

**CRISTINA ARANTES DE FARIA**

**Resposta de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e  
*Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera:  
Trichogrammatidae) a Voláteis de Plantas e Ovos de *Spodoptera  
frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2001**

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

F224r  
2001

Faria, Cristina Arantes de, 1977-

Resposta de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) a voláteis de plantas e ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) / Cristina Arantes de Faria. – Viçosa : UFV, 2001.  
50p. : il.

Orientador: Evaldo Ferreira Vilela  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Viçosa

1. Lagarta-do-cartucho - Controle biológico. 2. Lagarta-do-cartucho - Parasitóides - Semioquímicos. 3. Relação hospedeiro-parasito. 4. Interação tritrófica. 5. Olfatometria. 6. *Spodoptera frugiperda*. 6. *Telenomus remus*. 7. *Trichogramma atopovirilia*. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 19.ed. 595.7810452

CDD 20.ed. 595.7810452

**CRISTINA ARANTES DE FARIA**

**Resposta de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e  
*Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera:  
Trichogrammatidae) a Voláteis de Plantas e Ovos de *Spodoptera*  
*frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

APROVADA: 30 de Julho de 2001.

**Prof. Angelo Pallini Filho  
(Conselheiro)**

**Prof. José Henrique Schoereder  
(Conselheiro)**

**Dr. Ivan Cruz**

**Dra. Madelaine Venzon**

**Prof. Evaldo Ferreira Vilela  
(Conselheiro)**

## AGRADECIMENTOS

Concordo com Antonio Machado, poeta servilhano, que escreveu que fazemos nosso caminho ao andar. Quando olho para trás percebo o quanto fui feliz ao fazer o meu caminho e escolher (e ser escolhida!) as pessoas com as quais convivi. Obrigada por continuarem me mostrando as “dores e delícias” da entomologia, me ensinarem a “fazer ciência” e não me deixarem esquecer que a vida é mais que isso.

Minha gratidão eterna a meus pais, pela confiança, oportunidades oferecidas, apoio, estímulo e pelo amor incondicional; e a Tiago, cuja racionalidade compensa os meus devaneios.

À Clau, Romerinho e Beto, que foram muito mais que simples amigos, e tornaram mais doces esses dois anos de Viçosa; a Jorge (mesmo distante) pelo estímulo, paciência e apoio (como sempre!); e a todos os companheiros de café no trailler, por aguardarem comigo a frutificação da árvore de teses!

Ao Evaldo, pela confiança e apoio; ao Eraldo, pelas sugestões dadas ao trabalho, conversas informais e pelo melhor café de toda a universidade; ao Angelo, prova viva de que bons pesquisadores também podem ser boas pessoas; ao Zé Henrique que aceitou encarar um desafio não muito agradável, com extremo bom humor, e à Madelaine, pelos valiosos comentários dados ao trabalho. Vocês foram muito mais do que supervisores ou examinadores. Não sei o que seria de mim sem vocês!

Ao Dr. Ivan Cruz, pelo fornecimento dos parasitóides; e a Geraldo Magela (LACRI - Embrapa Milho e Sorgo), pela presteza no envio dos parasitóides.

Ao “povo” do laboratório: Alessandra e Aline (pela criação da *Spodoptera*), Ana (pela paciência para me escutar por horas), Fabiano, Cantor, Fernando, Marcy (pela companhia ao lado do compressor), Mônica, Robs (por seu famoso bolo de blueberry), Rosy e Vivi. Minhas sextas-feiras não serão as mesmas sem o nosso “chá das cinco”.

Ao Nicolas, pela revisão de abstract mais divertida de que tenho notícias!

A Arne Janssen, pelas dicas de enorme valor.

À “Dona” Paula, que mais que uma secretária eficiente, é uma pessoa amável e bem humorada, fazendo com que burocracia não seja tão desagradável.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) pela oportunidade de realização do Curso e à Capes pela concessão de bolsa de estudo.

## **BIOGRAFIA**

CRISTINA ARANTES DE FARIA, filha de José Arantes Sobrinho e Valdete Faria e Arantes, nasceu em 16 de dezembro de 1977 na cidade de Petrolina, PE.

Em 1995 iniciou o curso de Bacharelado em Ciências Biológicas na Universidade Federal Rural de Pernambuco, sendo bolsista de Iniciação Científica na Universidade Federal de Pernambuco sob a supervisão da Prof. Ângela Maria Isidro de Farias. Concluiu o curso em julho de 1999.

Em agosto de 1999, iniciou o Curso de Mestrado em Entomologia na Universidade Federal de Viçosa sob a orientação do Prof. Evaldo Ferreira Vilela, submentendo-se à defesa de tese em 30 de julho de 2001.

Esta tese segue as “**Normas para redação de teses**” aprovadas pelo Conselho de Pós-Graduação da Universidade Federal de Viçosa, em 01 de dezembro de 2000.

Os artigos foram escritos de acordo com as normas da revista “**Neotropical Entomology**”.

# ÍNDICE

	<b>Página</b>
<b>RESUMO</b>	vii
<b>ABSTRACT</b>	ix
<b>1. Introdução Geral</b>	1
<b>2. Literatura Citada</b>	5
<b>CAPÍTULO 1 – Localização de ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) por <i>Telenomus remus</i> Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e <i>Trichogramma atopovirilia</i> Oatman &amp; Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Fontes de Odor Utilizadas</b>	7
<b>Material e Métodos</b>	9
<b>Resultados</b>	12
<b>Discussão</b>	13
<b>Literatura Citada</b>	20
<b>CAPÍTULO 2 – Localização de Ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) por <i>Telenomus remus</i> Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e <i>Trichogramma atopovirilia</i> Oatman &amp; Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Efeito de Aprendizagem</b>	24
<b>Material e Métodos</b>	25
<b>Resultados</b>	27
<b>Discussão</b>	28
<b>Literatura Citada</b>	34

<b>CAPÍTULO 3 – Resposta de <i>Telenomus remus</i> Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e <i>Trichogramma atopovirilia</i> Oatman &amp; Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) a Ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) Parasitados Intra e Interespecificamente</b>	<b>37</b>
<b>Material e Métodos</b>	<b>38</b>
<b>Resultados</b>	<b>40</b>
<b>Discussão</b>	<b>41</b>
<b>Literatura Citada</b>	<b>47</b>
<b>Conclusões Gerais</b>	<b>50</b>

## RESUMO

FARIA, Cristina Arantes de, M.S., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2001. **Resposta de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) a Voláteis de Plantas e Ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae).** Orientador: Evaldo Ferreira Vilela. Conselheiros: Angelo Pallini Filho e José Henrique Schoereder.

A lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma praga polífaga de grande importância para várias culturas. Atualmente, vem sendo controlada principalmente através da utilização de inseticidas, entretanto alguns agentes de controle biológico apresentam potencial para reduzir o tamanho das suas populações, entre eles *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae), que são parasitóides de ovos de *S. frugiperda*. O entendimento de como os inimigos naturais de determinada praga interagem entre si e com os outros componentes do sistema é fundamental para o manejo de pragas. Dessa forma, foram realizados testes em olfatômetro de 4 braços, com o objetivo de esclarecer como *T. remus* e *T. atopovirilia* se relacionam entre si e com diferentes plantas hospedeiras.

**Teste 1:** Avaliou os sinais que as fêmeas das duas espécies de parasitóides utilizam para localizar *S. frugiperda*, qual a influência de diferentes plantas hospedeiras sobre a busca dos parasitóides e se, através da detecção de diferentes sinais, há separação das guildas dos parasitóides. As fontes de odor utilizadas foram: milho, sorgo, algodão, milho + ovos de *S. frugiperda*, sorgo + ovos de *S. frugiperda*, algodão + ovos de *S. frugiperda*, ovos de *S. frugiperda*, e ovos de *S. frugiperda* lavados com hexano.

**Teste 2:** Avaliou se fêmeas de *T. remus* e *T. atopovirilia* criadas massalmente, que emergem num ambiente com estímulos provenientes da cultura-alvo (milho) e do hospedeiro (fêmeas experientes), buscam o hospedeiro mais eficientemente e são mais capazes de discriminar entre plantas com e sem hospedeiros do que fêmeas que emergem em condições normais de criação massal (fêmeas inexperientes).

**Teste 3:** Avaliou se *T. remus* e *T. atopovirilia* são arrestados da mesma forma por ovos de *S. frugiperda* parasitados por coespecíficos, por heteroespecíficos e não-parasitados, e se os parasitóides são capazes de discriminar entre ovos parasitados por co ou heteroespecíficos e não-parasitados. Em todos os testes, o parâmetro avaliado foi o tempo que as fêmeas gastaram em cada um dos braços do olfatômetro, sendo os resultados obtidos analisados pelos testes de Wilcoxon ou Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de comparações múltiplas ( $P < 0,05$ ). As fêmeas das duas espécies foram arrestadas por voláteis provenientes das plantas hospedeiras, plantas hospedeiras + ovos, e ovos de *S. frugiperda*, não sendo arrestadas pelos ovos de *S. frugiperda* lavados com hexano. Isso indica que as fêmeas utilizam voláteis provenientes de várias plantas hospedeiras e do hospedeiro para sua localização. O fato das fêmeas não terem sido arrestadas por ovos lavados com hexano significa que o(s) composto(s) presente(s) na superfície dos ovos e que são responsáveis pelo arrestamento dos parasitóides, são solúveis nessa substância. Comparando-se as respostas das fêmeas das duas espécies, é possível perceber que não houve diferenças de arrestamento das fontes milho, sorgo, algodão, ovos e ovos lavados, entre elas. Entretanto as fêmeas de *T. remus* foram significativamente mais arrestadas pelas fontes milho+ovos, sorgo+ovos e algodão+ovos

