

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

RESPOSTA DE *Gryon gallardoi* (BRÈTHES) (HYMENOPTERA:  
SCELIONIDAE) À QUALIDADE DOS OVOS DE *Spartocera dentiventris*  
(BERG) (HEMIPTERA: COREIDAE) E EVIDÊNCIAS DOS MECANISMOS DE  
SELEÇÃO ENVOLVIDOS

Luciane da Rocha  
Biol<sup>a</sup> (UNISINOS)  
Mestre em Biologia Animal (UFRGS)

Tese apresentada com um dos  
requisitos à obtenção do Grau de  
Doutor em Fitotecnia  
Área de Concentração Fitossanidade

Porto Alegre (RS), Brasil  
Agosto de 2005



**"A verdadeira medida de um homem não é como ele se comporta em momentos de conforto e conveniência, mas como ele se mantém em tempos de controvérsia e desafio".**

**Martin Luther King**

## **AGRADECIMENTOS**

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luíza Rodrigues Redaelli pela valiosa orientação deste trabalho e, principalmente, pela amizade, apoio e incentivo sempre presentes nestes anos de convivência.

Ao Prof. Dr. Milton de Souza Mendonça Júnior pela co-orientação e, sobretudo, pela amizade, dedicação e paciência sempre presentes na hora de “interpretar os números”.

Ao Prof. Dr. Gilson Rudinei Pires Moreira pela co-orientação, especialmente pelas críticas e conhecimentos transmitidos, importantes para a minha formação.

Ao Prof. Dr. Josué Sant’Anna pelo auxílio e dedicação sempre presentes em várias etapas deste trabalho.

Ao Departamento de Fitossanidade por oportunizar a realização deste estudo e aos seus funcionários pela cordialidade.

Aos professores do curso de pós-graduação em Fitotecnia por propiciarem o meu aprimoramento acadêmico.

À Prof. Dr<sup>a</sup> Mirian de Freitas Soares, da FEEVALE, pelas análises cromatográficas.

Ao Eng. Agr<sup>o</sup> Celson Alexandre Weiler pelo fornecimento das mudas de fumo.

Ao funcionário Miguel Otaviano Barcelos pelo auxílio no preparo do solo e da manutenção da área experimental.

Ao Dr. Celson Roberto Canto-Silva pelo incentivo ao desenvolvimento deste trabalho, além da amizade e apoio em vários momentos.

À bolsista de Iniciação Científica, hoje bióloga, Roberta Kolberg pela sua dedicação, amizade e auxílio, imprescindíveis na condução deste trabalho.

Ao pessoal do Centro de Microscopia Eletrônica da UFRGS (CME), especialmente à funcionária Mírian Santos, pelo auxílio na operação do MEV.

À CAPES e, posteriormente, ao CNPq pela bolsa concedida. Agradeço também ao CNPq pelo financiamento do projeto o qual incluiu este estudo.

Ao “povo” que já passou e ao que continua no BIOECOLAB o qual fizeram parte desta jornada, pelas “conversas fiadas”, conselhos, discussões, risadas e, sobretudo, pela amizade que nunca será esquecida: Celson, Régis, Júlio, Simone, Caroline, Cristiane, Janaína, Caio, Fernando, Tacimara, Rosana, Ricardo, Ester, Rafael, Paula (e seus bombons) e demais colegas.

Às colegas e amigas Cristiane Ramos de Jesus e Caroline Greve pela compreensão, conselhos e por “terem me emprestado o ombro” quando precisei.

Aos meus pais, Marino e Lurdy, que com amor, carinho e dedicação sempre me apoiaram em todas as etapas da minha vida.

Ao Biólogo Carlos Eduardo G. Nascimento, por compartilhar a vida ao meu lado com muito companheirismo, amor e compreensão em todos estes anos que estamos juntos.

**<sup>1</sup>RESPOSTA DE *Gryon gallardoi* (BRÈTHES) (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) À QUALIDADE DOS OVOS DE *Spatocera dentiventris* (BERG) (HEMIPTERA: COREIDAE) E EVIDÊNCIAS DOS MECANISMOS DE SELEÇÃO ENVOLVIDOS<sup>1</sup>**

Autor: Luciane da Rocha

Orientador: Luiza Rodrigues Redaelli

Co-orientadores: Milton de Souza Mendonça Júnior

Gilson Rudinei Pires Moreira

**RESUMO**

Foi investigada, em condições de laboratório, a resposta de *Gryon gallardoi* a grupos de ovos de *Spatocera dentiventris* de diferentes idades (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 12 dias), registrando-se o efeito destas nos processos de seleção do parasitóide e na prole produzida. Os estímulos envolvidos em tais processos e a descrição morfológica das sensilas antenais também foram estudados. O aumento da idade do hospedeiro modificou o comportamento de oviposição, acarretando em um maior tempo de tamborilamento e de inserção do ovipositor, não influenciando o percentual de parasitismo, auto-parasitismo e a proporção de machos, porém acarretou em um maior tempo de desenvolvimento, redução no percentual de emergência, diminuição na aceitação das fêmeas e redução do tamanho corporal da prole do parasitóide. Testes em olfatômetro demonstraram que folhas de fumo provocaram uma maior resposta nas fêmeas recém-emergidas do parasitóide do que nas experientes. Através do contato, as fêmeas não diferenciaram extratos de ovos jovens e velhos, quando aplicados em ovos lavados com solvente. Ovos não parasitados, impregnados com extrato de parasitados, foram evitados. Cilindros de acrílico de maior tamanho, usados como hospedeiro artificial, resultou em um maior tempo de tamborilamento em relação aos menores. A análise cromatográfica detectou três substâncias diferentes em extrato de ovos de um dia de idade em relação a extrato de ovos de 5 e 12 dias. Nas antenas das fêmeas do parasitóide encontrou-se diferentes tipos de sensilas porosas e aporosas. Os resultados deste trabalho sugerem que a condição do hospedeiro acarreta em modificações no comportamento bem como no sucesso da prole, sendo a aceitação e a discriminação dos mesmos possivelmente influenciada por uma complexa mistura de estímulos.

---

<sup>1</sup> Tese de Doutorado em Agronomia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (145 p.), Agosto, 2005.

**RESPONSE OF *Gryon gallardoi* (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) TO  
QUALITY OF THE EGGS OF *Spartocera dentiventris* (HEMIPTERA:  
COREIDAE) AND EVIDENCES OF THE MECHANISMS OF SELECTION  
INVOLVED<sup>2</sup>**

Author: Luciane da Rocha  
Adviser: Luiza Rodrigues Redaelli  
Co-advisers: Milton de Souza Mendonça Júnior  
Gilson Rudinei Pires Moreira

**ABSTRACT**

Were investigated, in laboratory conditions, the responses of *Gryon gallardoi* to eggs groups of *Spartocera dentiventris* of different ages (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 and 12 days), recording the effect of this factor on the process of host selection of the parasitoid and on offspring obtained. The stimuli involved in host selection and the morphological description of the antennal sensillae were also studied. Increases in host eggs led to longer drumming and ovipositor insertion times, not influencing the percentage of parasitismo, self-parasitism and the male proportion, however led to longer development times, decreased parasitoid survival to adulthood, diminution in the acceptance of female and smaller body sizes of the offspring of the parasitoid. Tests in olfactometer showed that tobacco leaves entice stronger responses in recently emerged female parasitoids than in experienced females. Through contact, females could not differentiate young or older host eggs, when applied on eggs washed with solvent. Non-parasitised eggs impregnated with extracts from parasitised eggs were avoided. Acrylic cylinders, used as surrogate eggs, when of a larger size resulted in longer drumming times compared to smaller ones. The chromatography analysis detected three different substances in the extracts from eggs of one day of age compared to eggs of 5 and 12 days. Different types of porose and aporose sensillae were found on the antennae of parasitoid females. Results from this work overall suggest that host condition implies behavioural changes in the parasitoid, with host acceptance and discrimination influenced by a complex mixture of stimuli.

---

<sup>2</sup> Doctoral thesis in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (145 p.), August, 2005.

## SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO I	
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 A interação hospedeiro-parasitóide.....	1
1.2 Comportamento de seleção de hospedeiros em parasitóides de ovos.....	4
1.3 Superparasitismo.....	13
1.4 Estímulos utilizados por parasitóides de ovos no processo de seleção de hospedeiros.....	16
1.5 O papel das sensilas antenais na percepção de estímulos em parasitóides de ovos.....	23
1.6 A família Scelionidae.....	29
1.7 A interação <i>Gryon gallardoi</i> e <i>Spartocera dentiventris</i> .....	36
CAPÍTULO II	
Comportamento de oviposição de <i>Gryon gallardoi</i> (Brèthes) (Hym.: Scelionidae) em ovos de diferentes idades de <i>Spartocera dentiventris</i> (Berg) (Hem.: Coreidae).....	42
2.1 Introdução.....	42
2.2 Material e métodos.....	45
2.3 Resultados e discussão.....	47
CAPÍTULO III	
Efeito da idade dos ovos de <i>Spartocera dentiventris</i> (Berg) (Hem.: Coreidae) no parasitismo de <i>Gryon gallardoi</i> (Brèthes) (Hym.: Scelionidae).....	57
3.1 Introdução.....	57
3.2 Material e métodos.....	58
3.3 Resultados e discussão.....	61
CAPÍTULO IV	
Variação do tamanho corporal de <i>Gryon gallardoi</i> (Brèthes) (Hym.: Scelionidae) relação à idade e ao tamanho de ovos de <i>Spartocera dentiventris</i> (Berg) (Hem.: Coreidae).....	69
4.1 Introdução.....	69
4.2 Material e métodos.....	71
4.3 Resultados e discussão.....	74

CAPÍTULO V	
Estímulos utilizados por <i>Gryon gallardoi</i> (Brèthes) (Hym.: Scelionidae) nos processos de seleção de ovos de <i>Spartocera dentiventris</i> (Berg) (Hem.: Coreidae).....	84
5.1 Introdução.....	84
5.2 Material e métodos.....	87
5.2.1 Criação de insetos e preparo de extratos.....	87
5.2.2 Experimento 1.....	88
5.2.3 Experimento 2.....	89
5.2.4 Experimento 3.....	90
5.2.5 Experimento 4.....	90
5.2.6 Experimento 5.....	91
5.2.7 Análise estatística.....	91
5.3 Resultados e discussão.....	92
CAPÍTULO VI	
Morfologia e distribuição das sensilas antenais da fêmea de <i>Gryon gallardoi</i> (Brèthes) (Hym.: Scelionidae).....	106
6.1 Introdução.....	106
6.2 Material e métodos.....	108
6.3 Resultados.....	109
6.4 Discussão.....	116
CAPÍTULO VII	
CONCLUSÕES.....	126
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	129

## RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
5.1 Substâncias (indicadas por números romanos) encontradas nos extratos de ovos de <i>Spartocera dentiventris</i> (Hem.: Coreidae) de 1, 5 e 12 dias de idade de acordo com o tempo de retenção (Tr) na coluna do cromatógrafo.....	103
6.2 Variação numérica de sensilas por antenômeros nas superfícies dorsal e ventral das fêmeas de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae): PI=papilária; CA1=caética 1; Ca2= caética 2; Fc= falciforme; Cv=cavilha; Es= estilocônica (A letra "A" seguida de números arábicos representa os diferentes antenômeros. As sensilas tricóides foram omitidas).....	112

## RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1.1 Fêmea e macho de <i>Spartocera dentiventris</i> (Hem.: Coreidae) sobre uma planta de fumo (A); grupo de ovos de <i>S. dentiventris</i> (B); fêmea de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae) sobre grupo de ovos de <i>S. dentiventris</i> (C); ovos de <i>S. dentiventris</i> parasitados por <i>G. gallardoi</i> (D).....	38
2.1 Etapas do comportamento de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae) em ovos de <i>Spartocera dentiventris</i> (Hem.: Coreidae): tamborilamento (A); inserção do ovipositor (B) e marcação (C).....	47
2.2 Duração média do tamborilamento (A) e da inserção do ovipositor (B) de fêmeas de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae) em relação às diferentes idades dos ovos de <i>Spartocera dentiventris</i> (Hem.: Coreidae) (barras indicam erro-padrão).....	49
2.3 Percentual médio de auto-parasitismo de fêmeas de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae) em relação à ordem de oviposição em ovos de <i>Spartocera dentiventris</i> (Hem.: Coreidae) (barras indicam erro-padrão).....	52
2.4 Comportamento de oviposição comparativo de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae) em ovos auto-parasitados e não parasitados de diferentes idades de <i>Spartocera dentiventris</i> (Hem.: Coreidae): A- número médio de contatos e B- percentual médio de aceitação (barras indicam erro-padrão).....	53
2.5 Destino dos ovos de <i>Spartocera dentiventris</i> (Hem.: Coreidae) em relação aos diferentes períodos de interrupção da oviposição de fêmeas de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae).....	55
3.1 Percentual médio de emergência (barras indicam E.P.) da prole de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae) emergidos de ovos de <i>Spartocera dentiventris</i> (Hem.: Coreidae) de diferentes idades.....	61
3.2 Tempo médio de desenvolvimento (dias) (barras indicam E.P.) de machos e fêmeas de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae) em relação	

à idade dos ovos de <i>Spartocera dentiventris</i> (Hem.: Coreidae).....	64
3.3 Percentual de ovos machos e fêmeas depositados por <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae), em relação a ordem de oviposição nos grupos de ovos de <i>Spartocera dentiventris</i> (Hem.: Coreidae).....	66
3.4 Percentual médio de parasitismo (barras indicam E.P.) em ovos de diferentes idades <i>Spartocera dentiventris</i> (Hem.: Coreidae) oferecidos simultaneamente a fêmeas de <i>G. gallardoi</i> Hym.: Scelionidae).....	67
4.1 Tamanho médio da tíbia (A) e da cabeça (B) de machos fêmeas de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae) em relação a idade dos ovos de <i>Spartocera dentiventris</i> (Hem.: Coreidae) (barras indicam erro padrão).....	76
4.2 Tamanho da tíbia (A) e da cabeça (B) (média ± E.P) de machos e fêmeas de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae) em relação às categorias de volume dos ovos de <i>Spartocera dentiventris</i> (Hem.: Coreidae).....	77
4.3 Dimorfismo sexual estimado (DS <sub>t</sub> ) de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae) em relação à idade dos ovos de <i>Spartocera dentiventris</i> (Hem.: Coreidae): A- comprimento da tíbia; B- largura da cabeça.....	80
4.4 Dimorfismo sexual estimado (DS <sub>t</sub> ) de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae) em relação ao volume (mm <sup>3</sup> ) dos ovos de <i>Spartocera dentiventris</i> (Hem.: Coreidae): A- comprimento da tíbia; B- largura da cabeça.....	81
5.1 Esquema da arena do olfatômetro de quatro braços utilizado para avaliar a resposta de fêmeas de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae) a diferentes fontes de odor (os números indicam os campos de odor).....	89
5.2 Tempo médio de permanência de fêmeas de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae) a diferentes fontes de odor (T1= ovos não lavados; T2= ovos lavados; T3= folha de fumo e T4=folha de fumo com ovos) (barras indicam erro-padrão).....	93
5.3 Percentual de médio de aceitação (barras indicam erro-padrão) de ovos de <i>Spartocera dentiventris</i> (Hem.: Coreidae) com diferentes tratamentos por fêmeas de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae): A- controle (ovos de um dia de idade lavados com hexano); grupo 1 (um dia de idade com extrato de ovos de 12 dias); grupo 2 (12 dias de idade com extrato de ovos de um dia). B- controle (um dia de idade lavados com hexano); grupo 3 (cinco dias de idade com extrato de ovos de 8 dias); grupo 4 (oito dias de idade com extrato	

de ovos de cinco dias).....	97
5.4 Percentual médio de parasitismo (barras indicam erro-padrão) de fêmeas de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae) em grupos de ovos de <i>Spartocera dentiventris</i> (Hem.: Coreidae) com diferentes tratamentos: P= parasitados; PI= parasitados e lavados; NP= não parasitados; NPE= não parasitados e pincelados com extrato de parasitado.....	100
5.5 Tempo médio de tamborilamento (s) (barras indicam E.P) de fêmeas de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae) sobre cilindros de acrílico colocados sobre folha de fumo: A- grandes (1,8 mm de diâmetro x 1,6 mm de altura) e pequenos (1,4 mm de diâmetro x 0,8 mm de altura). B- brancos e vermelhos colocados em folha de fumo.....	101
6.1 Distribuição esquemática das sensilas nos antenômeros flagelares das fêmeas de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae): A- Superfície ventral da antena esquerda (sensilas Ca2 omitidas); B- Superfície ventral da antena direita (sensilas Ca1 omitidas); C- Superfície dorsal da antena esquerda (sensilas Ca1; Cv e Gd omitidas) D- Superfície dorsal da antena direita (sensilas Fc omitidas).....	113
6.2 Sensilas antenais das fêmeas de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae) (escala= 50 $\mu$ m); B- Sensila papilária e tricóide na porção distal de A12 (antena direita) (escala= 1 $\mu$ m); C- Sensila papilária na porção distal de A9 (antena direita) (escala= 1 $\mu$ m); D- Sensila tipo cavilha na porção dorsal de A10 (antena esquerda) (escala= 2 $\mu$ m); E- Sensila falciforme na porção dorsal de A10 (antena direita) (escala= 1 $\mu$ m).....	114
6.3 Sensilas antenais das fêmeas de <i>Gryon gallardoi</i> (Hym.: Scelionidae): A- sensila caética 1 na porção dorsal de A10 (escala= 5); B- sensila caética2 na porção ventral de A7 (escala= 2 $\mu$ m); C- sensila estilocônica na porção ventral de A3 (escala= 2 $\mu$ m); D- Vista geral da glândula dorsal em A8 (escala= 2 $\mu$ m); E- Vista geral das tricóides na porção ventral de A3 (escala= 20 $\mu$ m); F- Vista geral das tricóides na porção ventral de A8 (escala= 20 $\mu$ m).....	115

## **CAPÍTULO I**

### **INTRODUÇÃO**

#### **1.1 A interação hospedeiro-parasitóide**

A interação tritrófica planta-hospedeiro-parasitóide envolve uma considerável proporção da biodiversidade observada na natureza. Estima-se que o número de organismos envolvidos nesta interação ultrapasse a metade das espécies descritas (Price, 1980). Nesta mesma linha, Quicke (1997) refere que a ação de parasitóides é considerada de relevante importância para a manutenção da diversidade natural das comunidades.

O sucesso ecológico e evolutivo dos parasitóides, evidenciado pela sua ampla distribuição geográfica, ocupação de nichos e habitats, assim como sua grande diversidade, colocam esse grupo no foco do interesse de pesquisadores de diversas áreas da biologia, especialmente a ecologia populacional e a entomologia aplicada (Jervis & Copland, 1996).

No decorrer do processo evolutivo, o hábito parasitário em insetos surgiu a partir de relações estreitas com grupos de hospedeiros de diferentes características nutricionais e de defesa (Garcia, 1991). Diversas estratégias de

localização, escolha do hospedeiro e ataque, originaram uma grande variedade de comportamentos ligados a este hábito, que é de importância para a manutenção da diversidade natural das comunidades e para a regulação das populações de insetos (Godfray, 1994; Quicke, 1997; Brodeur & Boivin, 2004).

O termo “parasitóide” refere-se ao hábito de alguns insetos em utilizar o corpo de outros invertebrados durante o desenvolvimento larval, se alimentando do mesmo e obrigatoriamente causando a sua morte (Vinson 1976; Strand, 1986). A história natural e a identificação dos parasitóides têm grande importância, especialmente em ecossistemas agrícolas, onde muitos são utilizados com sucesso em programas de controle biológico (Godfray, 1994). A utilização de parasitóides na agricultura tem gerado uma grande quantidade de informações sobre o comportamento, a ecologia e a biologia de diferentes espécies.

Os parasitóides podem ser solitários, quando ovipositam apenas um ovo por hospedeiro; semi-gregários, solitários que atacam hospedeiros gregários, como massa ou grupo de ovos e gregários, quando ovipositam vários ovos em um mesmo hospedeiro; endoparasitóides quando o desenvolvimento larval é dentro do corpo do hospedeiro ou ectoparasitóides quando este é fora do corpo do mesmo (Godfray, 1994; Vinson, 1998; Brodeur & Boivin, 2004). Segundo Alphen & Vet (1986), podem ainda ser classificados, dentro de uma guilda, de acordo com o estágio do hospedeiro que utilizam para se desenvolver. É possível ainda distinguir os parasitóides cenobiontes, os quais permitem o desenvolvimento do hospedeiro após a oviposição, dos idiobiontes, que matam ou paralisam o mesmo logo após a oviposição. Assim, o hospedeiro pode ser considerado um recipiente para o parasitóide e, como

tal, impõe certas restrições ao seu desenvolvimento (Vinson, 1975; 1997). Além disso, a fisiologia e o comportamento do hospedeiro, são em benefício do parasitóide em desenvolvimento o qual, quando necessário, pode controlá-los (Vinson & Iwantsch 1980; Brodeur & Boivin, 2004). Desta forma, o sucesso deste hábito depende de uma série de fatores, tais como a localização, a seleção, a aceitação e a adequação do parasitóide ao hospedeiro (Vinson, 1976; Vinson & Iwantsch, 1980; Vinson, 1998).

A maioria dos himenópteros, incluindo os parasitóides, é haplodiplobiônica, onde machos se desenvolvem a partir de ovos não fertilizados (haplóides) e fêmeas em ovos fertilizados (diplóides) (Godfray, 1994). Diante disto, a razão sexual pode variar, sendo as fêmeas capazes de “decidir”, durante a oviposição, o sexo da prole de acordo com fatores, tais como a densidade de hospedeiros, a disponibilidade de hospedeiros não parasitados e a presença de possíveis competidores (King, 1993; Godfray, 1994; Jervis & Copland, 1996; Quicke, 1997; Heimpel & Rosenheim, 1998; Colazza & Wajnberg, 1998; Ellers et al., 2000). Além disso, fatores intrínsecos à fêmea do parasitóide, como a limitação de ovos e a sua idade interferem neste processo (Rosenheim, 1996). Segundo Quicke (1997), o tamanho do hospedeiro também pode ser um fator determinante no sexo da prole, onde os menores poderiam servir para gerar machos e os maiores para gerar fêmeas, otimizando o uso do recurso.

Além destes fatores, Hamilton (1967) já havia referido que em parasitóides gregários ou semi-gregários, a proporção de fêmeas é maior em função do acasalamento local, onde as fêmeas emergidas são geralmente limitadas a acasalarem com seus irmãos. Assim, a fêmea mãe produz apenas

o número necessário de machos para acasalar com as suas filhas, e a proporção destes dependerá da disponibilidade de hospedeiros (Waage, 1982; Waage, 1986; King, 1993; Godfray, 1994; Quicke, 1997; West et al., 2002). Os ovos que dão origem a machos são, geralmente, colocados nas primeiras oviposições e, a medida que o tamanho da postura aumenta, outros machos são colocados em intervalos regulares. Este comportamento é conhecido como “estratégia do macho primeiro”, uma vez que os machos emergem antes das fêmeas e o acasalamento com as irmãs fica garantido (Waage, 1982; Noda & Hirose, 1989; Colazza & Wajnberg, 1998).

Os parasitóides de ovos incluem principalmente representantes de Hymenoptera, das famílias Trichogrammatidae, Mymaridae e Scelionidae onde o hábito parasitário é praticamente exclusivo (Strand, 1986; Vinson, 1998).

O parasitismo em ovos é favorecido pela escassez de defesa imunológica do hospedeiro, bem como pela facilidade em incorporar hormônios do embrião para o desenvolvimento da larva do parasitóide (Salt, 1971; Askew, 1973).

## **1.2 Comportamento de seleção de hospedeiros em parasitóides de ovos**

O comportamento de seleção de hospedeiros pelos parasitóides tem sido alvo de vários estudos nas últimas décadas, especialmente em parasitóides de ovos (Vinson, 1997). Tal comportamento envolve a localização, tanto do habitat quando do hospedeiro em si, o reconhecimento, a aceitação e a adequação do mesmo (Vinson, 1976), sendo estes processos extremamente

importantes por minimizarem o gasto energético na busca por hospedeiros inadequados e estimularem a dispersão para outras áreas (Ables et al., 1981).

A localização do hospedeiro pela fêmea do parasitóide pode ser influenciada por diferentes fatores (Godfray, 1994; Vinson, 1998). Um destes tem origem a partir do momento da emergência da fêmea a qual, ao contatar o seu mecônio ou os restos do hospedeiro, pode obter informações do seu local de emergência, induzindo uma preferência pelo hospedeiro no qual se desenvolveu com sucesso (Faria, 2001). Fatores abióticos (luz, temperatura, umidade, vento, etc.), além da disponibilidade de hospedeiros, de alimento, de sítios de refúgio e de parceiros, a presença de competidores, de inimigos naturais (Vinson, 1997), substâncias químicas oriundas do hospedeiro em si ou das plantas que estes utilizam (Eiras & Gerk, 2001), promovem o arrestamento e a agregação dos parasitóides dentro do hábitat.

Após a localização do hospedeiro, uma série de "decisões", em termos de custo-benefício, devem ser tomadas pela fêmea do parasitóide antes da oviposição. Estas "decisões" envolvem fatores como o tempo necessário para o ataque, os riscos de mortalidade (Iwasa et al., 1984), a presença de coespecíficos e outros possíveis competidores, o seu estado reprodutivo (acasalada ou não) e fisiológico (limitação de ovos, grau de alimentação e composição genética) (Charnov & Skinner, 1985; Godfray, 1994; Rosenhein, 1996; Alphen & Jervis, 1996; West et al., 2002; Brodeur & Boivin, 2004), e a qualidade do hospedeiro em termos nutricionais para a prole e para o adulto, visto que algumas espécies, após ovipositarem, utilizam os fluídos nutritivos que extravasam do hospedeiro para a sua alimentação (Clausen, 1940; Hinton, 1981; Strand 1986; Jervis & Kidd, 1986; Lewis et al., 1998). Estes fatores

podem determinar os estímulos aos quais as fêmeas respondem com diferentes comportamentos (Vinson 1976; 1997; 1998; Baaren & Boivin, 1998), garantindo assim o seu sucesso adaptativo, reprodutivo e a sua sobrevivência (Salt, 1935; Chapman, 1982; Strand, 1986; Bouchier et al., 1993; Godfray, 1994; Greenberg et al, 1998; Fox & Czesak, 2000; Sagarra et al., 2001). Fatores ambientais, como temperatura e umidade, podem alterar as condições do hospedeiro e, conseqüentemente, o comportamento da fêmea (Waage, 1982; Alphen & Vet, 1986; Pak, 1986; Quicke, 1997).

Encontrado o hospedeiro, os processos de reconhecimento e aceitação determinam a especificidade do parasitóide, que parece estar relacionada com o valor nutricional do hospedeiro, seus mecanismos de defesa e seu modo de vida (Chapman, 1982; Vinson, 1976; Vinson & Iwantsch, 1980). O tamanho e a idade do ovo e/ou do grupo ou massa de ovos têm influência no valor nutricional (Vinson, 1975; Izumi et al., 1994; Vinson, 1998). Mudanças químicas e fisiológicas do hospedeiro são observadas de acordo com a idade, o que pode ter reflexo direto no tamanho corporal dos parasitóides produzidos e conseqüências importantes para seu valor adaptativo (Bourchier et al., 1993; Greenberg et al, 1998; Fox & Czesak, 2000).

Para reconhecer o hospedeiro e avaliá-lo em termos de qualidade, os sentidos mais utilizados são o tato e o olfato, respectivamente para reconhecimentos físicos e químicos (Chapman, 1982; Wigglesworth, 1984). Deste modo, muitas espécies de parasitóides, principalmente as que utilizam hospedeiros imóveis, como ovos, examinam estes, externamente, com as antenas por fricção ou tamborilamento e, às vezes, inserem o ovipositor para

obterem informações adicionais sobre seu conteúdo interno (Godfray, 1994; Vinson, 1998).

Uma vez avaliado o hospedeiro, ocorre a inserção do ovipositor que, na maioria das vezes, é seguida de uma marcação para evitar o superparasitismo (Vinson, 1998). Algumas espécies, por utilizarem hospedeiros recém-postos, tornam-se foréticas, isto é, a fêmea do parasitóide se coloca sobre a do hospedeiro, preferencialmente no pronoto ou no fêmur (Orr et al., 1986) parasitando os ovos deste enquanto são depositados no substrato (Vinson, 1976; 1998). Este comportamento é mais evidente em parasitóides associados a ovos de coreídeos e pentatomídeos (Clausen, 1976).

A idade, o tamanho e a textura do hospedeiro são aspectos amplamente estudados em espécies de parasitóides de ovos, podendo ser considerados como os principais critérios na seleção e aceitação de hospedeiros (Pak, 1986; Schmidt & Smith, 1987; Vinson, 1998).

O efeito da idade do hospedeiro na aceitação do mesmo por fêmeas inexperientes de várias espécies de *Trichogramma* Westwood (Hym.: Trichogrammatidae) foi avaliada em ovos de *Sepedon fuscipennis* Loew (Dip.: Sciomyzidae) de um, dois, três e quatro dias de idade, por Juliano (1982). Os resultados indicaram que o número e a capacidade reprodutiva dos indivíduos emergidos e a sobrevivência diminuíram a medida que a idade do hospedeiro aumentou.

Estudos feitos por Suzuki et al. (1984) em *Trichogramma chilonis* Ishii (Hym.: Trichogrammatidae) em ovos de *Papilio xuthus* Linnaeus (Lep.: Papilionidae) evidenciaram três padrões de comportamento de oviposição: tamborilamento, rotação do ovipositor e inserção. Os resultados sugeriram

também que a movimentação do abdômen da fêmea durante a inserção pode ser um indicativo do sexo da prole. Quando as fêmeas fizeram um movimento circular do abdômen durante a inserção do ovipositor, os parasitóides emergidos foram fêmeas, enquanto que a não movimentação originou machos.

Pak et al. (1986) observaram o comportamento de seleção por *Trichogramma* spp. em ovos de diferentes idades de três espécies de lepidópteros: *Mamestra brassicae* (Linnaeus) (Noctuidae), *Pieris brassicae* (Linnaeus) e *Pieris rapae* (Linnaeus) (Pieridae). Os autores não verificaram correlação entre a aceitação e a idade do hospedeiro, exceto com relação ao tempo de oviposição, que foi maior em ovos mais velhos. Dentre os hospedeiros, os parasitóides preferiram ovos de *M. brassicae*.

A influência da umidade relativa do ar na estrutura e na permeabilidade do córion de ovos de *M. brassicae* e de *P. brassicae* e o efeito na aceitação por *Trichogramma* spp. foram avaliados por Pak et al. (1990). Os autores registraram que, diante de umidade relativa elevada, os ovos de *M. brassicae* tornaram-se mais resistentes que os ovos de *P. brassicae*, sendo estes últimos mais aceitos pelo parasitóide.

Para avaliar o efeito da idade na seleção de hospedeiros, Hintz & Andow (1990) expuseram, simultaneamente, massas de ovos frescos (menos de 12 horas de idade) de *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lep.: Pyralidae) e massas de ovos tardios (entre um e quatro dias) para fêmeas de *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis (Hym.: Trichogrammatidae). Os autores constataram que as fêmeas dos parasitóides exibiram preferência por ovos frescos quando estes eram colocados juntamente com ovos de mais de três dias de idade. Entretanto, quando os ovos frescos eram expostos com massas de ovos mais

jovens (entre um e dois dias), os índices de parasitismo foram iguais. Também foi registrado um percentual de emergência, consideravelmente, menor em ovos mais velhos.

Takasu & Hirose (1993) avaliaram o comportamento de aceitação de *Ooencyrtus nezarae* Ishii (Hym.: Encyrtidae) em ovos de diferentes idades de *Riptortus clavatus* (Thunberg) (Hem.: Alydidae), registrando quatro padrões comportamentais: tamborilamento, toque com o ovipositor, perfuração do ovo com o ovipositor para alimentação e inserção do ovipositor. O número de inserções do ovipositor e o tempo gasto na alimentação foram maiores em ovos mais velhos.

Ruberson & Kring (1993) avaliaram a aceitação e a idade preferencial de fêmeas experientes e inexperientes de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae) em ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lep.: Noctuidae). O parasitismo foi constatado em todas as idades testadas (14, 38 e 62 h), porém as fêmeas, tanto as experientes como as inexperientes, exibiram uma preferência por ovos mais jovens, principalmente para obterem alimento. O tempo de desenvolvimento foi maior em ovos de 62 horas seguido por uma menor taxa de sobrevivência, sendo o tamanho dos parasitóides emergidos inversamente proporcional a idade do hospedeiro.

O comportamento de oviposição de *Anaphes iole* Girault (Hym.: Mymaridae) em ovos de *Lygus hesperus* Knight (Hem.: Miridae) foi descrito detalhadamente por Conti et al. (1997) através de etogramas. Foram registrados 14 padrões de comportamento entre o tamborilamento e a marcação.

Com o objetivo de gerar mais informações para estudos de comportamento de aceitação de hospedeiros pelos tricogramatídeos *Trichogramma galloi* Zucchi e *T. pretiosum*, bem como para o desenvolvimento de ovos artificiais, Cõnsoli et al. (1999) descreveram, através de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e transmissão (MET), a superfície e a estrutura do córion de ovos dos hospedeiros destes parasitóides, como os piralídeos *Diatraea saccharalis* (Fabricius), *Ephestia kuehniella* Keller e *Corcyra cephalonica* (Stainton); os noctuídeos *Anticarsia gemmatalis* (Hübner), *Heliothis virescens* (Fabricius) e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) e o gelechídeo *Sitotroga cerealella* Olivier. Foram registradas mudanças de cor, tamanho e volume em todos os hospedeiros durante o desenvolvimento embrionário, sendo que a variedade de texturas e padrões na superfície do córion foram bastante evidentes, podendo influenciar os processos de escolha do parasitóide.

Honda & Luck (2000) avaliaram a relação entre as diferentes idades (um, cinco, sete e nove dias) dos ovos dos hospedeiros *Amorbia cuneana* (Walsingham) (Lep.: Tortricidae) e *Sabulodes aegrotata* (Guenee) (Lep.: Geometridae) e a taxa de parasitismo por *Trichogramma platneri* Nagarkatti (Hym.: Trichogrammatidae). Foi registrado um grande número de parasitóides emergidos e uma maior proporção de fêmeas em ovos de um, cinco e sete dias de *A. cuneana* e nos de um e três dias de *S. aegrotata*. As taxas de parasitismo menores em ovos de *S. aegrotata* indicaram uma preferência pelos de *A. cuneana*. Os autores atribuem a maior dureza do córion dos ovos de *S. aegrotata* como um dos fatores associados a esta preferência.

Após a escolha e a aceitação do hospedeiro, este passa a ser a fonte de alimento, rico ou deficiente em nutrientes para o parasitóide, especialmente na fase larval. Nutrientes estes que poderão ser alterados ou rearranjados pelo parasitóide, permitindo a adequação ao hospedeiro e garantindo o sucesso de desenvolvimento (Salt, 1938; Vinson, 1975; Visser et al., 1992; Mackauer & Sequeira, 1993; Brodeur & Boivin, 2004). Em muitos casos, a larva do parasitóide em desenvolvimento pode "seqüestrar" hormônios de seu hospedeiro, principalmente aqueles relacionados ao crescimento ou alterar o estado fisiológico do hospedeiro de modo a atender as suas necessidades nutricionais (Beckage & Gelman, 2004). Deste modo, muitos hospedeiros podem apresentar respostas no sistema imunológico como estratégia de defesa matando o parasitóide imaturo através de substâncias químicas ou provocando o encapsulamento do mesmo (Salt, 1968; Lawrence & Lanzerein, 1993; Brodeur & Boivin, 2004). Para se defenderem das possíveis reações do sistema imunológico do hospedeiro, células embrionárias denominadas teratócitos, resultantes da dissociação da membrana serosal do embrião do parasitóide, parecem ter um papel importante. Entretanto, estas são restritas aos membros de Braconidae, Platygasteridae e Scelionidae (Salt, 1968; 1971; Dahlman & Vinson, 1993; Cõnsoli et al., 2001; Beckage & Gelman, 2004). Tais células podem absorver a hemolinfa do hospedeiro inibindo a ação do sistema imunológico, alterar a ação dos principais hormônios do hospedeiro, sintetizar e absorver nutrientes (Vinson & Iwantsch, 1980) os quais podem ser ingeridos pelas larvas (Volkoff & Colazza, 1992) além de secretar substâncias que provocam a necrose do hospedeiro (Quicke, 1997).

As fêmeas dos parasitóides podem inocular nos ovos hospedeiros, durante a oviposição, substâncias químicas para inibir o desenvolvimento do embrião do hospedeiro ou provocar o seu envenenamento (Strand & Vinson, 1983a; Godfray, 1994; Vinson, 1998; Beckage & Gelman, 2004). Parasitóides que atacam outros estágios de desenvolvimento, como larvas, podem injetar vírus que, entre outros efeitos, podem provocar o aumento do hormônio juvenil resultando na inibição do desenvolvimento do hospedeiro (Beckage & Gelman, 2004). Estas substâncias químicas inoculadas pelas fêmeas, bem como as secreções produzidas pelos teratócitos, podem ser detectadas pelos parasitóides de ovos através da inserção do ovipositor, evitando o superparasitismo, atuando, nestes casos, como uma marcação interna (Strand, 1986).

Diante de toda a complexidade envolvida no comportamento de seleção do hospedeiro, a experiência e o aprendizado da fêmea do parasitóide parecem ter um papel fundamental (Baaren & Boivin, 1998). De acordo com Vinson (1998), a experiência é adquirida através do contato sucessivo com o hospedeiro permitindo ao parasitóide o aprimoramento da habilidade de responder aos diferentes estímulos oriundos do mesmo. A experiência pode levar a um aprendizado associativo, que pode ser desde a melhoria de uma resposta inata até a associação desta a um novo estímulo, podendo acarretar em mudanças comportamentais, especialmente quando a experiência é bem sucedida, sendo isto essencial na estratégia de forrageamento (Lewis & Tumlinson, 1988), garantindo o sucesso no desenvolvimento (Godfray, 1994; Baaren & Boivin, 1998).

### 1.3 Superparasitismo

O superparasitismo pode ser definido como a oviposição de um ou vários ovos em um hospedeiro já parasitado pelo mesmo indivíduo (auto-parasitismo), por indivíduos diferentes da mesma espécie (superparasitismo coespecífico) ou por indivíduos de espécies diferentes (superparasitismo interespecífico ou multiparasitismo) (Strand, 1986; Dijken & Waage, 1987), todos estes resultando na competição das larvas dentro do hospedeiro (Salt, 1934; Speirs et al., 1991).

