do tempo é um fator esperado em ambientes de armazenagem, pois, proporcionalmente ao aumento da quantidade de produto, os insetos têm mais recursos à disposição (Jian and Jayas, 2012), propiciando um ambiente com mais atrativos para os insetos se reproduzirem (Anukiruthika et al., 2021). Isto foi observado nos galpões dos produtores, onde houve um aumento no número

de indivíduos de *L. serricorne* nas armadilhas ao longo das semanas, possivelmente, por conta do aumento gradativo de tabaco que era colhido, secado e armazenado. Outro fator que pode estar ligado ao aumento no número de indivíduos, conforme aumentava o tabaco estocado, é que provavelmente, ao longo do tempo e com mais recursos disponíveis, os besouros tinham condições favoráveis para se reproduzir no ambiente. Segundo Howe (1957) e Antunes and Dionello (2010), o tempo de desenvolvimento de *L. serricorne* pode variar de 6 a 35 dias, dependendo da temperatura, da umidade e do substrato no qual está se desenvolvendo. Dessa forma, como o tempo de monitoramento durou 15 semanas, três gerações ou mais podem ter se desenvolvido, pois os insetos estavam em um ambiente propício, com condições climáticas favoráveis (meses de primavera e verão), aumentando a população. Porém, nos galpões onde foram realizadas as liberações de *A. calandreae*, o aumento no número de indivíduos capturados nas armadilhas foi, a partir da terceira semana, significativamente menor, demonstrando o potencial de controle do parasitoide já a nível de produtor.

O levantamento realizado no presente estudo também mostrou que a infestação do besouro-do-fumo ocorre já no galpão do produtor. Possivelmente, os insetos ficam, de uma safra a outra, em resíduos que permanecem no ambiente em frestas ou até mesmo em outros produtos que eles também podem consumir, que o produtor armazena no galpão quando este está sem tabaco. Além do que, os voláteis emitidos pelo tabaco quando está armazenado, pode atrair os insetos. Alguns autores como Phoonan et al., (2014) e Silva (2017), mencionam que existem diversos cairomônios envolvidos na atratividade de insetos por produtos armazenados. Também, os insetos podem ser levados de um produtor a outro e para a empresa pelos caminhões que fazem o transporte de tabaco (Sanches and Silva, 2015), já que estes veículos precisam passar por vários produtores para fechar a carga e com isso podem transportar e disseminar os insetos.

Nos armazéns da indústria, a média de capturas de *L. serricorne* diminuiu ao longo das semanas de amostragem, diferente do observado nos galpões de produtores, provavelmente, por que o armazenamento e o monitoramento na indústria foi realizado nos meses de outono e inverno. Já é sabido que a temperatura é um fator de grande impacto no desenvolvimento dos insetos (Pratissoli et al., 2004), podendo afetar negativamente características biológicas, como a fertilidade e diminuir a mobilidade (Lessard and Boivin, 2013). Isto pode ter ocorrido principalmente na safra 2017/18, em que houve uma queda no número de besouros capturados a partir da sexta semana de avaliação, coincidindo com a chegada dos meses mais frios do ano.

Ao compararmos a infestação das duas safras avaliadas nos armazéns da indústria, pode-se perceber que na safra 2018/19 a taxa de infestação foi maior que no ano anterior, tanto no armazém com a liberação, como no testemunha. Vários são os fatores que podem estar envolvidos e influenciar a flutuação populacional de insetos em ambientes de armazenamento, como as condições ambientais e climáticas. Além disso, a procedência do tabaco que chega à indústria não tem a mesma regularidade de uma safra para outra, podendo vir de diferentes produtores ou regiões, sendo provável que alguns fardos de tabaco tenham vindo já com alta infestação de *L. serricorne*. Embora isso não tenha sido avaliado, o registro feito das armadilhas de feromônios indica este aspecto.