do que as fêmeas de *T. atopovirilia*, o que indica que semioquímicos do complexo planta+hospedeiro são usados mais eficientemente por *T. remus*. Quando as fêmeas de *T. remus* e *T. atopovirilia* tiveram a chance de escolher entre plantas com e sem posturas, ambas preferiram plantas com postura, exceto *T. atopovirilia* em sorgo. Isso indica que os parasitóides são capazes de discriminar, utilizando voláteis, áreas com e sem hospedeiros, dessa forma otimizando a busca. Quando tiveram a oportunidade de escolher entre voláteis provenientes de milho, sorgo e algodão, as duas espécies apresentaram respostas semelhantes, indicando que pequenas diferenças interespecíficas na resposta a voláteis de diferentes plantas hospedeiras podem fazer com que haja redução na sobreposição das guildas das duas espécies. Nos testes de aprendizagem foi observado que fêmeas experientes e não-experientes respondem da mesma forma à planta de milho com ovos. Entretanto, quando têm a possibilidade de escolher entre plantas com e sem ovos, as fêmeas de *T. remus*, ao contrário das fêmeas de *T. atopovirilia* experientes, são significativamente mais arrestadas para plantas de milho com ovos do que fêmeas inexperientes, indicando que ocorre aprendizagem em *T. remus* no momento da emergência. O fato de que esse mecanismo torna a busca pelo hospedeiro mais eficiente faz com que seja um método potencial para melhorar o controle promovido por essa espécie de parasitóide. Com relação ao reconhecimento à distância de ovos parasitados intra e interespecificamente, fêmeas das duas espécies foram arrestadas da mesma forma por ovos parasitados por co ou heteroespecíficos e ovos não-parasitados. Além disso, quando estavam na presença de voláteis provenientes de ovos parasitados intra ou interespecificamente e ovos não-parasitados, não houve diferença no arrestamento dos dois tipos de ovos. Isso indica que as substâncias utilizadas para marcar ovos parasitados só atuam à curta distância, o que pode ser explicado pelo fato de que os marcadores que atuam à longa distância podem tornar os hospedeiros marcados mais conspícuos para hiperparasitóides e predadores, sendo dessa forma prejudiciais para a espécie.

## ABSTRACT

FARIA, Cristina Arantes de, M.S., Universidade Federal de Viçosa, July 2001. **Response of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) and *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) to volatiles from plants and *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) eggs.** Adviser: Evaldo Ferreira Vilela. Committee Members: Angelo Pallini Filho and José Henrique Schoereder.

The fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) is an important pest for many crops and has been controlled by the use of pesticides. However it can be potentially controlled by the use of natural enemies like *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) and *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae), egg parasitoids of *S. frugiperda*. Nowadays it is known that the understanding of how the natural enemies of a pest interact among each other and with the other components of the system, have main importance to the pest management. Hence experiments to discover how *T. remus* and *T. atopovirilia* interact between each other and with different host plants were performed in a 4 way olfactometer.

**Test 1:** Assessed which cues the females of the two parasitoid species use to find *S. frugiperda*, how different host plants influenced the parasitoid search and if the parasitoid guilds are separated through the detection of different cues. The odour sources used were: corn, sorghum, cotton, corn + *S. frugiperda* eggs, sorghum + *S. frugiperda* eggs, cotton + *S. frugiperda* eggs, *S. frugiperda* eggs, and *S. frugiperda* eggs washed with hexane.

**Test 2:** Assessed if massal raised females of *T. remus* and *T. atopovirilia* that emerge in an environment with stimuli from the target pest and crop (experienced females) search for the host more efficiently and are more able to distinguish between plants with and without the host than females that emerge in normal conditions of massal raising (inexperienced females).

**Test 3:** Assessed if *T. remus* and *T. atopovirilia* are attracted by eggs parasitized by conspecific, heterospecific and non parasitized; and if the females are able to distinguish between eggs parasitized by con or heterospecifics and non parasitized. For all the tests the parameter evaluated was the time spent in each arm of the olfactometer. The results were analysed by the Wilcoxon test or Kruskal-Wallis test followed by the multiple comparison test ( $P < 0.05$ ). The females of both species were attracted by volatiles from the host plants, host plants+eggs and *S. frugiperda* eggs; and were not attracted by the *S. frugiperda* eggs washed with hexane. It indicates that the parasitoid females use volatiles from many host plants and from the host in the search process. The fact that the females were not attracted by eggs washed with hexane means that the compound(s) on the egg surface that are responsible for the parasitoid attraction are soluble in this substance. By comparing the responses of the females of the two species it is possible to notice that the attractivity of corn, sorghum, cotton, eggs, and eggs washed with hexane were the same for both species. However the females of *T. remus* were more attracted by corn+eggs, sorgum+eggs and cotton+eggs than *T. atopovirilia*. It means that the cue plant+host is more efficiently used by *T. remus*. When the females of *T. remus* and *T. atopovirilia* had the chance to choose between plants with and without eggs, both preferred plants with eggs except *T. atopovirilia* on sorghum. It means that the parasitoids are able to distinguish, through volatiles, areas with and without host, hence optimising the search. When they had the chance to choose among volatiles from corn,

sorghum and cotton, the two species showed a slightly different behaviour, indicating that interspecific differences in the responses to volatiles from host plants may cause a reduction of the superposition of the two parasitoids guilds. On the learning tests it was observed that experienced and inexperienced females show the same responses to corn plants with eggs. However when they can choose between plants with and without eggs, experienced *T. remus* females (but not experienced *T. atopovirilia* females) are more attracted to plants with eggs than inexperienced females, indicating that a learning process occurs in emergence in *T. remus*, and as this mechanism makes the *T. remus* search more efficient, it can be used to increase the level of control promoted by this parasitoid in the field. Concerning the ability to recognise at long range eggs parasitized intra and interspecifically, the females of both species were attracted in the same way by eggs parasitized by con or heterospecifics and non parasitized. Moreover, they could not distinguish between the odour of eggs parasitized intra or interspecifically and nonparasitized eggs, when they were in presence of both types. It means that the substances used to mark parasitized eggs are only perceived at short range or by contact. It can be explained by the fact that marks that could be perceived at long range would make the parasitized hosts more conspicuous to hyperparasitoids and predators, thus being detrimental to the parasitoid.

## Introdução Geral

Quando consideramos o pequeno tamanho da maioria dos parasitóides e seus hospedeiros e a complexidade estrutural do ambiente que habitam, encontrar um hospedeiro adequado parece uma difícil tarefa. Para superar esse desafio, parasitóides desenvolveram mecanismos que os guiam para seus hospedeiros, utilizando sinais químicos, físicos e visuais provenientes destes ou associados a eles, sendo sinais químicos os mais comumente utilizados. Além de importantes na localização, os semioquímicos são também fundamentais para a aceitação e reconhecimento do hospedeiro (Vinson 1997).

Outro problema enfrentado pelos parasitóides é a constante pressão em que seus hospedeiros se encontram para se manterem incospícuos, dificultando a sua localização. Dessa forma, sinais provenientes do hospedeiro apesar de serem altamente confiáveis, são de difícil detecção, ao contrário daqueles provenientes da planta hospedeira, que são de fácil detecção mas não fornecem informações confiáveis da presença do hospedeiro (Turlings *et al.* 1990a). Os parasitóides de larvas conseguiram ultrapassar esse obstáculo da confiabilidade-detectabilidade das informações utilizando os voláteis induzidos por herbivoria produzidos pelas plantas (Mattiacci *et al.* 1994). Entretanto, para a maioria dos parasitóides de ovos, não é possível utilizar estímulos desse tipo pois, até onde se sabe, sinomônios só são induzidos na oviposição quando esta envolve dano mecânico aos tecidos da planta (Meiners & Hilker 2000). Dessa forma, parasitóides de ovos de hospedeiros que não danificam a planta no momento da oviposição precisam utilizar outros estímulos para a localização do hospedeiro.

Sabe-se que sinais químicos do habitat do hospedeiro podem atrair o parasitóide mesmo quando o hospedeiro não se encontra no habitat (Nordlund *et al.* 1988). A importância da planta hospedeira na localização do hospedeiro é reforçada por outras evidências: 1) herbívoros não relacionados taxonomicamente e que se alimentam da mesma planta hospedeira frequentemente dividem as mesmas espécies de parasitóides; e 2) um dos fatores que influenciam o parasitismo de uma espécie polífaga de herbívoro é a planta hospedeira que ele está atacando (Nordlund *et al.* 1988).

Entretanto, semioquímicos provenientes de plantas hospedeiras não informam ao parasitóide sobre a presença ou densidade dos hospedeiros, de forma que a detecção de sinais provenientes do hospedeiro também são fundamentais para a sua localização. Sabe-

se que parasitóides exploram a comunicação entre indivíduos da espécie hospedeira, como observado em vários parasitóides de ovos que são atraídos por feromônio sexual do hospedeiro, já que esse indica que existe ou haverá ovos do hospedeiro na área (Vinson 1984).

Semioquímicos provenientes do corpo do adulto também são frequentemente utilizados na localização por parasitóides de ovos e, segundo Parker *et al.* (1971), atuam como arrestantes, mantendo o parasitóide na área em que está o hospedeiro. Os principais compostos utilizados pelos parasitóides estão presentes nas escamas do corpo do hospedeiro. Durante a oviposição escamas são depositadas sobre os ovos, fazendo com que os compostos das escamas sejam utilizados na localização direta dos ovos.

Considerando que a maioria dos parasitóides utiliza mais de um hospedeiro e planta hospedeira, o ambiente químico no qual estão inseridos é bastante complexo e dinâmico. Segundo Eiras & Gerk (2001), nessa situação um procedimento de busca simples e rígido não permitiria que os parasitóides explorassem eficientemente todos os recursos disponíveis, tornando a aprendizagem um elemento essencial na estratégia de forrageamento dos parasitóides.

Quando um parasitóide que utiliza vários hospedeiros e plantas hospedeiras emerge, ele está diante de dois problemas: qual hospedeiro buscar e em que microhabitat. Na ausência de evidências diretas sobre a localização correta de hospedeiro, o parasitóide pode obter informações do seu local de emergência, já que hospedeiros estiveram nesse tipo de ambiente há uma geração. Dessa forma, parasitóides inexperientes podem ser selecionados para se orientarem em direção a estímulos associados com o local em que emergiram.