Do ponto de vista do parasitóide, este comportamento não oferece benefícios, uma vez que pode ter conseqüências deletérias, já que resulta na morte de uma das larvas do parasitóide dentro do hospedeiro (Alphen & Visser, 1990; Godfray, 1994). Entretanto, diante da falta de hospedeiros não parasitados, o superparasitismo pode ser interpretado em termos de adaptação favorecida pela seleção natural, onde os já parasitados são tratados como recursos pobres em qualidade (Dijken & Wage, 1987; Speirs et al., 1991).

O superparasitismo ocorre em muitas espécies de parasitóides estando, geralmente, associado à redução da abundância de hospedeiros em um dado hábitat (Lenteren et al. 1978; Klomp et al., 1980; Hubbard et al., 1999), podendo influenciar o comportamento (Nufio & Papaj, 2001), o tamanho e a razão sexual dos adultos emergidos e, conseqüentemente o sucesso reprodutivo (Alphen & Visser, 1990; King, 1993).

Segundo Waage (1986), o auto-parasitismo é mais freqüente em indivíduos confinados em laboratório com um número limitado de hospedeiros, estando associado com a diminuição da atividade de busca a medida que o número de ovos parasitados vai diminuindo. Já o superparasitismo

coespecífico pode ocorrer quando duas ou mais fêmeas buscam juntas o mesmo hospedeiro, sugerindo uma interferência mútua, sendo vantajoso devido a probabilidade de eliminação de competidores não irmãos (Suzuki et al., 1984; Alphen & Vet, 1986; Dijken & Waage, 1987; Alphen & Visser, 1990; Dijken et al., 1992; Godfray, 1994; Faria, 2001). Assim, a densidade de parasitóides também poderá influenciar a ocorrência do superparasitismo. Conforme Wu & Nordlund (2002), fêmeas de *A. iole*, em baixa densidade, em laboratório, tiveram maior capacidade de evitar ovos parasitados de *L. hesperus*, em laboratório. A medida que a densidade de fêmeas aumentava sobre a massa de ovos, a incidência de superparasitismo tornava-se gradativamente maior.

Em parasitóides de ovos, a fêmea pode fazer uma marcação química e/ou física no hospedeiro logo após a oviposição com o objetivo de evitar o superparasitismo (Rabb & Bradley, 1970; Colazza et al., 1996; Quicke, 1997). Segundo Bakker et al. (1985), a capacidade de discriminar hospedeiros parasitados dos não parasitados é extremamente vantajosa, evitando que a fêmea aloque tempo e energia em manipular hospedeiros inadequados. A marcação física normalmente é feita através de ranhuras na superfície do córion (Quicke, 1997), sendo que, em algumas vezes, os próprios orifícios de oviposição podem ser detectados por fêmeas coespecíficas como um indicativo de parasitismo (Vinson, 1997). A marcação química geralmente é feita por feromônios secretados pela glândula de Dufour, presente nos ovidutos (Quicke, 1997; Rosi et al., 2001) ou por substâncias secretadas por outras glândulas presentes no aparelho reprodutor das fêmeas (Quicke, 1997). Estas marcações são reconhecidas por fêmeas coespecíficas, sendo que as marcações

interespecíficas geralmente não são reconhecidas (Vinson, 1976; Dijken & Waage, 1987; Alphen & Visser, 1990; Godfray, 1994). Este fato foi demonstrado por Ables et al. (1981), que avaliaram a habilidade dos himenópteros *Telenomus heliothidis* Ashmead (Scelionidae), *Chelonus insularis* (Cresson) (Braconidae) e *T. pretiosum* (Trichogrammatidae) em discriminar ovos parasitados e não parasitados de *H. virescens*. Os resultados mostraram que as três espécies evitaram consideravelmente o superparasitismo coespecífico, entretanto, nenhuma delas rejeitou os ovos parasitados interespecificamente.

O reconhecimento de ovos parasitados por outras espécies pode ocorrer segundo Vet et al. (1984), desde que as mesmas sejam intimamente relacionadas. Trabalho realizado por Chabi-Olaye et al. (2001), sobre superparasitismo em ovos de *Sesamia calamistis* Hampson (Lep.: Noctuidae) pelos himenópteros *Telenomus isis* (Polaszek) (Scelionidae) e *Lathromeris ovicida* (Risbec) (Trichogrammatidae), evidenciaram que ambas as espécies de parasitóides evitaram parcialmente o superparasitismo coespecífico, sendo que *T. isis* se mostrou mais hábil em discriminar ovos já parasitados por *L. ovicida*, evitando assim o superparasitismo interespecífico.

A quantidade insuficiente de feromônio sobre o córion (Klomp et al., 1980), a degradação deste ao longo do tempo e a pouca experiência da fêmea em ovipositar podem ser as causas do não reconhecimento das marcações por fêmeas coespecíficas (Salt, 1934; Okuda & Yeargan, 1988).

De acordo com Lenteren & Bakker (1975), a discriminação de hospedeiros não parasitados pode ser aprendida, uma vez que fêmeas inexperientes tendem a aceitar mais hospedeiros previamente parasitados em

relação as experientes. Para estes autores, o fato de fêmeas inexperientes aceitarem tais hospedeiros pode ser adaptativo, visto que as mesmas não tem informações sobre a densidade de hospedeiros na área e de outros parasitóides que compartilham o mesmo recurso, sendo o superparasitismo a melhor estratégia. Tal fato foi demonstrado por Klomp et al. (1980), os quais evidenciaram que fêmeas inexperientes de *Trichogramma embryophagum* Hartig (Hym.: Trichogrammatidae) aceitaram hospedeiros já parasitados até se tornarem experientes. Baaren & Boivin (1998) verificaram que, quanto mais tempo as fêmeas de *Anaphes victus* Hüber (Hym.: Mymaridae) permaneciam confinadas com ovos parasitados de *Listronotus oregonensis* (LeConte) (Col.: Curculionidae), mais tornavam-se capazes de discriminá-los evitando o superparasitismo.

A experiência adquirida pelas fêmeas dos parasitóides também poderá influenciar o modo pelo qual estas examinam o hospedeiro. Trabalho desenvolvido por Alphen & Visser (1990) demonstrou que fêmeas inexperientes de *A. victus* rejeitam, no início da seqüência de oviposição, o hospedeiro já parasitado após perfurarem o mesmo com o ovipositor, porém, após alguns contatos, a rejeição se dá apenas com o exame feito com as antenas.

#### **1.4 Estímulos utilizados por parasitóides de ovos no processo de seleção de hospedeiros**

Segundo Godfray & Waage (1988), os parasitóides vivem em ambientes bastante complexos e encontrar o seu hospedeiro dentro deles é um grande desafio. Como consequência, os parasitóides desenvolveram uma série de estratégias de busca e, através do aprendizado associativo, tornaram-se

capazes de perceber e associar estímulos que podem indicar a presença de seu hospedeiro e/ou do seu hábitat (Vinson, 1976). Tais estímulos podem ser de natureza química, física ou ambas (Vinson, 1997). Neste contexto, os componentes químicos presentes nas secreções produzidas por glândulas acessórias da fêmea do hospedeiro, responsáveis pela adesão dos ovos ao substrato, têm um papel fundamental na seleção e aceitação ou reconhecimento do hospedeiro (Hinton, 1981; Cave et al., 1987; Steidle & Loon, 2002). Da mesma forma o odor, a forma, o tamanho, a idade, a textura, a dureza, a ressonância e os movimentos do hospedeiro também podem ser fundamentais no processo de reconhecimento, sendo que estruturas específicas, como sensilas presentes nas antenas e no ovipositor do parasitóide, desempenham um importante papel na escolha definitiva do hospedeiro (Vinson, 1998; Vilhelmsen et al., 2002). Deste modo, muitas espécies de parasitóides, principalmente as que utilizam hospedeiros imóveis, como ovos e pupas, examinam estes, externamente, com as antenas por fricção ou tamborilamento e, às vezes, inserem o ovipositor para obterem informações adicionais sobre seu aspecto (Godfray, 1994; Vinson, 1998).

Os estímulos químicos utilizados pelos parasitóides podem se originar de várias fontes, tais como: hábitat ou plantas usadas pelos hospedeiros, atividade do hospedeiro dentro do hábitat ou o próprio hospedeiro. A origem de tais estímulos e a variação de suas informações permitiram, no decorrer do processo evolutivo, que os parasitóides localizassem hospedeiros de boa qualidade e de maneira eficiente (Vet & Dicke, 1992).

A localização tanto do hábitat, quanto do hospedeiro dentro deste, geralmente envolve substâncias químicas voláteis denominadas semioquímicos (Vinson, 1997). O termo semioquímico é bastante amplo, referindo-se as substâncias químicas responsáveis pelo fornecimento de informações bem como as toxinas e nutrientes. Assim, para referir somente às substâncias que fornecem informações ou sinais, provocando uma resposta no receptor (parasitóide), foi criado o termo infoquímico (Vilella & Della-Lúcia, 2001).

Segundo Vilella & Della-Lúcia (2001), os infoquímicos atuam tanto nas interações interespecíficas como nas interações intraespecíficas. Nas interespecíficas, os infoquímicos são designados por aleloquímicos, os quais exercem papel fundamental em todas as comunidades mediando interações entre os níveis tróficos, podendo ser classificados em, alomônios, quando favorecem somente o emissor do sinal, provocando uma resposta comportamental ou fisiológica no receptor (ex.: substâncias de defesa); cairomônios, quando favorecem somente o receptor do sinal; sinomônios, quando favorecem o emissor e o receptor do sinal, podendo mediar interações planta-herbívoro-predador/parasitóide e antimônios, que não favorecem o emissor nem o receptor.

Nas interações intraespecíficas, os infoquímicos utilizados são os feromônios, que produzem uma resposta comportamental ou fisiológica que beneficiam o emissor, o receptor ou ambos.

Os termos citados acima e sua utilização, podem apresentar controvérsias, pois uma mesma substância produzida por uma espécie pode servir para uma série de funções simultaneamente, dependendo do contexto

ecológico em que atua (Vilella & Della-Lúcia, 2001). Um exemplo disto é quando um determinado feromônio, produzido por um herbívoro, atrai parasitóides, atuando, neste caso, como cairomônio, permitindo uma comunicação interespecífica (Eiras & Gerck, 2001). Este fato tem sido demonstrado em inúmeros trabalhos envolvendo parasitóides de ovos (Bin et al., 1993; Colazza et al., 1997; Conti et al., 2003; Conti et al. 2004, entre outros).

Segundo Vinson (1991), os processos envolvidos na seleção de hospedeiros obedecem um arranjo hierárquico, onde os infoquímicos atuam como importantes mediadores, sendo os sinomônios, os cairomônios e os feromônios mais utilizados pelos parasitóides de ovos. Os sinomônios envolvem substâncias voláteis emitidas por plantas, sendo utilizadas pelos parasitóides de ovos na localização do hábitat do seu hospedeiro, (Vinson, 1998).

De acordo com Vinson (1997), os voláteis de plantas podem ser detectados a longas distâncias pelos parasitóides provocando o arrestamento em direção a uma determinada área não fornecendo, entretanto, informações confiáveis sobre a presença ou a densidade de hospedeiros na mesma. Assim, alguns parasitóides superaram este problema respondendo a voláteis induzidos por danos mecânicos na planta pela oviposição e/ou alimentação do herbívoro.

Os voláteis de plantas injuriadas, muitas vezes, têm sua ação intensificada quando combinados com outros infoquímicos (Vinson, 1991). Estudos desenvolvidos por Meiners & Hilker (2000) evidenciaram que fêmeas do parasitóide de ovos *Oomyzus gallerucae* Fonscolombe (Hym.: Eulophidae) são atraídas por plantas danificadas pela oviposição do coléoptero

*Xanthogaleruca luteola* Müller (Chrysomelidae), desde que os ovos estejam presentes, demonstrando que os voláteis liberados pela injúria intensifica a ação de cairomônios presentes nos ovos. Chabi-Olaye et al. (2001) demonstraram que *T. isis* oviposita em ovos *S. calamistis* somente quando estes estavam presentes sobre folhas de milho. Da mesma forma, Colazza et al. (2004) observaram que as folhas de feijão atraíam fêmeas de *T. basalis*, especialmente quando massas de ovos de *N. viridula* estavam sobre elas. Estes últimos autores inferiram que substâncias adesivas, produzidas nos ovidutos de *N. viridula*, responsáveis pela fixação dos ovos no substrato, podem induzir produção de sinomônios, já que *N. viridula* não danifica a planta com a oviposição.

Os cairomônios envolvem substâncias oriundas, direta ou indiretamente, do próprio hospedeiro, sendo mais confiáveis por proporcionarem evidências de que, de fato, o mesmo se encontra na área. Além dos sinomônios de plantas, os parasitóides de ovos podem utilizar feromônios sexuais dos adultos para a localização do hospedeiro, uma vez que ovos, geralmente, liberam poucas substâncias voláteis (Colazza et al., 1997; Vinson, 1998), sendo tal comportamento conhecido por “espionagem” (Vinson, 1997). Noldus & Lenteren (1985) evidenciaram que *Trichogramma evanescens* Westwood (Hym.: Trichogrammatidae) respondem ao feromônio sexual emitido por fêmeas não acasaladas de *P. brassicae* e *M. brassicae*. Estes autores observaram que, ao serem atraídos por feromônios envolvidos no acasalamento, os parasitóides chegavam antes no hábitat e esperavam pela oviposição para efetuarem o parasitismo. Já Conti et al. (2003) verificaram que *Trissolcus brochymenae* (Ashmead) (Hym.: Scelionidae) é atraído por

estímulos oriundos de fêmeas tanto não acasaladas como fecundadas de *Murgantia histrionica* (Hahn) (Hem.: Pentatomidae).

Os cairomônios que atuam no reconhecimento do hospedeiro pelos parasitóides de ovos geralmente envolvem substâncias químicas poucos voláteis, sendo percebidos a curtas distâncias e/ou por contato. Assim, as substâncias depositadas sobre os ovos ou em volta dos mesmos para fixá-los parecem desempenhar um importante papel, promovendo o exame pelos parasitóides com as antenas e com o ovipositor (Vinson, 1998). Este aspecto tem sido demonstrado em vários trabalhos utilizando-se extrato de ovos e/ou de glândulas acessórias das fêmeas de hospedeiros aplicados em glóbulos de vidro que imitam ovos (Strand & Vinson, 1983b; Conti et al., 1996; Hu et al., 1999; Conti et al., 2003; Conti et al., 2004).

A presença de cairomônios sobre os ovos também tem sido demonstrada, uma vez que a lavagem dos mesmos com solventes orgânicos (hexano, acetona, etc.) retira substâncias aderidas ao córion, promovendo a rejeição do hospedeiro. Cave & Gaylor (1987) verificaram que ovos de *Geocoris* spp. lavados com solventes enzimáticos (protease) e hipoclorito eliminaram totalmente substâncias químicas depositadas sobre os mesmos, ocasionando a rejeição do hospedeiro por fêmeas de *T. podisi*. Já Hu et al. (1999) verificaram que em ovos de *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Col.: Chrysomelidae), lavados com hexano, a rejeição foi parcial por fêmeas de *Edovum puttleri* Grissel (Hym: Eulophidae). Os autores atribuíram o resultado ao fato do solvente não ter eliminado totalmente as substâncias aderidas ao córion.

O reconhecimento do hospedeiro, em alguns parasitóides, só ocorrem quando os cairomônios presentes na superfície dos ovos estão combinados com outros estímulos, como a curvatura e/ou tamanho do ovo (Klomp & Teerink, 1962; Strand & Vinson, 1983b; Borges et al., 1999; Takasu et al., 2002). Eventualmente, em algumas espécies de parasitóides, o conteúdo interno dos ovos hospedeiros parece promover o seu reconhecimento. Conti et al. (1996) verificaram que o conteúdo interno dos ovos de *L. hesperus* aplicados sobre papel filtro estimulava, em *A. iole*, o exame com as antenas e a inserção do ovipositor, o que não ocorria quando extratos do córion dos ovos eram aplicados da mesma forma.

Os cairomônios também são usados pelos parasitóides de ovos para obter informações sobre as condições do hospedeiro. Assim, através do tamborilamento e/ou da inserção do ovipositor, uma fêmea é capaz de reconhecer ovos parasitados e não parasitados. Normalmente, os parasitóides de ovos marcam seus hospedeiros externamente com feromônios produzidos pela glândula de Dufour (Rosi et al. 2001). Os feromônios de marcação podem ser usados por cleptoparasitóides, que utilizam a marcação de outros para encontrarem seus hospedeiros no ambiente (Vinson, 1976).

Em algumas situações, a idade do hospedeiro pode ser discriminada por cairomônios, já que esta é fortemente relacionada à qualidade do mesmo. A maioria dos parasitóides exibe preferência por hospedeiros mais jovens (Vinson, 1998), entretanto, pouco se sabe sobre os estímulos envolvidos neste comportamento. De acordo com Bin et al. (1993) e Vinson (1998) a discriminação da idade pode estar associada à diminuição das concentrações de substâncias presentes no córion dos ovos ao longo do tempo, sendo isto

percebido pelas fêmeas. Em decorrência disto, aspectos físicos como a textura dos ovos, cor, movimentos do hospedeiro e ressonância também pode ser utilizados pelos parasitóides (Vinson, 1976; Quicke, 1997).

### **1.5 O papel das sensilas antenais na percepção de estímulos em parasitóides de ovos**

A antena nos insetos é um importante órgão sensorial e em termos morfológicos é dotada de um antenômero basal, denominado escapo, e um pedicelo (segundo antenômero). A partir do pedicelo há um número variável de antenômeros, sendo comumente chamados de flagelômeros (Chapman, 1982). Segundo Masner (1979), os flagelômeros distais, por serem mais alargados, delimitam uma região na antena das fêmeas de Scelionidae chamada clava.

A antena tem recebido especial atenção em muitos trabalhos envolvendo parasitóides, devido ao seu importante papel na detecção de estímulos, que implicam diretamente em mudanças comportamentais diante da presença de hospedeiros (Isidoro et al., 2001). Tal função é atribuída à presença de estruturas sensoriais denominadas sensilas (Schmidt, 1994), as quais têm sido alvo de muitos estudos.

As sensilas, em termos gerais, são constituídas de componentes cuticulares, neurônios sensoriais e células acessórias (McIver, 1985), podendo exibir diferentes modalidades sensoriais como tato, olfato e gustação (Zacharuck, 1985). As sensilas apresentam diferentes padrões de distribuição entre as espécies de parasitóides assim como variações morfológicas, que são utilizadas como critério de diferenciação entre as espécies em estudos

taxonômicos (Norton & Vinson, 1974; Villa & Mineo, 1990a), além de determinarem relações filogenéticas (Basibuyuk & Quicke, 1999).

As primeiras descrições das sensilas antenais dos insetos foram feitas baseando-se apenas na morfologia externa (Snodgrass, 1926), além da espessura da parede das mesmas e o modo de inserção na superfície da antena (Schneider, 1964; Slifer, 1970). Posteriormente, estudos morfológicos associados à função das sensilas através da eletroantenografia e estudos de ultraestrutura, através da microscopia eletrônica, foram sendo desenvolvidos, estabelecendo outros critérios para a classificação e a denominação das mesmas (Zacharuck, 1985; Cave & Gaylor, 1987; Villa & Mineo, 1990a e b; Isidoro & Solinas, 1992; Olson & Andow, 1993; Butterfield & Anderson, 1994; Skilbeck & Anderson, 1996; Amornsak et al., 1998; Basibuyuk & Quicke, 1998; Cònsoli et al., 1999; Ochieng, 2000). Muitos dos estudos com sensilas são associados com aspectos comportamentais (Bin, 1981; Isidoro et al., 1996; Isidoro et al., 2001), o que resultou numa série de terminologias atribuídas para designar os diferentes tipos de sensilas, tornando difícil o estabelecimento de uma padronização dos termos empregados entre os diferentes autores.

De acordo com Zacharuck (1985), as sensilas podem ser classificadas conforme a presença ou ausência de poros em aporosas, multiporosas e uniporosas. As sensilas aporosas estão associadas a funções mecanorreceptoras (mecanosensilas) como tato, incluindo a termo e a higrorrecepção (McIver, 1985). A presença de poros caracteriza as sensilas responsáveis pela percepção de estímulos químicos (quimiosensilas) através do olfato e da gustação. Os poros presentes nas quimiosensilas podem ser numerosos e distribuídos por toda a parede das mesmas (sensilas

multipososas) ou restrito apenas a porção terminal (sensila uniporosa) (Zacharuck, 1985). Muitas vezes, as quimiosensilas podem estar associadas às glândulas exócrinas, produtoras de secreções, as quais desempenham funções importantes, especialmente no reconhecimento sexual (Isidoro et al., 1996; Isidoro et al., 2001).

As quimiosensilas multiporosas, geralmente, são enervadas por mais de dez neurônios ligados a funções olfativas e/ou gustativas (Chapman, 1982), atuando na percepção de componentes químicos à distância ou de contato (Zacharuck, 1985). Segundo este mesmo autor, as sensilas multiporosas pode ser classificadas de acordo com o formato dos poros, que podem ser pequenos sulcos longitudinais ou estrias (*grooved-pore*) ou pequenas puncturações (*pitted-pore*), e com a espessura da parede que pode ser simples (*thin-walled*) ou dupla (*thick-walled*). As sensilas multiporosas dotadas de estrias podem ser papiliformes e em forma de cavilha (*pegs*), enquanto que as puncturadas geralmente são falciformes (Zacharuck, 1985).

As sensilas multiporosas estriadas papiliformes, também chamadas de placas multiporosas em muitos himenópteros (Basibuyuk & Quicke, 1998) caracterizam-se por ter o ápice achatado e dotado de sulcos transversais, cuja superfície lateral é estriada com a base expandida e inserida em uma cavidade elipsóide (Bin, 1981). Podem ainda exibir variações entre as diferentes espécies, tornando-se mais cônicas e/ou salientes sobre a superfície da antena (Cave & Gaylor, 1987), mais alongadas (Bin, 1981) ou achatadas (Olson & Andow, 1993).

Em Scelionidae, as sensilas papiliformes se distribuem exclusivamente na porção ventral da clava. A distribuição destas é variável

entre as espécies, resultando numa fórmula claval, utilizada como ferramenta para identificação taxonômica de diferentes gêneros ou espécies desta família (Bin, 1981).

A função das sensilas papiliformes está associada à gustação e a localização destas na antena, a qual coincide com a área de toque no substrato e/ou hospedeiro, permite o reconhecimento e a discriminação dos mesmos (Isidoro et al., 1996).

As sensilas papiliformes apresentam outras terminologias correspondentes entre as espécies de diferentes famílias de parasitóides de ovos, conforme relacionadas abaixo:

- a) Scelionidae- celocônica ventral sensorial em *Gryon* sp (Masner, 1979), placa (*plate sensilla*) em Telenominae (Bin, 1981); basicônica em *T. reynoldsi* (Cave & Gaylor, 1987); papilárias em *Gryon boseli* Mineo & Szabo e *Gryon pennsylvanicum* (Ashmead) (Villa & Mineo, 1990a e b, respectivamente) e gustatória multiporosa em *T. busseolae* (Isidoro et al., 2001);
- b) Plastygastridae- gustatória multiporosa em *Amitus spiniferus* (Brethes) (Isidoro et al., 2001);
- c) Trichogrammatidae- placóide em *T.nubilale* (Olson & Andow, 1993) e *Trichogramma australicum* Girault (Amornsak et al., 1998) e placóide multiporosa em *T. galloi* e *T. pretiosum* (Cônoli et al., 1999b).

As sensilas multiporosas estriadas em forma de cavilha se caracterizam por apresentar o ápice arredondado e mais alargado que a base, circundado por estrias longitudinais. De acordo com Slifer (1970), estão

associadas à função olfativa, atuando na percepção de estímulos à longa distância. Por apresentarem um dendrito basal podem desempenhar funções mecanorreceptoras, envolvendo termo e higrorrecepção (Altner & Loftus, 1985). Estas mesmas sensilas têm sido referidas de forma diversa em diferentes espécies, como “cavilha-estriada” (*grooved-peg*) para *G. boseli* e *G. pennsylvanicum* (Villa & Mineo, 1990a e b, respectivamente); basicônica estriada multiporosa para *T. nubilale* (Olson & Andow, 1993), *T. galloi* Zuchi e *T. pretiosum* Riley (Cônoli et al., 1999) e basicônica capitada para *T. australicum* (Amornsak et al., 1998)

As sensilas puncturadas falciformes apresentam-se curvadas em direção ao ápice da antena, levemente achatadas lateralmente e com a superfície coberta de poros. Localizam-se principalmente, na porção dorsal da antena, na maioria dos parasitóides de ovos, e estão relacionadas à função olfativa, especialmente na percepção de estímulos a longa distância (Isidoro et al., 2001), que possibilitam a localização do hospedeiro e/ou o reconhecimento sexual (Cave & Gaylor, 1987). Estas sensilas podem exibir variações entre as espécies, como em *T. nubilale*, onde apresentam uma constrição na base (Olson & Andow, 1993) e podem também estar associadas às funções mecanorreceptoras. Por se localizarem na superfície ventral, estes autores atribuem a estas sensilas a função de reconhecimento do hospedeiro através do odor e das diferentes texturas exibidas pelos ovos de lepidópteros. As sensilas falciformes também são descritas como tricóide curvada em *T. reynoldsi* (Cave & Gaylor, 1987), foice curvada (*sickle-shaped*) em *G. boseli* e *G. pennsylvanicum* (Villa & Mineo, 1990 a e b, respectivamente) e tricóide

multiporosa nos tricogramatídeos *T. nubilale* (Olson & Andow, 1993), *T. galloi* e *T. pretiosum* (Cônsoi et al., 1999b).

As sensilas uniporosas possuem dendritos sensoriais ligados a um poro terminal (McIver, 1985) e estão associadas à função gustativa (Isidoro et al., 1996). Por apresentarem um segmento dendrítico na base, sem ligação ao poro, podem estar também relacionadas à mecanorrecepção (Zacharuck, 1985; Ochieng et al., 2000). Geralmente possuem formato de espinhos ou pêlos, semelhantes às sensilas aporosas, porém possuem uma parede mais espessa (Zacharuck, 1985). As sensilas uniporosas atuam tanto na quimiorrecepção como na mecanorrecepção, pelo fato de um dos dendritos sensoriais presentes não estar ligado ao poro (McIver, 1985). São descritas também como caéticas em *G. boseli* e *G. pennsylvanicum* (Villa & Mineo, 1990a e b, respectivamente), gustativas uniporosas para várias espécies de parasitóides de ovos (Isidoro et al., 1996) e tricóide uniporosa para *T. galloi* e *T. pretiosum* (Cônsoi et al., 1999b).

As sensilas aporosas ou mecanosensilas se caracterizam por estarem inseridas em uma cavidade alargada e possuírem dendritos sensoriais encaixados na base (McIver, 1985). De acordo Zacharuck (1985), as sensilas aporosas são de dois tipos: as estilocônicas e as tricóides, semelhantes a pêlos.

As sensilas estilocônicas, em muitos insetos, estão relacionadas à função termo e higrorreceptora (Zacharuck, 1985; Altner & Loftus, 1985) e encontram-se inseridas, na superfície da antena, em uma cavidade estreita dentro de uma depressão alargada (Zacharuck, 1985).

As sensilas tricóides são também descritas como cerdas (Villa & Mineo, 1990a e b) ou setiformes (Cave & Gaylor, 1987), apresentando-se eretas e/ou inclinadas em direção ao ápice da antena. Tais sensilas apresentam apenas um neurônio sensorial (McIver, 1985), e estão ligadas à função tátil, atuando na percepção de texturas no substrato, movimentos e direção do vento. Estas estruturas encontram-se distribuídas por toda a antena sendo que, nas fêmeas Scelionidae, encontram-se mais decumbentes nos antenômeros apicais (clava) da porção ventral da antena (Bin, 1981). Nesta região estas sensilas estão associadas às sensilas gustativas formando uma região funcional descrita por Isidoro et al. (1996) como “área de tato e gosto”, responsável pelo reconhecimento e aceitação do hospedeiro em parasitóides de ovos.

### **1.6 A família Scelionidae**

Scelionidae engloba um número considerável de espécies, a maioria de tamanho diminuto e revelando uma uniformidade em preferência por hospedeiros. Todos os representantes são parasitóides de ovos, principalmente de Lepidoptera, Diptera (Tabanidae) e Hemiptera, sendo a maioria de hábitos solitários ou semi-gregários (Orr, 1988).

As fêmeas depositam um único ovo em cada inserção do ovipositor e a razão sexual, geralmente, é desviada para as fêmeas (Clausen, 1940; Askew, 1973). O ciclo de vida em Scelionidae pode variar de 8 a 15 dias (de ovo até a emergência do adulto), dependendo de fatores abióticos e condições do hospedeiro. As larvas podem ter de dois a cinco ínstaes, sendo três o mais comum (Gerling, 1972). Em algumas espécies, a larva pode se desenvolver

dentro do embrião ou em ovos com o estágio mais avançado de desenvolvimento, envolvendo substâncias químicas para destruir o hospedeiro (“envenenamento”).

Ovos de coloração clara, quando parasitados, distinguem-se dos sadios por tornarem-se acinzentados, devido à liberação do mecônio pela larva do parasitóide, que ocorre de cinco a seis dias após o parasitismo (Clausen, 1940).

Os scelionídeos, por estarem associados a diversas espécies de insetos e por se encontrarem bastante sincronizados com seus hospedeiros (Orr, 1988), incluindo àqueles associados a plantas cultivadas, têm sido alvo de vários estudos em todo o mundo, com o objetivo de serem utilizados em programas de controle biológico.

O comportamento de aceitação de *T. heliothidis* em ovos de *H. virescens* foi avaliado por Strand & Vinson (1983a) permitindo a determinação dos seguintes padrões de comportamento: encontro e reconhecimento, tamborilamento (toque com as antenas), reconhecimento da postura, investigação, perfuração, inserção do ovipositor e marcação química. Além disso, estes estudos indicaram que as fêmeas gastaram mais tempo na perfuração e inserção do ovipositor. Ao avaliarem os padrões de comportamento entre duas fêmeas (interferência), o tempo de tamborilamento foi maior. Padrões semelhantes de comportamento foram evidenciados por Cave et al. (1987) em *Telenomus reynoldsi* Gordh & Coker (Hym.: Scelionidae) sobre ovos de *Geocoris* spp. (Hem.: Lygaeidae), porém, neste caso, após a retirada do ovipositor, a fêmea ocasionalmente reexaminava o hospedeiro antes de marcá-lo. Seus estudos também registraram que a substância adesiva

que prende os ovos ao substrato atuou como um fator de reconhecimento dos ovos.

Okuda & Yeargan (1988) avaliaram o superparasitismo coespecífico e interespecífico dos scelionídeos *Telenomus podisi* Ashmead e *Trissolcus euchisti* Ashmead em ovos de *Podisus maculiventris* Say (Hem.: Pentatomidae). O superparasitismo foi avaliado baseado na capacidade de deterrência do feromônio de marcação logo após ser depositado e algumas horas depois (96 a 100 horas). Este estudo mostrou que ambas espécies de parasitóides foram capazes de discriminar ovos recém-parasitados, sendo que, após 96 a 100 horas, esta capacidade diminuiu, sugerindo uma degradação desta substância com o tempo e conseqüentemente perda da deterrência. A discriminação interespecífica não foi registrada por estes autores.

O comportamento de oviposição de *Telenomus solitus* Johnson (Hym.: Scelionidae) e o efeito da idade dos ovos de *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lep.: Noctuidae) foram avaliados por Navasero & Oatman (1989), que evidenciaram maior sucesso de desenvolvimento dos parasitóides em ovos entre 30 e 48 horas de idade, diminuindo gradualmente. Em ovos entre 60 e 72 horas, os percentuais de emergência diminuíram drasticamente. Os autores também verificaram os comportamentos de tamborilamento, caminhada sobre os ovos, a inserção do ovipositor e a marcação, sendo o auto-parasitismo evitado.

Morril & Almazon (1990) testaram o parasitismo do scelionídeo *Gryon nixonii* (Masner) em ovos de diferentes idades (um, dois, três, quatro, cinco seis e sete dias) de *Leptocorisa oratorius* (Fabricius) (Hem.: Alydidae). Os resultados demonstraram que os percentuais de parasitismo diminuíram

gradativamente com o aumento da idade do hospedeiro, onde ovos com mais de cinco dias não foram parasitados.

Takasu & Hirose (1993) avaliaram o comportamento de aceitação de *O. nezarae* em ovos de diferentes idades de *R. clavatus* e registraram quatro padrões comportamentais: tamborilamento, toque com o ovipositor, perfuração do ovo com o ovipositor para alimentação. O número de inserções do ovipositor e o tempo gasto na alimentação foram maiores em ovos mais velhos.

Aspectos relacionados à razão sexual de *Trissolcus basalís* (Wollaston) (Hym.: Scelionidae) foram estudados por Colazza (1993) em ovos de *Nezara viridula* (Linnaeus) (Hem.: Pentatomidae), que registrou que quanto maior o número de ovos parasitados, maior a proporção de machos encontrada, sendo estes colocados com maior frequência nas primeiras oviposições. A proporção de machos também aumentou quando as massas de ovos do hospedeiro foram expostas a densidades maiores de parasitóides, sugerindo uma forte influência das fêmeas coespecíficas no ajuste da razão sexual.

Hernandez & Díaz (1996) avaliaram o efeito da idade dos ovos de *S. frugiperda* (9, 33, 40 e 57 horas) sobre o parasitismo e a razão sexual de *Telenomus remus* Nixon (Hym.: Scelionidae) em condições de laboratório. O percentual de parasitismo e o número médio de parasitóides obtidos por grupo de ovos foi diminuindo a medida que a idade dos ovos oferecidos aumentava, sendo a razão sexual desviada para machos em ovos mais velhos.

Colazza et al. (1996) verificaram o comportamento de aceitação de fêmeas de *T. basalís*, com e sem experiência em oviposição, em massas de ovos de *N. viridula*. Evidenciaram que a escolha do hospedeiro é afetada pela

condição do mesmo (tamanho da massa de ovos), e não pela experiência da fêmea. O superparasitismo foi evitado e, quando ocorreu, o tempo de marcação nos ovos já parasitados foi maior.

Higuchi & Suzuki (1996) registraram o comportamento de manuseio de *Telenomus triptus* Nixon (Hym.: Scelionidae) em ovos de *Piezodorus hybneri* (Gmelin) (Hem.: Pentatomidae). Neste estudo foi possível distinguir cinco padrões de comportamento do parasitóide: tamborilamento, inserção do ovipositor, marcação, caminhada sobre a massa de ovos e descanso. Em ovos marcados não foram evidenciadas novas inserções para oviposição e os parasitóides machos foram obtidos dos primeiros ovos colocados pela fêmea no hospedeiro.

Weber et al. (1996) avaliaram, em laboratório, o comportamento de oviposição e discriminação de ovos parasitados em três espécies de Scelionidae, *T. basalis*, *Psix tunetanus* Mineo & Szabo e *Trissolcus utahensis* Ashmead, sobre massas de ovos de um dia de idade de *Euschistus conspersus* Uhler (Hem.: Pentatomidae). As fêmeas de *T. utahensis* evitaram ovipositar em massas de ovos parcialmente parasitadas por coespecíficas. Entretanto, diante de massas de ovos parasitadas pelas outras espécies, a discriminação foi baixa, ocorrendo o superparasitismo. O experimento foi repetido com todas as espécies, verificando-se a mesma tendência, sendo que de 70% dos ovos superparasitados emergiram parasitóides.

Colazza & Wajnberg (1998) verificaram o efeito do tamanho da massa de ovos de *N. viridula* na razão sexual de *T. basalis*. Constataram que a proporção de machos aumenta com o tamanho do grupo de ovos, sendo que este também influenciou a seqüência na qual os machos e as fêmeas foram

dispostos no grupo. Segundo os autores, os resultados podem ser explicados em termos de competição por acasalamento local.

A habilidade de discriminação de hospedeiros parasitados por *T. basalis* em ovos de *Agonoscelis rutila* (Fabricius) (Hem.: Pentatomidae) foi investigada por Field & Keller (1999) em laboratório. Os autores observaram que os parasitóides marcam seus ovos com um composto químico volátil, evitando o auto-parasitismo e, parcialmente, o superparasitismo coespecífico.

Romeis et al. (2000) estudaram aspectos da biologia e do comportamento de oviposição de *Gryon clavigrallae* (Mineo) (Hym.: Scelionidae) em ovos de duas espécies de coreídeos, *Clavigralla gibbosa* Spinola e *Clavigralla scutellaris* Spinola. Evidenciaram os comportamento de tamborilamento, toque, inserção do ovipositor e marcação, sendo que 87% do tempo de manuseio foi gasto com a oviposição. O superparasitismo foi evitado, sendo as fêmeas capazes de distinguir ovos já parasitados. Os autores também avaliaram o parasitismo em ovos de diferentes idades (zero a seis dias) de ambas as espécies de coreídeo. Foi registrando parasitismo em todas, porém, em ovos mais velhos (quatro a seis dias) os percentuais foram significativamente mais baixos.

Estudos feitos por Sousa & Spence (2001) relacionaram a idade dos ovos do hospedeiro, *Limnopus gerriphagus* Marchal (Hem.: Gerridae) (zero, um, dois, três, quatro, cinco, seis e sete dias de idade), e o parasitismo por *Tiphodytes gerriphagus* Marchal (Hym.: Scelionidae). Os autores verificaram que o parasitismo ocorreu em todas as idades do hospedeiro. Entretanto, o tempo de desenvolvimento do parasitóide aumentou com a idade dos mesmos,

originando indivíduos de menor tamanho, assim como uma razão sexual desviada para machos.

Trabalho desenvolvido com o objetivo de verificar a interação de duas espécies de scelionídeos, *Telenomus busseolae* (Gahan) e *T. isis*, em ovos de *S. calamistis* (Lep.: Noctuidae), permitiu a Agboka et al. (2002) verificarem o comportamento de superparasitismo em duas condições de ovos: recém-parasitados e parasitados após 24 horas. Os autores evidenciaram que em ambas espécies de parasitóides e nas duas condições, o auto-parasitismo foi evitado, sendo que *T. busseolae* foi o mais eficiente em discriminar ovos já parasitados por fêmeas coespecíficas em relação a *T. isis*.

Hirose et al. (2003) avaliaram a influência da idade dos ovos de *Euschistus conspersus* Uhler (Hem.: Pentatomidae) (zero, um dois, três, quatro e cinco dias de idade) no comportamento e desenvolvimento do scelionídeo *Gryon obesum* Masner. Foram evidenciados três padrões comportamentais: tamborilamento, inserção de ovipositor e marcação. Estes autores inferiram que houve uma diminuição da qualidade do hospedeiro com o aumento da idade, sendo isto atribuído ao menor percentual de parasitismo, aceitação e emergência, especialmente em ovos de cinco dias de idade. Nestes ovos, o tempo de desenvolvimento dos parasitóides foi maior, e os adultos emergidos exibiram menor tamanho corporal, mensurado através do comprimento das asas anteriores.