Mesmo com o aumento da infestação de *L. serricorne* na segunda safra, os parasitoides, liberados em maior número em 2018/19, foram capazes de reduzir a população da praga presentes de forma significativa se comparado ao armazém sem liberação. De fato, o potencial de *A. calandrae* para controlar coleópteros praga já havia sido registrado, como no trabalho de Abd El-Gawad et al. (2009), para o controle de *C. maculatus*, *C. chinensis*, *R. dominica* e *S. oryzae* em liberações dentro de sacos de armazenagem de grãos. Os autores observaram que a ação de *A. calandrae* reduziu em

até 48 % as populações dos besouros. Niedermayer et al. (2016), avaliaram a dispersão e capacidade busca de *A. calandrae* por larvas de *S. granarius* em armazéns estocagem vazios (de até 150 m²) e verificaram que o parasitoide se deslocou por toda a área, encontrando as larvas.

Assim, em ambos os locais de armazenamento, no produtor e na indústria, *A. calandrae* foi capaz de diminuir a infestação de *L. serricorne*. Indicando que o parasitoide está bem adaptado ao ambiente de armazenamento com tabaco, visto que *A. calandrae* foi capaz de se locomover dentro dos ambientes com grandes volumes de tabaco, buscar, encontrar as larvas de *L. serricorne* que estão no interior dos fardos e parasitá-las. Embora o tabaco apresente grande quantidade de nicotina presente em suas folhas, substância que atua por hiperexcitação do sistema nervoso e pode ser fatal a muitos insetos (Kessler and Baldwin, 2002; Reigart and Roberts, 2013), o parasitoide parece suportar bem esta condição. Esta característica também é registrada para outro parasitoide associado ao sistema de armazenamento de tabaco, *Habrobracon hebetor* (Say) (Hym.: Braconidae), que inclusive apresentou resposta quimiotóxica positiva a odores de diferentes tipos de tabaco (Pezzini et al., 2020).

Além disso, as larvas do hospedeiro oferecidas para *A. calandrae* na criação, eram alimentadas com dieta que continha tabaco em sua composição, justamente para “ambientar” os parasitoides com o produto. Bender et al. (2019), já haviam relatado que *A. calandrae* apresentou resposta quimiotóxica positiva pela dieta contendo tabaco oferecida a *L. serricorne*, comprovando que o parasitoide reconhece o tabaco como substrato de seus hospedeiros.

Um fator importante para se considerar em programas de MIP é o estágio de desenvolvimento do hospedeiro em que o parasitoide se desenvolve. No caso de *A. calandrae*, são larvas de último instar e, eventualmente, pupas (Belda and Riudavets,

2010; Benkhellat et al., 2015). Embora esse parasitoide utilize os estágios mais tardios e que, neste caso já ocorreram danos no produto, a realização de liberações massais e sequenciais faz com que as fêmeas do parasitoide impeçam a emergência de novos adultos do inseto-praga no ambiente, fazendo com que a população seja controlada, diminuindo a infestação gradativamente.

Outro ponto positivo da utilização de *A. calandrae* para controle de *L. serriorne* em tabaco é que ao realizar o controle, não há aumento de resíduos no produto, pois o parasitoide tem um tamanho diminuto, entre 1 e 7 mm de comprimento (Hanson and Heydon, 2006 in Fernández and Sharkey, 2006) e é composto por um exoesqueleto de quitina (Hanson and Heydon, 2006 in Fernández and Sharkey, 2006), o que facilita sua eliminação em processos usuais de limpeza do tabaco (Graudejus and Briem, 1994). Além disso, de acordo com Flinn and Hagstrum, 2001, fragmentos de insetos pragas em grãos armazenados são consideravelmente reduzidos nos grãos que foram tratados com parasitoides.

Como visto, liberações massais e frequentes do parasitoide *A. calandrae* em locais de armazenamento de tabaco, tanto de pequeno (produtores) quando de grande porte (indústria), mostram-se uma alternativa eficaz, pois são capazes de realizar o controle de *L. serriorne*. Além disso, o presente estudo traz o primeiro registro sistematizado no Brasil do uso de *A. calandrae* a partir de liberações massais para o controle biológico aplicado em ambientes de estocagem de tabaco.