Estudos de aprendizagem têm se concentrado principalmente nas respostas do parasitóide após uma experiência positiva como oviposição (Vet 1983, Turlings *et al.* 1990b, Turlings *et al.* 1993), entretanto o estudo da aprendizagem - que pode ocorrer durante a emergência do parasitóide - também é de fundamental importância e pode ser usado para condicionar inimigos naturais usados no manejo de pragas, aumentando a sua eficiência.

Outro ponto importante no manejo de pragas é a forma como os inimigos naturais interagem. Durante muito tempo considerou-se a adição de mais de um inimigo natural num programa de controle biológico de pragas como um modo de incrementá-lo. Entretanto, isso nem sempre é verdadeiro e, segundo Ferguson & Stiling (1996), existem ao menos cinco resultados possíveis quando mais de um inimigo natural é liberado em campo: (1) os inimigos naturais podem agir sinergisticamente, resultando em maior

mortalidade da praga do que seria esperado; (2) a mortalidade da praga corresponderá à soma das mortalidades individuais promovidas pelos inimigos naturais (aditividade de mortalidade); (3) os inimigos naturais interagem promovendo menor mortalidade da praga do que a “mortalidade aditivada”; (4) a mortalidade total pode ser igual à causada por um dos inimigos naturais sozinho; e, (5) a mortalidade total pode ser menor do que quando cada inimigo natural age sozinho.

Sendo assim, o estudo dessas interações é fundamental para tornar o controle biológico de pragas mais eficiente e também para explicar o motivo do insucesso de alguns programas de controle. Quando duas espécies atacam o mesmo hospedeiro, elas podem competir por ele ou pode haver uma separação de suas guildas. Essa separação pode ser causada por diferenças interespecíficas na resposta a estímulos provenientes do hospedeiro ou de seu ambiente. Nos casos em que não há separação de guildas dos parasitóides, há maior probabilidade das fêmeas encontrarem hospedeiros parasitados por outras espécies. Nessa situação, a fêmea pode decidir ovipositar no hospedeiro parasitado ou não. Geralmente as fêmeas não reconhecem ou não respeitam marcações feitas por fêmeas de outra espécie (Hagvar 1989) e, quando a discriminação interespecífica ocorre, geralmente as espécies são intimamente relacionadas (Vet *et al.* 1984).

Já o reconhecimento de ovos parasitados por coespecíficos é bastante comum em parasitóides, uma vez que o superparasitismo pode ter consequências deletérias para a espécie, pois a competição entre as larvas do parasitóide dentro do hospedeiro pode causar a morte de uma delas ou a redução do “fitness” (van Alphen & Visser 1990).

Avaliar à distância se um hospedeiro está ou não parasitado parece ser uma estratégia mais eficiente do que analisar o estado do hospedeiro somente após o contato, pois assim a fêmea poderia alocar o tempo e a energia que seriam gastos manipulando um hospedeiro inadequado na busca de hospedeiros adequados.

No manejo de pragas, o entendimento de como os inimigos naturais interagem com os outros componentes do sistema é de fundamental importância, uma vez que atua como suporte: à seleção dos agentes de controle; à previsão dos resultados da utilização conjunta de mais de um inimigo natural; à previsão do efeito dos inimigos naturais introduzidos sobre pragas e culturas não-alvo; ao desenvolvimento de métodos para a conservação e incremento da eficiência, tanto de inimigos naturais que ocorrem naturalmente, como dos que são liberados; e à explicação das causas de insucesso de alguns programas de controle biológico.

Com relação à lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), segundo Lewis & Nordlund (1984), essa praga é um grande desafio para o controle biológico, e a redução de suas populações envolve o uso de estratégias que aumentem o tamanho e a eficiência de inimigos naturais em resposta às infestações da praga. Isso significa a utilização maciça de liberações de parasitóides nas áreas atacadas e/ou a manipulação ambiental para aumentar a eficiência de parasitóides liberados e que ocorrem naturalmente. Esse aumento de eficiência pode ser conseguido com a utilização de semioquímicos. Cairomônios podem ser utilizados para estimular o comportamento de busca dos parasitóides antes da sua liberação; cairomônios e sinomônios podem ser aplicados em campo para manter e atrair os parasitóides para a área-alvo. O estudo das interações que ocorrem entre os inimigos naturais existentes na área também é de fundamental importância para o incremento do controle, pois fornece informações sobre a espécie ou combinação de espécies que devem ser utilizadas em determinadas situações (Fergusson & Stiling 1996).

Dentre os inimigos naturais de *S. frugiperda*, *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) são parasitóides de ovos que têm potencial para controlá-la, entretanto pouco se sabe sobre como esses dois parasitóides interagem entre si e com os outros componentes do sistema. Sendo assim, o presente trabalho teve o objetivo de estudar de que forma estes parasitóides interagem entre si e com os outros componentes do sistema, inferindo sobre como essas informações podem ser utilizadas no controle biológico. As informações foram agrupadas em três capítulos. O Capítulo 1 avalia quais estímulos os parasitóides utilizam para localizar o hospedeiro, como respondem a diferentes plantas hospedeiras e se há diferenças nos estímulos utilizados para a localização do hospedeiro pelas duas espécies. O Capítulo 2 avalia a ocorrência de aprendizagem no momento da emergência em *T. remus* e *T. atopovirilia*, e discute-se como isso pode ser utilizado no manejo de pragas. O Capítulo 3 avalia como fêmeas das duas espécies respondem a ovos parasitados por co e heteroespecíficos e, se conseguem discriminar entre estes e ovos não-parasitados.

Com relação à terminologia utilizada para descrever a resposta do parasitóide, considerou-se que as fêmeas foram arrestadas pelas fontes de odor, uma vez que não entraram nos braços do olfatômetro, mas passaram maior parte do tempo de observação em campos do olfatômetro com determinadas fontes de odor, o que mostra a intensificação da busca em áreas com voláteis provenientes de algumas das fontes de odor testadas, caracterizando arrestamento por essas fontes.

## Literatura Citada

- Fergusson, K.I. & P. Stiling. 1996.** Non-additive effects of multiple natural enemies on aphid populations. *Oecologia* 108: 375 - 379.
- Eiras, A.E. & A.O. Gerk. 2001.** Cairomônios e aprendizagem em parasitóides. p. 127-134. In: E.F. Vilela & T.M.C. Della Lucia (eds.), *Feromônios de Insetos: Biologia, química e emprego no manejo de pragas*. 2 ed. Ribeirão Preto. Holos. 206 p.
- Hagvar, E.H. 1989.** Interspecific competition in parasitoids, with implications for biological control. *Acta Entomol. Bohemoslov.* 86: 321-335.
- Lewis, W.J. & D.A. Nordlund. 1984.** Semiochemicals influencing fall armyworm parasitoid behavior: implications for behavioral manipulation. *Fla. Entomol.* 67: 343-349.
- Mattiacci, L., M. Dicke & M.A. Posthumus. 1994.** Induction of parasitoid attracting synomone in Brussel sprout plants by feeding of *Pieris brassicae* larvae: Role of mechanical damage and herbivore elicitor. *J. Chem. Ecol.* 20: 2229-2247.
- Meiners, T & M. Hilker. 2000.** Induction of plant synomones by oviposition of a phytophagous insect. *J. Chem. Ecol.* 26: 221-232.
- Nordlund, D.A., W.J. Lewis & M.A. Altieri. 1988.** Influences of plant produced allelochemicals on the host and prey selection of entomophagous insects. p. 65-90 In: P. Barbosa & D.K. Letourneau (eds.), *Novel aspects of insect-plant interactions*. New York, John Wiley, 362p.
- Parker, F.D., F.R. Lawson & R.E. Pinnell. 1971.** Suppression of *Pieris rapae* using a new control system: mass releases of both the pest and its parasitoids. *J. Econ. Entomol.* 64: 721-735.
- van Alphen, J.J.M. & M.E. Visser. 1990.** Superparasitism as an adaptative strategy for insect parasitoids. *Ann. Rev. Entomol.* 35: 59-79.

- Turlings, T.J.C., J.H. Tumlinson, & W.J. Lewis. 1990a.** Exploitation of herbivore-induced plant odors by host seeking parasitic wasps. *Science* 250: 1251-1253
- Turlings, T.C.J., J.W.A. Scheepmaker, L.E.M. Vet, J.H. Tumlinson & W.J. Lewis. 1990b.** How contact foraging experiences affect preferences for host-related odours in the larval parasitoid *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae). *J. Chem. Ecol.* 16: 1577-1589.
- Turlings, T.C.J., F.L. Wäckers, L.E.M. Vet, W.J. Lewis & J.H. Tumlinson. 1993.** Learning of host finding cues by hymenopterous parasitoids, p. 51-78. In: D.R. Papaj & W.J. Lewis (eds.), *Insect learning: Ecological and evolutionary perspectives*. New York, Chapman & Hall, 385p.
- Vet, L.E.M. 1983.** Host-habitat location through olfactory cues by *Leptopilina clavipes* (Hartig) (Hym.: Eucoilidae) a parasitoid of fungivorous *Drosophila*: The influence of conditioning. *Nrth. J. Zool.* 33: 225-248.
- Vet, L.E.M., J.C. van Lenteren, M. Heymans, & E. Meelis. 1984.** An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. *Physiol. Entomol.* 8: 97 - 106
- Vinson, S.B. 1984.** How parasitoids locate their hosts: a case of insect espionage, p. 325-348. In: T. Lewis (ed.), *Insect communication*. London, Academic Press, 181p.
- Vinson, S.B. 1997.** Comportamento de seleção hospedeira de parasitóides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae, p. 67-119. In: J.R.P. Parra & R.A. Zucchi (eds.), *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba, FEALQ, 324p.