O comportamento de *Gryon philippinense* (Ashmead) (Hym.: Scelionidae) em ovos de um dia de idade de *Acanthocoris sordidus* Thunberg (Hem.: Coreidae) foi avaliado por Dasilao & Arakawa (2004). Da mesma forma que outros scelionídeos, as fêmeas exibiram como comportamento o

tamborilamento, a inserção do ovipositor e a marcação, sendo que este último, algumas vezes não ocorreu. Este fato foi atribuído ao insucesso do parasitismo. Estes autores também verificaram que o auto-parasitismo foi evitado, entretanto, ocorreu nas últimas oviposições, quando o número de hospedeiros não parasitados tornava-se escasso.

### **1.7 A interação *Gryon gallardoi* e *Spartocera dentiventris***

*Spartocera dentiventris* (Berg) (Hem.: Coreidae), conhecido como percevejo-cinzento-do-fumo, é referido como praga na cultura do fumo (*Nicotiana tabacum* Linnaeus) no Rio Grande do Sul, por causar o murchamento e enrolamento das folhas (Parseval, 1937; Costa, 1941; Schaefer & Panizzi, 2000). Além de plantas de fumo, Silva et al. (1968) citam a ocorrência de *S. dentiventris* em *Solanum gracile* e Jahnke et al. (2004) em *Nicotiana glauca*. Os adultos são de coloração acinzentada, medem aproximadamente 2 cm de comprimento por 1 cm de largura (Figura 1.1A) e os sexos podem ser distinguidos pela expansão da placa genital da fêmea (Gallo et al., 2002).

Ao longo do ciclo da cultura do fumo observa-se o desenvolvimento completo de duas gerações de *S. dentiventris*, a primeira do final de agosto a dezembro e a segunda, do final de dezembro a fevereiro (Jesus & Romanowski, 2001).

O principal sítio de oviposição de *S. dentiventris* é a nervura principal da face abaxial das folhas do fumo sendo a postura, geralmente, constituída por 12 ovos (Caldas et al., 2000) (Figura 1.1B). A duração média do período embrionário, segundo estes autores, é em torno de  $13,7 \pm 0,04$  dias, ao longo

do qual ocorre uma modificação progressiva na coloração dos ovos, do âmbar claro, para os recém-depositados, ao vermelho escuro, quando a ninfa está prestes a eclodir. *S. dentiventris* passa por cinco instares e a duração média do desenvolvimento ovo-adulto é de  $34,4 \pm 0,11$  dias (Caldas et al., 2000).

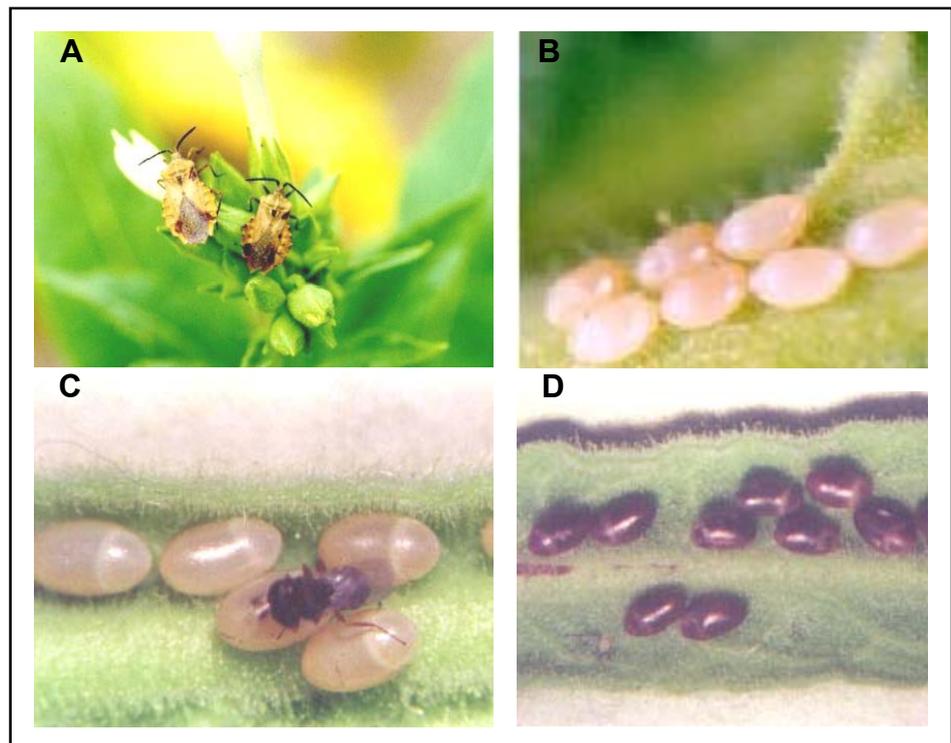
Em relação aos parâmetros reprodutivos de *S. dentiventris*, Caldas et al. (2000) registraram  $11,8 \pm 5,67$  dias para o período de pré-oviposição e  $48,6 \pm 15,83$  dias para o período de oviposição, ao longo do qual são depositados, em média,  $355,9 \pm 34,7$  ovos por fêmea.

Mesmo apresentando um alto potencial reprodutivo em campo, as populações podem ser drasticamente reduzidas por fatores ambientais, principalmente pela ação de inimigos naturais (Caldas et al., 2000; Canto-Silva, 1999; Santos et al., 2001). Entre os inimigos naturais, são citados os himenópteros parasitóides *Neorileya ashmeadi* Crawford (Eurytomidae) e *Gryon gallardoi* (Brèthes) (Scelionidae) (Figura 1.1C) (Caldas, 1998; Canto-Silva, 1999), sendo este último responsável por aproximadamente 70% da morte de *S. dentiventris* no estágio de ovo (Santos et al. 2001).

O parasitismo dos ovos é detectado pela coloração cinza chumbo dos mesmos (Figura 1.1D) (Santos et al., 2001), ocorrendo em ambas as gerações do percevejo, sendo em menor percentual durante a primeira (Canto-Silva, 1999). Além disso, os níveis de parasitismo em campo podem ser determinados por diferentes fatores, sendo que a temperatura pode interferir no tempo de desenvolvimento e, conseqüentemente, no número de gerações anuais de fêmeas do parasitóide (Canto-Silva, 2003).

Os primeiros registros de *G. gallardoi* no Brasil foram associados ao coreídeo *Spartocera lativentris* Stal (Loiácono, 1980; Becker & Prato, 1982).

Esta espécie também foi registrada por Souza & Amaral-Filho (1999) parasitando ovos de *Leptoglossus zonatus* (Dallas) (Hem.: Coreidae), importante praga na cultura do citros e do milho nos estados de São Paulo e Goiás (Marchiori & Penteado-Dias, 2002).



**FIGURA 1.1-** Fêmea e macho de *Spartocera dentiventris* (Hem.: Coreidae) sobre uma planta de fumo (A); grupo de ovos de *S. dentiventris* (B); fêmea de *Gryon gallardoi* (Hym.: Scelionidae) sobre grupo de ovos de *S. dentiventris* (C); ovos de *S. dentiventris* parasitados por *G. gallardoi* (D). Fonte: Canto-Silva, 2003.

Outros estudos envolvendo a interação *G. gallardoi* e *S. dentiventris* foram desenvolvidos por Wiedemann et al. (2003), onde foi avaliado o comportamento de oviposição de *G. gallardoi* em ovos de um dia de idade de *S. dentiventris* e registrados cinco comportamentos distintos: tamborilamento dos ovos com as antenas, inserção do ovipositor, marcação dos ovos,

caminhada e descanso. Este estudo evidenciou comportamentos de oviposição comuns a Scelionidae, sendo a marcação dos ovos um bom indicativo da efetiva oviposição, onde o superparasitismo foi parcialmente evitado. Estes autores também registraram uma razão sexual desviada para fêmeas, sendo os machos gerados a partir das primeiras oviposições. Já Solis et al. (2001), avaliando o comportamento de fêmeas acasaladas e com experiência em oviposição de *G. gallardoi* em ovos de *L. zonatus*, registraram seis etapas neste processo: seleção do hospedeiro, procura pelo ponto de inserção do ovipositor, oviposição, marcação, limpeza e descanso. Os autores constataram que o tempo gasto para ovipositar foi maior quando duas fêmeas foram colocadas sobre o mesmo grupo de ovos.

Aspectos bioecológicos de *G. gallardoi* em ovos de *S. dentiventris* foram estudados por Canto-Silva (2003) em campo e laboratório. A influência da temperatura no desenvolvimento e na viabilidade do parasitóide foi avaliada submetendo os ovos parasitados a 15, 20, 25 e 30  $\pm$  1°C. O tempo de desenvolvimento do parasitóide foi inversamente proporcional ao aumento da temperatura. Os machos se desenvolveram mais rapidamente (46,2  $\pm$  0,13 e 13,3  $\pm$  0,07 dias, respectivamente a 20 e 30°C) que as fêmeas (47,1  $\pm$  0,13 e 13,4  $\pm$  0,06 dias, respectivamente a 20 e 30°C). A viabilidade dos parasitóides na faixa dos 20 a 30°C não diferiu significativamente, alcançando 98,8%, não havendo desenvolvimento a 15°C. Este autor também estimou os valores para o limite térmico inferior de desenvolvimento e para a constante térmica que foram, respectivamente, 15,5°C e 185,19GD para machos e 15,6°C e 192,31GD. Em campo, diversos fatores afetaram o sucesso de imaturos de *G. gallardoi*, sendo o malogro e a predação por sugadores os principais

responsáveis pela emergência de apenas 37,8%. O malogro foi atribuído à má qualidade do hospedeiro, uma vez que o período no qual o experimento foi realizado as plantas já estavam senescentes. Em laboratório, o autor acompanhou os parasitóides alimentando-os com mel a 10% e registrou um período médio de pré-oviposição de  $1,3 \pm 0,35$  dias, sendo as fêmeas capazes de ovipositar no dia da emergência. O período médio de oviposição da fêmea foi de  $10,1 \pm 1,74$  dias, sendo depositados, em média,  $67,5 \pm 11,29$  ovos por dia. O número de ovos depositados por dia diminuiu gradativamente com a idade da fêmea.

A resposta funcional de *G. gallardoi* também foi avaliada por Canto-Silva (2003) em laboratório, expondo diferentes densidades de ovos de *S. dentiventris* (12, 24, 48 e 96) a quatro densidades de parasitóides (um, dois, quatro e oito). Os resultados evidenciaram um ajuste ao modelo tipo II de resposta funcional. Com o aumento da densidade de parasitóides houve diminuição no número de ovos parasitados, sugerindo uma interferência mútua. Os resultados apresentados por este autor sugerem que este parasitóide apresenta um bom potencial como agente de controle biológico pelo seu desenvolvimento em uma larga faixa de temperatura, por sua capacidade reprodutiva e pelos padrões de dispersão similares àqueles registrados por outras espécies já utilizadas no controle biológico. Entretanto, a sensibilidade a baixas temperaturas, a alta mortalidade de imaturos observada em campo e a resposta funcional do tipo II podem ser fatores que se contrapõem ao sucesso do parasitóide para controlar as populações de *S. dentiventris*.

Trabalhos que avaliem os critérios utilizados por parasitóides de ovos na escolha e aceitação do hospedeiro, envolvendo aspectos

comportamentais, bem como as estruturas morfológicas e as substâncias químicas relacionadas a tais comportamentos, são de extrema importância para programas de controle biológico de pragas, principalmente para a criação massal e liberação de parasitóides em campo, constituindo uma lacuna, sobretudo no Brasil.

Assim, os objetivos gerais deste trabalho foram verificar, em laboratório, a resposta das fêmeas de *G. gallardoi* a diferentes condições dos ovos de *S. dentiventris*, incluindo os mecanismos de seleção. Também foram estudados o efeito das diferentes condições do hospedeiro na prole produzida e a descrição das sensilas antenais, principal estrutura envolvida nos processos de aceitação e discriminação.

Os resultados do presente trabalho estão apresentados na forma de cinco artigos científicos. Os dois primeiros capítulos referem-se à influência da idade dos ovos de *S. dentiventris* no comportamento de oviposição de *G. gallardoi* (Capítulo II) e no parasitismo (Capítulo III). O Capítulo IV aborda o efeito da idade e do tamanho dos ovos de *S. dentiventris* no tamanho corporal dos parasitóides obtidos. Os últimos artigos referem-se aos estímulos utilizados pelo parasitóide nos processos de seleção (Capítulo V) e a descrição das sensilas antenais da fêmea de *G. gallardoi* (Capítulo VI), discutindo-se o papel destas no comportamento de aceitação e discriminação dos ovos de *S. dentiventris*.

**CAPÍTULO II**  
**COMPORTAMENTO DE OVIPOSIÇÃO DE *Gryon gallardoi* (BRÈTHES)**  
**(HYM.; SCELIONIDAE) EM OVOS DE DIFERENTES IDADES DE *Spartocera***  
***dentiventris* (BERG) (HEM.: COREIDAE)**

**2.1 Introdução**

O estudo do comportamento de oviposição dos parasitóides é de fundamental importância para o entendimento dos processos envolvidos na seleção e aceitação de hospedeiros e para o desenvolvimento de programas de controle biológico (Pak, 1986; Orr, 1988; Higuchi & Suzuki, 1996; Vinson, 1998). Neste contexto, uma série de trabalhos têm sido desenvolvidos em todo o mundo tanto com parasitóides de ovos de hábitos solitários e semi-gregários (Strand & Vinson, 1983a; Navasero & Oatman, 1989; Colazza et al., 1996; Conti et al., 1997; Rosi et al., 2001; Solis et al., 2001, Wiedemann et al., 2003; Hirose et al., 2003; Dasilao & Arakawa, 2004) quanto com os de hábitos gregários (Pak et al., 1986; Schmidt & Smith, 1987; Hintz & Andow, 1990; Ruberson & Kring, 1993).

Em muitos parasitóides de ovos, a seleção do hospedeiro pode ser feita pela idade deste, devido a influência da mesma no valor nutricional (Izumi et al., 1994). Assim, a idade do hospedeiro poderá refletir em mudanças

comportamentais durante os processos de seleção, já que esta implica em alterações químicas e fisiológicas durante o desenvolvimento do hospedeiro (Rosenhein, 1996).

Segundo Vinson (1998), os parasitóides de ovos exibem, pelo menos, três comportamentos característicos: inspeção do hospedeiro com as antenas ou tamborilamento, com o objetivo de obter informações químicas e/ou físicas do hospedeiro; inserção do ovipositor, que envolve a perfuração do córion, a escolha do sítio de oviposição e, às vezes, a liberação de substâncias químicas para inibir o desenvolvimento do hospedeiro (envenenamento), seguida da expulsão do ovo e, por último a marcação, que envolve a deposição de substâncias químicas ou ranhuras sobre o ovo parasitado, para evitar o superparasitismo.

O comportamento de oviposição de diversas espécies de Scelionidae já foi descrito por diferentes autores (Strand & Vinson, 1983a; Cave et al., 1983; Orr et al., 1986; Navasero & Oatman, 1989; Colazza et al., 1996; Higuchi & Suzuki, 1996; Weber et al., 1996; Romeis et al., 2000; Rosi et al., 2001; Hirose et al., 2003), entretanto são poucos os trabalhos que associam modificações comportamentais em relação a condição do hospedeiro.

*Gryon gallardo* (Brèthes) é referido como um importante parasitóide associado aos coreídeos *Spartocera lativentris* Stal (Loiácono, 1980; Becker & Prato, 1982), *Spartocera dentiventris* (Berg) (Santos et al., 2001) e *Leptoglossus zonatus* (Dallas) (Souza & Amaral-Filho, 1999; Marchiori & Penteado-Dias, 2002).

*Spartocera dentiventris*, conhecido como percevejo-cinzeno-do-fumo, é apontado como praga na cultura do fumo (*Nicotiana tabacum*) no Rio

Grande do Sul, causando o murchamento e enrolamento das folhas, devido ao seu hábito fitófago sugador (Schaefer & Panizzi, 2000). Estudos a campo feitos por Santos et al. (2001) demonstraram que *G. gallardoi* é responsável por, em média, 70% da mortalidade de *S. dentiventris* no estágio de ovo.

Solis et al. (2001) avaliaram o comportamento de oviposição de *G. gallardoi*, em fêmeas acasaladas e com experiência em oviposição, em ovos de *L. zonatus*. Os autores registraram seis processos comportamentais: seleção do hospedeiro, procura pelo ponto de inserção do ovipositor, oviposição, marcação, limpeza e descanso.

Wiedemann et al. (2003) descreveram, em laboratório, o comportamento de oviposição de *G. gallardoi* em ovos de *S. dentiventris* de um dia de idade. Registraram cinco comportamentos distintos: tamborilamento dos ovos com as antenas, inserção do ovipositor, marcação dos ovos, caminhada e descanso. Este estudo, além de evidenciar comportamentos comuns entre outros scelionídeos, demonstrou que a marcação dos ovos é um bom indicativo da efetiva oviposição e evita o superparasitismo.

Tendo em vista que variações comportamentais podem ocorrer em função da qualidade do hospedeiro, desenvolveu-se este trabalho para avaliar, em laboratório, se as fêmeas de *G. gallardoi*, de fato, modificam o seu comportamento quando expostas a ovos de diferentes idades de *S. dentiventris*. Aspectos relacionados ao local de inserção de ovipositor, auto-parasitismo e o momento no qual o ovo é liberado dentro do hospedeiro também foram abordados.

## 2.2 Material e métodos

O trabalho foi realizado no Departamento de Fitossanidade, da Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre (30°01'S e 51°13'O), RS, Brasil, no período de agosto de 2002 a fevereiro de 2003.

Os insetos utilizados foram obtidos em uma lavoura experimental de fumo (*N. tabacum*), na qual iniciou-se uma criação de *S. dentiventris* a partir de adultos da geração colonizante. No momento em que foram registradas posturas nas plantas de fumo, algumas fêmeas foram confinadas, individualmente, em gaiolas com o objetivo de obter grupos de ovos idade conhecida. As demais fêmeas foram mantidas soltas na área garantindo assim a obtenção de posturas parasitadas.

Os ovos parasitados encontrados na área foram levados para o laboratório para dar início a uma criação de *G. gallardoi*. Estes foram mantidos em gaiolas plásticas transparentes, em condições controladas (25 ± 1°C e 12 horas de fotoperíodo) até a emergência dos adultos. Nas mesmas condições e alimentados com solução de mel a 10%, os adultos utilizados nos experimentos foram mantidos (Wiedemann et al., 2003)

No presente experimento utilizou-se fêmeas entre dois e cinco dias de idade, previamente acasaladas e mantidas junto a grupos de ovos de *S. dentiventris*, por 24 horas, para que adquirissem experiência em ovipositar. Posteriormente, cada fêmea, foi exposta, individualmente e sem possibilidade de escolha, a um grupo de ovos, não parasitado, de cada uma das idades 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 12 dias, em um tubo de ensaio, (1 x 6cm) fechado com chumaço de algodão. Utilizou-se dez fêmeas para cada uma das referidas idades de

ovos de *S. dentiventris*. Para o registro do comportamento, elaborou-se um croqui de cada grupo de ovos oferecido, de modo que cada ovo pudesse ser, individualmente, identificado. As observações foram feitas com o auxílio de estereomicroscópio com luz fria, durante duas horas, a partir do momento em que a fêmea manifestava interesse pelo grupo de ovos. Para cada grupo de ovos de diferentes idades, registrou-se os processos comportamentais da fêmea de *G. gallardoi* conforme descritos por Wiedemann et al. (2003), sendo a descrição e a duração de cada processo, obtidas vocalmente com o auxílio de um gravador e um cronômetro. Foi considerado auto-parasitismo quando a fêmea de *G. gallardoi* inseriu o ovipositor e marcou um ovo mais de uma vez (Wiedemann et al., 2003).

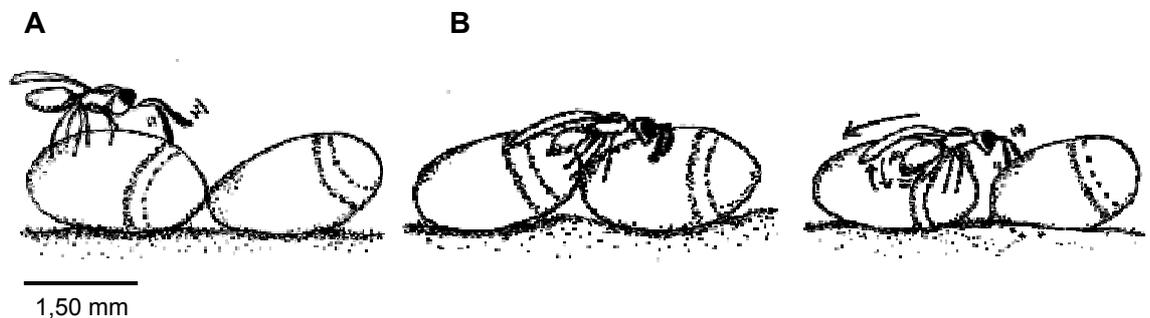
Para avaliar o momento no qual o ovo é expulso pelas fêmeas de *G. gallardoi* durante a inserção do ovipositor, ovos de *S. dentiventris* de um dia de idade foram oferecidos em grupos de 12 a uma fêmea, de dois a cinco dias de idade e experiente, em um tubo de ensaio. A partir do momento em que foi verificada a inserção do ovipositor, esta era interrompida após intervalos de tempo conhecidos (20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 e 160 segundos). Usou-se uma fêmea para cada ato de inserção e 20 repetições para cada intervalo. Após, os ovos foram individualizados e acompanhados até a verificação do parasitismo (mudança de cor do ovo para cinzenta), sendo o número destes registrados.

Os dados referentes ao comportamento de oviposição foram submetidos à análise de regressão. Na comparação entre os comportamentos junto a ovos não parasitados e auto-parasitados, nas diferentes idades, utilizou-se ANCOVA. Tendo em vista a normalidade (teste de Kolmogorov-Smirnov) e a

homocedasticidade (teste de Bartlett) dos dados, o local de inserção do ovipositor, em cada grupo de ovos de diferentes idades, foi analisado através da ANOVA a um critério (Newman-Keuls) assim como o número de ovos parasitados nos diferentes momentos da interrupção da oviposição, porém com a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5%.

### 2.3 Resultados e discussão

Em todas as idades dos ovos de *S. dentiventris*, as fêmeas de *G. gallardoi* evidenciaram seguintes processos comportamentais: tamborilamento (Figura 2.1A), inserção do ovipositor (Figura 2.1B), marcação (Figura 2.1C), caminhada e descanso. Tais processos corroboram àqueles observados para *G. gallardoi* por Solis et al. (2001) em ovos de *L. zonatus* e Wiedemann et al. (2003) em ovos de *S. dentiventris* de um dia de idade, sendo semelhante em outros grioníneos, como *Gryon cravigrallae* (Mineo) (Romeis et al., 2000), *Gryon obesum* Masner (Hirose et al., 2003) e *Gryon philippinense* (Ashmead) (Dasilao & Arakawa, 2004).



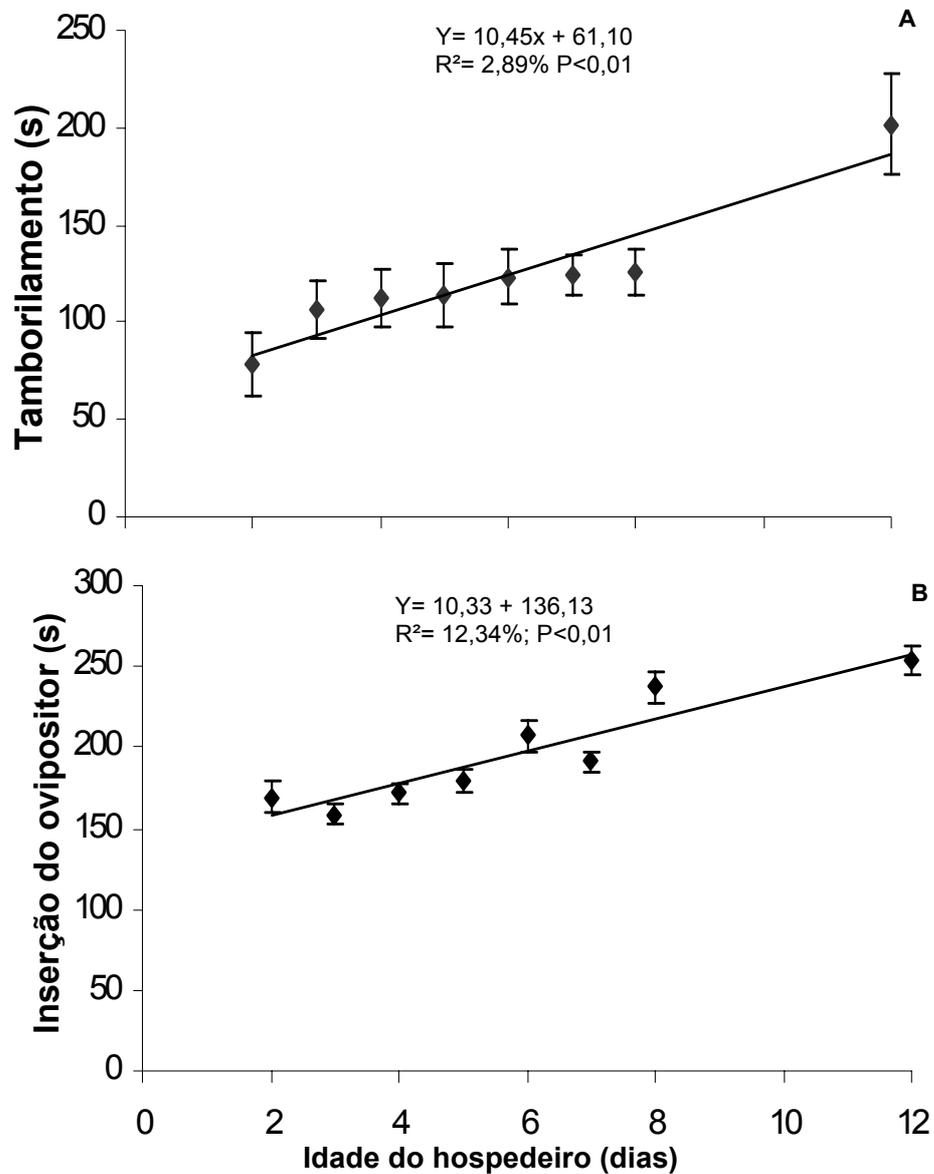
**FIGURA 2.1** Etapas do comportamento de *Gryon gallardoi* (Hym.: Scelionidae) em ovos de *Spartocera dentiventris* (Hem.: Coreidae): tamborilamento (A); inserção do ovipositor (B) e marcação (C).

A duração do tempo de tamborilamento das fêmeas de *G. gallardoi* tendeu a aumentar com a idade dos ovos de *S. dentiventris* ( $F= 29,97$ ;  $R^2=2,89\%$ ;  $P<0,01$ ) (Figura 2.2A) sendo registrado o menor tempo ( $78,9 \pm 16,12s$ ) para ovos de dois dias e o maior ( $201,7 \pm 26,27s$ ) para os ovos de 12 dias. O baixo valor do  $R^2$  evidenciado pela análise de regressão pode estar relacionado ao fato de que, nos ovos de dois a oito dias, o tempo de tamborilamento não variou de maneira considerável (Figura 2.2A), sendo isto mais evidente apenas nos ovos de 12 dias, que pode ter direcionado a ascensão da reta. Assim, pode-se inferir que, de fato, em ovos de idade extremamente avançada as fêmeas gastam mais tempo examinando-os.

Na região do ovo em que ocorria o último tamborilamento, era inserido o ovipositor. Em todas as idades testadas, os locais de inserção do ovipositor foram as extremidades longitudinais ( $85,0 \pm 0,04\%$ ), sendo  $51,0 \pm 2,31\%$  das vezes no pseudopérculo e  $34,4 \pm 2,25\%$  na extremidade oposta. As demais inserções foram feitas na região lateral mediana ( $13,7 \pm 7,09\%$ ) e no topo dos ovos ( $4,88 \pm 3,36\%$ ). Estas diferenças nos locais de inserções do ovipositor foram significativas ( $F=61,83$ ,  $gl=3$ ;  $P<0,001$ ). Para este comportamento, o tempo médio em que a fêmea permanecia com o ovipositor no hospedeiro tendeu a aumentar com a idade dos ovos ( $F=119,38$ ;  $R^2=12,34\%$ ;  $P<0,01$ ) (Figura 2.2B), sendo registrado o menor tempo em ovos de dois dias ( $169,4 \pm 9,26s$ ) e o maior para os de 12 dias ( $254,1 \pm 9,14s$ ).

O processo de marcação teve início após a retirada do ovipositor, no qual a fêmea, em movimentos laterais para trás, esfregava a região posterior do abdome em toda a superfície do ovo. Em todas as idades avaliadas, a marcação ocorreu em  $81,9 \pm 6,06\%$  dos ovos que tiveram inserção

de ovipositor. A duração do tempo de marcação não variou com a idade do hospedeiro ( $F=0,49$ ;  $R^2=0,07\%$ ;  $P=0,51$ ) sendo, em média,  $19,46 \pm 0,73s$ .



**FIGURA 2.2** Duração média do tamborilamento (A) e da inserção do ovipositor (B) de fêmeas de *Gryon gallardoii* (Hym.: Scelionidae) em relação às diferentes idades dos ovos de *Spartocera dentiventris* (Hem.: Coreidae) (barras indicam erro-padrão).

Caracterizou-se como caminhada quando a fêmea evidenciava falta de interesse pelo grupo de ovos, caminhando sobre estes sem contatá-los com as antenas ou pelas paredes do tubo de ensaio. Já como descanso foi considerado quando a fêmea ficou imóvel, com as antenas recolhidas, podendo isso acontecer estando ela sobre os ovos ou no tubo de ensaio. Ambos comportamentos não evidenciaram uma variação significativa em relação à idade dos ovos ( $F=3,36$ ;  $R^2=1,84\%$ ;  $P=0,65$  e  $F=0,45$ ;  $R^2=0,69\%$ ;  $P=0,51$ , respectivamente para caminhada e descanso). A duração média destes comportamentos, considerando todas as idades foi de  $647 \pm 83,28s$  e  $493,0 \pm 91,01s$ , respectivamente, para caminhada e descanso.

.A variação no comportamento em função da idade também verificada em outras famílias de parasitóides de ovos. Pak et al. (1986) registraram este fato em ovos de diferentes idades (zero a três dias) de três lepidópteros: *Mamestra brassicae* (Linnaeus) (Noctuidae), *Pieris brassicae* (Linnaeus) e *Pieris rapae* (Linnaeus) (Pieridae), onde o tempo de manuseio das fêmeas de *Trichogramma* spp. foi maior em ovos mais velhos. Em *Ooencyrtus nezarae* Ishii (Hym.: Encyrtidae), Takasu & Hirose (1993) verificaram que o tempo gasto na alimentação, utilizando fluídos do ovo (*host-feeding*), e a inserção do ovipositor aumentaram com a idade dos ovos de *Riptortus clavatus* (Thunberg) (Hem.: Alydidae), bem como o tempo de manuseio total.

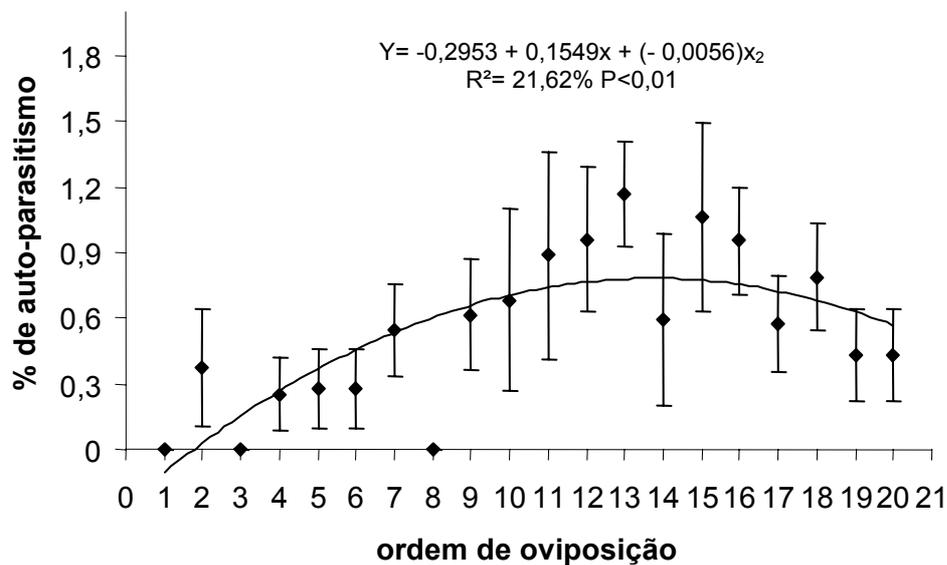
Tais modificações no comportamento dos parasitóides podem estar relacionadas com a avaliação da qualidade do hospedeiro, sendo isto diretamente associado à idade deste. Segundo Vinson (1998), as mudanças de comportamento relacionadas à idade podem se dar devido à alteração dos estímulos químicos de reconhecimento e aceitação ou dos estímulos físicos

(formato, cor, tamanho, ressonância, entre outros) e das condições físicas (barreiras membranosas). Em Scelionidae, vários trabalhos têm demonstrado que a aceitação de hospedeiros ocorre apenas diante de estímulos químicos apropriados (Strand & Vinson, 1983b; Bin et al., 1993), e muitos destes estímulos, podem tornarem-se menos evidentes com a idade, implicando numa maior dificuldade para o parasitóide reconhecer o hospedeiro (Vinson, 1998). Estudos feitos por Strand & Vinson (1983a) evidenciaram que *Telenomus heliothidis* Ashmead (Hym.: Scelionidae) detecta a idade, através do tamborilamento, pelo formato dos ovos de *Heliothis virescens* (Fabricius) (Lep.: Noctuidae) os quais são mais esféricos quando mais jovens, tornando-se cônicos com o aumento da idade.

No presente estudo, o fato do tempo para a inserção do ovipositor aumentar com a idade do hospedeiro pode estar relacionado diretamente com a composição do mesmo, cujo tecido passa de simples nutrientes de reserva a tecidos mais complexos química e morfologicamente. Diante disto a fêmea do parasitóide pode apresentar uma maior dificuldade para encontrar o sítio de oviposição adequado dentro do hospedeiro ou ter que liberar uma maior quantidade de substâncias para retardar ou inibir o desenvolvimento do mesmo (envenenamento). O tempo de marcação dos ovos de *S. dentiventris* pelo parasitóide parece não estar relacionado com a idade, entretanto, segundo Colazza et al. (1996), a ocorrência e o modo de marcação podem diferir entre as espécies e condições de hospedeiros, sendo que em alguns casos, esta não ocorre. Hirose et al. (2003) evidenciaram que as fêmeas de *G. obesum* marcam somente ovos de zero a dois dias de idade de *Euchistus conspersus* Uhler (Hem.: Pentatomidae). Os ovos mais velhos, de quatro e cinco dias, não são

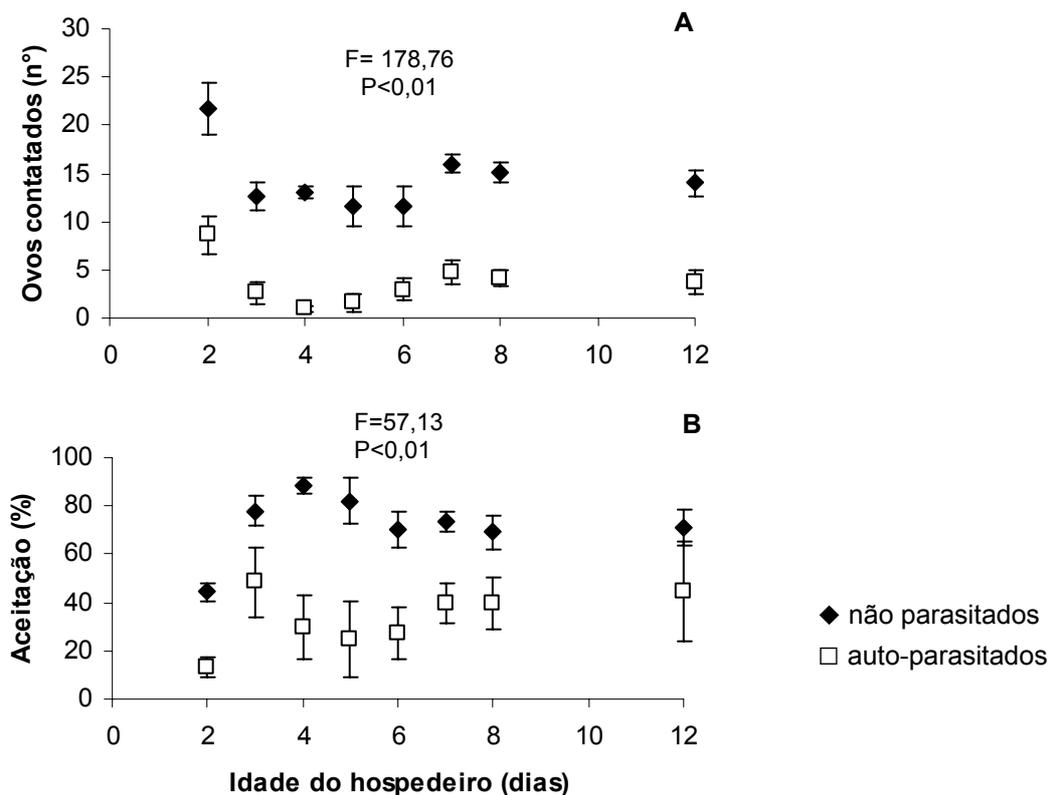
marcados, sendo isto atribuído, pelos autores, ao insucesso do efetivo parasitismo.

Em todas as idades testadas, o percentual médio de auto-parasitismo foi de apenas  $13,8 \pm 2,29\%$  dos ovos, não sendo evidenciada uma variação em relação à idade dos mesmos ( $R^2= 2,00\%$ ;  $gl=58$ ;  $P=0,1943$ ). Através da regressão polinomial quadrática verificou-se que, quando ocorreu o auto-parasitismo, este foi mais evidente entre a 9ª e a 17ª inserção de ovipositor, que coincide com a diminuição de ovos não parasitados disponíveis ( $F= 10,74$ ;  $R^2= 21,6\%$ ;  $P<0,01$ ) (Figura 2.3). A diminuição do auto-parasitismo nas oviposições subsequentes coincidiu com o término do período das observações, quando a fêmea ia perdendo o interesse pelos ovos (Figura 2.3).



**Figura 2.3** Percentual médio de auto-parasitismo de fêmeas de *Gryon gallardoi* (Hym.: Scelionidae) em relação à ordem de oviposição em ovos de *Spartocera dentiventris* (Hem.: Coreidae) (barras indicam erro-padrão).