5. 5 Conclusão

O uso de *A. calandrae* em liberações massais é uma das alternativas utilizadas em programas de manejo integrado de pragas, pois é capaz de reduzir infestações de *L. serricorne* em ambientes de armazenamento de tabaco.

5.6 Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de doutorado concedida à primeira autora e MCTI / CT-Agro / CNPq 38/2013. À empresa Japan Tobacco International (JTI) por todo apoio logístico e financeiro fornecidos para realização do experimento. Aos produtores de tabaco pelo auxílio, colaboração e por conceder os galpões para realização deste estudo.

5.7 Referências

- Abd El-Gaward, H. A.S.; Abd El-Aziz, E. A.; Sayed, A. M. M., 2009. Effect of releasing the parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) on certain coleopteran stored products beetles in Egypt. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, Abbasia, v. 2, n. 2, p. 211- 219. <https://doi.org/10.21608/eajbsa.2009.15444>
- Afubra – Associação dos Fumicultores do Brasil., 2019. Fumicultura Brasil e Perfil do fumicultor. Disponível em: <<http://www.afubra.com.br>>. Acesso em: 13 jan. 2019.
- Agrofit - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. [Base de dados] 2020. (Consulta de praga/doença). Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/aceso-a-informacao/cartas-de-servico/defesa-agropecuaria-agrotoxicos/agrotoxicos-registrados-no-agrofit>>. Acesso em: 20 nov. 2020.
- Antunes, L. E. G.; Dionello, R. G., 2010. Bioecologia de *Lasioderma serricorne* Fabricius 1792 (Coleoptera: Anobiidae). Infobibos. [online]. Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2010_2/Lasioderma/index.htm Acessado em: 15/06/2017.
- Anukiruthika, T.; Jian, F.; Jayas, D. S., 2021. Movement and behavioral response of stored product insects under stored grain environments - A review. Journal of Stored Products Research, v. 90, 101752. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2020.101752>
- Athié, I.; Paula, D. C., 2002. Insetos de grãos armazenados aspectos biológicos e identificação. Livraria Varela, 2ª edição, 28-34 p.
- Ayres, M.; Ayres Júnior, M.; Ayres, D. L.; Santos, A.S. dos, 2007. BioEstat 5.0 aplicações estatísticas na área das ciências biológicas e médicas. Sociedade Civil Mamirauá, Belém.
- Baur, H.; Kranz-Baltensperger, Y; Cruaud, A. Rasplus, J. Y.; Timokhov, A. V.; Gokhman, V. E., 2014. Morphometric analysis and taxonomic revision of *Anisopteromalus* Ruschka (Hymenoptera: Chalcidoidea: Pteromalidae) – an integrative approach. Systematic Entomology, Londres, v. 39, p. 691–709. <https://doi.org/10.1111/syen.12081>.

Belda, C.; Riudavets, J., 2010. Attraction of the parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Howard) (Hymenoptera: Pteromalidae) to odors from grain and stored product pests in a Y-tube olfactometer. *Biological Control*, Dordrecht, v. 54, p. 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.02.005>

Bender E.; Jahnke S. M.; Köhler A., 2019. Chemotaxic Responses of *Anisopteromalus calandrae* (Howard) (Hymenoptera: Pteromalidae) to Odors of Larvae, Pupae, and the Diet of *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (Coleoptera: Ptinidae). *Neotropical Entomology*, 49 (2):171-178. <https://doi.org/10.1007/s13744-019-00742-0>

Benkhellat, O.; Jaloux, B.; Moali, A.; Chevrier, C.; Monge, J. P., 2015. Host discrimination and egg laying in *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) ectoparasitoid of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Stored Products Research*, Oxford, 61, p. 48-53. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2015.02.005>

Carvalho, C. et al., 2014. Anuário brasileiro do tabaco. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz. 128p.

Carvalho, M. O.; Pereira, A. P.; Mexia, A., 2003. Adopção de Proteção Integrada em tabaco armazenado em Portugal. Comunicações Orais – Produtos Armazenados, 6ª ENPI, Instituto de Investigação Científica Tropical/Centro de Estudos de Fitossanidade do Armazenamento. Lisboa, Portugal.