## Capítulo 1

### **Localização de ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) por *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Fontes de Odor Utilizadas**

Na natureza as fêmeas dos parasitóides buscam hospedeiros em vários substratos, movendo-se dentro e entre eles de maneira complexa, não ao acaso (van Alphen & Vet 1986). Elas respondem a uma hierarquia de estímulos de diferentes naturezas que as encaminham para o seu hospedeiro potencial, usando então outros estímulos para decidir ovipositar ou não.

Os estímulos químicos são freqüentemente utilizados por parasitóides em todas as fases do processo de localização do hospedeiro (Vinson 1997). No início do processo, os semioquímicos utilizados geralmente são provenientes de plantas e do hospedeiro (Tumlinson et al. 1992, Vet & Dicke 1992). Estes estímulos variam no seu conteúdo de informações e detectabilidade. Estímulos provenientes do hospedeiro são mais confiáveis, mas geralmente de difícil detecção, enquanto aqueles provenientes da planta são mais facilmente detectáveis, porém geralmente fornecem menos informações específicas sobre o hospedeiro (Vet et al. 1991). Alguns parasitóides de ovos e larvas lidam com esse problema respondendo a voláteis induzidos por danos mecânicos na planta pela oviposição e alimentação (Paré et al. 1999, Meiners & Hilker 2000). Já para parasitóides de ovos cujos hospedeiros não danificam a planta no momento da oviposição, voláteis induzidos por herbivoria não seriam sinais confiáveis, pois não indicam a existência de ovos do hospedeiro no presente ou num futuro próximo.

Parasitóides de ovos geralmente utilizam feromônio sexual do hospedeiro, semioquímicos presentes no corpo do adulto e provenientes das plantas hospedeiras, como sinais para a localização do hospedeiro ou da área de sua possível ocorrência (Bourarach & Hawlitzky 1984, Noldus & van Lenteren 1985, Vinson 1997), uma vez que, segundo Vinson (1984), hospedeiros sésseis como ovos liberam poucos compostos voláteis fazendo com que os parasitóides precisem usar sinais provenientes de outras fontes para localizá-

los. Os semioquímicos provenientes de substâncias depositadas sobre ou em volta dos ovos no momento da oviposição, como escamas, ou utilizadas para fixar os ovos ao substrato, como substâncias provenientes das glândulas coletéricas, atuam na atração à curta distância e/ou contato (Ferreira *et al.*1979, Renou *et al.*1989, Shu & Jones 1989) e são importantes na localização e no reconhecimento do ovo (Frenoy *et al.*1992).

No contexto do manejo de pragas, quando se desejava incrementar a eficiência dos parasitóides utilizando semioquímicos, os métodos inicialmente aventados eram a utilização de feromônio sexual ou outra substância do corpo do hospedeiro, e extratos de plantas atrativas, que pulverizados na área-alvo aumentariam o parasitismo (Altieri *et al.* 1981, Nordlund *et al.* 1983). Entretanto, atualmente sabe-se que o conhecimento dos estímulos utilizados pelos parasitóides para localizar o hospedeiro pode ser muito útil em vários outros aspectos do controle biológico, pois, por exemplo, pequenas diferenças interespecíficas em qualquer um dos passos da busca podem levar a uma separação ou redução da sobreposição das guildas de diferentes espécies de parasitóides (Vet & van Alphen 1985, Rutledge & Wiedenmann 1999).

Sendo assim, o conhecimento dos semioquímicos utilizados por diferentes espécies de parasitóides para localizar um hospedeiro pode ser útil para: prever os resultados da utilização conjunta de mais de um inimigo natural; prever se um inimigo natural tem potencial para a utilização numa determinada cultura; indicar qual a espécie ou conjunto de espécies deve ser liberado para que o controle de determinada praga seja mais eficiente; prever o efeito de agentes de controle introduzidos sobre espécies e culturas não-alvo; e explicar as causas de insucessos em programas de controle biológico.

A lagarta do cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) é uma praga de grande importância econômica para várias culturas. Seus hospedeiros preferenciais são gramíneas, entretanto, várias culturas como algodão, soja, tomate e tabaco podem ser utilizadas como plantas hospedeiras (Andrews 1980). Seu controle vem sendo feito utilizando-se principalmente inseticidas, mas o controle biológico utilizando insetos entomófagos é bastante promissor (Cruz 1995).

*Telenomus remus* Nixon e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner são parasitóides de ovos de *S. frugiperda* e podem potencialmente controlá-la através de liberações massais. Figueiredo (1998), após a liberação de *T. remus* em uma área de milho, quantificou o seu parasitismo nesse herbívoro que, somado ao parasitismo natural de *T. atopovirilia*, chegou a 85%.

Os objetivos deste trabalho foram investigar de que forma *T. remus* e *T. atopovirilia* se guiam para o hospedeiro *S. frugiperda*, qual a sua relação com diferentes plantas hospedeiras e, se através da detecção de diferentes semioquímicos há separação de guildas dos parasitóides.

## Material e Métodos

**Plantas:** Foram utilizadas plantas de milho cv. AG 122, de sorgo forrageiro cv. AG. 2501c, e de algodão cv. Deltaopal, com dois a três meses de idade. Para a obtenção de posturas de *S. frugiperda*, as plantas foram colocadas por 48 h numa gaiola com adultos desse lepidóptero. Para padronizar a quantidade de posturas na planta, nos testes foram utilizados conjuntos de cinco a oito plantas com 20 posturas no total.

***S. frugiperda*:** A criação de *S. frugiperda* foi mantida em dieta artificial à base de feijão, segundo a metodologia proposta por Cruz (1994). Nos testes foram utilizados ovos com até 48 h de idade.

**Parasitóides:** Os parasitóides utilizados foram provenientes do LACRI, Embrapa Milho e Sorgo. Sendo *T. remus* multiplicado em ovos de *S. frugiperda* e *T. atopovirilia* em ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller). Nos testes foram utilizadas fêmeas, com dois a quatro dias de idade, alimentadas com mel. As fêmeas foram individualizadas em cápsulas gelatinosas. Para evitar que passassem muito tempo sem alimento, somente cinco fêmeas foram individualizadas de cada vez, ou seja, a cada cinco fêmeas testadas outras cinco eram individualizadas e testadas.

**Procedimentos gerais:** Os testes foram realizados no olfatômetro de 4 braços proposto por Vet *et al.* (1984b) (Figura 1). As fontes de odor foram conectadas a um ou mais braços do olfatômetro e nos outros água destilada para umidificar o ar. A abertura para a entrada do parasitóide na arena do olfatômetro foi coberta com organza e as fêmeas individualmente colocadas no centro da arena para o início dos testes. Os fluxômetros na entrada de cada um dos braços foram calibrados para 5,0 L/h.

Cada observação teve duração de 600 segundos, sendo avaliado o tempo que a fêmea passou em cada um dos campos de odor da arena. Quando a fêmea entrava em um dos braços do olfatômetro, o tempo restante da observação era somado ao tempo gasto no campo. Fêmeas que passavam mais de 300 segundos sem se movimentar foram descartadas. Para cada fonte de odor foram testadas 20 fêmeas, sendo os testes realizados em mais de um dia e utilizando diferentes conjuntos de plantas ou ovos. A cada cinco

fêmeas a posição da fonte de odor era modificada para eliminar efeitos da posição da fonte sobre a escolha da fêmea. Para a análise foi utilizada a média do tempo gasto pelas fêmeas nos campos com ar umidificado. Quando duas ou mais fontes de odor eram testadas simultaneamente, estas eram colocadas em braços adjacentes do olfatômetro.

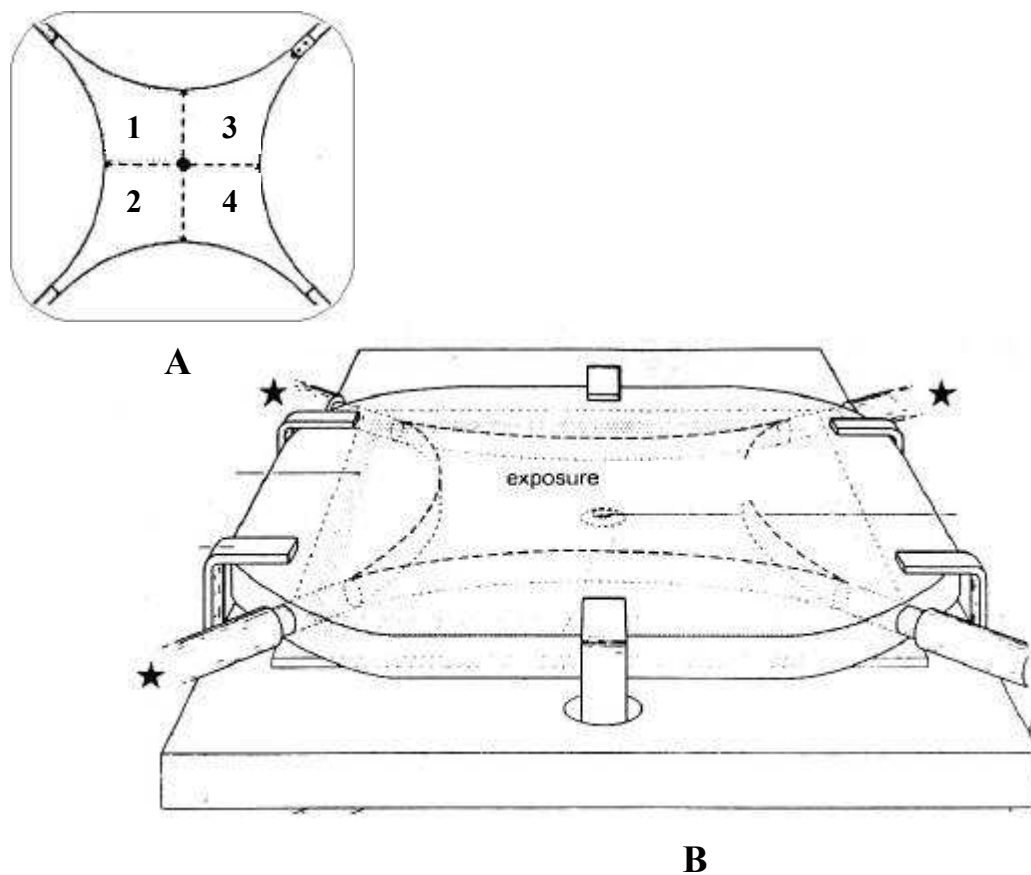


Figura 1. Olfatômetro de 4 braços. A: vista superior mostrando os campos de odor. B: vista geral da arena.