A duração do tempo de manuseio de ovos auto-parasitados (incluindo tamborilamento, inserção de ovipositor e marcação), quando comparada ao manuseio de ovos não parasitados, não foi significativa ( $F=0,12$ ;  $P>0,05$ ). Entretanto, foi registrado, em todas as idades, um menor número de contatos (visitas) nos ovos auto-parasitados ( $F=178,76$ ;  $P<0,01$ ) (Figura 2.4A) e um menor percentual de aceitação destes ovos (inserção do ovipositor, seguida de marcação) ( $F=57,13$ ;  $P<0,01$ ) (Figura 2.4B), reforçando o fato de que as fêmeas de *G. gallardoii* evitaram o auto-parasitismo.



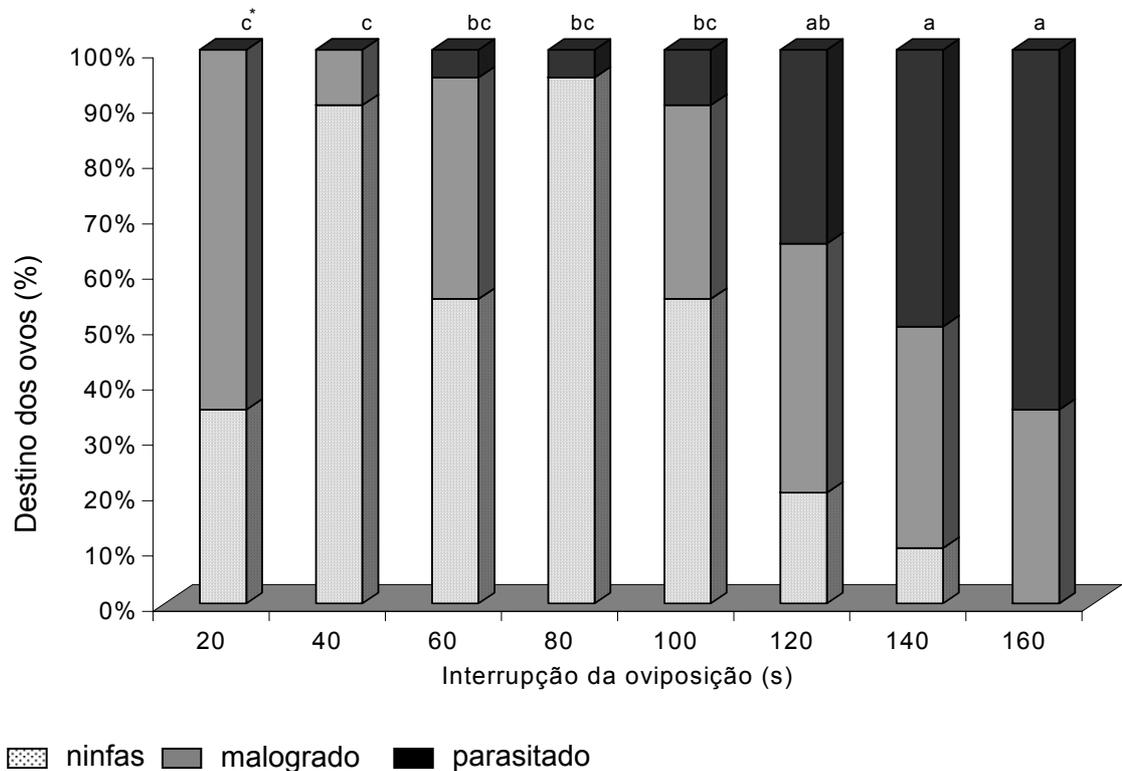
**FIGURA 2.4** Comportamento de oviposição comparativo de *Gryon gallardoii* (Hym.: Scelionidae) em ovos auto-parasitados e não parasitados de diferentes idades de *Spartocera dentiventris* (Hem.: Coreidae): A- número médio de contatos e B- percentual médio de aceitação (barras indicam erro-padrão).

Apesar da baixa aceitação de hospedeiros já parasitados, o auto-parasitismo pode ocorrer devido a uma série de fatores, como uma marcação ineficiente, densidade baixa de hospedeiros não parasitados (Salt, 1934; Alphen & Visser, 1990; Vinson, 1998), pouca experiência das fêmeas em ovipositar (Hubbard et al., 1999) e/ou densidade alta de parasitóides sobre o mesmo hospedeiro (Wu & Nordlund, 2002). De acordo com Alphen & Visser (1990), o auto-parasitismo é mais freqüente em indivíduos confinados em laboratório com um número limitado de hospedeiros, podendo ser imposto pela redução de ovos não parasitados e pelo aumento do tempo envolvido na busca.

Em muitas espécies de parasitóides como *Trichogramma evanescens* (Westwood) (Hym.: Trichogrammatidae) (Salt, 1934), *Telenomus sphingis* (Ashmead) (Rabb & Bradley, 1970) e *Anaphes iole* (Girault) (Hym.: Mymaridae) (Conti et al., 1997) o tempo de tamborilamento é maior em ovos previamente parasitados. Os resultados obtidos no presente estudo e nos dos autores citados sugerem que as fêmeas dos parasitóides são hábeis em distinguir ovos parasitados dos não parasitados e isto reflete no seu comportamento, optando pelo auto-parasitismo somente quando o número de hospedeiros torna-se escasso.

Em relação à liberação do ovo durante a inserção do ovipositor, os maiores índices de ovos parasitados, que emergiram adultos, ocorreram após 140 e 160s após a inserção ( $F=62,84$ ;  $P<0,01$ ) ((Figura 2.5). Nos demais períodos de interrupção, os ovos oferecidos originaram ninfas de *S. dentiventris* ou malograram (não emergiram nem ninfa e nem parasitóide). De acordo com Strand & Vinson (1983a) isto é justificável, pois a expulsão do ovo através do

ovipositor pode ser um estímulo para o início da marcação. Deste modo, os resultados obtidos sugerem que as fêmeas de *G. gallardoi*, no restante tempo em que permanecem com o ovipositor inserido, podem estar obtendo informações extras da qualidade do hospedeiro, escolhendo o sítio adequado para ovipositar e/ou liberando substâncias de “envenenamento”. Em outras espécies de Scelionidade, como *T. heliothidis*, a liberação do ovo é feita nos últimos segundos antes da marcação (Strand & Vinson, 1983a).



**FIGURA 2.5** Destino dos ovos de *Spartocera dentiventris* (Hem.: Coreidae) em relação aos diferentes períodos da interrupção da oviposição de fêmeas de *Gryon gallardoi* (Hym.: Scelionidae).

\* Barras seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que a condição dos ovos de *S. dentiventris*, tanto em relação à idade quanto ao fato de estarem ou não previamente parasitados, pode modificar o comportamento de oviposição de *G. gallardoi*. As fêmeas desta espécie são capazes de discriminar as diferentes condições de hospedeiros, especialmente através do tamborilamento. Entretanto, o fato de gastarem um maior tempo examinando hospedeiros de idade avançada pode acarretar em gasto energético, comprometendo sua eficiência como agentes de controle biológico.

## CAPÍTULO III

### **EFEITO DA IDADE DOS OVOS DE *Spartocera dentiventris* (BERG) (HEMIPTERA: COREIDAE) NO PARASITISMO DE *Gryon gallardoi* (BRÈTHES) (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE)**

#### **3.1 Introdução**

A avaliação do hospedeiro pelos parasitóides de ovos tem um efeito substancial sobre a eficiência destes em programas de controle biológico (Pak 1986, De Bach & Rosen 1991, Ruberson & Kring 1993, Heng-Moss *et al.* 2001). Com o aumento da idade, a composição química dos ovos de insetos altera-se rapidamente, passando de matriz fluída a tecidos mais complexos. Isto pode modificar a aceitação do hospedeiro e a adequação para o desenvolvimento da prole deste, exercendo efeito negativo no parasitismo como a mortalidade pré-imaginal e *fitness* da prole produzida (Vinson & Iwantsch 1980; Pak, 1986; Vinson, 1998; Brodeur & Boivin, 2004), além da alteração da proporção sexual (King 2002). Devido a estes aspectos, muitos parasitóides têm preferência por determinados estágios de desenvolvimento do hospedeiro. O conhecimento destes é fundamental para as criações massais, visto que a utilização de hospedeiros em idade imprópria pode acarretar na produção de parasitóides pobres em qualidade e, conseqüentemente, menos eficientes para o controle

biológico (Ruberson & Kring 1993). Em liberações a campo, quando o estágio preferencial do hospedeiro não está na área, os parasitóides podem se dispersar (De Bach & Rosen 1991, Heng-Moss et al., 2001).

Neste contexto, a influência da idade no sucesso do parasitismo tem sido bastante estudada nas últimas décadas, especialmente em Scelionidae, que engloba um grande número de espécies parasitóides de ovos de heterópteros (Navasero & Oatman 1989, Noda & Hirose 1989, Morrill & Almazon 1990, Hernandez & Díaz 1996, Romeis *et al.* 2000, Sousa & Spence 2001). Dentre estes destaca-se *Gryon gallardoi* (Brèthes) (Hym.: Scelionidae), referido como o principal inimigo natural de *Spartocera dentiventris* (Berg) (Hem.: Coreidae), o percevejo-cinzeiro-do-fumo, no Rio Grande do Sul, Brasil, sendo responsável por uma significativa mortalidade no estágio de ovo deste percevejo (Santos et al., 2001). Os estudos com os scelionídeos têm demonstrado que os parasitóides obtêm um maior sucesso no desenvolvimento quando gerados em hospedeiros mais jovens.

Assim este trabalho teve como objetivo avaliar, em condições de laboratório, o efeito da idade dos ovos de *S. dentiventris* no parasitismo de *G. gallardoi*, registrando-se o percentual de emergência, o tempo de desenvolvimento, a proporção de machos por grupo de ovos e por ordem de oviposição e a idade preferencial do hospedeiro.

### **3.2 Material e métodos**

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia, Ecologia e Controle Biológico de Insetos, do Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto

Alegre, RS, Brasil. Os insetos utilizados foram obtidos em uma lavoura experimental de fumo na qual, a partir do momento em que foram registradas nas plantas posturas de *S. dentiventris*, confinou-se, individualmente, algumas fêmeas em gaiolas com o objetivo de obter-se grupos de indivíduos de idade conhecida. As fêmeas restantes foram mantidas soltas para que suas posturas fossem parasitadas por *G. gallardoi*. Os ovos naturalmente parasitados em campo, caracterizados pela coloração cinza-chumbo (Santos et al., 2001), eram trazidos para o laboratório, iniciando-se assim, uma criação sobre os ovos obtidos de fêmeas do percevejo em gaiolas, sob condições controladas ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 12h de fotoperíodo). Os adultos de *G. gallardoi* emergidos eram mantidos em gaiolas plásticas e alimentados com uma solução de mel a 10% (Canto-Silva, 2003).

Nas avaliações foram utilizadas somente fêmeas de dois a cinco dias de idade, acasaladas e experientes. Para tanto, logo após a emergência, fêmeas eram acasaladas e mantidas junto a posturas de *S. dentiventris* por 24 horas para que adquirissem experiência em oviposição.

Para avaliar a influência da idade do ovo no percentual de emergência, no tempo de desenvolvimento e na proporção sexual da prole produzida, grupos de 12 ovos não parasitados de *S. dentiventris* de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 12 dias de idade, foram expostos, individualmente, em um tubo de ensaio (1 x 6 cm), a uma fêmea do parasitóide por duas horas, sendo esta observada em um estereomicroscópio. Para que cada ovo pudesse ser identificado, elaborou-se um croqui das posturas. Foram considerados parasitados apenas os ovos marcados pela fêmea após a retirada do ovipositor. Foram utilizadas dez fêmeas (repetições) para cada uma das

idades. Posteriormente, os ovos parasitados foram transferidos, individualmente, para tubos do tipo Eppendorff (1,5 ml) e mantidos em estufa climatizada ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 12 h de fotoperíodo), sendo observados diariamente até a emergência dos adultos. Para a avaliação da proporção sexual, utilizou-se apenas os adultos que emergiram com sucesso.

A idade preferencial do hospedeiro foi avaliada expondo, para uma fêmea, cinco grupos de 12 ovos não parasitados, de 1, 3, 5, 7 e 12 dias de idade, simultaneamente, em uma arena (9 cm de diâmetro por 10 cm de altura). Cada fêmea era observada até mostrar interesse por um dos grupos de ovos e iniciar a oviposição. A partir deste momento a mesma foi mantida por duas horas na arena com os grupos de ovos. Após, cada grupo de ovos foi individualizado em placas de Petri até ser confirmado o parasitismo. Foram feitas 20 repetições, sendo que, para cada uma, a disposição dos grupos de ovos no fundo da arena era sorteada.

Os percentuais de parasitismo e de emergência, quando avaliados individualmente para cada idade, foram transformados em arcoseno (Sokal & Rohlf, 1981) e submetidos à análise de regressão. A proporção sexual da prole foi comparada pelo teste *G* de heterogeneidade e o efeito da idade sobre a mesma por análise de regressão. A ordem de oviposição na qual emergiam machos e fêmeas, dentro de cada grupo de ovos, foram comparadas pelo teste *G* com replicação.

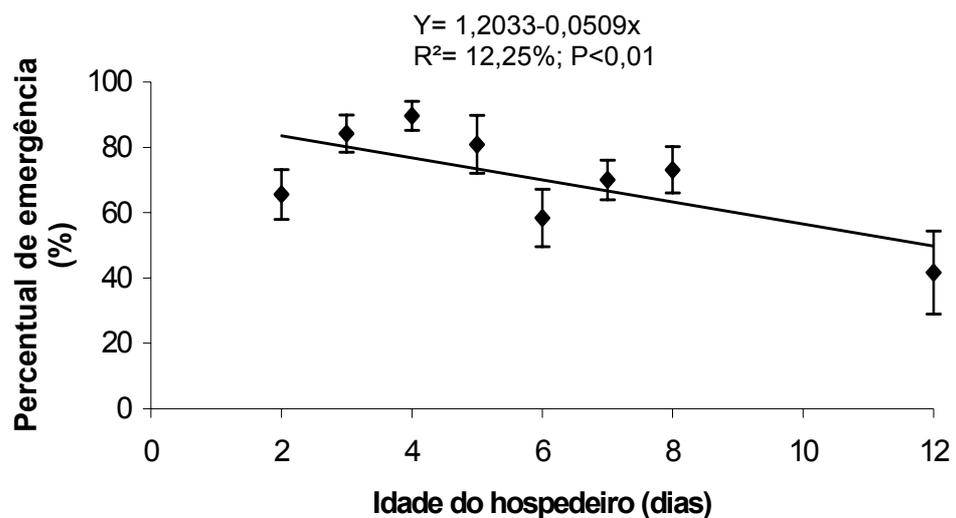
Os dados referentes ao tempo de desenvolvimento da prole produzida nas diferentes idades testadas foram submetidos à análise de covariância (ANCOVA).

Os percentuais de parasitismo, quando os ovos foram oferecidos simultaneamente, por não apresentarem normalidade (teste de Kolmogorov-Smirnov) e homocedasticidade (teste de Bartlett), foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis, com a comparação das médias pelo teste de Dunn.

### 3.3 Resultados e discussão

O parasitismo foi registrado em ovos de todas as idades, sendo que este não variou com o aumento das mesmas ( $F= 1,63$ ;  $R^2= 1,03\%$ ;  $P=0,20$ ). Foram parasitados, em média,  $88,5 \pm 2,64\%$  dos ovos por grupo. Tal fato pode estar relacionado com a forma de condução do experimento, que não permitia a escolha da fêmea.

Dos ovos que foram parasitados, o percentual de emergência da prole diminuiu consideravelmente com o aumento da idade dos ovos hospedeiros ( $F= 9,37$ ;  $R^2= 12,25\%$ ;  $P< 0,01$ ) (Figura 3.1).



**FIGURA 3.1** Percentual médio de emergência (barras indicam E.P.) da prole de *Gryon gallardoi* (Hym.: Scelionidae) de ovos de *Spartocera dentiventris* (Hem.: Coreidae) de diferentes idades.

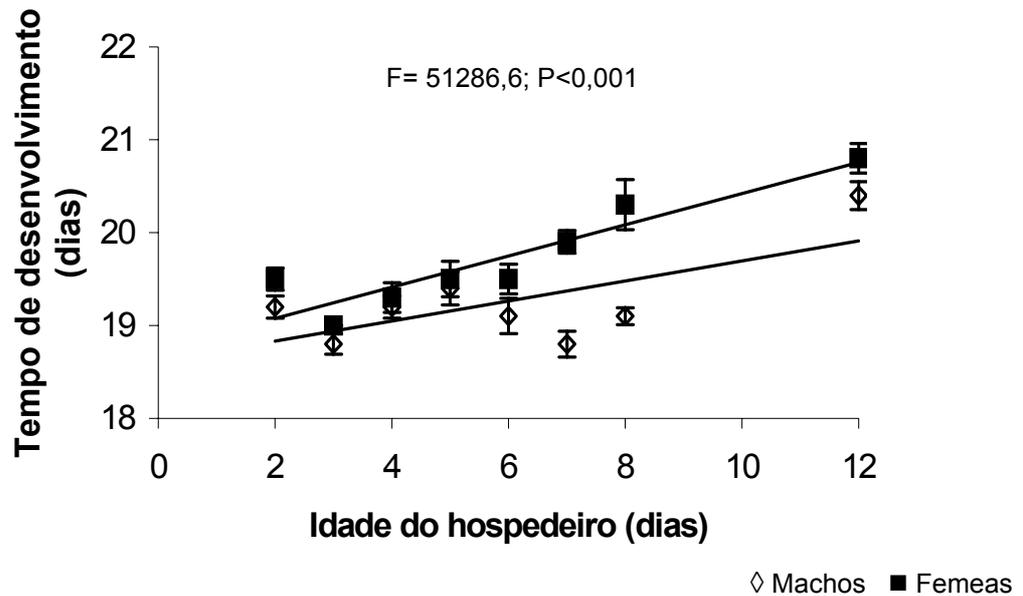
O parasitismo evidenciado em todas as idades de ovos de *S. dentiventris* e o maior percentual de emergência de adultos de *G. gallardoi* em ovos mais jovens é justificável, pois segundo Strand (1986) e Vinson (1998), os himenópteros parasitóides têm habilidade de parasitar e se desenvolver em todos os estágios de desenvolvimento do hospedeiro, possuindo uma grande capacidade de adequação às diferentes condições do mesmo. Entretanto, alguns estágios, especialmente os mais jovens, parecem ser mais favoráveis ao sucesso de desenvolvimento da prole, como têm demonstrado uma série de estudos com scelionídeos, como *Telenomus heliothidis* Ashmed (Strand 1986); *Telenomus solitus* Johnson (Navasero & Oatman 1989), *Telenomus remus* Nixon (Hernandez & Díaz 1996) e *Tiphodytes gerriphagus* Marchal (Sousa & Spence 2001).

Segundo Strand (1986), a baixa taxa de emergência de parasitóides em ovos mais velhos pode ser atribuída ao desenvolvimento embrionário do hospedeiro, que em estágios mais avançados, impede a alimentação da larva do parasitóide que não é capaz de digerir a cutícula. Este fato foi demonstrado por Nechols et al. (1988), em ovos em idade avançada de *Anasa tristis* (De Geer) (Hemiptera: Coreidae) parasitados por *Gryon nixoni* (Masner) (Hymenoptera: Scelionidae), que verificaram, ao dissecar os mesmos, que a grande maioria das larvas não passou do primeiro para o segundo ínstar.

Entretanto, muitos estudos têm demonstrado, especialmente em scelionídeos, que as fêmeas têm a capacidade de “transformar” a composição do hospedeiro de modo facilitar a digestão da larva do parasitóide através da injeção de substâncias durante a oviposição (envenenamento) (Vinson & Iwantsch 1980, Nechols et al. 1988, Vinson 1998, Beckage & Gelman 2004) ou

por substâncias produzidas pelos teratócitos (Volkoff & Colazza 1992). Segundo Barret & Schimidt (1991), este conteúdo modificado, em hospedeiros mais velhos, em termos energéticos, pode ser inferior pois, muitos nutrientes, como aminoácidos livres, foram incorporados ao tecido embrionário durante o desenvolvimento do hospedeiro, podendo-se justificar assim o menor percentual de emergência de *G. gallardoi* registrado em ovos velhos de *S. dentiventris*.

A baixa qualidade nutricional atribuída aos ovos hospedeiros mais velhos pode retardar o tempo de desenvolvimento da prole, sendo este fato visto como uma adaptação evolutiva, visando ampliar o período de disponibilidade do recurso alimentar (Godfray 1994). Segundo Barret & Schimidt (1991), quanto maior a idade do hospedeiro, maior quantidade de aminoácidos livres são incorporados no tecido do embrião hospedeiro, disponibilizando menos material nutritivo digerível pela larva do parasitóide. No presente estudo, o aumento da idade do hospedeiro influenciou o tempo de desenvolvimento de *G. gallardoi* ( $F=51286,6$ ;  $R^2= 29,12\%$ ;  $P< 0,001$ ) (Figura 3.2), sendo que os machos se desenvolveram mais rapidamente em relação às fêmeas ( $F=17205,3$ ;  $P<0,001$ ). A interação entre as variáveis, idade e sexo, não foi significativa ( $F=3,06$ ;  $P>0,05$ ), demonstrando que machos e fêmeas são igualmente afetados pela idade do hospedeiro.



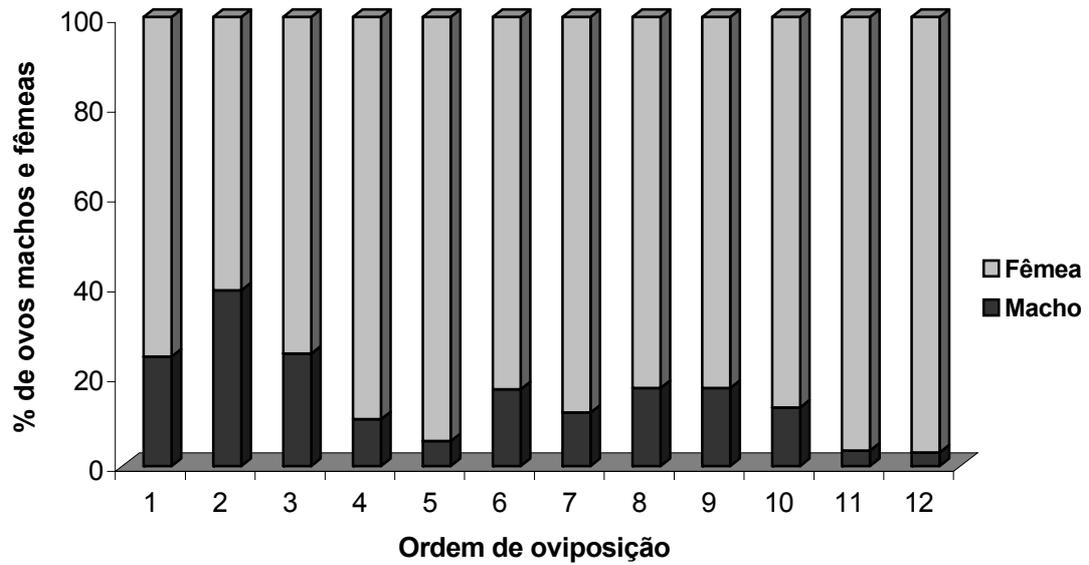
**FIGURA 3.2** Tempo médio de desenvolvimento (dias) (barras indicam E.P.) de machos e fêmeas de *Gryon gallardoi* (Hym.: Scelionidae) em relação à idade dos ovos de *Spartocera dentiventris* (Hem.: Coreidae).

Em relação à proporção sexual, houve um desvio para fêmeas em todas as idades testadas ( $P > 0,05$ , teste G de heterogeneidade). A razão sexual desviada para fêmeas é comum em muitas espécies de himenópteros parasitóides, inclusive em Scelionidae (Navasero & Oatman 1989, Noda & Hirose 1989, Hernandez & Diaz 1996, Sousa & Spence, 2001), sendo estas proporções explicadas em termos de acasalamento local (Hamilton 1967, Waage 1982). Segundo estes autores, em parasitóides que atacam hospedeiros gregários, como grupos de ovos, o acasalamento geralmente ocorre entre irmãos fazendo com que as fêmeas ajustem a razão sexual a ponto de produzir apenas o número de machos o suficiente para garantir o acasalamento com as irmãs. Assim, a proporção de machos na prole está mais

relacionada com o tamanho do grupo de ovos (Waage 1982, Charnov & Skinner 1985).

No presente estudo a proporção de machos não variou com o aumento da idade dos ovos ( $F= 0,3042$ ;  $R^2= 1,64\%$ ;  $P>0,05$ ), registrando-se, em média 0,49:1. Segundo Vinson (1997), pouco se tem estudado sobre o efeito da idade na proporção sexual sendo que esta parece exercer pouco ou nenhum efeito nos parasitóides de Scelionidae (Navasero & Oatman 1989, Noda & Hirose 1989). Entretanto, tem se verificado em alguns trabalhos, como os de Hernandez & Díaz (1996), que verificaram uma maior proporção de machos de *T. remus* em ovos mais velhos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Da mesma forma, Sousa & Spence (2001) demonstraram uma proporção maior de machos de *T. gerriphagus* em ovos com mais de quatro dias de *Limnoporus dissortis* (Drake & Harris) (Heteroptera: Gerridae). Em ambos trabalhos, como os ovos de diferentes idades foram oferecidos simultaneamente, o aumento na proporção de machos foi atribuído à baixa proporção de ovos velhos parasitados.

Em relação à ordem de oviposição, verificou-se uma heterogeneidade na distribuição do sexo da prole nos grupos de ovos em todas as idades testadas ( $G_h= 34,941919$ ;  $P<0,001$ ), sendo que os machos tenderam a ser distribuídos nas primeiras oviposições com uma maior frequência na segunda ( $G_h= 13,4367$ ;  $P<0,001$ ), enquanto que as fêmeas foram obtidas com uma maior frequência na 11ª e 12ª oviposição ( $G_h= 4,9832$  e  $6,1599$ ,  $P<0,05$ , respectivamente) (Figura 3.3). Não foi registrada uma variação na distribuição do sexo da prole com a idade do hospedeiro ( $F= 0,3831$ ;  $R^2= 0,45$ ;  $P>0,05$ ).

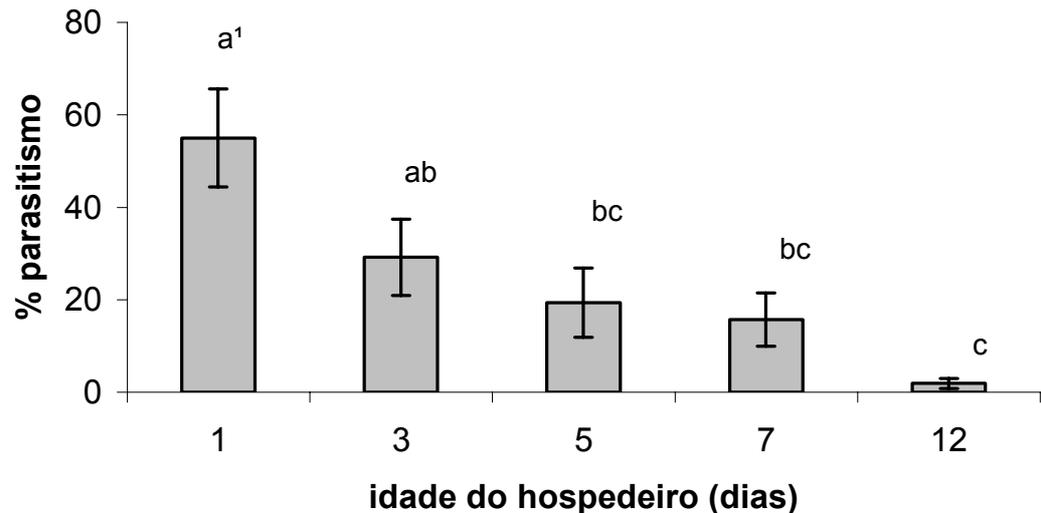


**FIGURA 3.3** Percentual de ovos machos e fêmeas depositados por *Gryon gallardoii* (Hym.: Scelionidae) em relação a ordem de oviposição nos grupos de ovos de *Spartocera dentiventris* (Hem.: Coreidae).

Resultados semelhantes foram obtidos por Noda & Hirose (1989) em *Gryon japonicum* (Hymenoptera: Scelionidae), não registrando diferença na ordem de oviposição entre as diferentes idades dos ovos de *Riptortus clavatus* Thunberg (Hemiptera: Coreidae), sendo que a oviposição de machos ocorreu com maior frequência no segundo ovo. Segundo estes autores, a distribuição de ovos machos no grupo de ovos torna-se importante para garantir o acasalamento com todas as fêmeas. Geralmente, em Scelionidae e outros parasitóides de ovos solitários, as fêmeas depositam ovos machos nas primeiras oviposições (Waage 1982), porém isto poderá variar de acordo com o tamanho do grupo de ovos e com a presença de coespecíficos sobre o mesmo (Godfray 1994).

Quando os grupos de ovos de diferentes idades foram oferecidos simultaneamente, as fêmeas de *G. gallardoii* mostraram uma preferência pelos

mais jovens (um e três dias de idade) ( $H= 13,8411$ ;  $P<0,01$ ) (Figura 3.4). Os resultados obtidos com *G. gallardoii* em laboratório corroboram àqueles encontrados em campo por Santos et al., (2001), onde os maiores índices de parasitismo foram em ovos de *S. dentiventris* de até quatro dias de idade.



**FIGURA 3.4** Percentual médio de parasitismo (barras indicam E.P.) em ovos de diferentes idades de *Spartocera dentiventris* (Hem.: Coreidae) oferecidos simultaneamente a fêmeas de *Gryon gallardoii* (Hym.: Scelionidae).

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Dunn.

Resultados semelhantes foram verificados por Morrill & Almazon (1990), que registraram um parasitismo maior em ovos mais jovens de *Leptocorisca oratorius* (Fabricius) (Hemiptera: Alydidae) por *G. nixonii*, sendo que os ovos mais velhos não foram parasitados. Da mesma forma, Romeis et al. (2000) demonstraram que *Gryon clavigrallae* Mineo (Hymenoptera: Scelionidae) atacou com maior frequência ovos mais jovens de *Clavigralla* spp. (Hemiptera: Coreidae).

A preferência por ovos mais jovens é relatada para muitas espécies de Scelionidae. Segundo Vinson (1998), os parasitóides podem localizar

hospedeiros de todas as idades, porém tendem a rejeitar os mais velhos, devido a alterações nos estímulos químicos e/ou físicos de reconhecimento e aceitação, que podem ocorrer com o aumento da idade do hospedeiro. Apesar de ser claro o efeito da idade nos processos de parasitismo evidenciados neste experimento e nos outros trabalhos aqui discutidos, cabe questionar se a fêmea do parasitóide, quando exposta a ovos de várias idades simultaneamente, rejeita ovos mais velhos por serem mais difíceis de reconhecer ou porque ela pode relacionar tais fatores com o status nutricional do hospedeiro? Segundo Vinson (1997), há uma grande plasticidade em todos os níveis do processo de seleção e adequação do hospedeiro pelo parasitóide. Tal plasticidade não está somente relacionada com a variabilidade da herança genética, mas também pela experiência e pelo aprendizado da fêmea do parasitóide. Assim, mais informações são necessárias, de modo a permitir uma descrição compreensível do processo de seleção e dos fatores envolvidos.

## CAPÍTULO IV

### VARIAÇÃO DO TAMANHO CORPORAL DE *Gryon gallardoi* (BRÈTHES) (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) EM RELAÇÃO À IDADE E AO TAMANHO DOS OVOS DE *Spartocera dentiventris* (BERG) (HEMIPTERA: COREIDAE)

#### 4.1 Introdução

O tamanho corporal pode trazer conseqüências importantes para o valor adaptativo em muitas espécies por estar fortemente correlacionado com os componentes da história de vida, tais como potencial reprodutivo, tempo de desenvolvimento, longevidade, entre outros (La Barbera, 1989; Jervis & Copland, 1996; Eijs & Alphen, 1999; Mayhew & Glaizot, 2001). Em parasitóides, especialmente os idiobiontes, o tamanho é determinado não somente por mecanismos genéticos e/ou fisiológicos, mas também pelo *status* nutricional da fêmea mãe e, principalmente, pela qualidade do hospedeiro, estabelecendo-se uma relação alométrica (La Barbera, 1989; Mackauer, 1996). Dentro deste contexto, o tamanho do parasitóide é determinado pela quantidade total do recurso nutricional alocado durante o desenvolvimento larval (Ellers & Jervis, 2003).

Do ponto de vista dos parasitóides, especialmente os de ovos, a qualidade do hospedeiro é medida, em termos de abundância, pelo tamanho do ovo e/ou massa de ovos e, em termos de teor nutritivo, entre outros fatores, pela idade, visto que esta acarreta em mudanças químicas e fisiológicas do hospedeiro (Vinson & Iwantsch, 1980; Izumi et al., 1994; Mackauer, 1996; Vinson, 1998; Mayhew & Glaziot, 2001), fazendo com que parasitóides exibam preferência por determinadas fases de desenvolvimento e classes de tamanho de hospedeiros para depositar seus ovos prole. Deste modo, a qualidade do hospedeiro, além de direcionar o comportamento dos parasitóides, também poderá influenciar a escolha do sexo do ovo a ser colocado pelas fêmeas (Charnov & Skinner, 1985; Alphen & Vet, 1986; Godfray, 1994; West et al., 1996; Kraaijeveldt et al., 1999) e o grau de dimorfismo sexual ( $DS_i$ ), resultando em diferenças de tamanho entre machos e fêmeas de acordo com o tamanho e a idade do hospedeiro (Mackauer, 1996; Teder & Tammaru, 2005).

Segundo Jervis & Copland (1996), além da qualidade do hospedeiro, aspectos como o superparasitismo e a temperatura, durante o desenvolvimento, também poderão influenciar o tamanho corporal dos parasitóides adultos.

Dentro deste contexto, especialmente em insetos de interesse agrícola, uma série de estudos tem procurado relacionar o tamanho corporal dos parasitóides com o do hospedeiro (Strand, 1986; Mackauer & Sequeira, 1993; Mackauer, 1996; Greenberg et al., 1998, Mayhew & Glaziot, 2001; Arakawa et al., 2004) e idade (Mackauer, 1996; Sousa & Spence, 2001), além de demonstrar a relação do tamanho com os componentes da história de vida

(Bai et al. 1992; Mackauer & Sequeira, 1993; West et al., 1996; Greenberg et al., 1998, Sagarra et al., 2001; Rivero & West, 2002; Jervis et al., 2003; Arakawa, 2004), com o objetivo de assegurar o sucesso de programas de controle biológico além de buscar o entendimento dos processos evolutivos envolvidos na interação hospedeiro-parasitóide.

O objetivo deste trabalho foi verificar a influência do tamanho e da idade de ovos dos *Spartocera dentiventris* (Berg) (Hemiptera: Coreidae) no tamanho corporal de machos e fêmeas do parasitóide *Gryon gallardoi* (Brèthes) (Hymenoptera: Scelionidae), ambos associados à cultura do fumo no Rio Grande do Sul, Brasil. A ordem de oviposição, a escolha do sexo da prole em função do tamanho dos ovos hospedeiros e a influência do superparasitismo no tamanho corporal dos parasitóides obtidos também foram analisados e discutidos neste trabalho.

#### **4.2 Material e métodos**

O presente estudo foi desenvolvido no Laboratório de Biologia, Ecologia e Controle Biológico de Insetos do Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre (30°01'S e 51°13'O), RS, Brasil. As posturas de *S. dentiventris* foram obtidas em uma lavoura experimental de fumo (*Nicotiana tabacum*, tipo Virgínia, variedade K-326), a partir de fêmeas confinadas, individualmente, em gaiolas. Algumas posturas de *S. dentiventris* foram mantidas fora das gaiolas para que fossem parasitadas por *G. gallardoi*. Os ovos parasitados eram trazidos para o laboratório e incubados em condições

controladas ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 12 horas de fotoperíodo). Os parasitóides emergidos eram mantidos em gaiolas plásticas e alimentados diariamente com solução de mel a 10%, sendo multiplicados em posturas de *S. dentiventris* capturadas na lavoura experimental, iniciando-se assim uma criação

As fêmeas de *G. gallardoi* utilizadas no experimento eram de dois a cinco dias de idade, acasaladas e com experiência em oviposição (mantidas por 24 horas junto às posturas). Grupos de 12 ovos não parasitados de *S. dentiventris* de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 12 dias de idade, foram expostos, individualmente, em um tubo de ensaio (1 x 6cm), a uma fêmea do parasitóide por duas horas, sendo esta observada em estereomicroscópio. Para que cada ovo pudesse ser identificado, elaborou-se um croqui das posturas. Foram considerados parasitados apenas os ovos marcados pela fêmea após a retirada do ovipositor e superparasitados os que foram marcados mais de uma vez. Posteriormente, os ovos parasitados e superparasitados foram medidos (comprimento e largura) em estereomicroscópio com ocular micrométrica e transferidos, individualmente, para tubos tipo Eppendorff (1,5 ml) em estufa climatizada ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 12 horas de fotoperíodo) até a emergência dos adultos os quais também foram medidos, tomando-se como base a largura da cabeça, na altura dos olhos, e o comprimento da tíbia do segundo par de pernas.

Para a análise dos dados de tamanho do hospedeiro em relação ao do parasitóide, as dimensões dos ovos de *S. dentiventris* foram convertidas em volume (V) através da fórmula proposta para ovos elipsóides  $V = (4/3)\pi ab^2$  onde, *a* refere-se ao comprimento do ovo e *b* à largura (Bai et al., 1992). Para que a análise em relação ao volume não sofresse interferência da idade, os

ovos foram agrupados, em cada repetição de cada idade, em quatro categorias de tamanho: pequeno (p) (0,75 a 0,90 mm<sup>3</sup>), médio-pequeno (pm) (0,91 a 1,09 mm<sup>3</sup>), médio-grande (mg) (1,10 a 1,31 mm<sup>3</sup>) e grande (g) (1,32 a 1,54 mm<sup>3</sup>). Posteriormente obteve-se o volume médio de cada categoria em todas as idades testadas (Jervis & Copland, 1996), que foi dado por  $0,85 \pm 0,012$ ;  $1,05 \pm 0,042$ ;  $1,17 \pm 0,045$  e  $1,39 \pm 0,045$  mm<sup>3</sup>, respectivamente, para as categorias p, pm,mg e g.