Flinn, P.W., Hagstrum, D.W., 2001. Augmentative releases of parasitoid wasps in stored wheat reduces insect fragments in flour. *Journal of Stored Products Research*, v. 37, p. 179-186. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00018-7](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00018-7)

Graudejus, W.; Briem, E., 1994. Apparatus for detection and removal of foreign matter from cut tobacco. In: Proceedings of the CORESTA Congress, Bull. Spec, Harare, p. 171.

Guedes, J. V. C.; Costa, I. F. D., 2006. Guia de identificação e manejo integrado das pragas e doenças do fumo. Santa Maria: Orium. 88 p.

Hanson, P. E.; Heydon, S. L., 2006. In Fernández, F.; Sharkey, M.J. Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical. Bogotá: Sociedad Colombiana de Entomología y Universidad Nacional de Colombia. 894p.

Howe, R. W., 1957. 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.

Jian, F., Jayas, D.S., 2012. The ecosystem approach to grain storage. *Agricultural Research* 1, 148-156. <https://doi.org/10.1007/s40003-012-0017-7>

Kessler, A., Baldwin, I.T., 2002. Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. *Annual Review of Plant Biology*, v. 53, p. 299-328. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.53.100301.135207>.

Kist, B. B.; Carvalho, C.; Fardin, I.; Garcia, P.; Beling, R.R., 2020. Anuário brasileiro do tabaco 2020. Editora Gazeta Santa Cruz, Santa Cruz do Sul.

- Lessard, E.; Boivin, G., 2013. Effect of low temperature on emergence, fecundity, longevity and host-feeding by *Trichogramma brassicae*. *Biocontrol*, Dordrecht, v. 58, p. 319–329. <https://doi.org/10.1007/s10526-012-9493-8>
- Loeck, A. E., 2002. Praga de produtos armazenados. Pelotas, EGUFPPEL. 113 p.
- Lorini, I.; Krzyzanowski, F. C.; França-Neto, J. B.; Henning, A. A.; Henning, F. A., 2015. Manejo integrado de Grãos e Sementes Armazenadas. Comunicado técnico, Embrapa, Brasília, DF. 84 p.
- 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*, v. 38, p. 463–469. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(01\)00050-9](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(01)00050-9)
- Nascimento, J. B., 2011. Fatores que afetam a liberação e a eficiência de parasitoides no controle biológico de insetos-praga. *Enciclopédia Biosfera*, v. 7, n.13; p. 550.
- Niedermayer, S.; Krogmann, L.; Steidle, J. L. M., 2016. 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*, Dordrecht, v. 61, p. 379–386. <https://doi.org/10.1007/s10526-016-9717-4>
- 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 - 18 a 21 de julho de 2011.
- Pezzini, C., Rosa, K. P., Jahnke, S. M., Köhler, A., 2020. Chemotaxis of *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) in response to larvae of *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) and host food substrate with tobacco. *Journal of Stored Products Research*, v. 89, 101680. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2020.101680>.
- Phoonan, W.; Deowanish, Su; Chavasiri, W., 2014. Food attractant from mulberry leaf tea and its main volatile compounds for the biocontrol of *Lasioderma serricorne* F. (Coleoptera: Anobiidae). *Journal of Stored Products Research*. 59. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2014.09.004>.
- Pimentel, M. A. G.; Santos, J. P.; Lorini, I., 2011. Cultivo do Milho. Embrapa Milho e Sorgo, Versão Eletrônica - 7ª edição. Set./2011 Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_7_ed/colpragas.htm>. Acesso em: 06 de dez. de 2018.
- Pratissoli, D.; Fernandes, O.; Zanuncio, J. C.; Pastori, P. L., 2004. Fertility life table of *Trichogramma pretiosum* and *Trichogramma acacioi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae) eggs at different constant temperatures. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 97, p. 729–731. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2004\)097\[0729:FLTOTP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2004)097[0729:FLTOTP]2.0.CO;2)
- Reigart J. R., Roberts, J. R., 2013. Biologicals and insecticides of biological origin. In: Reigart, J.R., Roberts, J.R. (Eds.), *Recognition and management of pesticide poisonings*, 6th edition, United States Environmental Protection Agency (EPA), Washington, pp. 70-79.