**Testes para avaliar o arrestamento dos parasitóides a diferentes fontes de odor:** As fontes de odor testadas foram: milho, sorgo, algodão, milho + ovos, sorgo + ovos, algodão + ovos, ovos, e ovos lavados com hexano. Esse último tratamento teve o objetivo de avaliar se os compostos responsáveis pelo arrestamento dos parasitóides pelo ovo são provenientes dos ovos ou de substâncias depositadas sobre eles pelas fêmeas no momento da oviposição.

Para avaliar se *T. remus* e *T. atopovirilia* são arrestados por plantas de milho, sorgo e algodão, cinco a oito plantas de cada uma das culturas foram colocadas em uma bandeja plástica e esta colocada dentro de uma bandeja maior (60 x 40 x 4,5 cm) com água. Uma caixa de acrílico (50 x 36 x 43 cm) foi então colocada sobre as plantas de modo que a água vedasse o sistema. O mesmo processo foi utilizado para plantas com ovos.

Quando ovos foram utilizados como fonte de odor, foram colocados em erlenmeyers, os quais foram conectados ao sistema. Para padronizar a quantidade de ovos utilizada como fonte de odor, o papel onde as posturas eram depositadas foi cortado em volta destas e utilizou-se *ca.* 0,5 g de ovos + papel. No tratamento ovos lavados, as posturas foram lavadas por três vezes com hexano e utilizadas após a sua total evaporação.

**Testes para avaliar a capacidade de discriminação de plantas com e sem ovos:** Com o objetivo de avaliar se as fêmeas são capazes de discriminar plantas com e sem ovos, estes dois tipos de plantas, de cada uma das culturas, foram utilizados, sendo cada tipo conectado a um dos braços do olfatômetro.

**Testes para avaliar a capacidade de discriminação de diferentes plantas:** Foi avaliada a resposta das fêmeas a plantas de milho, sorgo e algodão, sendo as caixas com plantas de cada uma das culturas conectadas a um dos braços do olfatômetro.

**Análise dos dados:** Os dados referentes aos testes de arrestamento dos parasitóides e comparação entre as fêmeas das duas espécies foram submetidos ao teste de Wilcoxon, e aqueles referentes aos testes de discriminação de plantas com e sem ovos e discriminação de diferentes plantas foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de comparações múltiplas (Zar 1984).

## Resultados

**Arrestamento dos parasitóides a diferentes fontes de odor:** As fêmeas de *T. remus* e *T. atopovirilia* foram arrestadas ( $P < 0,05$ ) pelas fontes de odor testadas, com exceção de ovos lavados com hexano (Figura 2).

As fêmeas de *T. remus* passaram  $383,99 \pm 48,54$  segundos (média  $\pm$  erro-padrão) no campo com voláteis provenientes de milho,  $427,48 \pm 45,52$  segundos no campo com voláteis provenientes de sorgo,  $474,36 \pm 43,91$  segundos no campo com voláteis provenientes de algodão,  $510,03 \pm 38,07$  segundos no campo com voláteis provenientes de milho + ovos,  $535,15 \pm 27,12$  segundos no campo sorgo + ovos,  $498,05 \pm 40,15$  segundos no campo algodão + ovos,  $393,70 \pm 47,69$  segundos no campo ovos e  $174,67 \pm 38,74$  segundos no campo ovos lavados.

As fêmeas de *T. atopovirilia* passaram  $376,38 \pm 41,49$  segundos no campo com voláteis provenientes de milho,  $387,35 \pm 74,67$  segundos no campo com voláteis provenientes de sorgo,  $393,10 \pm 43,12$  segundos no campo com voláteis provenientes de algodão,  $443,72 \pm 35,13$  segundos no campo com voláteis provenientes de milho + ovos,  $343,58 \pm 52,89$  segundos no campo sorgo + ovos,  $369,89 \pm 52,34$  segundos no campo algodão + ovos,  $473,51 \pm 41,80$  segundos no campo ovos e  $227,31 \pm 47,16$  segundos no campo ovos lavados.

Comparando-se as respostas das duas espécies às diferentes fontes de odor, pode-se observar que *T. remus* passa significativamente mais tempo no campo com o complexo planta-hospedeiro que *T. atopovirilia* ( $P < 0,05$ ) (Figura 2 D, E, F).

**Discriminação de plantas com e sem ovos:** As fêmeas das duas espécies foram capazes de discriminar entre plantas com e sem o seu hospedeiro, preferindo as últimas ( $P < 0,05$ ) (Figura 3), exceto no caso de fêmeas de *T. atopovirilia*, que não responderam de forma diferente a voláteis provenientes de sorgo e de sorgo com ovos de *S. frugiperda*. As fêmeas de *T. atopovirilia* passaram  $103,99 \pm 38,14$  segundos no campo milho, e  $408,91 \pm 43,98$  segundos no campo milho + ovos;  $250,58 \pm 55,58$  segundos no campo sorgo, e  $316,06 \pm 54,09$  segundos no campo sorgo + ovos;  $143,97 \pm 47,42$  segundos no campo algodão e  $376,89 \pm 54,09$  segundos no campo algodão + ovos.

As fêmeas de *T. remus* passaram  $143,64 \pm 43,52$  segundos no campo milho, e  $401,44 \pm 47,13$  no campo milho + ovos;  $165,11 \pm 44,41$  segundos no campo sorgo, e  $376,01 \pm$

51,85 segundos no campo sorgo + ovos; 160,47 ? 48,29 segundos no campo algodão, e 394,09 ? 48,01 segundos no campo algodão + ovos.

Também não foram observadas diferenças quando se comparou as respostas das fêmeas das duas espécies a cada uma das fontes (Figura 3).

**Discriminação de diferentes plantas hospedeiras:** Quando foi oferecida a possibilidade de escolher entre plantas de milho, sorgo e algodão, as fêmeas de *T. atopovirilia* responderam de forma semelhante a todas as plantas ( $P < 0,05$ ) (Figura 4), pois passaram 125,89 ? 42,02 segundos no campo com milho, 191,28 ? 55,03 segundos no campo com sorgo, e 256,25 ? 58,38 segundos no campo com algodão. O mesmo aconteceu com as fêmeas de *T. remus* ( $P < 0,05$ ), pois passaram 137,51 ? 33,04 segundos no campo com voláteis provenientes de plantas de algodão, 291,54 ? 66,87 segundos no campo com voláteis provenientes de milho e 170,82 ? 55,81 segundos no campo com voláteis provenientes de sorgo.

## Discussão

Os resultados obtidos demonstram que as fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. remus* usam voláteis, no processo de busca pelo hospedeiro, provenientes do hospedeiro e de plantas que podem servir de alimento para ele. O fato de que as fêmeas de *T. remus* foram significativamente mais arrestadas por voláteis de milho + ovos, sorgo + ovos e algodão + ovos que as fêmeas de *T. atopovirilia*, indica que a combinação planta hospedeira + hospedeiro desencadeia uma resposta mais forte em *T. remus* do que em *T. atopovirilia*.

A utilização de compostos voláteis provenientes da planta hospedeira, do hospedeiro e do complexo planta-hospedeiro, como sinais para parasitóides na busca do hospedeiro é bastante comum. Com relação às espécies estudadas, sabe-se que *T. remus*, assim como várias espécies de *Trichogramma*, utilizam na localização do hospedeiro sinais provenientes do seu corpo, feromônio sexual e voláteis provenientes de plantas (Altieri *et al.* 1981, Nordlund *et al.* 1983, Lewis & Nordlund *et al.* 1984, Noldus & van Lenteren 1985, Nordlund *et al.* 1987, Gazit *et al.* 1996).

Sinais provenientes da planta hospedeira são fundamentais durante o processo de localização dos parasitóides. Uma forma de aumentar a eficiência de parasitóides em culturas nas quais não são bem sucedidos é pulverizar extratos de plantas preferidas pelos parasitóides na cultura, como feito por Altieri *et al.* (1981) que observaram que a aplicação de extratos de *Amaranthus retroflexus* e milho aumentaram o parasitismo de ovos de

*Helicoverpa zea* (Bod.) por *Trichogramma* sp. nativos em soja, caupi, tomate e algodão. A aplicação de extratos de milho e tomate sobre caupi também aumentaram o parasitismo de ovos por *T. remus* (Lewis & Nordlund 1984).

As duas espécies estudadas no presente trabalho foram arrestadas por todas as plantas hospedeiras testadas, indicando potencial para a sua utilização nestas culturas. Diferenças na detecção de voláteis da planta hospedeira podem ser sinais para explicar o insucesso de alguns parasitóides em determinadas culturas. *Trichogramma chilonis* Ishii é repelido pelo odor de guandu, o que pode explicar o baixo parasitismo de ovos de *Helicoverpa armigera* (Hubner) nessa cultura (Romeis *et al.* 1997), e *Trichogramma* sp. p. *buesi* é repelido pelo odor de algodão, sendo provavelmente este o motivo do insucesso da utilização deste parasitóide nessa cultura (Garcia & Piqueras 1985).

Como visto anteriormente, semioquímicos provenientes da planta hospedeira têm grande importância na busca pelos parasitóides, entretanto esses sinais não fornecem informações sobre a presença, ausência ou densidade de hospedeiros, no caso de parasitóides de ovos. Dessa forma, a detecção de sinais provenientes do ovo é fundamental e demonstrada em várias espécies (Renou *et al.* 1992, Gazit *et al.* 1996), sendo detectada também nas espécies aqui estudadas (Figura 2 A, B, C).