Para verificar a relação das variáveis volume e idade do hospedeiro sobre o tamanho dos parasitóides, os dados foram submetidos à análise de regressão múltipla. Para analisar o efeito do volume do hospedeiro sobre a ordem de oviposição, os dados, por não apresentarem normalidade (teste de Kolmogorov-Smirnov) e homocedasticidade (teste de Bartlett), foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis e a proporção de machos e fêmeas, para cada categoria, foram comparadas pelo teste do qui-quadrado. O tamanho dos machos ( $TM_{\sigma}$ ) e das fêmeas ( $TM_{\varphi}$ ) emergidos, em relação as diferentes categorias de tamanho, foram submetidos a análise de covariância (ANCOVA), tendo as categorias como variável quantitativa. Da mesma forma foi verificado o efeito da idade dos ovos de *S. dentiventris* sobre o  $TM_{\sigma}$  e  $TM_{\varphi}$ .

Para estimar o dimorfismo sexual ( $DS_t$ ), utilizou-se o modelo II da regressão linear através da equação  $TM_{\varphi} = a + b(TM_{\sigma})$ , onde  $a$  e  $b$  referem-se, respectivamente, ao intercepto e ao coeficiente de regressão. Este modelo pressupõe que, quando o intercepto é diferente de zero, o dimorfismo sexual é dependente do tamanho e alométrico, ou seja, o tamanho da fêmea aumenta em função do aumento do tamanho do macho. Este modelo permite também avaliar o efeito da qualidade do hospedeiro no dimorfismo sexual e se a relação

entre ambos é alométrica (La Barbera, 1989; Mackauer, 1996). Para testar os pressupostos do modelo II, primeiramente, os dados foram submetidos, em cada idade e classe de volume, à análise de regressão linear simples, tendo o  $TM_{\sigma}$  como variável independente e o  $TM_{\varphi}$  como dependente. Com os interceptos (a) e os coeficientes (b) obtidos nestas regressões, estimou-se  $DS_t$  pelo tamanho da fêmea através da equação proposta pelo modelo II (Mackauer, 1996). Os valores estimados foram submetidos à análise de regressão linear, tendo a idade do hospedeiro e o volume como variáveis contínuas. A verificação de ajuste ao modelo II foi feita comparando-se os dados estimados com os dados observados pelo teste-*t* de Student.

#### 4.3 Resultados e discussão

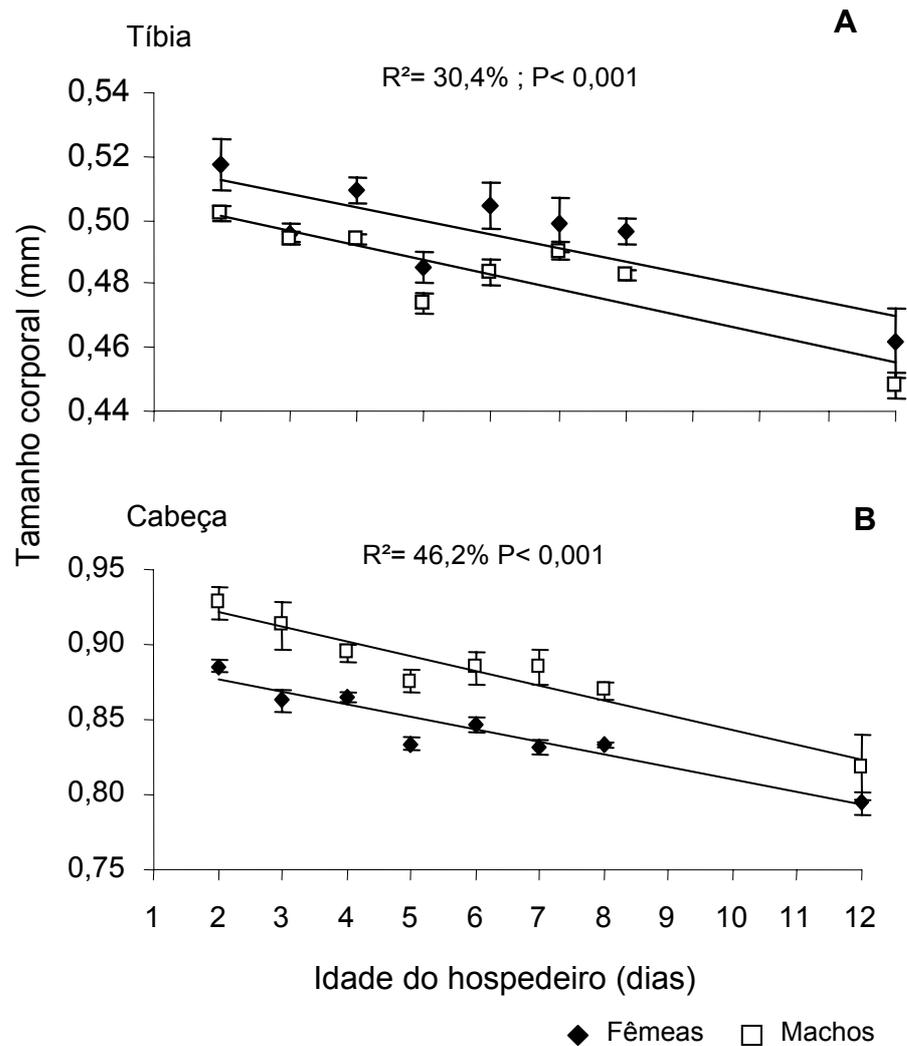
Através da regressão múltipla evidenciou-se uma variação significativa entre o tamanho dos adultos emergidos em relação à idade do hospedeiro e ao volume ( $F=153,1$ ;  $R^2=41,8\%$   $P<0,001$  e  $F= 164,5$ ;  $R^2= 43,6\%$ ;  $P<0,001$ , respectivamente, para os tamanhos da tíbia e da cabeça. O modelo linear do tamanho corporal em relação ao volume ( $X_1$ ) e à idade ( $X_2$ ) juntos é:  $Y= 0,4493 + 0,0549X_1 - 0,0035X_2$  e  $Y= 0,8305 + 0,0865X_1 - 0,0079X_2$ , respectivamente para a tíbia e para a cabeça.

Dentro do grupo de ovos, as fêmeas de *G. gallardoi* não exibiram preferência por uma determinada categoria de tamanho de hospedeiro para iniciar a oviposição ( $H=1,01$ ;  $gl=3$ ;  $P= 0,79$ ). Da mesma forma, as fêmeas do parasitóide não evidenciaram preferência por uma categoria de tamanho para colocar ovos machos ou fêmeas ( $\chi^2= 2,32$ ;  $gl=3$ ;  $p= 0,51$ ).

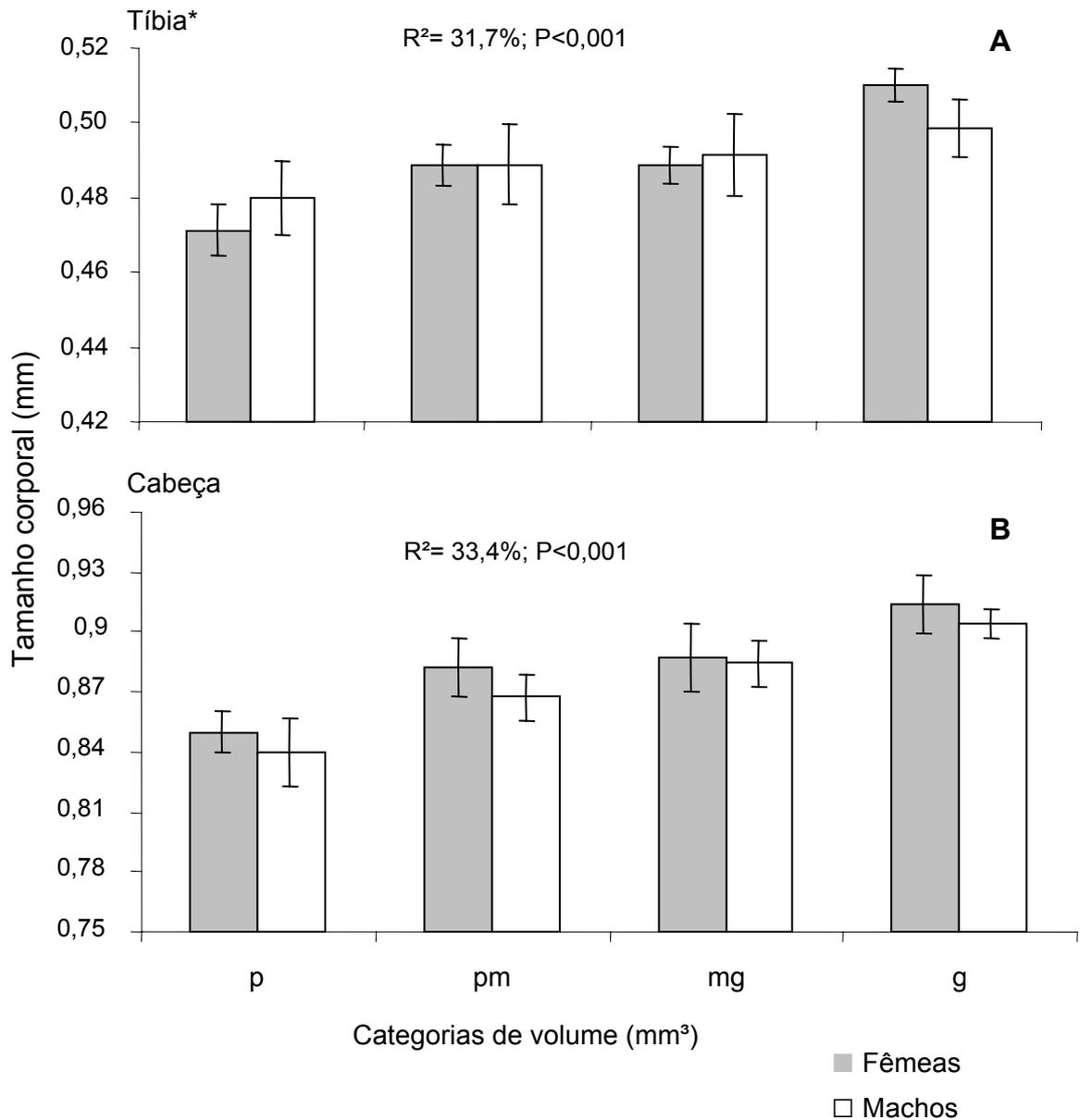
A preferência por hospedeiros maiores, por estar associada à abundância de recursos para prole, é relatada para muitas espécies de parasitóides (Godfray, 1994; Vinson, 1998), assim como a preferência em ovipositar ovos que originam machos em hospedeiros menores (Charnov & Skinner, 1985; West et al., 1996). Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram que os ovos que originam machos podem ser de qualquer tamanho, não obedecendo um critério de escolha. Isto pode ser atribuído às condições do experimento, onde a fêmea de *G. gallardoi* estava confinada sobre um grupo de ovos com pouca variação de tamanho entre eles, sugerindo que a mesma pode não ser capaz de detectar pequenas diferenças de tamanho durante a escolha do hospedeiro. Para verificar os efeitos do tamanho dos ovos nos processos de escolha, sugere-se a exposição simultânea da fêmea a ovos de classes bem distintas de tamanhos.

A análise de covariância demonstrou que, tanto os machos como as fêmeas de *G. gallardoi* diminuem de tamanho com o aumento da idade dos ovos de *S. dentiventris* ( $F= 92,9$ ;  $R^2= 30,4\%$ ;  $P<0,001$  e  $F= 182,9$ ;  $R^2= 46,2\%$ ;  $P<0,001$ , respectivamente para os tamanhos da tíbia e da cabeça), sendo as fêmeas maiores que os machos em relação à largura da cabeça ( $F= 262,7$ ;  $P< 0,001$ ) e menores em relação ao comprimento da tíbia ( $F= 157,72$   $P< 0,001$ ) (Figura 4.1A e 4.1B) . A interação entre os tamanhos dos machos e das fêmeas com a idade do hospedeiro não foi significativa ( $F= 0,17$ ;  $P>0,05$ ), demonstrando que ambos os sexos têm seu tamanho igualmente afetado pela condição do hospedeiro. A análise de covariância também demonstrou que, tanto os machos como as fêmeas, respondem positivamente ao aumento do volume do hospedeiro ( $F= 170,3$ ;  $R^2= 31,7\%$ ;  $P< 0,001$  e  $F= 181,3$ ,  $R^2= 33,4\%$ ,

$P < 0,001$ , respectivamente para a tíbia e para a cabeça) (Figuras 4.2A e 4.2B), sendo as fêmeas significativamente maiores que os machos somente em relação à largura da cabeça ( $F = 92,73$ ;  $P < 0,01$ ) (Figura 4.2B).



**FIGURA 4.1** Tamanho médio da tíbia (A) e da cabeça (B) de machos fêmeas de *Gryon gallardoi* (Hym.: Scelionidae) em relação a idade dos ovos de *Spartocera dentiventris* (Hem.: Coreidae) (barras indicam erro padrão).



**FIGURA 4.2** Tamanho da tíbia (A) e da cabeça (B) (média  $\pm$  E.P) de machos e fêmeas de *Gryon gallardoi* (Hym.: Scelionidae) em relação às categorias de volume dos ovos de *Spartocera dentiventris* (Hem.: Coreidae) (p= 0,75 a 0,90  $\text{mm}^3$ ; pm= 0,91 a 1,09  $\text{mm}^3$ ; mg= 1,10 a 1,31  $\text{mm}^3$  e g= 1,32 a 1,54  $\text{mm}^3$ ).

\* Machos e fêmeas não diferem de tamanho pela ANCOVA ( $F = 4,63$ ;  $P > 0,01$ )

Segundo Godfray (1994) as larvas de himenópteros parasitóides podem se desenvolver em hospedeiros de vários tamanhos e condições, acarretando em alterações nas relações de custo-benefício, como o ajuste do

tamanho corporal e o do tempo de desenvolvimento. Assim, ao retardar o tempo de desenvolvimento a larva pode estar ampliando a disponibilidade de recursos, entretanto, isto poderá implicar na redução do seu tamanho final. De fato, o tempo de desenvolvimento de *G. gallardoii* é maior em ovos mais velhos de *S. dentiventris* (ver Capítulo II), acarretando em um menor tamanho corporal, corroborando a idéia de que a idade do hospedeiro pode ser crucial para o sucesso do parasitóide. Da mesma forma, Sousa & Spence (2001) observaram uma diminuição no tamanho corporal e um maior tempo de desenvolvimento dos adultos *Tiphodytes gerriphagus* Marchal (Scelionidae), emergidos de ovos mais velhos de *Limnopus dissortis* Drake & Harris (Hem.: Gerridae). Os autores atribuíram o fato a pouca quantidade de material digerível para a larva nestes hospedeiros.

Relacionando apenas o volume do hospedeiro com tamanho do parasitóide, usando medidas dos antenômeros, Jonhson et al. (1987) demonstraram que o tamanho do scelionídeo *Telenomus alsophidae* (Viereck) variou amplamente em função dos tamanhos dos ovos hospedeiros (cinco espécies de lepidópteros). Os autores constataram, em cada classe de tamanho do hospedeiro, uma correlação positiva entre o tamanho do parasitóide e o volume estimado dos ovos.

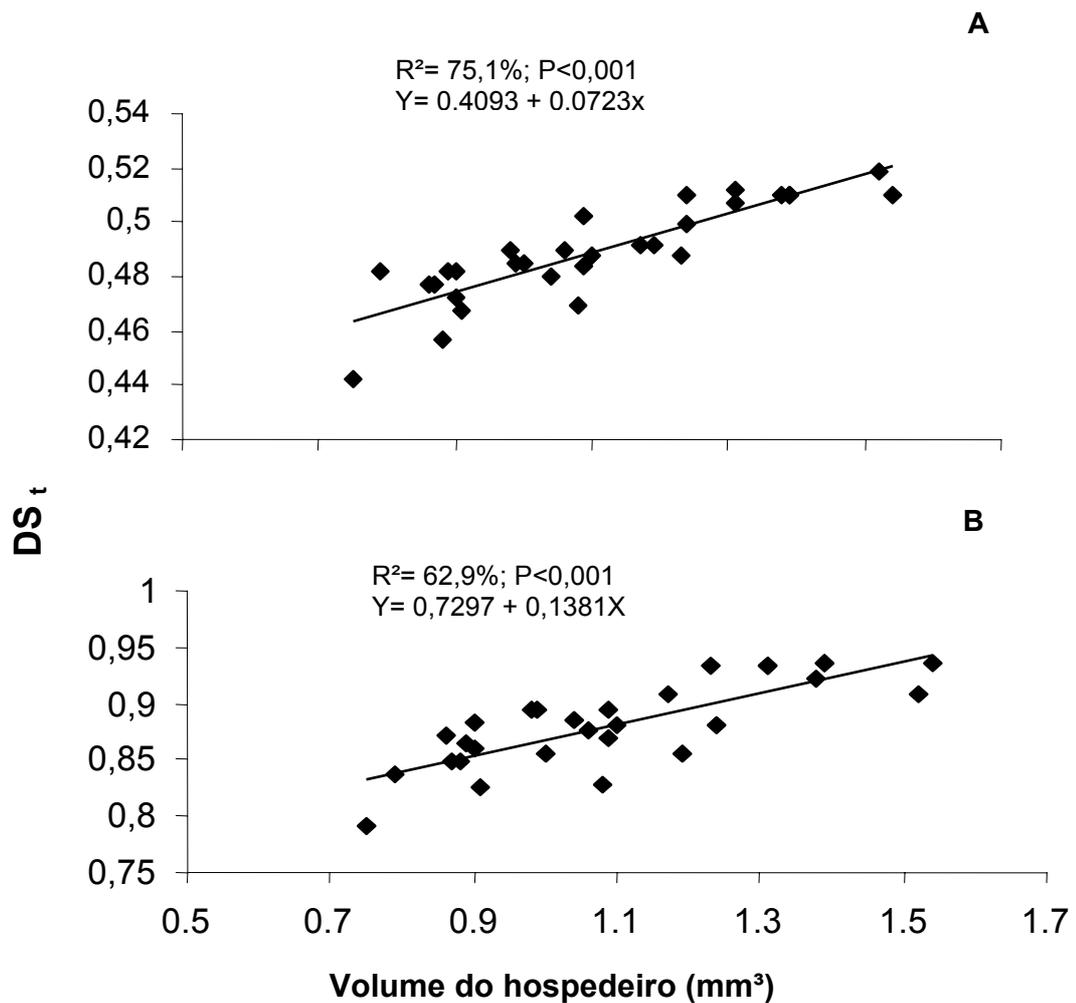
No presente estudo, em relação ao dimorfismo sexual, evidenciou-se que o tamanho corporal da fêmea aumenta com o aumento do tamanho do macho, tanto quando se levou em conta as medidas em relação ao volume do ovo hospedeiro ( $F= 29,09$ ;  $R^2= 49,4\%$ ;  $P<0,001$  e  $F= 52,51$ ;  $R^2= 63,9\%$ ;  $P<0,001$ , respectivamente para a tíbia e para a cabeça) quanto em relação à idade ( $F= 29,01$ ;  $R^2= 38,2\%$ ;  $P< 0,001$  e  $F= 74,4$ ;  $R^2= 61,3\%$ ;  $P< 0,001$ ,

respectivamente para tíbia e para a cabeça). Os interceptos foram diferentes de zero, tanto em relação ao volume como à idade, conforme as equações das retas:  $Y = 0,2324 + 0,5247x$  e  $0,0961 + 0,8999x$  (respectivamente para tíbia e para a cabeça em relação ao volume do ovo hospedeiro) e  $Y = 0,2585 + 0,4578x$  e  $0,3444 + 0,6396x$  (respectivamente para a tíbia e para cabeça em relação à idade do hospedeiro) sugerindo, portanto, uma relação alométrica entre os sexos e dependente do tamanho.

O dimorfismo sexual estimado para *G. gallardoi* diminuiu gradativamente com o aumento da idade do hospedeiro ( $F = 50,97$ ;  $R^2 = 52,0\%$ ;  $P < 0,001$  e  $F = 68,5$ ;  $R^2 = 59,3\%$ ;  $P < 0,001$ , respectivamente para a tíbia e para a cabeça) (Figuras 4.3A e 4.3B). Já em relação ao volume, este aumentou com o tamanho dos ovos hospedeiros ( $F = 84,43$ ;  $R^2 = 75,1$ ;  $P < 0,001$  e  $F = 47,52$ ;  $R^2 = 62,9$ ;  $P < 0,001$ ), respectivamente, para tíbia e para a cabeça) (Figura 4.4 A e 4.4B). Os interceptos foram diferentes de zero, tanto em relação ao volume como à idade (ver equações nas figuras 4.3A e 4.3B; 4.4A e 4.4B), sugerindo também uma relação alométrica, onde as diferenças de tamanho entre machos e fêmeas de *G. gallardoi* dependem da qualidade dos ovos de *S. dentiventris*. Assim, os resultados indicaram em *G. gallardoi* um dimorfismo sexual dependente do tamanho, ou seja, quando os parasitóides têm um maior tamanho corporal (quando oriudos de ovos mais jovens ou maiores), as diferenças entre machos e fêmeas são mais evidentes.

Os resultados observados no tamanho corporal das fêmeas de *G. gallardoi* quando comparado com os dados estimados pelo modelo II não apresentaram diferença significativa em relação à idade do hospedeiro ( $t = 0,3114$ ;  $gl = 345$ ;  $P > 0,05$  e  $t = -0,1121$ ;  $gl = 392$ ;  $P > 0,05$ , respectivamente para





**FIGURA 4.4** Dimorfismo sexual estimado ( $DS_t$ ) de *Gryon gallardoi* (Hym.: Scelionidae) em relação ao volume ( $\text{mm}^3$ ) dos ovos de *Spartocera dentiventris* (Hem.: Coreidae): A- comprimento da tíbia; B- largura da cabeça.

Resultados semelhantes foram encontrados por Mackauer (1996) ao estudar a relação do tamanho de quatro espécies de himenópteros parasitóides, três de Braconidae e um de Aphidiidae, em vários estágios de desenvolvimento. Através do modelo II, este autor evidenciou uma relação dependente entre os machos e as fêmeas e uma diminuição no dimorfismo sexual com o avanço do desenvolvimento do hospedeiro, indicando que a

qualidade deste (estágio de desenvolvimento) direciona as diferenças de tamanho entre machos e fêmeas. Da mesma forma Teder & Tammaru (2005), ao estudarem o dimorfismo sexual em insetos de várias ordens, também verificaram uma dependência do tamanho da fêmea em relação ao macho nos parasitóides de Braconidae, Chalcididae e Megaspilidae, entre outros. Nestas famílias, as fêmeas das espécies estudadas pareceram responder mais à qualidade do hospedeiro que os machos.

O dimorfismo sexual dependente do tamanho é relatado para muitas espécies animais (La Barbera, 1989), entretanto, em himenópteros parasitóides, poucos trabalhos discutem a questão em termos de buscar explicações dos aspectos que envolvem esta dependência e do porquê ela ocorre. A maioria restringe-se apenas em explicar o motivo pelo qual os machos são menores que as fêmeas, o que é comum em espécies de parasitóides nas quais a razão sexual é desviada para fêmeas (Teder & Tamaru; 2005). Mackauer & Sequeira (1993) atribuem as diferenças de tamanho entre os sexos ao tempo de desenvolvimento, sendo os machos menores por emergirem antes. Já para Thompson (1993), as fêmeas são maiores porque suas larvas podem ser metabolicamente mais eficientes que as de machos. Mackauer (1996) e West et al. (1996) atribuíram o maior tamanho da fêmea a forte relação com a fecundidade, maior período de oviposição e maior habilidade de captura, fazendo com que o seu ganho energético seja superior ao do macho. Entre os indivíduos de uma mesma espécie, os machos maiores podem ser mais hábeis no vôo, mais agressivos ou mais capazes de desenvolver diferentes estratégias de procura por fêmeas (Godfray, 1994; Quicke, 1997).

Apesar de muitas hipóteses para explicar o maior tamanho da fêmea em himenópteros parasitóides, esta nem sempre é uma regra. Harvey & Strand (2003) evidenciaram em *Microplitis mediator* Haliday (Hym.: Braconidae), que se desenvolve em larvas de *Pseudoplusia includens* Walker (Lep.: Noctuidae), o tamanho do macho é maior e este se desenvolve mais rapidamente que a fêmea. Estes autores atribuem esta exceção a uma série de fatores, tais como: pressões seletivas que favoreceram o desenvolvimento maior no macho, redução do tamanho da fêmea para diminuir os riscos de predação e minimizar os custos com a reprodução. O presente estudo, em *G. gallardoi*, registrou que os machos são maiores que as fêmeas apenas no que diz respeito ao tamanho da tíbia. Entretanto, acredita-se que este resultado não demonstra que os machos são maiores que as fêmeas como um todo e sim que o tamanho da tíbia pode não ser o indicado para mensurar o tamanho corporal nesta espécie, sendo a largura da cabeça a medida mais adequada.

Os resultados demonstrados neste estudo evidenciam que o tamanho corporal dos adultos de *G. gallardoi* é dependente da qualidade dos ovos *S. dentiventris*, tanto em relação ao tamanho como a idade, os quais também influenciaram o dimorfismo sexual. Entretanto, diante da complexidade dos mecanismos que controlam o tamanho dos parasitóides por trás da qualidade, como aspectos ecológicos, fisiológicos e evolutivos, uma série de estudos se torna necessária para compreensão de o quanto tais mecanismos poderiam afetar, em diferentes circunstâncias, a história de vida de *G. gallardoi*.

## **CAPÍTULO V**

### **ESTÍMULOS UTILIZADOS POR *Gryon gallardoii* (BRÈTHES) (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) NOS PROCESSOS DE SELEÇÃO DE HOSPEDEIROS, OVOS DE *Spartocera dentiventris* (BERG) (HEMIPTERA: COREIDAE)**

#### **5.1 Introdução**

Tendo em vista o tamanho diminuto da maioria dos parasitóides, diante da complexidade estrutural do ambiente o qual habitam, encontrar o hospedeiro adequado torna-se um importante desafio. Para superar isto, no decorrer do processo evolutivo, os parasitóides desenvolveram mecanismos que os levam para os seus hospedeiros através de pistas ou sinais (Nufio & Papaj, 2001), que podem ser de natureza química ou física.

Os estímulos químicos ou infoquímicos podem surgir de várias fontes, tais como, do hábitat do hospedeiro, da atividade deste no seu hábitat ou o próprio hospedeiro. Já os estímulos físicos, percebidos através da visão, da audição e do tato, são provenientes do hospedeiro como tamanho, cor, textura, dureza, movimentos, sons, entre outros (associados ou não a estímulos químicos), podem ser importantes nos processos de localização, seleção e aceitação do hospedeiro (Vinson, 1998). As respostas aos diferentes

estímulos geraram uma grande diversidade de comportamentos (Harris & Foster (1995), importantes para a manutenção da diversidade natural das comunidades e para a regulação das populações de insetos (Godfray, 1994; Quicke, 1997).

Informações do hábitat do hospedeiro, como voláteis de plantas, parecem promover a agregação de fêmeas dos parasitóides na área onde este se encontra. Entretanto, os feromônios sexuais e outros infoquímicos provenientes do corpo do hospedeiro são mais utilizados, por fornecerem informações confiáveis da presença destes (Noldus & Lenteren, 1985). Após a localização do hospedeiro, o próximo passo é seu reconhecimento. Como os ovos liberam poucos voláteis, os parasitóides necessitam de outros sinais a curta distância ou de contato, sendo estes provenientes de substâncias depositadas sobre os ovos, ou em volta dos mesmos para fixá-los ao substrato, percebidos através do toque com as antenas ou tamborilamento (Vinson, 1998; Steidle & Loon, 2002). Os estímulos químicos permitem ao parasitóide, além do reconhecimento, avaliar a condição do seu hospedeiro evitando assim a oviposição nos já parasitados ou naqueles com idade tardia (Vinson, 1998).

A percepção de estímulos pelos parasitóides, além de fatores genéticos, está fortemente associada à experiência e ao aprendizado (Godfray & Waage, 1988; Baaren & Boivin, 1998). A experiência permite ao parasitóide focalizar o comportamento e as respostas naqueles estímulos que foram bem sucedidos, melhorando o desempenho, enquanto que a aprendizagem permite aos mesmos associarem os estímulos adquiridos aos inatos acarretando em mudanças de comportamento diante de uma experiência bem sucedida, sendo

isto essencial na estratégia de forrageamento dos parasitóides no ambiente, garantindo o sucesso no desenvolvimento (Godfray, 1994).

*Gryon gallardoi* (Brèthes) (Hym.: Scelionidae) é um parasitóide de ovos associado ao percevejo-cinzeiro-do-fumo, *Spartocera dentiventris* (Berg) (Hemiptera: Coreidae), o qual é referido como praga na cultura do fumo (Santos et al. 2001). Através do tamborilamento com as antenas, as fêmeas são capazes de reconhecer ovos previamente parasitados por ela mesma, evitando parcialmente o auto-parasitismo (ver capítulo II) e discriminarem a idade do seu hospedeiro, exibindo preferência por ovipositar nos mais jovens, o que acarreta em um maior percentual de adultos emergidos (ver capítulo III), com maior tamanho corporal (ver capítulo IV). Os mecanismos envolvidos no comportamento de seleção de hospedeiros e o tipo de estímulos percebidos pelas fêmeas de *G. gallardoi* são, entretanto, desconhecidos. Assim, o objetivo deste trabalho foi, através de cinco experimentos, verificar os estímulos que provocam o arrestamento das fêmeas em direção ao hospedeiro e atuam no reconhecimento e na discriminação dos ovos de *S. dentiventris* através do contato. O primeiro experimento objetivou investigar a resposta das fêmeas de *G. gallardoi*, experientes e não experientes, aos voláteis emitidos por *N. tabacum* e pelos ovos de *S. dentiventris*; o segundo visou avaliar o efeito dos extratos de ovos de *S. dentiventris* de diferentes idades na aceitação por fêmeas de *G. gallardoi*; o terceiro teve como objetivo verificar se o reconhecimento de ovos parasitados ocorre através de substâncias químicas deixadas no córion pela marcação; o quarto investigou se os estímulos físicos, como tamanho e cor, interferem nas respostas das fêmeas de *G. gallardoi* e o quinto verificou, através de análise cromatográfica, possíveis diferenças quanto

as substâncias químicas presentes no córion dos hospedeiros de diferentes idades e parasitados.

## **5.2 Material e métodos**

### **5.2.1 Criação de insetos e preparo de extratos**

Os insetos utilizados eram provenientes de uma lavoura experimental de fumo (*Nicotiana tabacum* Linnaeus), onde uma criação de *S. dentiventris* foi iniciada a partir de adultos da geração colonizante. No momento em que foram registradas posturas nas plantas de fumo, algumas fêmeas foram confinadas, individualmente, em gaiolas com o objetivo de obter-se grupos de ovos de idade conhecida. As demais fêmeas foram mantidas soltas na área garantindo que algumas posturas fossem parasitadas, as quais foram levadas para o laboratório para dar início a uma criação de *G. gallardoi*. As posturas parasitadas foram mantidas em gaiolas plásticas transparentes em câmara climatizada ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$  e 12 horas de fotoperíodo) até a emergência dos adultos. Nas mesmas condições e alimentados com solução de mel a 10% foram mantidos os adultos dos parasitóides utilizados nos experimentos.

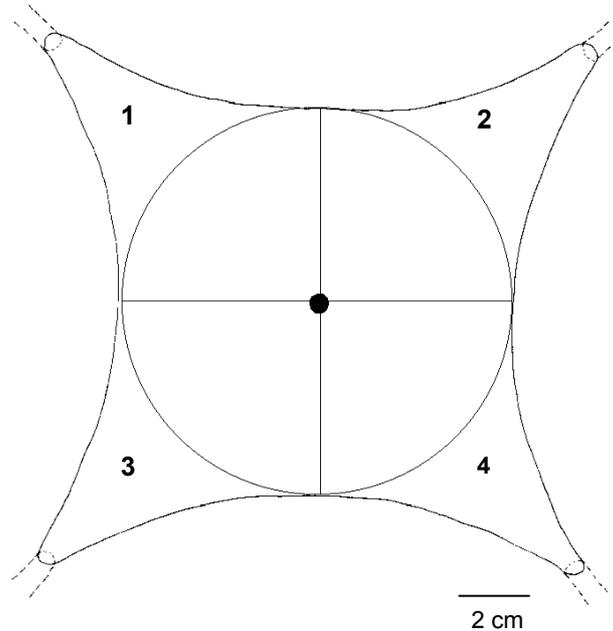
Os bioensaios foram realizados com ovos de *S. dentiventris*, previamente lavados e com extratos de ovos de diferentes idades do mesmo. Para a lavagem, utilizou-se 100 ovos de *S. dentiventris*, entre um e três dias de idade, deixados em 200 $\mu\text{l}$  de hexano por uma hora, para a liberação dos componentes químicos presentes no córion. Este procedimento foi repetido três vezes, sendo os ovos utilizados depois da total evaporação do solvente, conforme descrito por Faria (2001). Para a obtenção dos extratos utilizou-se 100 ovos, de cada uma das idades 1, 3, 5, 7, 8 e 12 dias, mantidos em 100  $\mu\text{l}$

de hexano por uma hora, de acordo com o método proposto por Conti et al. (2003). O mesmo procedimento foi feito para a obtenção do extrato de ovos parasitados, onde foram utilizados ovos de um a três dias de idade recém-marcados pelas fêmeas. Todos os extratos foram mantidos a -20°C.

### 5.2.2 Experimento 1

Foram utilizadas dez fêmeas de *G. gallardoi* em cada uma das seguintes condições: emergidas na presença do hospedeiro, acasaladas e expostas a grupos de 12 ovos para que adquirissem experiência em oviposição (experientes) e emergidas sem a presença do hospedeiro, não acasaladas e não expostas a grupos de ovos (inexperientes). Para as avaliações utilizou-se um olfatômetro de quatro braços (Syntech®), no qual foram testadas, simultaneamente, diferentes fontes de odor: 100 ovos de *S. dentiventris*, de um a três dias de idade, não lavados (T1), 100 ovos lavados (T2), pedaços de folhas de fumo (1,41g) (T3) e dez grupos de 12 ovos, de um a três dias de idade, não lavados, sobre folha de fumo (T4). Todos os tratamentos foram colocados sobre um disco de papel filtro umedecido com água destilada. As fontes de odor foram conectadas, simultaneamente, aos braços do olfatômetro, cujos fluxômetros foram calibrados para 5,0 L/h. No centro da arena do olfatômetro foi liberada uma fêmea do parasitóide, a qual foi observada por 15 minutos, sendo a resposta aos estímulos determinadas pelo tempo de permanência em cada um dos campos de odor (Figura 5.1) registrados com auxílio de um gravador e um cronômetro. Foram feitas dez repetições para cada condição de fêmea (experiente e não-experiente) sendo que, a cada uma, a ordem das fontes de odor era modificada e a arena limpa com hexano para,

respectivamente, eliminar o efeito da posição sobre a escolha das fêmeas e os possíveis traços de feromônios deixados pelas mesmas.



**FIGURA 5.1** Esquema da arena do olfatômetro de quatro braços utilizado para avaliar a resposta de fêmeas de *Gryon gallardoii* (Hym.: Scelionidae) a diferentes fontes de odor (os números indicam os campos de odor).

### 5.2.3 Experimento 2

Numa primeira etapa testou-se extratos de ovos de *S. dentiventris* de idades extremas, 1 e 12 dias, utilizando-se três grupos de 12 ovos, lavados com hexano, sobre folha de fumo, dispostos, simultaneamente, em uma arena (9 cm de diâmetro por 10 cm de altura). Para cada grupo de ovos utilizou-se os seguintes tratamentos: grupo 1 (ovos de um dia pincelados com extrato de ovos de 12 dias), grupo 2 (ovos de 12 dias pincelados com extratos de ovos de um dia) e controle (ovos de um dia sem extrato). Da mesma forma, na segunda etapa, testou-se extrato de ovos de idades intermediárias, cinco e oito dias,

cujos grupos e tratamentos foram: grupo 3 (ovos de cinco dias com extrato de ovos de oito dias), grupo 4 (ovos de oito dias com extrato de ovos de cinco dias) e controle (ovos de um dia sem extrato). Em ambas as etapas, os grupos de ovos foram expostos para uma fêmea do parasitóide, de dois a cinco dias de idade, acasalada e com experiência em oviposição, por 30 minutos, registrando-se o percentual de ovos aceitos (inserção de ovipositor seguida de marcação). Para cada etapa foram feitas dez repetições sendo que, para cada uma, a disposição dos grupos de ovos no fundo da arena era sorteada.

#### **5.2.4 Experimento 3**

Foram expostos, para uma fêmea experiente, quatro grupos de quatro ovos, de um a três dias de idade, dispostos linearmente em uma placa de Petri sobre um pedaço de folha de fumo, nas seguintes condições: parasitados (P), parasitados lavados com hexano (PL), não parasitados (NP) e não parasitados pincelados com extrato de ovos parasitados (NPE). Foi registrado, por 30 minutos o percentual de ovos aceitos (inserção de ovipositor seguida de marcação) pelas fêmeas. Foram feitas dez repetições sendo, a cada uma, a ordem dos grupos de ovos sorteada.

#### **5.2.5 Experimento 4**

Neste experimento adaptou-se a metodologia empregada por Takasu et al. (2002), utilizando-se cilindros de acrílico (miçangas), lavados com hexano três vezes e, após, impregnados com extrato de ovos de um dia de idade. Este último procedimento foi feito para induzir a atratividade das fêmeas aos cilindros, a qual havia sido verificada previamente em um teste-piloto. Para avaliar o efeito do tamanho do hospedeiro utilizou-se cilindros transparentes de dois tamanhos: 1,8 mm de diâmetro x 1,6 mm de altura (grandes) e 1,4 mm de

diâmetro x 0,8 mm de altura (pequenos). Grupos de 12 cilindros de cada tamanho foram expostos para uma fêmea de *G. gallardoi*, simultaneamente, sobre um pedaço de folha de fumo em uma placa de Petri. A resposta em relação a cor foi avaliada utilizando-se cilindros translúcidos, de 1,8 mm de diâmetro x 0,8 mm de altura, de coloração branca e marrom-avermelhada (semelhantes a ovos de *S. dentiventris* de um e oito dias de idade, respectivamente), oferecidos do mesmo modo descrito para a avaliação do tamanho. Foram feitas dez repetições para cada situação, registrando-se o tempo de tamborilamento sobre os grupos de cilindros.

#### **5.2.6 Experimento 5**

Foi feita análise cromatográfica de extratos de ovos um, três, cinco e 12 dias de idade e de ovos parasitados. Os extratos foram injetados (1 $\mu$ l de cada extrato) em um cromatógrafo gasoso (CG) acoplado a um espectômetro de massas (Shimadzu QP5050A) em uma coluna DB-5 (30m x 0,25mm x 0,25 $\mu$ m), utilizando-se hélio como gás carreador, com uma temperatura programada para 50°C (15°C/min) a 280°C (20 min). Da mesma forma foi injetado 1 $\mu$ l de hexano puro como controle. O número de substâncias e o tempo de retenção (Tr) entre os diferentes extratos foram comparados.