Saeed, M. B. E. E. M.; Laing, M. D.; Miller, R. M.; Bancole, B., 2017. Ovicidal, larvicidal and insecticidal activity of strains of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin against the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* Fabricius (Coleoptera: Anobiidae), on rice grain. *Journal of Stored Products Research*, v. 74, p. 78 – 86. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2017.10.001>.

Saglam, O.; Edde, P. A.; Phillips, T. W., 2015. Resistance of *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) to Fumigation with Phosphine. *Journal of Economic Entomology*, v. 108, n. 5, p. 2489-2495. <https://doi.org/10.1093/jee/tov193>.

Sanches, M. M.; Silva, M. L., 2015. Meios de Disseminação de Pragas Agrícolas. In: Sugayama, R.; Silva, M. M.; Silva, S.; Ribeiro, L. C.; Rangel, L., (Eds.) *Defesa Vegetal – Fundamentos, Ferramentas, Políticas e Perspectivas*. Belo Horizonte: SBDA - Sociedade Brasileira de Defesa Agropecuária, 544 p.

Silva, A. P. O. Prospecção de produtos naturais para o manejo integrado de *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae). 2017. 157 f. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da RENORBIO da Universidade Federal de Alagoas. Maceió, 2017.

Sitthichaiyakul, S.; Amornsak, W., 2017. Host-substrate preference of *Theocolax elegans* (Westwood) (Hymenoptera: Pteromalidae), a larval parasitoid of the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae). *Agriculture and Natural Resources*, Bangkok, v. 51, p. 36-39. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2016.09.003>

Specht, A.; Guedes, J. V. C.; Sulzbach, F.; Vogt, T., 2006. Ocorrência de *Rachiplusia nu* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae) em fumo (*Nicotiana tabacum* L.) no Rio Grande do Sul. *Neotropical Entomology*, Londrina v. 35, n. 5, p. 705-706. <https://doi.org/10.1590/s1519-566x2006000500020>.

Zilch, K. C. F.; Jahnke, S. M.; Köhler, A. Bender, E., 2017. Effect of diet, photoperiod and host density on parasitism of *Anisopteromalus calandrae* on the tobacco beetle biological parameters of the parasitoid. 2017. *American Journal of Plant Sciences* York, v. 8, n. 12, p. 3218-3232. <https://doi.org/10.4236/ajps.2017.812217>.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A alimentação com mel oferecida à *A. calandrae* afetou positivamente as populações criadas em laboratório, aumentando a longevidade e melhorando o potencial reprodutivo em relação aos parasitoides não alimentados. Além disso, a prole gerada a partir de adultos alimentados, apresentou um maior tamanho corporal, fazendo com que a busca pelo hospedeiro e o parasitismo sejam potencializados, o que poderá refletir no sucesso do controle da praga alvo.

Considerando as formas de armazenamento de tabaco na indústria, seja picado solto em caixas, ou em fardos prensados, as fêmeas de *A. calandrae* são capazes de localizar e parasitar larvas de *L. serricorne* que estejam atacando este substrato. As liberações realizadas em galpões de produtores e em armazéns da indústria comprovam que *A. calandrae* consegue encontrar seus hospedeiros em folhas secas de tabaco empilhadas, assim como nos fardos armazenados em grandes quantidades,

Outros estudos como avaliação da capacidade de dispersão dos parasitoides, definição de quantidade de parasitoides liberados e a influência de fatores ambientais, poderão trazer maiores subsídios para o entendimento e a forma de aplicação desse parasitoide em ambientes de armazenamento.

Os resultados apresentados no presente estudo, trazem a confirmação de que o parasitoide *A. calandrae* quando criado com uma dieta com mel e liberado regularmente

em ambientes de armazenagem de tabaco, é uma opção efetiva no controle de *L. serricorne*, e fornece mais uma alternativa em programas de MIP e para o controle biológico de pragas no Brasil.