A ausência de arrestamento dos ovos lavados com hexano indica que o(s) composto(s) que desencadeia(m) a resposta positiva na fêmea é solúvel nessa substância, sendo completamente retirado dos ovos por ela. A ausência de arrestamento também indica que o(s) composto(s) utilizado(s) pela fêmea do parasitóide para encontrar os ovos é depositado pela fêmea adulta do hospedeiro sobre a sua postura, não sendo uma substância proveniente diretamente do ovo. Renou *et al.* (1992) observaram um fato semelhante e afirmam que heneicosano, tricosano, pentacosano, heptacosano e nonacosano são os principais responsáveis pelo arrestamento de *Trichogramma brassicae* Bezd. Segundo Jones *et al.* (1973) as escamas de asas de mariposas são as principais fontes desses compostos, indicando que o arrestamento dos parasitóides pelos ovos do hospedeiro é mediado pelas escamas depositadas sobre eles, o que corrobora com os resultados encontrados no presente estudo, visto que as fêmeas de *S. frugiperda* depositam grande quantidade de escamas sobre a postura após a oviposição.

Fêmeas de *T. remus* e *T. atopovirilia* foram também significativamente arrestadas pelo complexo planta-hospedeiro e capazes de discriminar entre plantas hospedeiras com e sem ovos, exceto *T. atopovirilia* em sorgo (Figura 3). Estes resultados indicam que, uma vez localizada a área-alvo, as fêmeas dos parasitóides têm a capacidade de distinguir,

utilizando compostos voláteis, os microhabitats onde localizam-se seus hospedeiros. Isso aparenta ser uma estratégia eficiente, pois permite que o parasitóide se guie à distância por estímulos que irão encaminhá-los às proximidades do hospedeiro. Resultados contrários a esses foram encontrados nos parasitóides larvais de *Drosophila* spp., que não foram capazes de distinguir entre substratos infestados e não-infestados pelo hospedeiro (Vet 1983, Dicke *et al.* 1984, Vet 1985). Os autores especulam que essas respostas podem ser devido ao fato de que raramente pode-se encontrar substratos que são utilizados por larvas de *Drosophila* sem a sua infestação. Nesse caso, a resposta a semioquímicos derivados do hospedeiro parece supérflua. Já no caso de *T. remus* e *T. atopovirilia*, a capacidade de discriminar à distância entre plantas com e sem ovos é altamente adaptativa e de particular utilidade em situações de baixa densidade do hospedeiro, pois os parasitóides irão alocar seu tempo buscando as áreas onde certamente existem hospedeiros.

O fato das fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. remus* apresentarem os mesmos níveis de arrestamento por cada uma das plantas hospedeiras, quando estas foram testadas separadamente (Figura 2 A, B, C), sugere que pode haver competição direta entre as duas espécies. Entretanto, quando as fêmeas têm a chance de escolher a planta hospedeira, podem ser observadas pequenas diferenças no comportamento de cada espécie (Figura 4). Pequenas diferenças na resposta a semioquímicos provenientes do hospedeiro poderiam causar separação das guildas dos dois parasitóides, como foi observado por Vet (1983) e Vet *et al.* (1984a) no sistema *Drosophila* spp.-parasitóides, onde ocorre uma certa separação de guildas no início do processo de busca, quando cada parasitóide é atraído por estímulos voláteis para um microhabitat específico.

Sabe-se que *T. remus* e *T. atopovirilia* são encontrados em campo nas mesmas culturas, entretanto uma preferência dos parasitóides por determinadas plantas hospedeiras, como constatado no presente estudo, pode reduzir a sobreposição de suas guildas diminuindo, conseqüentemente, a competição. Esse fato pode também indicar que no manejo de pragas cada uma das espécies tem maior potencial para controlar pragas em determinadas culturas.

Os resultados obtidos mostram que *T. remus* e *T. atopovirilia* utilizam estímulos provenientes de plantas hospedeiras, hospedeiro e complexo planta-hospedeiro para a localização, conseguindo discriminar entre plantas com e sem hospedeiros, mostrando que as fêmeas dos parasitóides alocam de maneira eficiente o tempo e a energia durante a busca. Observou-se também que as duas espécies de parasitóides apresentam diferenças sutis de resposta quando têm a possibilidade de escolher entre diferentes plantas

hospedeiras. Isso pode indicar que há uma leve diminuição da competição dos parasitóides mediada pela planta hospedeira. Esse fato pode ser utilizado no manejo de pragas na escolha da espécie de parasitóide indicada para controlar *S. frugiperda* em diferentes culturas. Essa determinação é importante, uma vez que apesar de *T. remus* e *T. atopovirilia* serem arrestados por voláteis de todas as plantas testadas, o fato de existir a preferência por voláteis de algumas culturas em relação a outras pode fazer com que o parasitóide abandone a área-alvo, tornando a sua liberação ineficiente.

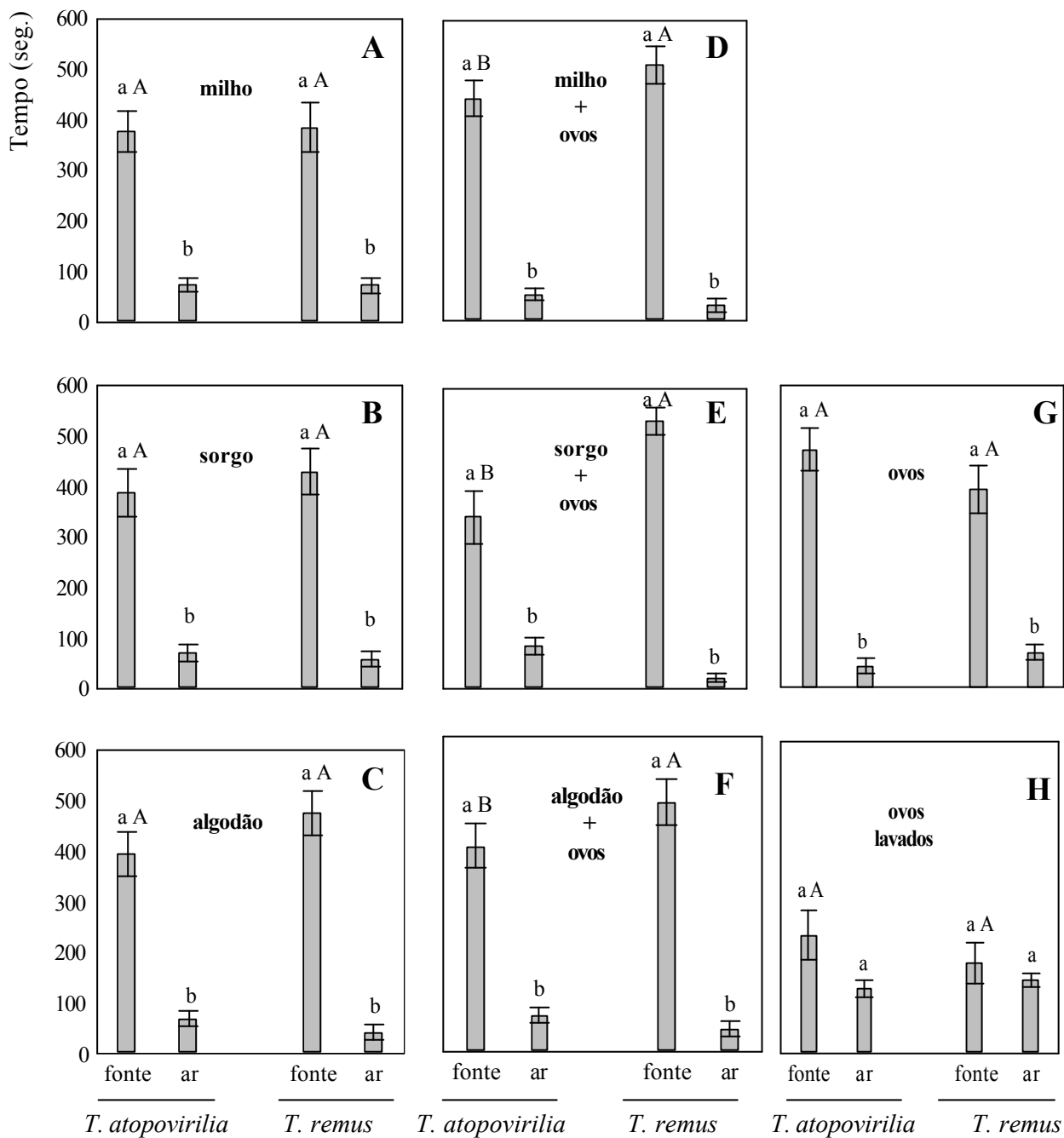


Figura 2. Resposta de fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. remus* a diferentes fontes de odor em olfatômetro de 4 braços (Média do tempo gasto em cada campo ± EP). Barras sob a mesma letra minúscula não diferem dentro da espécie para cada fonte de odor e barras sob a mesma letra maiúscula não diferem entre as duas espécies e mesma fonte de odor, quando comparadas pelo teste de Wilcoxon ( $P < 0,05$ ),  $n = 20$ ; ar = ar umidificado.