#### **5.2.7 Análise estatística**

Tendo em vista que os dados, em todos os experimentos, não apresentaram normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e homocedasticidade (Bartlett), utilizou-se testes não paramétricos. No experimento 1, os tempos de permanência das fêmeas, em cada campo de odor, foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis com comparação das médias pelo teste de Dunn ( $\alpha= 0,05$ ), sendo as diferentes condições de fêmeas (experientes *versus* não experientes)

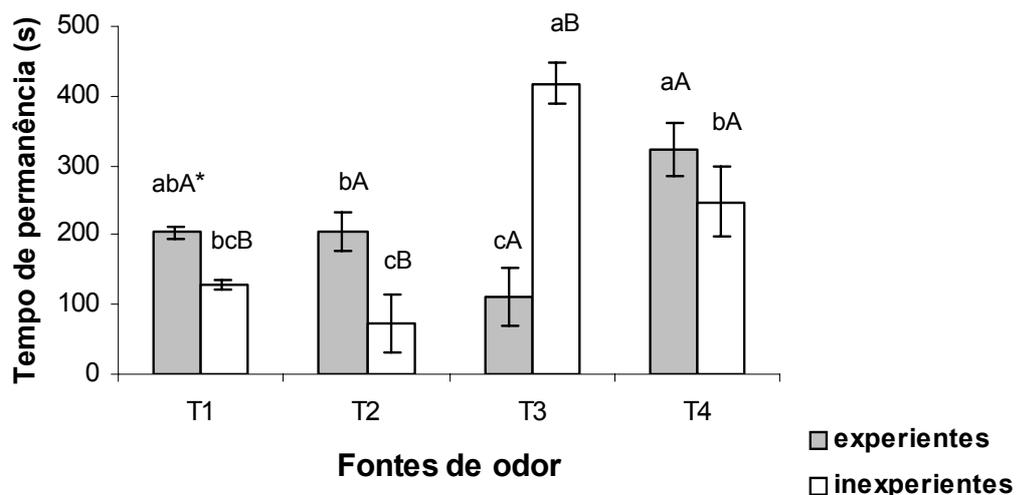
comparadas, dentro de cada tratamento, pelo teste U de Mann-Whitney. O teste de Kruskal-Wallis também foi utilizado nos experimentos 2, 3 e 4.

### 5.3 Resultados e discussão

No experimento 1, verificou-se arrestamento a todos os tratamentos utilizados como fontes de odor nos braços do olfatômetro. Entretanto, tanto as fêmeas experientes como as não experientes, responderam de maneira diferente aos tratamentos ( $H= 15,55$ ;  $gl= 3$ ;  $P<0,01$  e  $H= 21,15$ ;  $gl= 3$ ;  $P<0,001$ , respectivamente). As fêmeas experientes exibiram um menor tempo de permanência junto ao campo que continha folhas de fumo (T3) ( $110,9 \pm 28,38s$ ) quando comparados com os tempos de permanência nos campos correspondentes a ovos não lavados (T1) ( $203,3 \pm 26,82s$ ), ovos lavados (T2) ( $204,7 \pm 40,40s$ ) e folhas de fumo com ovos (T4) ( $324,2 \pm 41,52s$ ) (Figura 5.2). Já as fêmeas inexperientes permaneceram mais tempo junto aos campos correspondentes a T3 ( $417,0 \pm 51,50s$ ) e T4 ( $247,9 \pm 56,82s$ ), em relação a T1 e T2 ( $128,7 \pm 42,40s$  e  $73,8 \pm 29,72s$ , respectivamente) (Figura 5.2).

Ao comparar as respostas entre as fêmeas experientes e inexperientes, dentro de cada tratamento, verificou-se que as inexperientes permaneceram mais tempo no campo que continha folhas de fumo (T3) ( $U= 4,0$ ;  $P<0,01$ ), enquanto que as experientes permaneceram mais junto aos estímulos provenientes dos ovos (T1 e T2) ( $U= 1,97$ ;  $P<0,05$  e  $U= 2,88$ ;  $P<0,01$ , respectivamente) (Figura 5.2). Tanto as fêmeas experientes quanto as não experientes responderam, da mesma forma, ao tratamento T4 ( $U= 1,26$ ,  $P>0,05$ ) (Figura 5.2).

Os testes com o olfatômetro permitiram demonstrar que os voláteis emitidos pelas folhas de fumo parecem ter um importante papel no arrestamento das fêmeas de *G. gallardoi*, especialmente nas fêmeas inexperientes, cuja resposta foi maior diante de pedaços de folhas de fumo (T3) em relação aos demais tratamentos.



**FIGURA 5.2** Tempo médio (s) (barras indicam erro-padrão) de permanência de fêmeas de *Gryon gallardoi* (Hym.: Scelionidae) em diferentes fontes de odor (T1= ovos não lavados; T2= ovos lavados; T3= folha de fumo e T4- folha de fumo com ovos).

\* Barras seguidas de mesma letra minúscula, entre os tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Dunn ( $\alpha=0,05$ ) e de mesma letra maiúscula, dentro do tratamento, não diferem entre si pelo teste U de Mann-Whitney ( $\alpha=0,05$ ).

Resultados semelhantes foram encontrados por Faria (2001), demonstrando que fêmeas inexperientes do scelionídeo, *Telenomus remus* Nixon, responderam mais às plantas de milho, principal hospedeira de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lep.: Noctuidae), do que fêmeas as experientes.

A maior atratividade das fêmeas inexperientes aos estímulos de plantas, verificadas neste trabalho e no de Faria (2001), pode estar associada a

um comportamento inato, visto que fatores genéticos determinam o primeiro estímulo o qual estas irão responder (Vet et al., 1995). Quando fêmeas dos parasitóides entram em contato com seus hospedeiros, passam a associar o novo estímulo ao inato e podem modificar o seu comportamento. Tal processo é referido como aprendizado associativo (Godfray & Waage, 1988; Bernays, 1995; Baaren & Boivin, 1998; Vinson, 1998) onde o comportamento individual muda gradativamente com uma experiência continuada (Papaj & Prokopy, 1989), podendo explicar o fato das fêmeas experientes de *G. gallardoi*, responderem mais facilmente aos estímulos oriundos dos ovos. Segundo Vinson (1998), a partir do momento em que a fêmea responde aos estímulos adquiridos e encontra o seu hospedeiro dentro do hábitat, esta desenvolve o que tem sido descrito como “motivação”, o que irá assegurar o seu sucesso na busca por outros hospedeiros, sendo extremamente importante para o forrageamento e, conseqüentemente, para o equilíbrio das populações naturais (Lewis & Takasu, 1990).

Segundo Vinson (1998), a utilização de compostos voláteis emitidos pelas plantas nas quais encontram-se seus hospedeiros é de extrema importância para as fêmeas dos parasitóides, especialmente para a localização do hábitat dos mesmos, promovendo a agregação destas dentro de uma dada área (Vinson, 1998). Entretanto, tais substâncias podem não ser confiáveis, por não fornecerem informações sobre a presença do hospedeiro (Vet & Dicke, 1992; Steidle & Loon, 2002).

De acordo com Vinson (1976), apesar da baixa confiabilidade, os voláteis de plantas podem intermediar o reconhecimento de outros estímulos pela fêmea do parasitóide. Trabalhos desenvolvidos por Meiners & Hilker (2000)

demonstraram que as fêmeas do parasitóide *Oomyzus gallerucae* Fonscolombe (Hym.: Eulophidae), associado a ovos de *Xanthogaleruca luteola* (Müller) (Col.: Chrysomelidae), são atraídas pela planta do hospedeiro danificada pela atividade de oviposição, mas somente quando os ovos estão presentes. Estes autores atribuem tal resposta aos cairômonios liberados pela substância adesiva, produzida nos ovidutos da fêmea e que prende os ovos ao substrato, combinadas com os sinomônios emitidos pela planta. Da mesma forma, Colazza et al. (2004) verificaram que folhas de feijão e ovos de *Nezara viridula* (Linnaeus) (Hem.: Pentatomidae) atraem parasitóides, mas apenas quando estes são colocados sobre a folha.

No presente trabalho verificou-se que as fêmeas de *G. gallardoi*, especialmente as experientes, foram atraídas pelos ovos, mesmo sem a presença da folha de fumo. Entretanto, de acordo com Canto-Silva (com. pess.), a folha de fumo colocada sob os ovos parece otimizar os processos de parasitismo, fazendo com que as fêmeas de *G. gallardoi* se interessem mais pelos ovos, sugerindo assim a importância da combinação de estímulos planta-hospedeiro para efetuar a postura.

O fato das fêmeas experientes de *G. gallardoi* serem atraídas também por ovos lavados com hexano sugere que estas são mais hábeis em associar outros estímulos presentes nos ovos, como substâncias atrativas que podem não ter sido removidas com as lavagens em hexano. Além de substâncias externas aderidas ao córion do ovo hospedeiro, as fêmeas dos parasitóides também podem utilizar o conteúdo interno do mesmo para reconhecer o hospedeiro e estimular a oviposição. Conti et al. (1996) verificaram que, ao aplicarem o conteúdo interno do ovo de *Lygus hesperus* Knight (Hem.: Miridae)

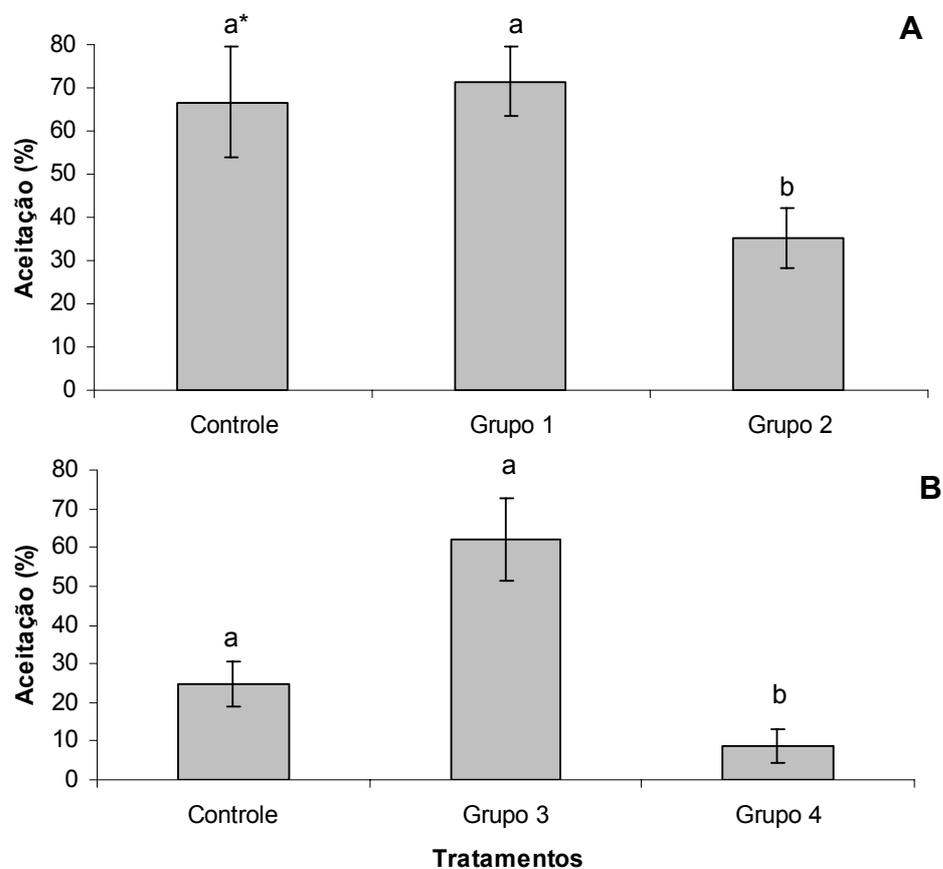
sobre papel filtro, fêmeas de *Anaphes iole* Girault (Hym.: Mymaridae) foram estimuladas a tamborilar e a inserir o ovipositor.

Hu et al. (1999) verificaram, em olfatômetro, resultados semelhantes quando ovos de *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Col.: Chrysomelidae), lavados em hexano, continuaram a atrair fêmeas de *Edovum puttleri* Grissel (Hym.: Eulophidae), atribuindo este fato à lavagem com o solvente, a qual pode não ter retirado totalmente as substâncias aderidas ao córion. Já Faria (2001) verificou que ovos de *S. frugiperda* lavados em hexano não desencadearam respostas nas fêmeas de *T. remus* e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner. De acordo com esta autora, a ausência de arrestamento pode indicar que os compostos químicos presentes no córion dos ovos, e que desencadeiam resposta nos parasitóides, são solúveis em hexano e, portanto, haviam sido retirados com as lavagens.

Os resultados obtidos no presente trabalho, através do olfatômetro, sugerem que as fêmeas *G. gallardoi* podem utilizar uma combinação de estímulos para localizar os ovos de *S. dentiventris* e modificar suas respostas de acordo com a sua experiência, sendo que o contato prévio com o hospedeiro pode induzir a aprendizagem, facilitando a associação com outros estímulos e, conseqüentemente, otimizar a atividade de busca.

Em relação à discriminação da idade do hospedeiro utilizando-se extratos de ovos (experimento 2), verificou-se, na primeira etapa, um maior percentual de aceitação no grupo controle e no grupo 1 (ovos de um dia com extrato de ovos de 12 dias) ( $66,7 \pm 2,71$  e  $71,7 \pm 8,01\%$ , respectivamente), quando comparados ao grupo 2 (ovos de 12 dias com extrato de ovos de um dia) ( $35,3 \pm 7,02\%$ ) ( $H=7,22; P<0,05$ ) (Figura 5.3A). Na segunda etapa houve

maior aceitação dos ovos do grupo controle e do grupo 3 (ovos de cinco dias com extrato de ovos de oito dias) ( $24,7 \pm 0,59$  e  $62,1 \pm 10,79\%$ , respectivamente), em relação ao grupo 4 (ovos de oito dias com extrato de ovos de cinco dias) ( $8,7 \pm 0,43\%$ ) ( $H= 7,01$ ;  $P<0,05$ ) (Figura 5.3B). Os resultados indicaram que as fêmeas exibiram preferência por ovos mais jovens, independente do extrato aplicado.



**FIGURA 5.3** Percentual médio de aceitação (barras indicam erro-padrão) de ovos de *Spartocera dentiventris* (Hem.: Coreidae) com diferentes tratamentos por fêmeas de *Gryon gallardoi* (Hym.: Scelionidae): A- controle (ovos de um dia de idade lavados com hexano); grupo 1 (um dia de idade com extrato de ovos de 12 dias); grupo 2 (12 dias de idade com extrato de ovos de um dia). B- controle (um dia de idade lavados com hexano); grupo 3 (cinco dias de idade com extrato de ovos de 8 dias); grupo 4 (oito dias de idade com extrato de ovos de cinco dias).

\* Barras seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Dunn ( $\alpha=0,05$ ).

A preferência por ovos mais jovens é relatada para muitas espécies de Scelionidae (Morril & Almazon, 1990; Romeis et al., 2000; Sousa & Spence, 2001; Hirose et al., 2003), inclusive em *G. gallardoi* (ver cap. II), entretanto, pouco se sabe sobre os estímulos utilizados pelos parasitóides de ovos que os possibilita discriminar a idade dos seus hospedeiros. Estudos desenvolvidos por Strand & Vinson (1983b) demonstraram que fêmeas de *Telenomus heliothidis* Ashmead (Hym.: Scelionidae) discriminam a idade dos ovos de *Heliothis virescens* Fabricius (Lep.: Noctuidae) através da curvatura dos mesmos, os quais tornam-se menos esféricos com o aumento da idade. Alguns autores, como Bin et al. (1993) e Vinson (1998), especularam que a discriminação da idade pode estar associada, principalmente, a mudanças bioquímicas no ovo, onde substâncias pouco voláteis presentes no córion e percebidas pelo contato direto com as antenas (tamborilamento), diminuem suas concentrações ao longo do tempo, sendo isto percebido pelas fêmeas e associado às condições do hospedeiro, porém, esta hipótese ainda não foi de confirmada em outros trabalhos.

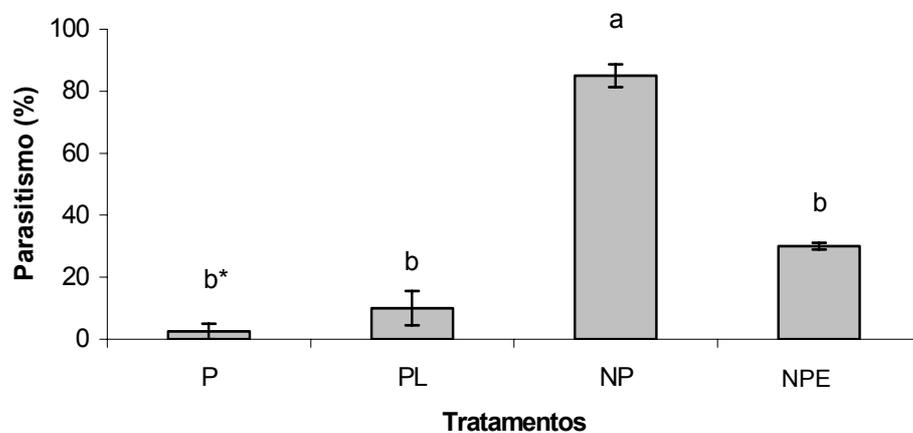
No presente estudo, as fêmeas de *G. gallardoi* não foram influenciadas pelos extratos dos ovos aplicados, parasitando sempre os mais jovens. A explicação para este fato pode ser atribuída à lavagem dos ovos, a qual não eliminou totalmente as substâncias presentes no córion. Estudos desenvolvidos por Cave & Gaylor (1987) demonstraram que as substâncias presentes nos ovos de algumas espécies de *Geocoris* são de natureza protéica, não sendo eliminadas com hexano. Estes autores atribuíram isto ao fato das fêmeas do scelionídeo *T. reynoldsi* Gordh & Coker rejeitarem ovos lavados com solventes enzimáticos, como proteases.

Além das substâncias aderidas ao ovo, informações do conteúdo interno do hospedeiro também podem ser percebidas pelas fêmeas, já que o mesmo é bastante modificado com o aumento da idade (Izumi et al., 1994), entretanto, não existem trabalhos que venham a confirmar a associação do conteúdo interno com a idade do hospedeiro. Os resultados obtidos no presente trabalho não confirmaram, com a metodologia utilizada, a discriminação da idade, através estímulos químicos presentes no córion, pelas fêmeas de *G. gallardoi*, fazendo-se necessários outros estudos empregando-se outros tipos de extratos, incluindo àqueles que possibilitem também a extração do conteúdo interno do ovo, como acetona que, por ser solúvel em água, penetra no mesmo (Conti et al., 2003). Outros critérios utilizados pelas fêmeas neste processo, como superfície do hospedeiro e a ressonância como indicativo da idade também não devem ser descartados.

Na avaliação do reconhecimento de ovos parasitados (experimento 3), os resultados evidenciaram uma diferença em relação à aceitação das fêmeas de *G. gallardoi* entre os ovos de *S. dentiventris* com os diferentes tratamentos ( $H= 21,36$ ;  $gl=3$ ;  $P<0,01$ ), sendo que os não parasitados (NP) foram mais aceitos pelas fêmeas ( $85,0 \pm 3,67\%$  (Figura 5.4). Os ovos parasitados (P), parasitados e lavados (PL) e não parasitados pincelados com extrato de ovos parasitados (NPE) foram menos aceitos (Figura 5.4).

As marcações feitas pelas fêmeas de parasitóides de ovos geralmente são externas e envolvem substâncias químicas pouco voláteis percebidas através do contato com as antenas (Anderson, 2002), evitando o auto-parasitismo e, em algumas vezes, o superparasitismo coespecífico (Alphen & Visser, 1990). Tais marcações geralmente envolvem feromônios

secretados pela glândula de Dufour (Rosi et al., 2001). Entretanto, pouco se sabe a respeito da composição de tais substâncias. Em algumas espécies, as substâncias de marcação são solúveis em água como relatado para os scelionídeos *Telenomus sphingis* (Ashmead) (Rabb & Bradley, 1970) e *Telenomus euschisti* (Ashmead) (Okuda & Yeargan, 1988). Em ambos os trabalhos, ovos parasitados lavados com água destilada foram aceitos pelos parasitóides.



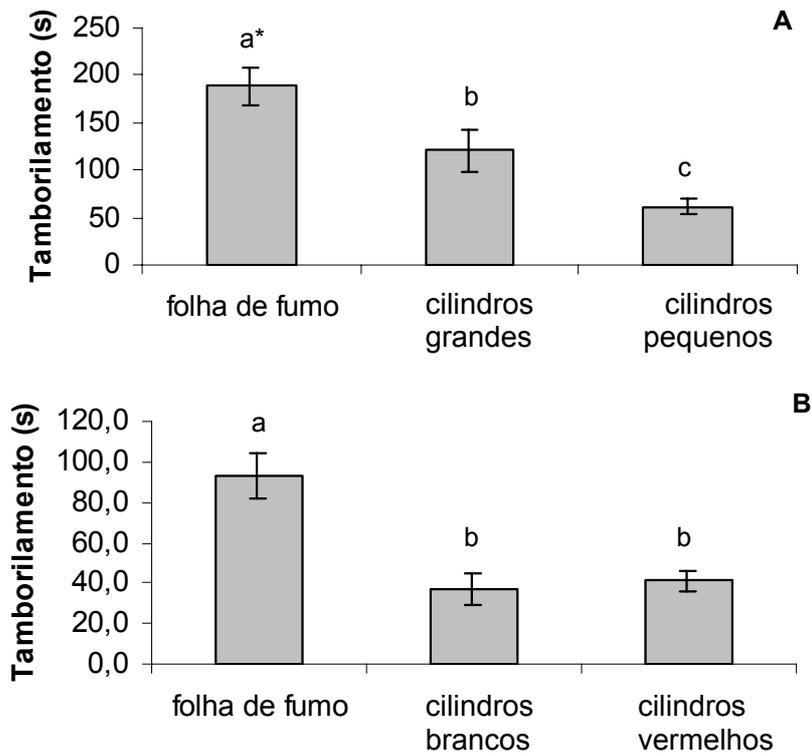
**FIGURA 5.4** Percentual médio de parasitismo (barras indicam erro-padrão) de fêmeas de *Gryon gallardoi* (Hym.: Scelionidae) em grupos de ovos de *Spartocera dentiventris* (Hem.: Coreidae) com diferentes tratamentos: P= parasitados; PL= parasitados e lavados; NP= não parasitados; NPE= não parasitados e pincelados com extrato de parasitado.

\* Barras seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Dunn ( $\alpha=0,05$ ).

A rejeição das fêmeas de *G. gallardoi* tanto a ovos parasitados, porém lavados com hexano, como a ovos não parasitados pincelados com extrato de parasitados, sugere que o solvente utilizado pode ter eliminado apenas uma parte das substâncias de marcação.

Em relação à resposta das fêmeas de *G. gallardoi* aos cilindros de acrílico, de diferentes tamanhos (experimento 4), verificou-se uma diferença no

tempo de tamborilamento ( $H=22,34$ ;  $gl= 2$ ;  $P<0.001$ ) (Figura 5.5A). As fêmeas permaneceram mais tempo examinando a folha de fumo ( $188,2 \pm 19,20s$ ) em relação aos cilindros, sendo os grandes examinados por um maior tempo que os pequenos ( $120,3 \pm 22,37s$  e  $61,66 \pm 7,37s$ , respectivamente) (Figura 5.5A). Da mesma forma, as fêmeas permaneceram mais tempo sobre a folha de fumo, quando foram expostas a cilindros de cores diferentes ( $H= 15,35$ ;  $gl=2$ ;  $P<0,001$ ), porém não houve diferença no tempo de tamborilamento entre os cilindros brancos e vermelhos ( $37,0 \pm 8,15s$  e  $41,0 \pm 4,66s$ , respectivamente).



**FIGURA 5.5** Tempo médio de tamborilamento (s) (barras indicam erro-padrão) de fêmeas de *Gryon gallardoi* (Hym.: Scelionidae) sobre cilindros de acrílico colocados sobre folha de fumo: A- grandes (1,8 mm de diâmetro x 1,6 mm de altura) e pequenos (1,4 mm de diâmetro x 0,8 mm de altura). B- brancos e vermelhos colocados em folha de fumo.

\* Barras seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Dunn ( $\alpha=0,05$ ).

As avaliações da superfície, do volume e da textura são critérios importantes de reconhecimento e aceitação de hospedeiros em algumas espécies de parasitóides de ovos (Salt, 1935; Strand & Vinson, 1983). Resultados semelhantes ao do presente experimento foram obtidos por Strand & Vinson (1983), os quais verificaram que fêmeas de *T. heliothidis* passam mais tempo examinando esferas de vidros maiores. Entretanto, estes autores constataram que as fêmeas responderam a ovos de *H. virescens* pintados de vermelho em relação as cores mais escuras como azul. Já Borges et al. (1999) evidenciaram que as fêmeas do scelionídeo *Telenomus podisi* Ashmead, assim como as fêmeas de *G. gallardoi* do presente trabalho, responderam igualmente a cilindros de vidro coloridos e transparentes.

Os resultados encontrados sugerem que, além da folha de fumo, hospedeiros grandes podem atrair as fêmeas de *G. gallardoi*, sendo que a cor do mesmo parece não exercer um papel importante no reconhecimento e/ou aceitação. O fato das fêmeas de *G. gallardoi* terem permanecido pouco tempo sobre os cilindros de acrílico pode ser atribuído ao extrato de ovo que foi pouco efetivo ou ao material em si (acrílico), já que a maioria dos trabalhos utiliza esferas de vidro (Strand & Vinson, 1983a, 1983b e 1983c; Conti et al. 1996; Conti et al. 2003, entre outros).

De acordo com a análise cromatográfica (experimento 5), o hexano extraiu algumas substâncias presentes nos ovos (identificadas com um número) (Tabela 5.1). Os extratos de ovos de um dia de idade apresentaram três substâncias não encontradas nos extratos de ovos de 5 e 12 dias (substâncias 1, 2 e 4) sendo a 1 e a 2, consideradas as mais voláteis por terem um menor tempo de retenção ( $T_r = 5,2$  e  $10,2$  min, respectivamente)

(Tabela 5.1). Da mesma forma, o extrato de ovos de 12 dias de idade apresentou três substâncias diferentes (substâncias 5, 7 e 9), porém, de menor volatilidade ( $T_r = 15,2; 16,9$  e  $22,2$  min, respectivamente) não encontradas nos demais extratos (Tabela 5.1). Os ovos parasitados não evidenciaram substâncias diferentes dos demais extratos.

As substâncias encontradas nos diferentes extratos não foram identificadas.

Os resultados encontrados com a análise cromatográfica, embora preliminares, indicaram a presença de algumas substâncias no córion dos ovos de *S. dentiventris*, as quais, provavelmente, atuam nos processos de seleção hospedeira, podendo explicar alguns resultados encontrados nos experimentos constantes neste trabalho.

**Tabela 5.1-** Substâncias (indicadas por números romanos) encontradas nos extratos de ovos de *Spartocera dentiventris* (Hemiptera: Coreidae) de 1, 5 e 12 dias de idade de acordo com o tempo de retenção ( $T_r$ ) na coluna do cromatógrafo.

Extratos	Substâncias / Tempo de retenção (min)									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Hexano	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ovos de um dia	5,2	10,2	14,6	14,9	-	15,9	-	19,4	-	26,4
Ovos de cinco dias	-	-	14,6	-	-	15,9	-	19,4	-	26,4
Ovos de 12 dias	-	-	14,6	-	15,2	15,9	16,9	19,4	22,2	26,4

A presença de substâncias voláteis no extrato de ovos de um dia de idade pode direcionar os parasitóides ao hospedeiro, já que estas atuam a longas distâncias (Vinson, 1991), corroborando os resultados encontrados no teste com o olfatômetro (experimento 1), visto que os ovos utilizados eram de

um a três dias de idade. Entretanto, outras substâncias que não foram retiradas com as lavagens também podem servir de estímulos, visto que as fêmeas também foram atraídas por ovos lavados.

De acordo com Conti et al. (2003), o solvente hexano não remove o conteúdo interno do ovo por não ser solúvel em água, não sendo efetivo também na remoção de substâncias protéicas (Cave & Gaylor, 1987). Diante disto, sugere-se que algumas substâncias ainda tenham permanecido nos ovos de *S. dentiventris*, desencadeando respostas nas fêmeas de *G. gallardoi*.

As substâncias encontradas no extrato de ovos de um dia também podem servir para discriminar a idade do hospedeiro através do contato, assim como as substâncias encontradas somente no extrato de ovos de 12 dias (Tabela 5.1). Porém, de acordo com os resultados encontrados no experimento 2, no qual utilizava-se extratos de ovos de um e 12 dias aplicados sobre ovos previamente lavados, sugere-se que as substâncias parecem não ser levadas em conta pelas fêmeas, suportando a idéia de que as mesmas, provavelmente, podem utilizar um estímulo físico e/ou outros estímulos químicos combinados que não foram removidos com os extratos.

A ausência de substâncias químicas diferentes no extrato de ovos parasitados pode ser atribuída à baixa volatilidade das substância de marcação (Vinson, 1998; Anderson, 2002) e/ou a concentração do extrato utilizado, não sendo detectada pelo cromatógrafo. Porém, de acordo com os resultados encontrados no experimento 3, algumas substâncias presentes no extrato desencadearam uma resposta nas fêmeas, que evitaram os ovos tratados com o mesmo.

O presente trabalho, através dos experimentos realizados, demonstrou que determinar os estímulos utilizados pelas fêmeas de *G. gallardoi* para discriminar e reconhecer o seu hospedeiro pode ser uma difícil tarefa, visto que os parasitóides, especialmente os de ovos, podem responder a uma mistura de estímulos bastante complexa. Para tentar isolar estes estímulos, uma série de estudos comportamentais, morfo-fisiológicos, ecológicos e bioquímicos, tanto do hospedeiro quanto do parasitóide devem ser feitos em conjunto, para assim buscar o entendimento desta complexa interação, importante e necessária em programas de controle biológico.

## CAPÍTULO VI

### Morfologia e distribuição das sensilas antenais da fêmea de *Gryon gallardoi* (Brèthes) (Hymenoptera: Scelionidae)

#### 6.1. Introdução

*Gryon gallardoi* (Brèthes) é um importante parasitóide de ovos, de hábito solitário, associado ao percevejo-cinzentado-fumo, *Spartocera dentiventris* (Berg) no Rio Grande do Sul, Brasil (Santos et al., 2001) e a *Leptoglossus zotanus* (Dallas) no estado de São Paulo (Souza & Amaral-Filho, 1999; Solis et al., 2001). Durante a atividade de oviposição, as fêmeas de *G. gallardoi* tocam a superfície do ovo hospedeiro com as antenas, comportamento conhecido como tamborilamento. Tal comportamento parece ser determinante nos processos de escolha do mesmo (Solis et al. 2001; Wiedenmann et al., 2003), sendo também registrado para outros Scelionidae (Strand & Vinson 1983a; Navasero & Oatman, 1999; Colazza et al., 1996; Higuchi & Suzuki, 1996; Weber et al., 1996; Field & Keller, 1999; Romeis et al., 2000; Dasilao & Arakawa, 2004). Estudos realizados em laboratório demonstraram que as fêmeas de *G. gallardoi* exibem uma preferência por ovos de *S. dentiventris* mais jovens, entre um e três dias de idade, e evitam o superparasitismo (ver capítulo III), discriminando o mesmo através do

tamborilamento (ver capítulo II). Assim, através do tamborilamento, as fêmeas poderão obter estímulos do hospedeiro e associá-los à sua adequação (Bin et al., 1993). A discriminação da idade e a rejeição a hospedeiros já parasitados têm sido registradas para outros Scelionidae (Strand & Vinson 1983; Morril & Almazon, 1990; Weber et al., 1996; Field & Keller, 1999; Romeis et al., 2000; Sousa & Spence, 2001, Hirose et al., 2003).

Os mecanismos envolvidos no comportamento de tamborilamento ainda não são claros para muitas espécies de parasitóides de ovos. Entretanto, algumas evidências podem ser inferidas através de estudos descritivos das sensilas presentes nas antenas. Tais estruturas podem exibir diferentes modalidades sensoriais como tato (mecanosensilas), olfato e gustação (quimiosensilas) (Schneider, 1964; Zacharuk, 1985), seja de forma isolada ou em conjunto. Por serem dotadas de receptores especializados, as sensilas antenais mediam as relações entre determinados estímulos podendo direcionar um comportamento individual (Cave & Gaylor, 1987), especialmente nos processos envolvidos na seleção de hospedeiros como localização do habitat, reconhecimento, discriminação e aceitação (Bin, 1981; Isidoro et al., 1996; Vinson, 1998; Isidoro et al., 2001).

Especialmente em Hymenoptera, as sensilas das antenas possuem variações morfológicas, além de exibirem vários padrões de distribuição, podendo também ser avaliadas em estudos taxonômicos entre as diferentes espécies (Norton & Vinson, 1974; Villa & Mineo, 1990a), além de determinar relações filogenéticas (Basibuyuk & Quicke, 1999).

Considerando-se tais variações morfológicas, as sensilas podem ser classificadas, em termos gerais, como multiporosas, uniporosas e aporosas

(Zacharuck, 1985). As sensilas dotadas de poros são geralmente associadas à quimiorrecepção (olfato e gustação). Os poros podem ser numerosos e distribuídos por toda a parede das mesmas (sensilas multiporosas) ou restrito apenas a porção terminal (sensila uniporosa) (Zacharuck, 1985). Em alguns casos, especialmente em Scelionidae, as sensilas porosas podem estar associadas a glândulas exócrinas produtoras de secreções, conhecidas como glândulas acessórias (Isidoro et al., 1996; Isidoro et al., 2001). As sensilas aporosas estão associadas às funções mecanorreceptoras, como tato, termo e higrorrecepção (McIver, 1985).

Tendo em vista a escassez de informações envolvendo as sensilas das antenas de grioníneos em geral, o presente estudo teve como objetivo descrever a morfologia externa e a distribuição de tais estruturas em fêmeas de *G. gallardoi* através da microscopia eletrônica de varredura (MEV), estabelecendo assim a base morfológica para o estudo dos processos de reconhecimento, discriminação e aceitação do hospedeiro, durante o comportamento de tamborilamento, já estudados previamente nesta espécie em laboratório (ver capítulos II e III).

## **6.2. Material e métodos**

As fêmeas de *G. gallardoi* foram obtidas de uma criação massal em ovos de *S. dentiventris* no Laboratório de Biologia, Ecologia e Controle Biológico de Insetos da Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil, mantida em câmara climatizada, a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 12 horas (Canto-Silva, 2003). Foram utilizados somente indivíduos recém-emergidos, fixados e preservados em

solução de Dietrich. Para as observações, os insetos foram desidratados em ponto crítico (BALZERS<sup>®</sup>, CPD030), montados sobre fita adesiva de dupla face em suportes de alumínio, metalizados com ouro (BALZERS<sup>®</sup>, SCD050), observados e fotografados em microscópio eletrônico de varredura (JEOL<sup>®</sup>, JSM 58000), no Centro de Microscopia Eletrônica da UFRGS. A nomenclatura utilizada foi adaptada de Villa & Mineo (1990a, b).

### 6.3 Resultados

A antena das fêmeas de *G. gallardoi* é genículo-clavada, dotada de 12 antenômeros (A): escapo (A1), pedicelo (A2) e dez antenômeros flagelares ou flagelômeros (A3-A12). O primeiro flagelômero (A3) é mais alongado e estreito em relação aos demais, que são curtos, alargando-se gradativamente em direção ao ápice da antena. O último (A12) é de formato triangular. Ao longo do flagelo, foram registradas glândulas dorsais (Gd) e sete tipos de sensilas: papilárias (PI), caéticas de duas formas, uma mais alongada (Ca<sub>1</sub>) e outra mais curta (Ca<sub>2</sub>), estilocônicas (Es), cavilhas (Cv), falciformes (Fc) e tricóides (Tr), com variação numérica e espacial entre os flagelômeros (Tabela 6.1; Figura 6.1).

As glândulas dorsais (Gd) correspondem a uma depressão rasa e estriada ao longo da região mediano-dorsal dos flagelômeros A12 a A5 (Figura 6.3D).

As sensilas papilárias (PI) foram encontradas somente nos antenômeros distais (A12-A8), ao longo da região mediana da superfície ventral, sendo uma em A12 e duas de A11 a A8 (Tabela 6,1; Figura 6.1A e B; Figura 6.2A). Possuem uma superfície saliente e achatada, dotada de sulcos

transversais e poros pouco evidentes. As bordas laterais são pregueadas e a base é expandida, terminando em uma cavidade mais ou menos elipsóide (Figuras 6.2B e C). A parte exposta da sensila mede em torno de 5,4  $\mu\text{m}$  de comprimento por 1,4  $\mu\text{m}$  de largura, sendo mais curta em A12 (aproximadamente 2,1  $\mu\text{m}$  de comprimento) (Figura 6.2B).

Foram encontrados dois tipos de sensilas caéticas (Ca1 e Ca2), igualmente distribuídas nas antenas direita e esquerda. Ambas são setiformes e dotadas de estrias longitudinais que partem da base em direção ao ápice que é dotado de um poro. As Ca1, mais longas e eretas, medem em torno de 16  $\mu\text{m}$  de comprimento (Figura 6.3A), enquanto que as Ca2, mais curtas e levemente curvadas em direção ao ápice da antena, medem aproximadamente 7,7  $\mu\text{m}$  de comprimento (Figura 6.3B). A localização das sensilas caéticas foi igual nas antenas direita e esquerda (Tabela 6.1). As do tipo Ca1 foram encontradas lateralmente, entre a superfície dorsal e ventral da antena, de A12 a A3 e próximas à superfície mediana da porção dorsal, de A12 a A5 (Figuras 6.1A e D). As sensilas Ca2 foram encontradas apenas na porção ventral, de A12 a A5, sendo duas de cada lado da porção mediana, próximo ao ápice dos antenômeros (Figura 6.1B).

Ambas as antenas apresentaram apenas uma sensila estilocônica, na porção ventral anterior, próximo à base de A3 (Tabela 6.1; Figura 6.1A e B). Sua superfície é aparentemente lisa e não há indícios de poros, nem sulcos. Possui o ápice arredondado e mais alargado que a base e encontra-se ajustada à cavidade. São curtas e medem em torno de 2,7  $\mu\text{m}$ . (Figura 6.3C).