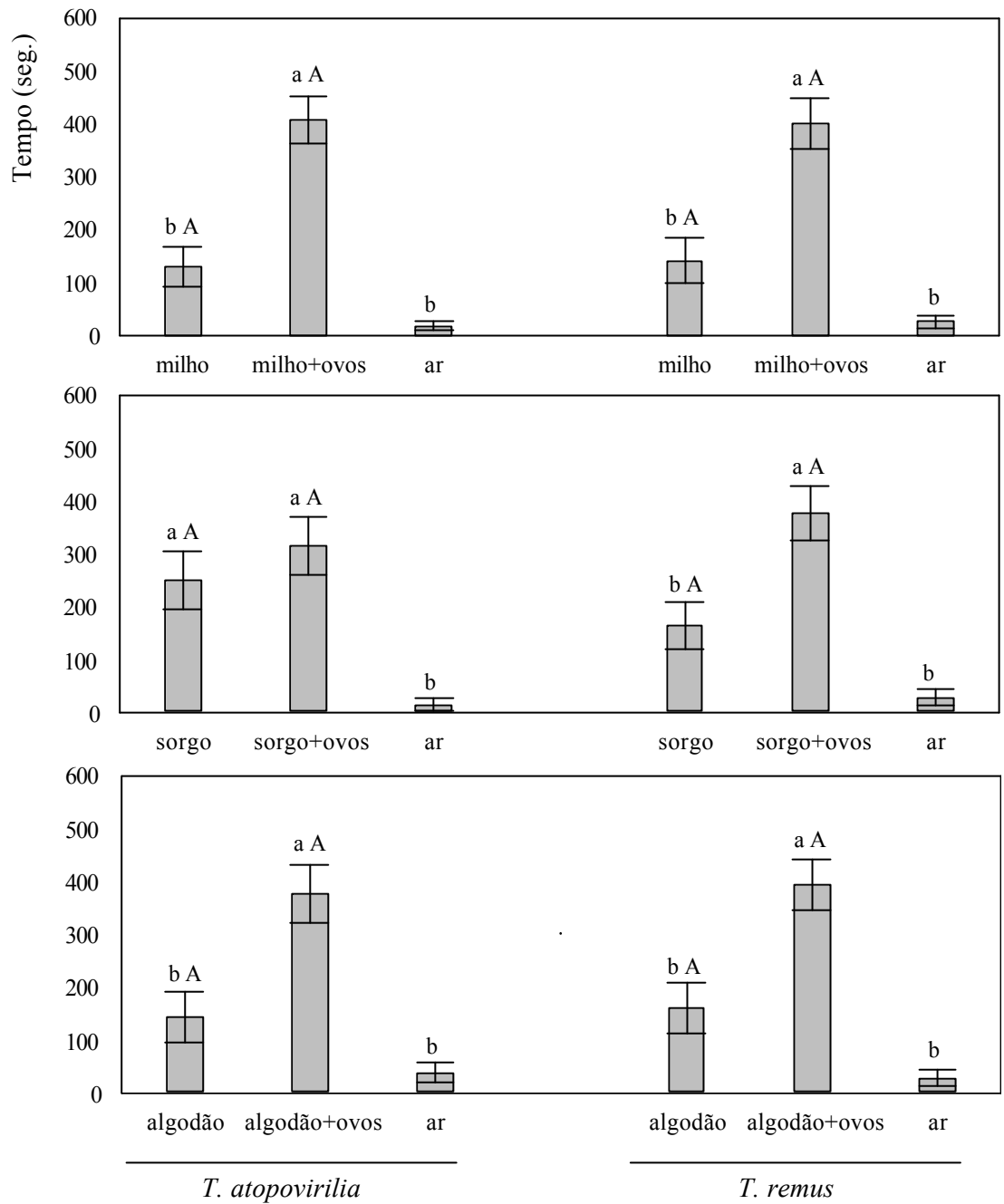


Figura 3. Capacidade de fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. remus* discriminarem entre diferentes fontes de odor em olfatômetro de 4 braços (Média do tempo gasto em cada campo ± EP). Barras sob a mesma letra minúscula não diferem dentro da espécie quando comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ). Barras sob a mesma letra maiúscula não diferem entre as duas espécies e mesma fonte de odor, quando comparadas pelo teste de Wilcoxon ( $P < 0,05$ ),  $n = 20$ ; ar = ar umidificado.

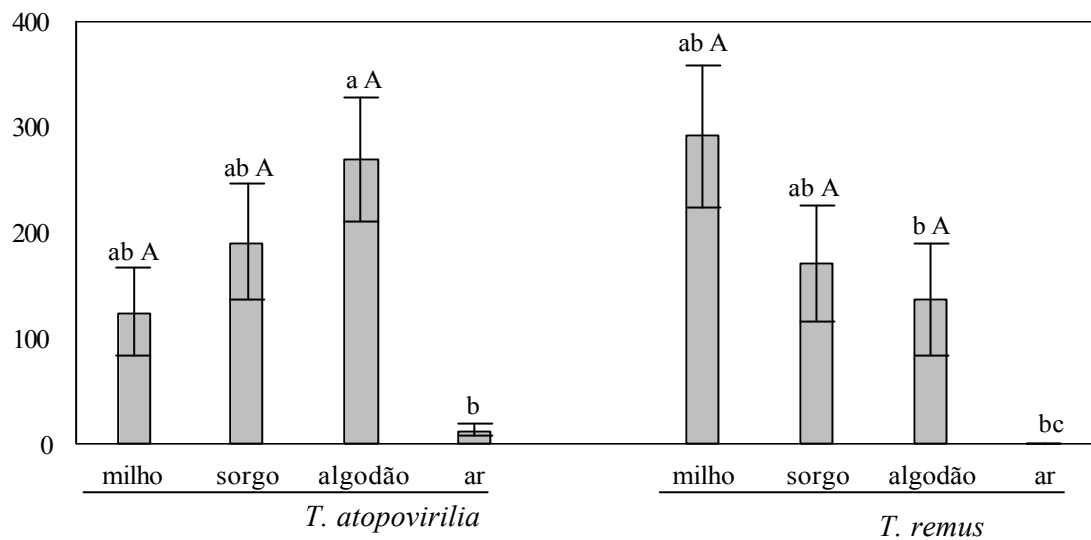


Figura 4. Resposta de fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. remus* a diferentes plantas hospedeiras em olfatômetro de 4 braços (Média do tempo gasto em cada campo ? EP). Barras sob a mesma letra minúscula não diferem dentro da espécie quando comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ). Barras sob a mesma letra maiúscula não diferem entre as duas espécies e mesma planta hospedeira, quando comparadas pelo teste de Wilcoxon ( $P < 0,05$ ),  $n = 20$ ; ar = ar umidificado.

## Literatura Citada

- Altieri, M.A., W.J. Lewis, D.A. Nordlund, R.C. Gueldner & J.W. Todd. 1981.** Chemical interactions between plants and *Trichogramma* wasps in Georgia soybean fields. *Protect. Ecol.* 3: 259-263.
- Andrews, K.L. 1980.** The whorlworm, *Spodoptera frugiperda*, in Central America and neighboring areas. *Fla. Entomol.* 63:456-467.
- Bourarach, K. & Hawlitzky, N. 1984.** Attractivité des oeufs et des femelles de *Spodoptera littoralis* (BSD.) et *Helicoverpa armigera* (HB.) (Lep. Noctuidae) pour *Trichogrammatoidea lutea* (G.) et *Trichogramma rhenana* Voegele et Russo (Hym. Trichogrammatidae). *Actes Inst. Agro. Vét.* 4: 137-141.
- Cruz, I. 1994.** Aspectos biológicos de *Spodoptera frugiperda* criadas com diferentes dietas artificiais. Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1992-1993. 6: 75
- Cruz, I. 1995.** A lagarta do cartucho na cultura do milho. Embrapa-CNPMS, 45p. (Circular Técnica 21).
- Dicke, M., J.C. van Lenteren, G.J.F. Boskamp & E. van Dongen-van Leenwen. 1984.** Chemical stimuli in host habitat location by *Leptopilina heterotoma* (Thomson) (Hymenoptera: Eucoilidae), a parasite of *Drosophila*. *J. Chem. Ecol.* 10: 695-712.
- Ferreira, L., B. Pintureau & J. Voegelle. 1979.** Um nouveau tipe d'olfactometre. Aplicacion a la mesure de la capacité de recherche à la localization des substances attractives de l'hôte chez Trichogrammes (Hym.: Trichogrammatidae). *Ann. Zool. Ecol. Animal.* 11: 271-279
- Figueiredo, M.L.C. 1998.** Potencial de controle de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho com *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae). Tese de Mestrado, UFV, Viçosa. 76 p.
- Frenoy, C., C. Durier & N. Hawlitzky. 1992.** Effect of kairomones from egg and female adult stages of *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera, Pyralidae) on

- Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hymenoptera, Trichogrammatidae) female kinesis. J. Chem. Ecol. 18: 761-773.
- Garcia, T.C. & P.V. Piqueras. 1985.** Estudio con olfactómetro de la influencia de la planta y del insecto huésped en la actividad de búsqueda de *Trichogramma cordubensis* Vargas y Cabello y *T. sp. p. buesi* (Hym.: Trichogrammatidae). Bol. Serv. Plagas 11: 237-241.
- Gazit, Y, W.J. Lewis & J.H. Tumlinson. 1996.** Arrestment of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) by a kairomone associated with eggs of its host, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Biol. Control 6: 283-290.
- Jones, R.L., W.J.Lewis, M. Beroza, B.A. Bierl & A.N. Sparks. 1973.** Host-seeking stimulants (kairomones) for the egg parasite *Trichogramma evanescens*. Environ. Entomol. 2: 593-596.
- Lewis, W.J. & D.A. Nordlund. 1984.** Semiochemicals influencing fall armyworm parasitoid behavior: implications for behavioral manipulation. Fla. Entomol. 67: 343-349.
- Meiners, T & M. Hilker. 2000.** Induction of plant synomones by oviposition of a phytophagous insect. J. Chem. Ecol. 26: 221-232.
- Noldus, L.P.J.J. & J.C. van Lenteren. 1985.** Kairomones for the egg parasite *Trichogramma evanescens* Westwood. I. Effect of volatile substances produced by two of its hosts, *Pieris brassicae* L. and *Mamestra brassicae*, L. J. Chem Ecol. 11: 781-192.
- Nordlund, D.A., W.J. Lewis & R.C. Gueldner. 1983.** Kairomones and their use for management of entomophagous insects. XIV. Response of *Telenomus remus* to abdominal tips of *Spodoptera frugiperda*, (Z)-9-tetradecene-1-ol acetate and (Z)-9-dodecene-1-ol acetate. J. Chem. Ecol. 9: 695-702.
- Nordlund, D.A., M.R. Strand, W.J. Lewis & S.B. Vinson. 1987.** Role of kairomones from host accessory gland secretions in host recognition by *Telenomus remus* Nixon and *Trichogramma pretiosum* Riley with parcial characterization. Entomol. Exp. Appl. 44: 37-44.