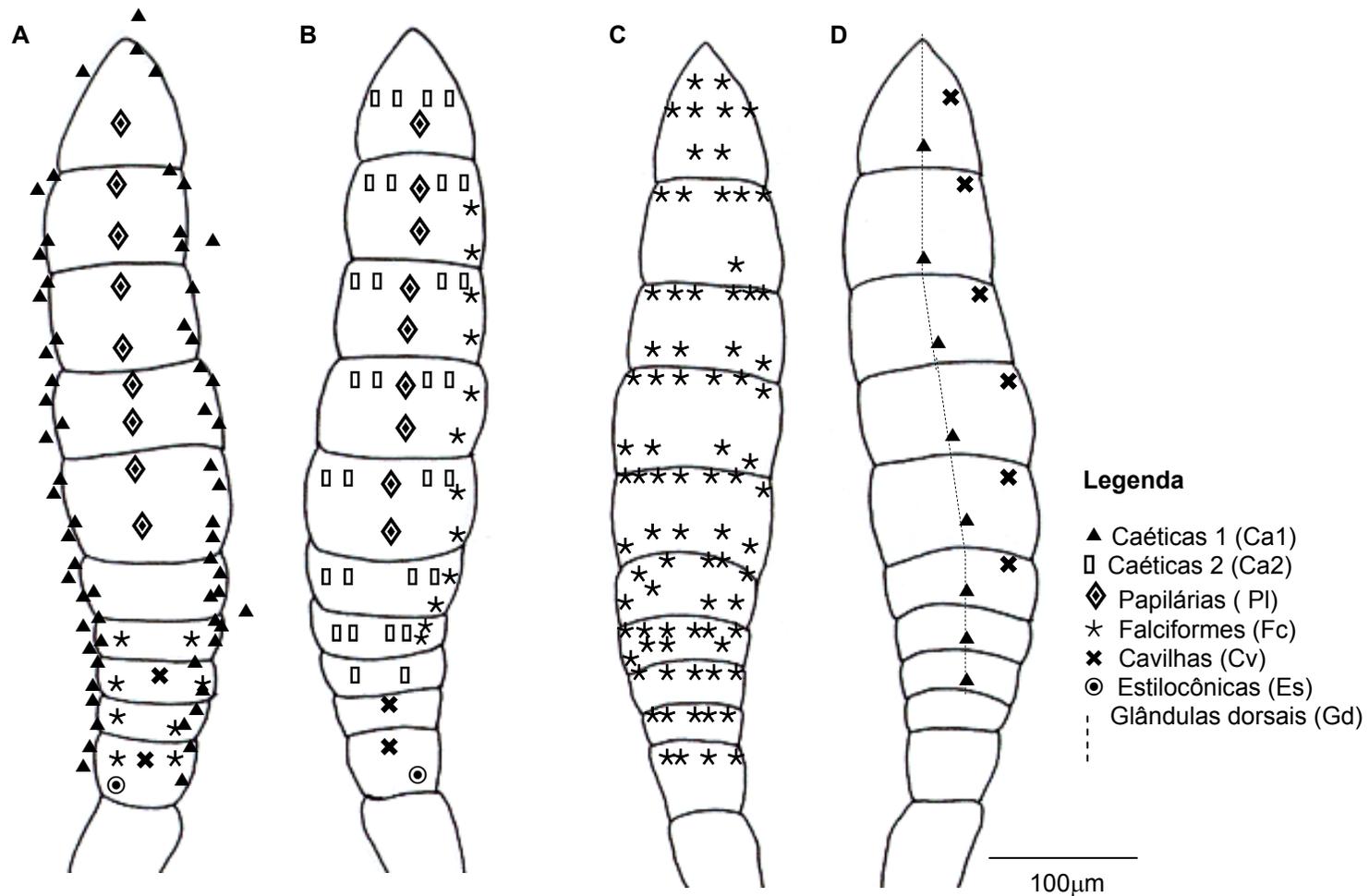
As sensilas do tipo cavilha (Cv) foram encontradas tanto na superfície ventral como na dorsal. Na ventral, apresentaram um padrão de

distribuição diferente entre as antenas direita e esquerda (Tabela 6.1; Figura 6.1 A e B). Na direita, localizaram-se em A3 e A4 e, na esquerda, em A3 e A5, sendo em ambas, próximas ao ápice de cada antenômero, na porção mediana (Figura 6.1A e B). Na superfície dorsal, sua distribuição foi a mesma em ambas as antenas (Tabela 6.1), localizando-se paralelamente ao ápice, na lateral posterior, de A12 a A7 (Figura 6.1D). Estas sensilas são curtas (em torno de 2,8  $\mu\text{m}$  de comprimento), com o ápice arredondado dotado de estrias longitudinais. Encontram-se inseridas em uma cavidade levemente alargada (Figura 6.2D).

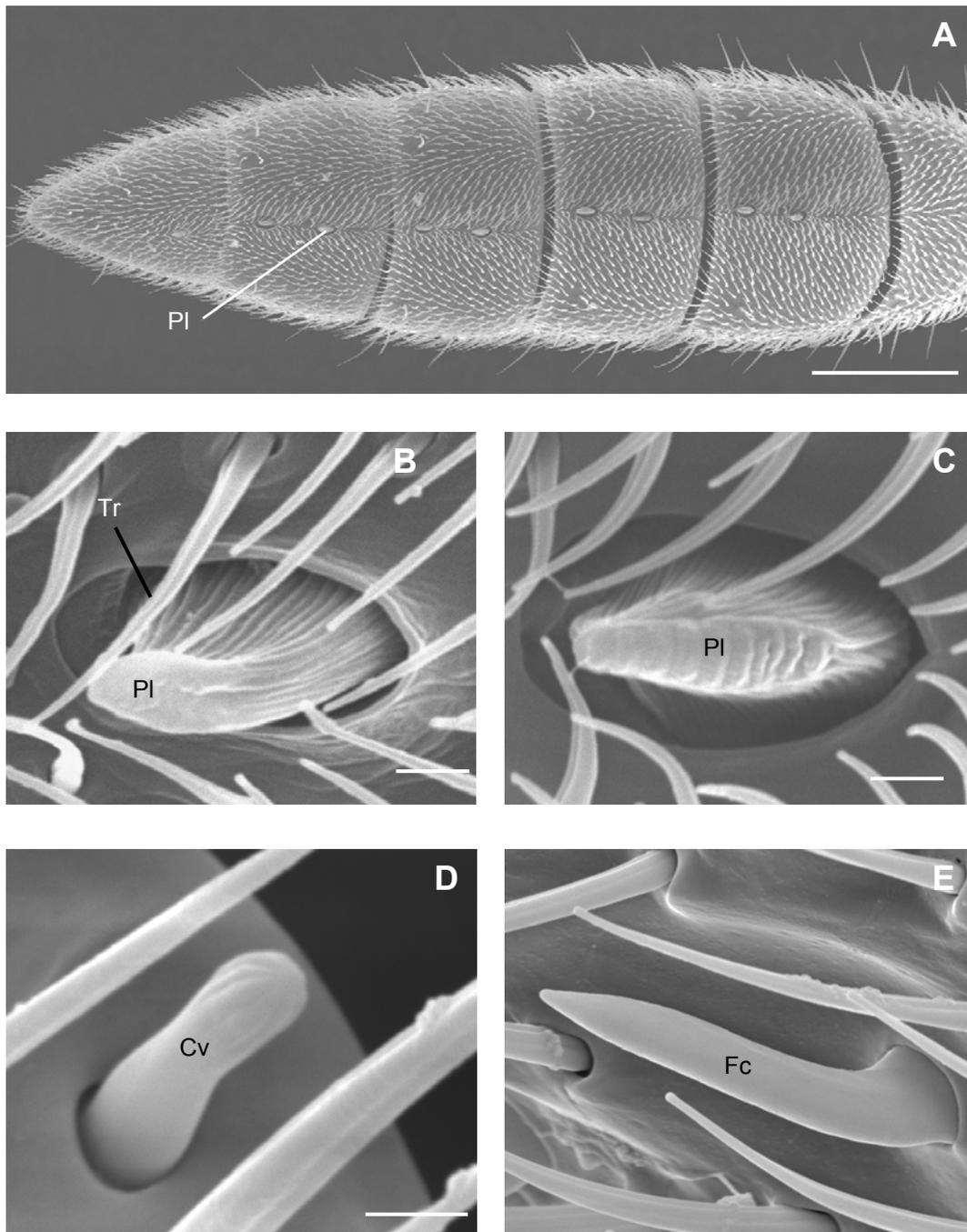
As sensilas falciformes (Fc) foram encontradas em ambas superfícies dos antenômeros (Tabela 6.1). São curvadas em direção ao ápice da antena e ligeiramente achatadas lateralmente. Sua superfície é coberta por pequenos poros (Figura 6.2E). Na porção dorsal foram mais numerosas (Tabela 6.1) e se distribuíram próximo às margens apical e basal de A12 a A3 (Figura 6.1C). As localizadas próximas à margem apical se estenderam encobrendo a área membranosa entre antenômeros. Na porção ventral, foram menos numerosas e se distribuíram de modo diferente nas antenas direita e esquerda (Tabela 6.1). Na direita, ocorreram ao longo da porção lateral anterior, de A11 a A6 (Figura 5.1B), enquanto que na esquerda, ocorreram aos pares nos flagelômeros A6 a A3, uma em cada lateral, próxima à margem apical (Figura 6.1A).

**Tabela 6.1-** Variação numérica de sensilas por antenômero nas superfícies dorsal e ventral das antenas da fêmeas de *Gryon gallardoi* (Hym.: Scelionidae): PI= papilária; Ca1= caética 1; Ca2= caética2; Fc= falciforme; Cv= cavilha; Es= estilocônica (A letra “A” seguida de números arábicos representa os diferentes antenômeros. As sensilas tricóides foram omitidas).

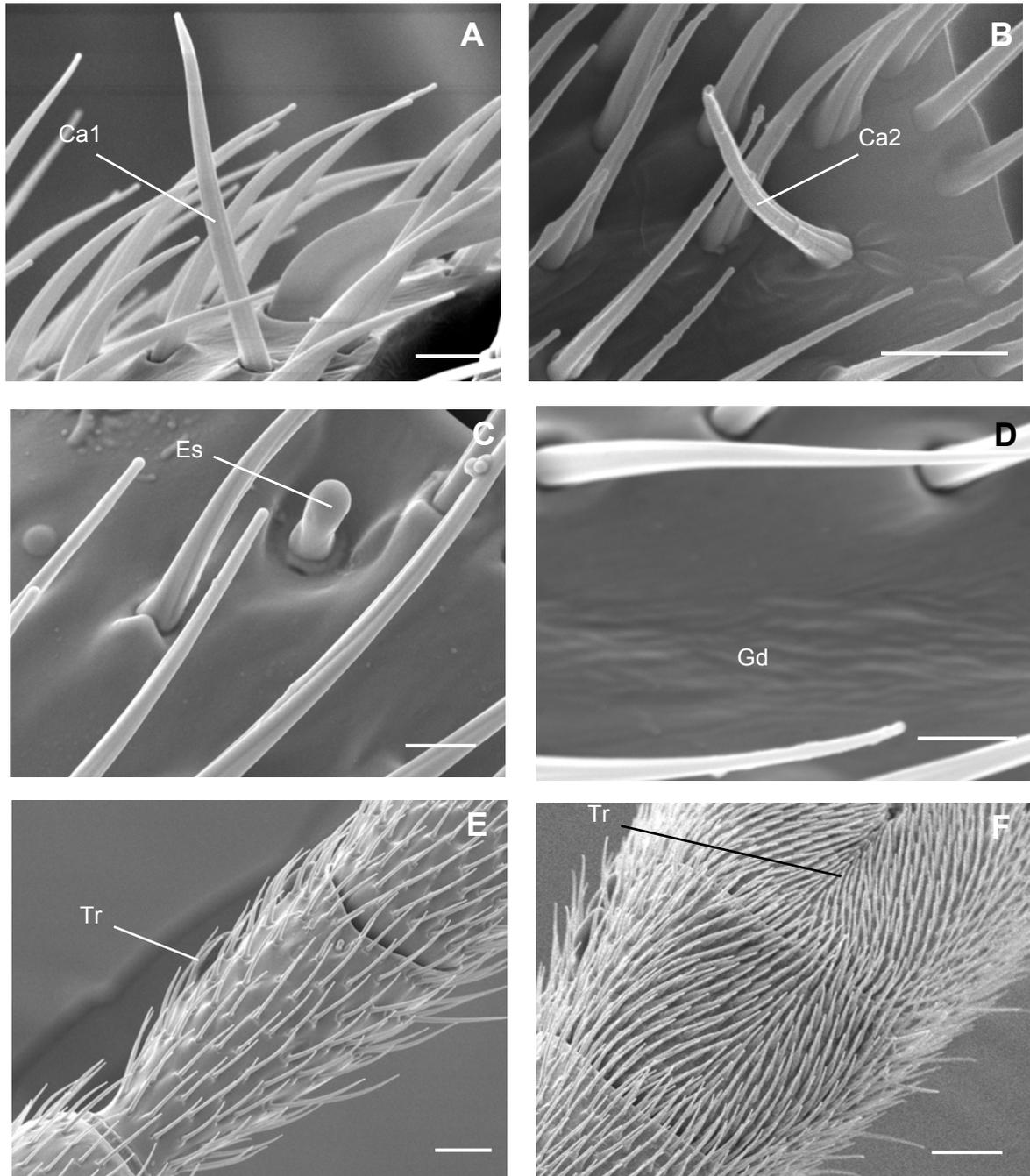
Antena/ Antenômero		Superfície										
		Ventral					Dorsal					
Esquerda	PI	Ca <sub>1</sub>	Ca <sub>2</sub>	Fc	Cv	Es	PI	Ca1	Ca2	Fc	Cv	Es
A12	1	4	4	-	-	-	-	1	-	8	1	-
A11	2	8	4	-	-	-	-	1	-	6	1	-
A10	2	8	4	-	-	-	-	1	-	10	1	-
A9	2	8	4	-	-	-	-	1	-	10	1	-
A8	2	8	4	-	-	-	-	1	-	12	1	-
A7	-	8	4	-	-	-	-	1	-	9	1	-
A6	-	8	4	2	-	-	-	1	-	10	-	-
A5	-	4	2	2	1	-	-	1	-	5	-	-
A4	-	4	-	2	-	-	-	-	-	5	-	-
A3	-	4	-	2	1	1	-	-	-	4	-	-
<b>Total</b>	<b>9</b>	<b>64</b>	<b>30</b>	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>8</b>	<b>0</b>	<b>79</b>	<b>6</b>	<b>0</b>
<b>Direita</b>												
A12	1	4	4	-	-	-	-	1	-	8	1	-
A11	2	8	4	2	-	-	-	1	-	6	1	-
A10	2	8	4	2	-	-	-	1	-	10	1	-
A9	2	8	4	2	-	-	-	1	-	10	1	-
A8	2	8	4	2	-	-	-	1	-	12	1	-
A7	-	8	4	2	-	-	-	1	-	9	1	-
A6	-	8	4	2	-	-	-	1	-	10	-	-
A5	-	4	2	-	-	-	-	1	-	5	-	-
A4	-	4	-	-	1	-	-	-	-	5	-	-
A3	-	4	-	-	1	1	-	-	-	4	-	-
<b>Total</b>	<b>9</b>	<b>64</b>	<b>30</b>	<b>12</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>8</b>	<b>0</b>	<b>79</b>	<b>6</b>	<b>0</b>



**Figura 6.1** Distribuição esquemática das sensilas nos antenômeros flagelares das fêmeas de *Gryon gallardoi* (Hym.: Scelionidae): A- Superfície ventral da antena esquerda (Sensilas Ca2 omitidas); B- Superfície ventral da antena direita (sensilas Ca1 omitidas); C- Superfície dorsal da antena esquerda (sensilas Ca1; Cv e Gd omitidas) D- Superfície dorsal da antena direita (sensilas Fc omitidas).



**Figura 6.2** Sensilas antenais das fêmeas de *Gryon gallardoi* (Hymenoptera (Scelionidae): A- Vista geral da superfície ventral da clava da antena direita (escala= 50 $\mu$ m); B- sensila papilária e tricóide na porção distal de A12 (antena direita) (escala= 1 $\mu$ m); C- sensila papilária na porção distal de A9 (antena direita) (escala= 1 $\mu$ m); D- sensila tipo cavilha na porção dorsal de A10 (antena esquerda) (escala= 2 $\mu$ m); E- sensila falciforme (Fc) na porção dorsal de A10 (antena direita) (escala= 1 $\mu$ m,).  
**PI=papilária; Tr=tricóide; Cv=cavilha; Fc=falciforme.**



**Figura 6.3** Sensilas antenais das fêmeas de *Gryon gallardoi* (Hymenoptera: Scelionidae): A- sensila caética 1 na porção dorsal de A10 (escala 5 $\mu$ ); B- sensilas caética 2 na porção ventral de A7 (escala= 2 $\mu$ m); C- sensila estilocônica (escala= 2 $\mu$ m); D- Vista geral das glândulas dorsais em A8 (escala= 2 $\mu$ m); E- Vista geral das tricóides na porção ventral de A3 (escala= 20 $\mu$ m); F- Vista geral das tricóides na porção ventral de A7 (escala= 20 $\mu$ m).  
**Ca1= Caética 1; Ca2= Caética 2; Es= estilocônicas; Gd= glândulas dorsais; Tr= tricóides)**

As sensilas tricóides (Tr) foram registradas em todos os flagelômeros, exibindo vários tamanhos e curvaturas sendo, a grande maioria, de superfície estriada longitudinalmente e inserida em cavidade alargada. Nos antenômeros proximais são mais espaçadas e menos abundantes (Figura 6.3E), sendo registradas apenas algumas dezenas delas. A partir de A7, vão se tornando gradativamente mais abundantes em direção distal. Na porção ventral, a partir de A7, são mais curtas e decumbentes, voltadas para a porção mediana dos antenômeros (Figura 6.3F), sendo que na clava, estas se encontram voltadas em direção às sensilas papilárias (Fig 6.2B).

#### **6.4 Discussão**

Em relação ao número de antenômeros, as antenas das fêmeas de *G. gallardoi* corroboraram ao descrito para outros grioníneos (Masner, 1979; Villa & Mineo, 1990a e 1990b). Em Telenominae, incluindo os gêneros *Trissolcus* Ashmed e *Telenomus* Haliday, as antenas são dotadas de 10 ou 11 antenômeros (Bin, 1981).

Na espécie estudada, as glândulas dorsais se distribuíram da mesma forma que em *G. pennsylvanicum* (Villa & Mineo, 1990b), diferindo de *G. boseli* onde foi registrada de A12 a A7 (Villa & Mineo, 1990a). Em *Trissolcus basalis* (Wollaston), Isidoro et al. (1996) registraram esta estrutura de A11 a A7. De acordo com estes autores, a parede interna desta depressão dorsal é dotada de inúmeros poros, os quais correspondem à abertura das glândulas. A sua função não é clara, sendo que na maioria dos trabalhos não são descritas. Entretanto, ao observarem o comportamento de acasalamento de *T. basalis*,

Isidoro et al. (1996) a relacionaram ao reconhecimento sexual durante o processo.

Junto às glândulas dorsais, Villa & Mineo (1990b) registraram, de A12 a A5, a presença de sensilas campaniformes. Em *T. basalis*, estas sensilas ocorreram de A11-A7 (Isidoro et al., 1996). Como em *G. boselli* (Villa & Mineo, 1990a), as sensilas campaniformes não foram encontrada em *G. gallardoi*.

As sensilas papilárias, por serem dotadas de vários poros, pertencem à categoria multiporosa, proposta por Zacharuck (1985), sendo a elas atribuídas diferentes terminologias. Foram descritas pela primeira vez em Scelionidae por Bin (1981), como “placas”. Os termos “placa multiporosa” (Barlin & Vinson, 1981; Basibuyuk & Quicke, 1998), “placa estriada multiporosa” (Zacharruck, 1985) e “basicônicas” (Cave & Gaylor, 1987), também são designar esta estrutura. Segundo Bin (1981), os antenômeros distais, por serem mais alargados e dotados de sensilas papilárias, delimitam uma região na antena das fêmeas de Scelionidae chamada clava, cuja distribuição de tais sensilas, nos antenômeros, variam entre as espécies. Diante disto, este autor sugeriu o termo “fórmula claval” para designar o conjunto ordenado de sensilas papilárias por antenômero de uma dada clava e a utilização deste critério como ferramenta para identificação taxonômica de diferentes gêneros, grupo-espécie ou espécies. Neste contexto, a fórmula claval das sensilas papilárias encontrada na antena das fêmeas de *G. gallardoi* foi 1-2-2-2-2 (respectivamente, de A12 para A8), o que corrobora ao registrado para outros scelionídeos como *Trissolcus* spp. (Bin, 1981), e os grioníneos *G. boseli* (Villa & Mineo, 1990a) e *G. pennsylvanicum* (Villa & Mineo, 1990b). Na maioria das

espécies do gênero *Telenomus*, Bin (1981) registrou uma fórmula claval 1-2-2-1.

O formato das sensilas papilárias encontradas em *G. gallardoi* corrobora ao encontrado por Bin (1981) para um grande número de espécies de Telenominae e por Cave & Gaylor (1987) para *Telenomus reynoldsi* Gordh & Coker. Entretanto, em um pequeno grupo de espécies de *Trissolcus*, Bin (1981) verificou que as sensilas papilárias podem se apresentar com a superfície mais alongada e com o ápice pouco elevado, sendo mais achatadas transversalmente e inseridas em uma depressão rasa.

Em relação à função, as sensilas papilárias parecem estar associadas à gustação, sendo também chamadas, em Platygastriidae e Scelionidae, de “sensilas gustatórias multiporosas” (Isidoro et al., 1996; Isidoro et al., 2001). Porém, devido a falta de estudos eletrofisiológicos envolvendo tais sensilas, a função gustativa destas é fundamentada apenas em estudos morfológicos e comportamentais. Em relação à morfologia, as evidências de funções gustativas fundamentam-se na localização dos poros dentro de sulcos, lobos ou projeções esféricas (Isidoro et al, 2001) e a presença de um grande número de neurônios sensoriais associados aos poros (Zacharuck, 1985; Isidoro et al, 1996). Diante disto, Isidoro et al. (2001) sugeriram que, durante o tamborilamento, os compostos químicos presentes no ovo podem ser movimentados, através dos sulcos ou lobos, em direção aos poros permitindo o reconhecimento e a discriminação do hospedeiro através da gustação. Em *G. gallardoi*, a metodologia utilizada não permitiu verificar totalmente a presença de poros. Segundo Isidoro et al. (1996), a visualização dos poros só é possível quando os espécimes são tratados previamente com protease para a remoção

de secreções que cobrem a superfície das sensilas. Tais secreções, produzidas por glândulas exócrinas associadas às sensilas papilárias, parecem estar relacionadas à dissolução e/ou degradação de substâncias deixadas sobre os ovos hospedeiros, intermediando o reconhecimento dos mesmos pelos parasitóides (Isidoro et al., 2001).

As evidências comportamentais, que sugerem a função gustativa das sensilas papilárias, estão relacionadas ao modo pelo qual as fêmeas examinam o seu hospedeiro (Bin, 1981; Isidoro et al., 1996). Estudos comportamentais feitos com *G. gallardoi* demonstraram que as fêmeas avaliam e escolhem seu hospedeiro através do tamborilamento (Solis et al, 2001; Wiedenmann et al, 2003), rejeitando, parcialmente, ovos já parasitados ou com idade avançada (vide capítulos II e III). Estes trabalhos demonstraram que, durante o tamborilamento, a parte da antena que fica em contato com o hospedeiro é a clava, sugerindo que estas estão fortemente relacionadas à detecção de estímulos químicos de contato provenientes do ovo, como foi relatado para outras espécies de Scelionidae (Bin, 1981; Isidoro et al, 1996; Isidoro, et al., 2001). Em estudos nos quais as fêmeas de parasitóides de ovos tiveram a clava removida, estas não foram capazes de discriminar os seus hospedeiros (Vinson, 1998).

As sensilas do tipo cavilha são também chamadas de estriadas multiporosas (Zacharruck, 1985; Cave & Gaylor, 1987). Por estarem inseridas em uma cavidade alargada são também referidas como celocônicas (Schneider, 1964; Ochieng et al., 2000). Segundo Slifer (1970), estas sensilas estão associadas à função olfativa atuando na percepção de estímulos à longa distância, entretanto, a especificidade funcional parece depender da espessura

de sua parede (Zacharuck, 1985). Por estarem associadas a um dendrito basal podem ter também funções mecanorreceptoras (Zacharuck, 1985) envolvendo termo e higrorrecepção (Altner & Loftus, 1985).

As sensilas do tipo cavilha encontradas nas fêmeas de *G. gallardoi*, ocorreram nos mesmos antenômeros registrados para *G. boseli* (Villa & Mineo, 1990a) e *G. pennsylvanicum* (Villa & Mineo, 1990b). Na superfície ventral, o padrão de distribuição por antenômero na espécie estudada foi o mesmo registrado para *G. pennsylvanicum* (Villa & Mineo, 1990b). Entretanto, estes autores registraram, nos antenômeros da superfície dorsal, uma distribuição diferente destas sensilas, as quais se distribuem duas a duas de A12 a A8 na antena esquerda e duas em A12 e uma de A11 a A7 na antena direita. Em *T. reynoldsi*, Cave & Gaylor (1987) registraram as sensilas cavilhas apenas na superfície dorsal, próximo à margem apical externa dos antenômeros A6, A4 e A11, sendo que, nesta espécie, os autores referiram-se a elas como estriadas multiporosas.

Por não estarem presentes nos antenômeros clavais, Cave & Gaylor, (1987) sugeriram que as sensilas do tipo cavilha não atuam no reconhecimento e discriminação de hospedeiros nos parasitóides de ovos da família Scelionidae.

As sensilas falciformes são também referidas como multiporosas puncturadas (Zacharuck, 1985). Cave & Gaylor (1987) as descreveram como sensilas em forma de “chifre”, atribuindo também o termo “tricóide curvada” em *T. reynoldsi*. Em outras famílias de parasitóides de ovos, como Trichogrammatidae, correspondem às tricóides multiporosas (Olson & Andow, 1983).

Em Scelionidae, as sensilas falciformes são encontradas em todos os antenômeros flagelares, especialmente na superfície dorsal; entretanto, a sua distribuição pode exibir variações entre as espécies (Cave & Gaylor, 1987; Basibuyuk & Quicke, 1999). Em *G. gallardoi*, o padrão de distribuição destas sensilas foi diferente entre as antenas direita e esquerda na porção ventral. Da mesma forma, Villa & Mineo (1990b) evidenciaram diferenças na distribuição das sensilas entre antenas direita e esquerda em *G. pennsylvanicum*, porém em ambas as superfícies. Na grande maioria dos trabalhos, os autores não comparam a distribuição das sensilas entre as antenas direita e esquerda, podendo, nestes casos, trazer interpretações errôneas, especialmente quando o número e a distribuição das mesmas são utilizados para fins taxonômicos.

A função das sensilas falciformes parece estar relacionada ao olfato, devido à parede delgada dotada de inúmeros poros tubulares (Zacharuck, 1980). Podem exibir muitas variações entre os himenópteros quanto ao número de células, distribuição dos poros, forma da cavidade a qual encontram-se inseridas, entre outras. Em *Trichogramma nubilale* (Erthe & Davis), Olson & Andow (1993) verificaram que tais sensilas apresentam uma constrição na base e encontram-se inseridas em uma cavidade alargada, assumindo características mecanorreceptoras. Nesta espécie, por estarem localizadas na porção ventral, os autores sugerem que podem estar associadas, além da detecção de estímulos químicos, a percepção de características físicas no córion dos ovos de lepidópteros, cuja arquitetura é bastante variável. Em *G. gallardoi*, assim como outros Scelionidae, as sensilas falciformes não apresentam constrições na base e encontram-se inseridas em cavidade estreita, caracterizando-se como quimiorreceptoras, além de serem mais

numerosas na superfície dorsal (Villa & Mineo, 1990a e b; Cave & Gaylor, 1987; Isidoro et al., 1996). Além destas evidências, a curvatura acentuada em direção à superfície da antena e o fato de estarem circundadas de cerdas de maior comprimento, torna o contato com o hospedeiro em si difícil, sugerindo que estas não detectam informações diretamente do hospedeiro, e sim estímulos químicos a longa distância (Isidoro et al., 2001), possibilitando a localização do hospedeiro e/ou o reconhecimento sexual (Cave & Gaylor, 1987).

As sensilas caéticas são descritas por Zacharuck (1985) como pêlos ou espinhos, porém com a parede mais espessa que as tricóides. A maioria das sensilas descritas como caéticas são dotadas de um poro terminal ligado à dendritos sensoriais, pertencendo portanto à categoria uniporosa (Zacharuck, 1980). São também chamadas de basicônica estriada (Norton & Vinson (1974; Ochieng et al., 2000) ou gustativa uniporosa (Isidoro et al., 1996). Em *G. gallardoi* foi registrado dois tipos de sensilas caéticas, as quais, em alguns trabalhos são consideradas como sendo de um único tipo. Em *G. boseli*, Villa & Mineo (1990a) registraram estas sensilas apenas na superfície ventro-lateral, onde ocorrem duas por antenômero, na porção apical, de A11 a A7, sendo oito em A12. Baseado na descrição destes autores, tais sensilas são correspondentes às tipo 1 descritas neste trabalho para *G. gallardoi*. Da mesma forma, as sensilas correspondentes às do tipo 1 foram encontradas em *G. pennsylvanicum*, porém também distribuídas na superfície dorsal de A12 a A8 na antena esquerda e, de A12 a A9, na antena direita, sendo duas em A12 e uma nos demais antenômeros. As sensilas Ca1 foram também semelhantes às encontradas em *T. reynoldsi* por Cave & Gaylor (1987). As sensilas do tipo 2

de *G. gallardoi* parecem ser correspondentes às registradas para *G. pennsylvanicum* na superfície ventral, de A12 a A5, com o mesmo padrão de distribuição, exceto em A12, onde nesta espécie foi registrado seis destas sensilas.

Em relação à função, as sensilas caéticas atuam concomitantemente como mecanorreceptoras e quimiorreceptoras (Zacharuck, 1985). Esta função dupla é atribuída a um dendrito não ligado ao poro (McIver, 1985; Isidoro et al., 1996). A função quimiorreceptora das sensilas caéticas parece estar associada à percepção de estímulos químicos de contato em solução, sendo, portanto, gustativas (Zacharuck, 1985). A função gustativa pode ser evidenciada através de estudos comportamentais. Bin (1981) inferiu que estas sensilas, por serem mais eretas que as outras, tendem a tocar o substrato primeiro que as demais, podendo detectar informações diretamente do seu hospedeiro. Estudos em nível de ultraestrutura associada ao comportamento, feitos por Isidoro et al. (1996), em várias famílias de parasitóides, incluindo scelionídeos, como *T. basalis* corroboraram tal função, sendo descrita por estes autores como gustativas pelo fato de serem mais abundantes em áreas da antena que tocam o substrato, o hospedeiro e o sexo oposto durante o acasalamento. Em *T. nubilale*, as sensilas caéticas estão localizadas no ápice das antenas, local correspondente ao toque no substrato, estando associadas também ao reconhecimento do hospedeiro (Olson & Andow, 1993).

As sensilas estilocônicas, categorizadas como aporosas, estão associadas à função termo e higrorreceptora em muitos insetos (Zacharuck, 1985). Segundo Altner & Loftus (1985), tais funções são atribuídas à ausência de poros, à cavidade ajustada, à presença de segmentos dendríticos externos

e na base da sensila. Em *G. gallardoi*, parecem não estar associadas a um comportamento específico, entretanto, estudos em relação à sensibilidade às mudanças de temperatura e umidade devem ser feitos para confirmar suas funções.

A localização das sensilas estilocônicas é variável entre as espécies de Scelionidae. Em *T. reynoldsi* foi registrada por Cave & Gaylor (1987) na superfície dorsal de A4 e A10. Villa & Mineo (1990b) registraram a sensila estilocônica em *G. pennsylvanicum* na superfície ventral, porém em número e distribuição diferente nos antenômeros. Nesta espécie, os autores encontraram uma em A5 na antena direita, e duas em A5 e uma em A6 na antena esquerda.

As sensilas tricóides, também consideradas aporosas (Zacharuk, 1985), são também referidas como setiformes (Zacharuck, 1985; Cave & Gaylor, 1987). Para Villa & Mineo (1990a e b), as sensilas tricóides se referem a estruturas mais curtas, em forma de espinhos, presentes na base do pedicelo e na superfície ventral do escapo. Segundo McIver (1985), estas sensilas possuem função mecanorreceptora, devido à presença de apenas um neurônio sensorial. Diante disto, estas sensilas estão associadas à função táctil, capazes de perceber diferentes tipos de texturas no substrato, movimentos e direção do vento (Isidoro et al., 1996).

Segundo Isidoro et al. (1996), as sensilas tricóides presentes na clava, associadas às papilárias e às caéticas, formam uma área funcional da antena, definida, por estes autores, como “área de tato e gosto”, responsável pelo reconhecimento e aceitação do hospedeiro em parasitóide de ovos, detectando substâncias químicas e diferentes texturas na superfície do hospedeiro e/ou do substrato durante o tamborilamento. Em fêmeas *G. gallardoi*, foi verificado através de estudos comportamentais, um aumento no tempo de tamborilamento diante de ovos de *S. dentiventris* de oito e doze dias de idade

(ver capítulo II). Tal fato pode estar relacionado com uma possível mudança química ou física na superfície do ovos, dificultando o reconhecimento do mesmo pelas sensilas da clava. Entretanto, estudos eletrofisiológicos e de análise química e morfológica na superfície dos ovos de *S. dentiventris* são necessários para confirmar esta hipótese.

A identificação e a distribuição das sensilas antenais nas fêmeas *G. gallardoi* feitas neste trabalho, podem ser consideradas um avanço no sentido de tentar elucidar os mecanismos envolvidos no comportamento de seleção da espécie estudada, diante da falta de trabalhos com este enfoque nos últimos anos. Embora não conclusivas, pôde-se verificar que, devido aos tipos de sensilas encontradas na clava, as substâncias químicas presente no hospedeiro, juntamente com sua textura, parecem desempenhar um importante papel no reconhecimento e aceitação. Assim, estudos eletrofisiológicos, além daqueles comparativos em nível de ultraestrutura em microscopia eletrônica de transmissão, também tornam-se importantes no sentido de definir homologias, gerar informações adicionais referentes à filogenia, além de se estabelecer uma unificação das terminologias empregadas nos diferentes tipos de sensilas, reinterpretando assim a verdadeira função destas importantes estruturas nos parasitóides de ovos.

## CAPÍTULO VII

### CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente estudo e nas condições em que foram realizados os experimentos pode se concluir que:

- as fêmeas de *Gryon gallardoi* (Brèthes) exibem um padrão comportamental comum à família Scelionidae envolvendo o tamborilamento, inserção de ovipositor, marcação, descanso e caminhada, em todas as idades de ovos de *Spartocera dentiventris* (Berg) testadas (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 12 dias);
- em todas as idades testadas, a inserção do ovipositor ocorre, na maioria das vezes, nas extremidades longitudinais dos ovos de *S. Dentiventris*;
- as fêmeas de *G. gallardoi* são hábeis em reconhecer ovos auto-parasitados através da marcação, em todas as idades testadas (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, e 12 dias);
- a idade dos ovos de *S. dentiventris* modifica o comportamento de tamborilamento e de inserção do ovipositor do parasitóide, sugerindo que a mesma pode acarretar em mudanças químicas e/ou físicas no hospedeiro;
- *G. gallardoi*, quando não tem oportunidade de escolha, é capaz de parasitar ovos de *S. dentiventris* de qualquer idade, inclusive os de idade bastante avançada (12 dias);

- o tempo de desenvolvimento de *G. gallardoi* aumenta e o percentual de emergência diminui a medida que os ovos de *S. dentiventris* se tornam mais velhos, sugerindo que ocorre uma diminuição na qualidade do hospedeiro com o avanço da idade;
- as fêmeas de *G. gallardoi*, quando têm chances de escolha, exibem preferência por ovos de um e três dias de idade para a oviposição;
- a proporção de machos de *G. gallardoi* é igual em todas as idades do hospedeiro;
- ovos de *S. dentiventris*, mais velhos e de menor volume, promovem um menor tamanho tanto de machos quanto fêmeas de *G. gallardoi*, podendo também ser atribuído à diminuição da qualidade do hospedeiro;
- machos de *G. gallardoi* são menores que as fêmeas, sendo que as diferenças de tamanho entre os sexos tendem a diminuir com o aumento da idade dos ovos de *S. dentiventris*;
- o contato prévio com o hospedeiro torna as fêmeas de *G. gallardoi* capazes de modificarem suas respostas aos diferentes estímulos oriundos do mesmo, sugerindo que o aprendizado associativo atua diretamente nos processos de seleção de hospedeiros;
- a marcação dos ovos parasitados, feita pelas fêmeas de *G. gallardoi*, pode ser de origem química;
- o número e a distribuição das sensilas antenais nas fêmeas de *G. gallardoi* têm padrão semelhante a outros grioníneos;
- a distribuição e os tipos de sensilas presentes na clava antenal de *G. gallardoi* sugerem que estas estruturas desempenham função na percepção

de estímulos químicos e da textura do hospedeiro através do tamborilamento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABLES, J.R.; VINSON, S.B.; ELLIS, J.S. Host discrimination by *Chelonus insularis* (Hym.: Braconidae), *Telenomus heliothidis* (Hym.: Scelionidae) and *Trichogramma pretiosum* (Hym.: Trichogrammatidae). **Entomophaga**, Paris, v. 26, n. 2, p.149-156, 1981.

AGBOKA, K. et al. Self, intra e interspecific host discrimination in *Telenomus busseolae* Gahan and *T. isis* Polaszek (Hymenoptera: Scelionidae), sympatric egg parasitoids of the African cereal stem borer *Sesamia calamistis* Hampson (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Insect Behaviour**, Columbia, v. 15, n. 1, p. 1-12, 2002.

ALPHEN, J.J.M. van; VET, L.E.M. An evolutionary approach to host finding selection. In: WAAGE, J.; GREATHEAD, D. (eds.). **Insects parasitoids: 13 th Symposium of the Royal Entomological Society of London**, Orlando: Academic Press, 1986. p. 23-54.

ALPHEN, J.J.M. van; VISSER, M.E. Superparasitism as na adaptative strategy for insect parasitoids. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 35, p. 59-79, 1990.

ALPHEN, J.J.M. van; JERVIS, M.A. Foraging Behaviour. In: JERVIS M.; KIDD, N. (Eds.). **Insect Natural Enemies: Pratical approaches to their study and evaluation**. London: Chapman & Hall, 1996. p. 1- 62.

ALTNER, H.; LOFTUS, R. Ultrastructure and function of insect thermo and hygroreceptors. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 30, p. 273-295, 1985.

ANDERSON, P. Oviposition pheromones in herbivorous and carnivorous insects. In: HILKER, M.; MEINERS, T. (eds.). **Chemoecology of Insect Egg Deposition**. Oxford: Blackwell Publishing, 2002. p. 235-263.

AMORNSAK, W.; CRIBB, B.; GORDH, G. External morphology of antennal sensilla of *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, Oxford, v. 27, p. 67-82, 1998.

ARAKAWA, R.; MIURA, M.; FUJITA, M. Effects of host species on the body size, fecundity, and longevity of *Trissolcus mitsukurii* (Hymenoptera: Scelionidae), a solitary egg parasitoid of stink bugs. **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 39, n. 1, p. 177-181, 2004.

ASKEW, R.R. **Parasitic Insects**. London: Heinemann Educational Books, 1973. 316p.

BAAREN, J. van; BOIVIN, G. Learning affects host discrimination behavior in a parasitoid wasp. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, New York, v. 42, p. 9-16, 1998.

BAI, B. et al. The effect of host size on quality attributes of the egg parasitoid, *Trichogramma pretiosum*. **Entomologia Experimentallis et Applicata**, Dordrecht, v. 64, p. 37-48, 1992.

BAKKER, K. et al. The function of host discrimination and superparasitization in parasitoids. **Oecologia**, Berlin, v. 67, p. 572-576, 1985.

BARLIN, M.R.; VINSON, S.B. Multiporous plate sensilla in the antennae of the Chalcidoidea (Hymenoptera). **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, Oxford, v. 168, p. 97-108, 1981.

BARRET, M.; SCHIMIDT, J.M. A comparasion between the amino acid composition of an egg parasitoid wasp and some of its hosts. **Entomologia Experimentallis et Applicata**, Dordrecht, v. 59, p. 29-41, 1991

BASIBUYUK, H.H.; QUICKE, D.L.J. Gross morphology of multiporous plate sensilla in the Hymenoptera (Insecta). **Zoologica Scripta**, Stockholm, n. 28, p. 51-67, 1998.

BECKAGE, N.E.; GELMAN, D.B. Wasp parasitoid disruption of host development: implications for new biologically based strategies for insect control. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 49, p. 299-330, 2004.

BECKER, M.; PRATO, M.D. Nataly and natural mortality of *Spartocera lativentris* Stal 1870 (Heteroptera: Coreidae) in the egg stage. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 11, p. 1344-1348, 1982.

BERNAYS, E.E. Effects of experience on host-plant selection. In: CARDÉ, R. T.; BELL, W. J. (Eds.). **Chemical Ecology of Insects 2**. New York: Chapman & Hall, 1995. p. 47-64.

BIN, F. Definition of female antennal clava based on its the plate sensilla in Hymenoptera Scelionidae Telenominae. **Redia**, Firenze, v. 64, p. 245-261, 1981.

BIN, F. et al. Source of an egg kairomone for *Trissolcus basalis*, a parasitoid of *Nezara viridula*. **Physiology Entomological**, London, v. 18, p. 7-15, 1993.

BORGES, M. et al. Semiochemical and physical stimuli involved in host recognition by *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) toward *Euchistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae). **Physiological Entomology**, Oxford, v. 24, p. 227-233, 1999.

BOURCHIER, R.S.; SMITH, S.M.; SONG, S.J. Host acceptance and parasitoid size as predictors of parasitoid quality for mass-reared *Trichogramma minutum*. **Biological Control**, USA, v. 3, p.135-139, 1993.

BRODEUR, J.; BOIVIN, G. Functional ecology of immature parasitoids. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 49, p. 27-49, 2004.

BUTTERFIELD, A.; ANDERSON, M. morphology and ultrastructure of antennal sensilla of the parasitoid *Trybliographa rapae* (Wetw) (Hymenoptera: Cinipidae). **Journal of Insect Morphology and Embryology**, Oxford, v. 23, n. 1, p. 11-20, 1994.

CALDAS, B-H.C. **Ciclo Biológico de *Corecoris dentiventris* Berg, 1884, (Heteroptera: Coreidae) em cultura de fumo e morfologia das fases juvenis**. 1998. 93 f. Dissertação (Mestrado)- Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998.

CALDAS, B-H.C.; REDAELLI, L.R.; DIEFENBACH, L.M.G. Parâmetros reprodutivos de *Corecoris dentiventris* Berg (Hemiptera: Coreidae) em cultura de fumo (*Nicotiana tabacum*). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 28, p. 595-600, 1999.

CALDAS, B-H.C.; REDAELLI, L.R.; DIEFENBACH, L.M.G. Biology of *Corecoris dentiventris* Berg, 1884 (Hemiptera: Coreidae) in tobacco culture (*Nicotiana tabacum*). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 60, n. 1, p. 173-178, 2000.

CANTO-SILVA, C. R. **Aspectos da dinâmica populacional e distribuição espacial de *Corecoris dentiventris* Berg, 1884 (Heteroptera: Coreidae) em um cultivo experimental de *Nicotiana tabacum* (Solanaceae)**. 1999. 167 f. Dissertação (Mestrado)- Programa de Pós-graduação em Ecologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 1999.

CANTO-SILVA, C. R. **Parâmetros bioecológicos de *Gryon gallardoi* (Brethes; Hymenoptera) e modelagem da dinâmica espaço-temporal da sua interação com *Spartocera dentiventris* (Berg) (Heteroptera: Coreidae) através da simulação de múltiplos agentes**. 2003. 225f. Tese (Doutorado)- Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2003.

CAVE, R.D.; GAYLOR, M.J.; BRADLEY, J.T. Host handling and recognition by *Telenomus reynoldsi* (Hymenoptera: Scelionidae) an egg parasitoid of *Geocoris* spp. (Heteroptera: Lygaeidae). **Annals of the Entomological of America**, College Park, v. 80, n. 2, p. 217-223, 1987.

CAVE, R.D.; GAYLOR, M.J. Antennal sensilla of male and female *Telenomus reynoldsi* Gordh and Coker (Hymenoptera: Scelionidae). **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, Oxford, v. 16, n. 1, p. 27-39, 1987.

CHABI-OLAYE, A. et al. Host location and host discrimination behaviour of *Telenomus isis*, an egg parasitoid of the African cereal stem borer *Sesamia calamistis*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 24, n. 4, p. 663-678, 2001.

CHAPMAN, R.F. **The insects: structure and function**. 3rd ed. London: Hodder & Stoughton, 1982. 919p.

CHARNOV, E.L.; SKINNER, S.W. Complementary approaches to the understanding of parasitoid ovipositor decision. **Environmental Entomology**, College Park, v. 14, p. 383-391, 1985.

CLAUSEN, P.C. **Entomophagous insects**. New York : Mc. Graw-Hill Book Company, 1940. 688p.

CLAUSEN, P.C. Phoresy among entomophagous insects. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 21, p. 343-368, 1976.

COLAZZA, S. Factors influencing brood sex ratio in the egg parasitoid *Trissolcus basalis* (Woll.) (Hymenoptera: Scelionidae). **Entomologica**, Bari, v. 27, p. 211-219, 1993.

COLAZZA, S. et al. Host acceptance behaviour in the egg parasitoid *Trissolcus basalis* (Hymenoptera: Scelionidae). **Acta Ecologica**, France. v. 17, n. 2, p. 109-125, 1996.

COLAZZA, S. et al. Insect oviposition induces volatile emission in herbaceous plants that attracts egg parasitoids. **The Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 207, p. 47-53, 2004.

COLAZZA, S.; ROSI, M.; CLEMENTE, A. Response of the egg parasitoid *Telenomus busseolae* to sex pheromone of *Sesamia nonagrioides*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 23, p. 2437-2444, 1997.

COLAZZA, S.; WAJNBERG, E. Effects of host egg mass size on sex ratio and oviposition sequence of *Trissolcus basalis* (Hymenoptera: Scelionidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 27, n. 2, p. 329-336, 1998.

CÔNSOLI, F. L. et al. In vitro culture of the teratocytes of *Trissolcus basal* (Hymenoptera, Scelionidae) and their requirements for host-derived components. **Biological Control**, Orlando, v. 22, p. 176-184, 2001.

CÔNSOLI, F.L.; KITAJIMA, E.W.; PARRA, J.R.P. Ultrastructure of the natural and factitious host eggs of *Trichogramma gallo* Zucchi and *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, Oxford, v. 28, p. 211-229, 1999a.

CÔNSOLI, F.L.; KITAJIMA, E.W.; PARRA, J.R.P. Sensilla on the antenna and ovipositor of the parasitic wasps *Trichogramma gallo* Zuchi and *T. pretiosum* Riley (Hym., Trichogrammatidae). **Microscopy Research and Technique**, New York, v. 45, p. 313-324, 1999b.

CONTI, E. et al. Physical and chemical factors involved in host recognition behaviour of *Anaphes iole* Girault, na egg parasitoid of *Lygus hespersus* Knight (Hymenoptera: Mymaridae; Heteroptera: Miridae). **Biological Control**, Orlando, v. 7, p. 10-16, 1996.

CONTI, E. et al. Oviposition behavior of *Anaphes iole*, an egg parasitoid of *Lygus hespersus* (Hymenoptera: Myrmaridae; Heteroptera: Miridae). **Annals of the Entomological of America**, College Park, v. 90, n. 1, p. 91- 101, 1997.

CONTI, E. et al. Chemical cues from *Murgantia histrionica* eliciting host location and recognition in the egg parasitoid *Trissolcus brochymenae*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 29, n. 1, p. 115-129, 2003.

CONTI, E. et al. The role of host semiochemicals in parasitoid specificity: a casestudy with *Trissolcus brochymenae* and *Trissolcus simoni* on pentatomid bugs. **Biological Control**, v. 29, p. 435-444, 2004

COSTA, R.G. **Pragas de plantas cultivadas no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, 1941. 136p.

DAHLMAN, D.L.; VINSON, S.B. Teratocytes: Developmental and Biochemical characteristics In: BECKAGE, N.E.; THOMPSON, S.N.; FEDERICCI, B.A (Eds). **Parasites and pathogens of insects**. San Diego: Academic Press, 1993. p. 145-165.

DASILAO, A.O.; ARAKAWA, R. Reproductive capacity and host handling behavior of *Gryon philippinense* (Asmead) (Hymenoptera: Scelionidae), a solitary egg parasitoid of the winter cherry bug, *Acanthocoris sordius* Thunberg (Hemiptera: Coreidae). **Applied Entomology and Zoology**, Tokio, v. 39, n. 2, 263-269, 2004.

DE BACH, P.; ROSEN, D. **Biological control by natural enemies**. Cambridge University Press, 1991. 440p.

DIJKEN, M.J. van; STRATUM, P.; ALPHEN, J.J.M. van. Recognition of individual specific marked parasitized hosts by the solitary parasitoid *Epidinocarcis lopezi*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, New York, v. 30, p. 77-82, 1992.

DIJKEN, M.J. van ; WAAGE, J.K. Self and conspecific superparasitism by the egg parasitoid *Trichogramma evenescens*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 43, p.183-192, 1987.

EIJS, I.E.M.; ALPHEN van, J.J.M. Life history correlations: why are hymenopteran parasitoids an exception? **Ecology letters**, Oxford, v. 2, p. 27-35, 1999.

EIRAS, A.E.; GERK, A.O. Cairomônios e aprendizagem em parasitóides. In: VILELLA E.F; DELLA-LÚCIA. T.M.C. (Eds.), **Ferômonios de Insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas**. 2ª ed. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2001. p.127-134.

ELLERS, J.; SEVENSTER, J.G.; DRIESSEN, G. Egg load evolution in parasitoids. **American Naturalist**, Chicago, v. 156, n. 6, p. 650-665, 2000.

ELLERS, J.; JERVIS, M. Body size and the timing of egg production in parasitoid wasps. **Oikos**, Copenhagen, v. 102, p. 164-172, 2003.

FARIA, C.A. **Resposta de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e *Trichogramma atopovirilla* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) a voláteis de plantas e ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. E Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2001. 50f. Dissertação (Mestrado)- Programa de Pós-graduação em Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

FIELD, S. A.; KELLER, M. A. Short-term host discrimination in the parasitoid wasp *Trissolcus basalis* Wollaston (Hymenoptera: Scelionidae). **Australian Journal of Zoology**, Victoria, v. 47, p. 19-28, 1999.

FOX, C.W.E.; CZESAK, M.E. Evolutionary Ecology of progeny size in Arthropods. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 45, p. 341-369, 2000.

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

GARCIA, M.A. Ecologia nutricional de parasitóides e predadores terrestres. In: PANIZZI, A.R.; PARRA, J.R.P. (Eds.), **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole, 1991. p. 288-311.

GERLING, D. The developmental biology of *Telenomus remus* Nixon (Hym., Scelionidae). **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal v. 61, p. 395-388, 1972.

GODFRAY, H.C.J. **Parasitoids Behavioral and Evolutionary Ecology**. Princeton: Princeton University Press, 1994. 473p.

GODFRAY, H.C.J.; WAAGE, J.K. Learning in parasitic wasps (News and Views). **Nature**, London, v. 331, p. 211, 1988.

GREENBERG, S.M.; NORDLUND, D.A.; WU, Z. Influence of rearing host and adult size end ovipositional behaviour of mass produced female *Trichogramma minutum* Riley *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Biological Control**, Orlando, v. 11, p. 43-48, 1998.

HAMILTON, W.D. Extraordinary sex ratios. **Science**, Washington, v. 156, p. 477-480, 1967.

HARRIS, M.O.; FOSTER, S.P. Behaviour and integration. In: CARDÉ, R. T.; BELL, W. J. (Eds.). **Chemical Ecology of Insects 2**. New York: Chapman & Hall, 1995. p. 3-46.

HARVEY, J.A.; STRAND, M.R. Sexual size and development time dimorphism in a parasitoid wasp: an exception to the rule? **European Journal of Entomology**, Branisovska, v. 100, n. 4, p. 485-492, 2003.

HASSEL, M.P.; LAWTON, J.H.; BEDDINGTON, J.R. The components of arthropod predation. **Journal of Animal Ecology**, London, v. 45, p. 135-164, 1976.

HEIMPEL, G.H. ; ROSENHEIM, J. Egg limitation in parasitoids: a review of the evidence and a case study. **Biological Control**, Stanford, v. 11, p.160-168, 1998.

HENG-MOSS, T.; BAXENDALE, F.; RIORDAN, T. Interactions between the parasitoid *Rhopus nigroclavatus* (Ashmed) (Hymenoptera: Encyrtidae) and its mealybug hosts *Tridiscus sporoboli* (Cockerell) and *Trionymus* sp. (Homoptera: Pseudococcidae). **Biological Control**, Orlando, v. 22, p. 201-206, 2001.

HERNANDEZ, D.; DÍAZ, F. Efecto de la edad del hospedero *Spodeoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) sobre el parasitismo y la proporción sexual de la descendencia (PSD) de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae). **Boletín de Entomología Venezolana**, Caracas, v. 11, n. 1, p. 27-32, 1996.

HIGUCHI, H.; SUZUKI, Y. Host handling behaviour of the egg parasitoid *Telenomus triptus* to the egg mass of the stink bug *Piezorus hybneri*. **Entomologia experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 80, p. 475-479, 1996.

HINTON, H.E. **Biology of insects eggs**. England: Pergamon Press, 1981. 473p.

HINTZ, J.L.; ANDOW, D.A. Host age and host selection by *Trichogramma nibilale*. **Entomophaga**, Paris, v. 35, p. 141-150, 1990.

HIROSE, Y.; EHLER, L.E.; HIROSE, Y. Influence of host age on patch use by a quasi-gregarious egg parasitoid. **Environmental Entomology**, College Park, v. 32, n. 4, p. 789-796, 2003.

HOKYO, N.; KRITANI, K. Oviposition behaviour of two egg parasites *Asolcus mitsukurii* Ashmead and *Telonomus nakagawai* Watanabe (Hymenoptera, Proctotrupoidea, Scelionidae). **Entomophaga**, Paris, v. 2, p. 191-201, 1966.

HONDA, J.Y.; LUCK, R.F. Age and suitability of *Amorbia cuneana* (Lepidoptera: Tortricidae) and *Sabulodes aegrotata* (Lepidoptera: Geometridae) eggs for *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Biological Control**, Stanford, v. 18, p. 79-85, 2000.

HU, J.S.; GELMAN, D.B.; BELL, R.A. Effect of selected physical and chemical treatments of Colorado potato beetle eggs on host acceptance and development of the parasitic wasp, *Edovum puttleri*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, 90: 237-245, 1999.

HUBBARD, S.F.; HARVEY, I.F.; FLETCHER, J.P. Avoidance of superparasitism: a matter of learning? **Animal behaviour**, London, v. 57, p. 1193-1197, 1999.

ISIDORO, N. et al. Morphology of antennal gustatory sensilla and glands in some parasitoids Hymenoptera with hypothesis on their role in sex and host recognition. **Journal of Hymenoptera Research**, London, v. 5, p. 206-239, 1996.

ISIDORO, N.; ROMANI, R.; BIN, F. Antennal multiporous sensilla; their gustatory features for host recognition in female wasps (Insecta, Hymenoptera: Platygastroidea). **Microscopy Research and Technique**, New York, v. 55, p. 350-358, 2001.

ISIDORO, N.; SOLINAS, M. Functional morphology of the antennal chemosensilla of *Ceutorhynchus assimilis* Payk. (Coleoptera: Curculionidae). **Entomologica**, Bari, v. 27, p. 69-84, 1992.

IWASA, Y.; SUZUKY, Y.; MATSUDA, H. Theory of oviposition strategy of parasitoids. I. Effect of mortality and limited egg number. **Theoretical Population Biology**, New York, v. 26, p. 205-227, 1984.

IZUMI, S. et al. Yolk proteins from insect eggs: structure, biosynthesis and programmed degradation during embryogenesis. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 40, n. 9, p. 735-746, 1994.

JAHNKE, S.M. et al. Registro da ocorrência de *Spartocera dentiventris* (Berg) (Hem.: Coreidae) em *Nicotiana glauca* Link & Otto (Solanaceae). **Acta Biológica Leopoldênsia**, v. 26, n. 1, p. 151-154, 2004.

JERVIS, M.A. ; COPLAND, M.J.W. The life cycle. In: Jervis M.A; Kidd, N. (Eds.). **Insect Natural Enemies: Practical approaches to their study and evaluation**. London: Chapman & Hall, 1996. p. 63-160.

JERVIS, M.A.; FERNS, P.N.; HEIMPEL, G.E. Body size and timing of egg production in parasitoid wasps: a comparative analysis. **Functional Ecology**, Oxford, v. 17, p. 375-383, 2003.

JERVIS, M.; KIDD, N. **Insect natural enemies: practical approaches to their study and evaluation**. London, Chapman & Hall, 1996. 491p.

JESUS, C.R.; ROMANOWSKI, H.P. Population dynamics of *Corecoris dentiventris* Berg 1884 (Hemiptera: Coreidae) at an experimental tobacco crop in Porto Alegre, RS – Brazil. **Biotemas**, Florianópolis, v. 14, n. 2, p. 47-60, 2001.

JOHNSON, N.F.; RAWLINS, J.E.; PAVUK, D.M. Host-related antennal variation in the polyphagous egg parasite *Telenomus alsophilae* (Hymenoptera: Scelionidae). **Systematic Entomology**, Oxford, v. 12, p. 437-447, 1987.

JULIANO, S.A. Influence of host age on host acceptability and suitability for a species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) attacking aquatic diptera. **Canadian Entomology**, Ottawa, v. 114, p. 713-720, 1982.

KING, B.H. Sequence of offspring sex production in the parasitoid wasp, *Nasonia vitripennis* in response to unparasitized versus parasitized hosts. **Animal Behaviour**, London, v. 45, p. 1236-1238, 1993.

KING, B.H. Offspring sex ratio and number in response to proportion of host sizes and ages in the parasitoid wasp *Spolanga cameroni* (Hymenoptera: Pteromalidae). **Entomological Society of America**, College Park, v. 31, n. 3, p. 505-508, 2002.

KIVAN, M.; KILIC, N. Host preference: Parasitism, emergence and development of *Trissolcus semistriatus* (Hym., Scelionidae) in various host eggs. **Journal of Applied Entomology**, Hamburg, v. 126, n.7-8, p. 395-399, 2002.

KLOMP, H.; TEERINK, B.J. Host selection and number of eggs per oviposition in the egg parasite *Trichogrammas embryophagum* Htg. **Nature**, London, v. 195, p. 1020-1021, 1962.

KLOMP, H.; TEERINK, B.J.; MA, W.C. Discrimination between parasitized and unparasitized hosts by the egg parasitoid *Trichogramma embryophagum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): a matter of learning and forgetting. **Netherlands Journal of Zoology**, Leiden, v. 30, p. 254-277, 1980.

KRAAIJEVELD, A.R.; ADRIAANSE, I.C.T; BERGH van den, B. Parasitoid size as a function of host sex: potential for different sex allocation strategies. **Entomologia Experimentallis et Applicata**, Dordrecht, v. 92, p. 289-294, 1999.

LA BARBERA, M. Analyzing body size as a factor in ecology and evolution. **Annual Review of Ecology and Sistematics**, Palo Alto, v. 20, p. 97-117, 1989.

LAWRENCE, P.O. Host parasite hormonal interactions: an overview. **Journal of Insect Physiology**, Oxford , v. 40, p. 317-322, 1986.

LAWRENCE, P.O; LANZEREIN, B. Hormonal interaction between insect endoparasites and their host insect. In: BECKAGE, N. E.; THOMPSON, S.N.; FEDERICCI, B.A (Eds). **Parasites and pathogens of insects**. San Diego: Academic Press, 1993. p. 168-179.

LENTEREN, J.C. van; BAKKER, K. Discrimination between parasitised and unparasitised hosts in the parasitic wasp *Pseudocoila bochei*: a matter of learning. **Nature**, London, v. 254, p. 417-419, 1975.

LENTEREN, J.C. van.; BAKKER, K.; ALPHEN, J.J.M. van. How to analyse host discrimination. **Ecological Entomology**, London, v. 3, p. 71-75, 1978.

LEWIS, W.J. et al. Understanding how parasitoids balance food and host needs: importance to biological control. **Biological Control**, Orlando, v. 11, p. 175- 183, 1998.

LEWIS, W.J.; TAKASU, K. Use of learned odours by a parasitic wasp in accordance with host and food needs. **Nature**, London, v. 348, p. 635-636, 1990.

LEWIS, W.J.; TUMLINSON, J.H. Host detection by chemically mediated associative learning in a parasitic wasp. **Nature**, London, v. 331, p. 256-259, 1988.

LOIÁCONO, M.S. Nota sobre tres scelionidos parasitoides de hemipteros de la República Argentina y Brasil (Hymenoptera-proctotrupoidea). **Revista de la Sociedad Entomologica Argentina**, Buenos Aires, v. 39, n. 3-4, p. 173-178, 1980.

MACKAUER, M. Sexual size dimorphism in solitary parasitoid wasps: influence of host quality. **Oikos**, Copenhagen, v. 76, p. 265-272, 1996.

MACKAUER, M.; SEQUEIRA, R. Patterns of development in insect parasites. In: In: BECKAGE, N. E.; THOMPSON, S.N.; FEDERICCI, B.A (Eds). **Parasites and pathogens of insects**. San Diego: Academic Press, 1993. p.1-23.

MARCHIORI, C.H.; PENTEADO-DIAS, A.M. Nova ocorrência de *Gryon gallardoi* (Hymenoptera, Scelionidae) parasitóide de Hemiptera em Itumbiara, Goiás, Brasil. **Biociências**, Porto Alegre, v. 10, n. 1, p. 177-179, 2002.

MASNER, L. The variicornis-group of *Gryon* Haliday (Hymenoptera: Scelionidae). **Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 111, p. 791-805, 1979.

MAYHEW, P. J.; GLAIZOT, O. Integrating theory of clutch size and body size evolution for parasitoids. **Oikos**, Buenos Aires, v. 92, p. 372-376, 2001.

**McIVER, S.B. Mechanoreception. In: KERKUT, G.A.; GILBERT, L.I. (Eds.).** Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology, **Oxford: Pergamon Press, 1985. v. 6, p. 71-132.**

MEINERS, T.; HILKER, M. Induction of plant synomones by oviposition of a phytophagous insect. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 26, n. 1, p. 221-232, 2000.

MORRIL, W.L.; ALMAZON, L.P. Effect of host plant species and age of rice bug (Hemiptera: Alydidae) eggs parasitism by *Gryon nixonii* (Hymenoptera: Scelionidae). **Journal of Entomological Science**, Tifton, v. 25, n. 3, p. 450-452, 1990.

NAVASERO, R.; OATMAN, E. Life history immature morphology and adult behaviour of *Telenomus solitus* (Hymenoptera: Scelionidae). **Entomophaga**, Paris, v. 34, p. 165-177, 1989.

NECHOLS, J.R.; TRACY, J.L.; VOGT, E. Comparative ecological studies of indigenous egg parasitoids (Hymenoptera: Scelionidae; Encyrtidae) of squash bug, *Anasa tristis* (Hemiptera: Coreidae). **Journal Of The Kansas Entomological Society**, Manhattan, v. 62, n. 2, p. 177-188, 1988.

NODA, T.; HIROSE, Y. "Males second" strategy in the allocation of sexes by the parasitic wasp, *Gryon japonicum*. **Oecologia**, Berlin, v. 81, p. 145-148, 1989.

NOLDUS, L.P.J.; LENTEREN, J.C. van. Kairomones for the egg parasite *Trichogramma evanescens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Westwood. I- Effect of volatile substances released by two of its hosts, *Pieris brassicae* L. (Lepidoptera: Pieridae) and *Mamestra brassicae* L. (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.11, n.6, p. 781-791, 1985.

NORTON, W.N.; VINSON, S.B. Antennal sensilla of three parasitic Hymenoptera. **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, Oxford, v. 3, p. 305-316, 1974.

NUFIO, C.R.; PAPA, D.R. Host marking behaviour in phytophagous insects and parasitoids. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 99, p. 273-293, 2001.

OCHIENG, S. A. et al. Functional morphology of antennal chemoreceptors of the parasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). **Arthropod Structure & Development**, Oxford, v.29, p. 231-240, 2000.

OKUDA, M.S.; YEARGAN, K.V. Intra and interspecific host discrimination in *Telenomus podisi* and *Trissolcus euschisti* (Hymenoptera: Scelionidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 81, p. 1017-1020, 1988.

OLSON, D.M.; ANDOW, D.A. Antennal sensilla of female *Trichogramma nubilale* (Erthe and Davis) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and comparisons with other parasitic hymenoptera. **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, Oxford, v. 22, p. 507-520, 1993.

ORR, D. B. Scelionid wasps as biological control agents: a review. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 71, p. 506-528, 1988.

ORR, D.B.; RUSSIN, J.S.; BOETHEL, D.J. Reproductive biology and behaviour of *Telenomus calvus* (Hymenoptera: Scelionidae), a phoretic egg parasitoid of *Podisus maculiventris* (Hemiptera: Pentatomidae). **Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 118, p. 1063-1072, 1986.

PAK, G.A. Behavioral variations among strains of *Trichogramma* spp. A review of the literature on host age selection. **Journal Applied Entomology**, Hamburg, v.101, p. 55-64, 1986.

PAK, G.A. et al. Behavioral variations among strains of *Trichogramma* spp. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, 40: 247-258, 1986.

PAK, G. A. et al. Host egg chorion structure influencing host suitability for the egg parasitoid *Trichogramma* Westwood. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 36, n.11, p. 869-875, 1990.

PAPAJ, D. R.; PROKOPY, R. J. Ecological and evolutionary aspects of learning in phytophagous insects. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 34, p. 315-350, 1989.

PARSEVAL, M. von. As pragas do fumo do Rio Grande do Sul. **Chácaras e quintais**, São Paulo, v. 56, p. 489-494, 1937.

PRICE, P. W. **Evolutionary Biology of Parasites**. Princeton: Princeton University Press, 1980. 368p.

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

RABB, R.L.; BRADLEY, J.R. Marking host eggs by *Telenomus sphingis*. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 63, n.4, p. 1053-1056, 1970.

RIVERO, A.; WEST, S.A. The physiological costs of being small in a parasitic wasp. **Evolutionary Ecology Research**, London, v. 4, p. 407-420, 2002.

ROMEIS, J.; SHANOWER, T.G.; MADHURI, K. Biology and field performance of *Gryon cravigrallae* (Hymenoptera: Scelionidae), an egg parasitoid of *Clavigralla* spp. (Hemiptera: Coreidae) in Índia. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 90, p. 253-263, 2000.

ROSENHEIM, J.A. An evolutionary argument for egg limitation. **Evolution**, Malden, v. 50, n. 5, p. 2089-2094, 1996.

ROSI, M.C. et al. Source of the host marking pheromone in the egg parasitoid *Trissolcus basalis* (Hymenoptera: Scelionidae). **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 47, p. 989-995, 2001.

RUBERSON, J.R.; KRING, T.J. Parasitism of developing eggs by *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Host age preference and suitability. **Biological Control**, Orlando, v. 3, p. 39-46, 1993.

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

SALT, G. Experimental studies in insect parasitism II. Superparasitism. **Proceedings of the Royal Society of London, Series B**, London, v. 122, p. 57-75, 1934.

SALT, G. Experimental studies in insect parasitism III. Host selection. **Proceedings of the Royal Society of London B**, London, v. 117, p. 413-435, 1935.

SALT, G. Experimental studies in insect parasitism IV. Host suitability. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 29, p. 223-246, 1938.

SALT, G. The resistense of insect parasitoids to the defense reactions of their hosts. **Biological Reviews**, London, v. 43, n. 2, p. 200-232, 1968.

SALT, G. Teratocytes as a means of resistense to cellular defense reactions. **Nature**, London, v. 232, p. 639, 1971.

SANTOS, S.S.R.; REDAELLI, L.R.; DIEFENBACH, L.M.G. Ocorrência de parasitismo em ovos de *Spartocera dentiventris* (Berg) (Hemiptera: Coreidae) em cultura de fumo. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 4, p.731-733, 2001.

SCHAEFER, C.W.; PANIZZI, A.R. **Heteroptera of Economic Importance**. Florida: CRC Press, 2000. 828p.

SCHMIDT, J.M. Host recognition and acceptance by *Trichogramma*. In: Wajnberg, E.; Hassan, S.A (Eds). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB Internacional, 1994. p. 165-200.

SCHMIDT, J.M.; SMITH, J.J.B. The measurement of exposed host volume by the parasitoid wasp *Trichogramma minutum* and the effects of wasp size. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 65, p. 2837-2845, 1987.

SCHNEIDER, D. Insect Antennae. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 9, p. 103-122, 1964.

SILVA, A.G.A. et al. **Quarto catálogo dos insetos que vivem em plantas do Brasil, seus parasitos e predadores**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1968. Parte II, 1º tomo, 622p.

SKILBECK, C.A.; ANDERSON, M. The ultrastructure and distribution of sensilla on the antennae of the adult parasitoids *Aleochara bilineata* Gyll. and *Aleochara bipustulata* L. (Coleoptera: Staphylinidae). **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, Oxford, v. 25, n. 3, p. 261-280, 1996.

SLIFER, E.H. The structure of arthropod chemoreceptors. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 15, p. 121-142, 1970.

SNODGRASS, R.E. **Principles of Insect morphology**. New York: McGraw-Hill, 1935. 667p.

SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. **Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research**. New York: W.H. Freeman and Company, 1981. 859p.

SOLIS, S.R.; FAGUNDES, G.G.; AMARAL-FILHO, B.F. Comportamento de oviposição de *Gryon gallardoi* em ovos de *Leptoglossus zonatus*. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 76, n. 6, p. 451-462, 2001.

SOUZA, C.E.P.; AMARAL-FILHO, B.F. Ocorrência natural de parasitóides de *Leptoglossus zonatus* (Dallas) (Heteroptera: Coreidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 28, n. 4, p. 757-759, 1999.

SOUSA, J.M.; SPENCE, J.R. Host age and parasitismo by *Thiphodytes gerriphagus* (Hymenoptera: Scelionidae), an egg parasitoid of water striders (Heteroptera: Gerridae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 94, n. 5, p. 681-685, 2001.

SPEIRS, D.C.; SHERRAT, T.N.; HUBBARD, S.F. Parasitoid diets: does superparasitism pay? **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v. 6, p. 22-25, 1991.

STEIDLE, J.L.M.; LOON, J.J.A. van Chemoecology of parasitoid and predator oviposition behaviour. In: HILKER, M. ; MEINERS, T. (Eds.). **Chemoecology of insect egg deposition**. Oxford: Blackwell Publishing, 2002. p. 291-317.

STRAND, M.R. The physiological interactions of parasitoids with their host and their influence on reproductive strategies. In: WAGE, J.; GREATHEAD, D. (Eds.). **Insects parasitoids**. 13 th Symposium of the Royal Entomological Society of London. Orlando: Academic Press, 1986. p. 97-129.

STRAND, M.R.; VINSON, S.B. Host acceptance behaviour of *Telenomus heliothidis* (Hymenoptera: Scelionidae) toward *Heliothis virescens* (Lepdoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 76, n. 4, p. 781-785, 1983a.

STRAND, M.R.; VINSON, S. B. Factors affecting host recognition and acceptance in the egg parasitoid *Telenomus heliothidis* (Hymenoptera: Scelionidae). **Environmental Entomology**, College Park, v. 12, n. 4, p. 1114-1119, 1983b.

STRAND, M.R.; VINSON, S.B. Analyses of an egg recognition kairomone of *Telenomus heliothidis* (Hymenoptera: Scelionidae): Isolation and host function. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 9, n. 3, p. 423-433, 1983c.

SUZUKI, Y., TSUJI, H.; SASAKAWA, M. Sex allocation and effects of superparasitism on secondary sex ratios in the gregarious parasitoid *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Animal Behaviour**, London, v. 32, p. 478-484, 1984.

TAKASU, K.; HIROSE, Y. Host acceptance behaviour by the host-feeding egg parasitoid *Oencirtus nezarae* (Hymenoptera: Encyrtidae) host age effects. **Entomological Society of America**, College Park, v. 86, n.1, p. 117-121, 1993.

TAKASU, K.; TAKENAKA, I; MITSURU, S. Physical factors affecting external host recognition by the polyphagous egg parasitoid *Ooencyrtus nezarae* (Hymenoptera: Encyrtidae). **Journal of Insect Behaviour**, Columbia, v. 15, n. 6, p. 851-858, 2002.

TEDER , T.; TAMMARU, T. Sexual size dimorphism within species increases with body size in insects. **Oikos**, Buenos Aires, v. 108, p. 321-334, 2005.

THOMPSON, S.N. Redirection of host metabolism and effects on parasite nutrition. In: BECKAGE, N. E.; THOMPSON, S.N.; FEDERICCI, B. A. (Eds). **Parasites and pathogens of insects**. San Diego: Academic Press, 1993. p. 125-144.

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

VET, L.E.M. et al. An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. **Physiology Entomological**, London, v. 8, p. 97-106, 1984.

VET, L.E.M.; LEWIS, W.J.; CARDÉ, R.T. Parasitoid foraging and learning. In: CARDÉ, R. T.; BELL, W. J. (Eds.). **Chemical Ecology of Insects 2**. New York: Chapman & Hall, 1995. p.65-101.

VILELLA, E.F.; DELLA-LUCIA, T.M.C. Introdução aos semioquímicos e terminologia. In: VILELLA E.F ; DELLA-LÚCIA. T.M.C. (Eds.), **Ferômonios de Insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas**. 2ª ed. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p.127-134.

VILHELMOSEN, L. et al. Host location and oviposition in a basal group of parasitic wasps: the subgenital organ, ovipositor apparatus and associated structures in the Orussidae (Hymenoptera, Insecta). **Zoomorphology**, Berlin, v. 121, n. 2, p. 63-84, 2002.

VILLA, L.; MINEO, G. Morphology of antennal structures of *Gryon boseli* Mineo and Szabo (Hymenoptera: Scelionidae): a scanning electron microscope study. **Frustula Entomologica n.s.**, Pisa, v. 13, p. 9-17, 1990a.

VILLA, L.; MINEO, G. Mapping of the antennal structures of *Gryon pennsylvanicum* (Ashmead): a SEM study (Hym.: Scelionidae). **Frustula Entomologica n.s.**, Pisa, v. 13, p. 225-235, 1990b.

VINSON, S.B. Biochemical coevolution between parasitoids and their host. In: PRICE, P.W. (Ed.) **Evolutionary and strategies of parasitic insects and mites**. New York : Plenum Press, 1975. p. 14-36.

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

VINSON, S.B. Chemical signals used by parasitoids. **Redia: Giornale di Entomologia**, Firenze, v. 124, n. 3, p. 15-42, 1991.

VINSON, S.B. Comportamento de seleção hospedeira de parasitóides de ovos com ênfase na família Trichogrammatidae. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Eds). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 67-119.

VINSON, S.B. The general host selection behaviour of parasitoid hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological Control**, Orlando, v. 11, p. 9-96, 1998.

VINSON, S.B.; IWANTSCH, G.F. Host suitability for insect parasitoids. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 25, p. 397-419, 1980.

VISSER, M.E, et al. Adaptative superparasitism in solitary parasitoids: marking of parasitized hosts in relation to the pay-off from superparasitism. **Ecological Entomology**, London, v. 17, p. 76-82, 1992.

VOLKOFF, N.; COLAZZA, S. Growth patterns of teratocytes in the immature stages of *Trissolcus basalis* (Woll.) of *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae). **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, Oxford, v. 21, n. 4, p. 323-336, 1992.

WAAGE, J.K. Sib-mating and sex ratio strategies in scelionid wasps. **Ecological Entomology**, London, v. 7, p. 103-112, 1982.

WAAGE, J.K. Family planning in parasitoids: adaptative patterns of progeny and sex allocation. In: WAGE, J.K; GREATHEAD, D. (Eds.). **Insects parasitoids**. 13 th Symposium of the Royal Entomological Society of London. Orlando: Academic Press, 1986. p. 63-65.

WEBER, C.A. et al. Ovipositional behaviour and host discrimination in three scelionid egg parasitoid of stink bug. **Biological Control**, Orlando, v. 6, p. 245-252, 1996.

WEST, S.A.; REECE, S.E.; SHELDON, B.C. Sex ratios. **Heredity**, London, v. 88, p. 117-124, 2002.

WEST, S.A; FLANAGAN, K.E.; GODFRAY, H.C.J. The relationship between parasitoid size and fitness in the field, a study of *Achrysocharoides zwoelferi* (Hymenoptera: Eulophidae). **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 65, p. 631-639, 1996.

WIEDEMANN, L.M. et al. Oviposition behaviour of *Gryon galardoii* (Hym.: Scelionidae) in eggs of *Spartocera dentiventris* (Hem.: Coreidae). **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 63, n. 1, p. 133-139, 2003.

WIGGLESWORTH, V.B. **Insect physiology**. 8. ed. New York: Chapman & Hall, 1984. 191p.

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

ZACHARUCK, R. Y. Ultrastructure and function of insect chemosensilla. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 25, p. 27-47, 1980.

ZACHARUK, R. Y. Antennae and sensilla. In: KERKUT, G.A.; GILBERT, L.I. (Eds.). **Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology**. Oxford: Pergamon Press, 1985. v. 6, p.1-69.