- Paré, P.W., J.W. Lewis & J.H. Tumlingson. 1999.** Induced plant volatiles: biochemistry and effects on parasitoids, p. 167-180. In: A.A. Agrawal, S. Tuzun & E. Bent (eds.), Inducible plant defenses against pathogens and herbivores: biochemistry, ecology and agriculture. St. Paul, American Phytopathological Society Press, 390p.
- Renou, M, N. Hawlitzky, A. Berthier & C. Malosse. 1989.** Mise en évidence d'une activité kairomonale des oeufs de la pyrale du maïs sur les femelles de *Trichogramma maidis*. Entomophaga 34: 569-580.
- Renou, M, P. Naguan, A. Berthier & C. Durier. 1992.** Identification of compounds from the eggs of *Ostrinia nubilalis* and *Mamestra brassicae* having kairomonal activity on *Trichogramma brassicae*. Entomol. Exp. Appl. 63: 291-303.
- Romeis, J., T.G. Shanover & C.P.W. Zebitz. 1997.** Volatile plant infochemicals mediate plant preference of *Trichogramma chilonis*. J. Chem. Ecol. 23: 2455-2465.
- Rutledge, C.E. & R.N. Widenmann. 1999.** Habitat preferences of three congeneric braconid parasitoids: Implications for host-range testing in biological control. Biol. Control 16: 144-154.
- Shu, S.Q. & R.L. Jones. 1989.** Kinetic effects of a kairomone in moth scales on European corn borer on *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis (Hym., Trichogrammatidae). J. Insect Behav. 2: 123-131.
- Tumlinson, J.H, T.C.J. Turlings & W.J. Lewis. 1992.** The semiochemical complexes that mediate insect parasitoid foraging. Agric. Zool. Rev. 5: 221-252.
- van Alphen, J.J.M. & L.E.M. Vet. 1986.** An evolutionary approach to host finding and selection, p. 23-61. In: J. Waage & D. Greathead (eds.), Insect parasitoids. London, Academic Press, 389p.
- Vet, L.E.M. 1983.** Host habitat location through olfactory cues by *Leptopilina clalvipes* (Hartig) (Hym.: Eucoilidae), a parasitoid of fungivorous *Drosophila*: the influence of conditioning. Neth. J. Zool. 33: 225-248.

- Vet, L.E.M., C.J. Janse, C. van Achterberg & J.J.M. van Alphen. 1984a.** Microhabitat location and niche segregation in two sibling species of drosophilid parasitoids: *Asorbara tabida* (Nees) and *A. rufescens* (Foerster) (Braconidae: Alysiinae). *Oecologia* 61:182-188.
- Vet, L.E.M., J.C. van Lenteren, M. Heymans & E. Meelis. 1984b.** An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. *Physiol. Entomol.* 8: 97 - 106
- Vet, L.E.M. & J.J.M. van Alphen. 1985.** A comparative functional approach to the host detection behavior of parasitic wasps. 1. A qualitative study on Eucilidae and Alysiinae. *Oikos* 44: 476-486.
- Vet, L.E.M., F.L. Wäckers & M. Dicke. 1991.** How to hunt for hiding hosts: The reliability-detectability problem in foraging parasitoids. *Neth. J. Zool.* 41: 202-213
- Vet, L.E.M. & M. Dicke. 1992.** Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annu. Rev. Entomol.* 37: 141-172.
- Vinson, S.B. 1984.** How parasitoids locate their hosts: a case of insect espionage, p. 325-348. In: T. Lewis (ed.), *Insect communication*. London, Academic Press, 181p.
- Vinson, S.B. 1997.** Comportamento de seleção hospedeira de parasitóides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae, p. 67-119. In: J.R.P. Parra & R.A. Zucchi (eds.), *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba, FEALQ, 324p.
- Zar, J.H. 1984.** *Biostatistical analysis*. New Jersey, Prentice-Hall, 718p.

## Capítulo 2

### **Localização de Ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) por *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Efeito de Aprendizagem**

A aprendizagem é definida como uma modificação temporária de uma resposta comportamental como resultado de uma experiência. Estudos sobre o comportamento de forrageamento de parasitóides indicam que a aprendizagem é um fenômeno muito mais comum nesse grupo do que se imaginava (Turlings *et al.* 1993) e cada vez mais se reforça o seu papel na modulação da sensibilidade da fêmea de várias espécies de parasitóides a semioquímicos provenientes da planta e do hospedeiro (Lewis *et al.* 1990, Vet & Groenewold 1990).

A sensibilidade das fêmeas adultas aos semioquímicos pode ser induzida por aprendizagem em vários momentos do seu desenvolvimento: durante o desenvolvimento preimaginal (Vet 1983; Bjorksten & Hoffman 1998a); no momento de emergência do adulto (Kester & Barbosa 1991); mais tarde durante a vida adulta (Turlings *et al.* 1990, De Jong & Kaiser 1991); ou em mais de um momento do seu desenvolvimento (Cortesero *et al.* 1995).

No contexto do manejo de pragas, uma das possíveis utilizações dos semioquímicos é tornar o forrageamento dos inimigos naturais mais eficiente antes da sua liberação. Segundo Vet & Dicke (1992), geralmente as respostas das fêmeas de parasitóides a herbívoros ou seus produtos são mais fixas e fortes, enquanto as respostas às plantas hospedeiras são mais plásticas e inicialmente fracas. Sendo assim, a utilização da aprendizagem no manejo de pragas tem maior probabilidade de ser bem sucedida quando seu objetivo é manipular a resposta do parasitóide a voláteis da planta. Como esses voláteis são utilizados no início da seqüência de forrageamento, a modificação desse passo através da aprendizagem diminuiria a tendência dos parasitóides se dispersarem para outras áreas após a liberação. Isso, segundo Vet & Groenewold

(1990), é a forma mais realista e promissora de aplicação da aprendizagem no manejo integrado de pragas.

A lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), é uma praga-chave para a cultura do milho, ocasionando redução na produção de até 50% (Andrews 1980). Os parasitóides *Telenomus remus* Nixon e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner são frequentemente encontrados parasitando seus ovos e surgem como agentes potenciais para a utilização no controle biológico aplicado desta praga.

Segundo Lewis & Nordlund (1984), para que o controle biológico de *S. frugiperda* seja bem sucedido, estratégias que aumentem a eficiência dos inimigos naturais devem ser utilizadas. Uma das mais promissoras é a utilização de parasitóides que respondem mais eficientemente a estímulos do hospedeiro ou à cultura-alvo. Isso pode ser alcançado através da aprendizagem ocorrida antes da liberação.

*Telenomus remus* e *T. atopovirilia* vêm sendo criados massalmente para liberações em campo com o objetivo de controlar *S. frugiperda*, entretanto os estímulos aos quais os parasitóides estão submetidos numa criação massal são consideravelmente diferentes dos estímulos que devem utilizar para buscar hospedeiros em campo. Desse modo, o presente trabalho teve por objetivo avaliar se parasitóides provenientes de criação massal, mas que emergem na presença do hospedeiro e planta alvos são capazes de buscar seu hospedeiro mais eficientemente e discriminar entre plantas com e sem hospedeiros, em relação a parasitóides que emergem em condições normais de criação massal, sendo discutidas as implicações para o controle biológico.

## Material e Métodos

**Plantas:** Foram utilizadas plantas de milho cv. AG 122 com dois a três meses de idade. Nos testes em que plantas com posturas foram usadas como fonte de odor, plantas de milho foram colocadas por 24 h numa gaiola com adultos de *S. frugiperda* e então utilizadas. Para padronização entre os testes, foram utilizadas plantas com cerca de 20 posturas no total.

***S. frugiperda*:** A criação de *S. frugiperda* foi mantida em dieta artificial à base de feijão, segundo a metodologia proposta por Cruz (1994).

**Parasitóides:** Os parasitóides utilizados foram provenientes do LACRI, Embrapa Milho e Sorgo. *T. remus* foi multiplicado em ovos de *S. frugiperda* e *T. atopovirilia* em ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller). Os parasitóides foram denominados experientes e não-

experientes de acordo com a forma que emergiam: parasitóides não-experientes emergiram em tubos de vidro, do hospedeiro nos quais são multiplicados em criação massal (*S. frugiperda* no caso de *T. remus* e *A. kuehniella* no caso de *T. atopovirilia*); e parasitóides experientes também emergiram do hospedeiro nos quais são multiplicados em criação massal, em caixas plásticas com plantas de milho e cinco fêmeas adultas de *S. frugiperda* mortas, e dessa forma tiveram experiência com estímulos provenientes de plantas hospedeiras e hospedeiros adultos. Nos testes foram utilizadas fêmeas com dois a quatro dias de idade, alimentadas com mel.

**Procedimentos gerais:** Utilizou-se para os testes o olfatômetro de 4 braços proposto por Vet *et al.* (1984) (vide Figura 1, Capítulo 1). O parâmetro avaliado foi o tempo que as fêmeas passavam em cada campo de odor do olfatômetro, sendo o tempo total de observação 600 segundos. Quando uma das fêmeas entrava em um dos braços do olfatômetro, o tempo restante da observação era somado ao tempo gasto naquele campo, e fêmeas que passavam mais de 300 segundos paradas eram descartadas.

Para evitar efeito da posição da fonte de odor, a cada cinco fêmeas testadas a posição da fonte foi modificada, sendo 20 o total de fêmeas testadas para cada uma das fontes de odor. Ar umidificado foi utilizado como controle nos demais braços. Os testes foram realizados em mais de um dia e utilizando diferentes conjuntos de ovos. Para a análise foi utilizada a média do tempo gasto pelas fêmeas nos campos com ar umidificado.

Quando duas fontes de odor eram testadas simultaneamente, estas eram conectadas a braços adjacentes do olfatômetro. A velocidade do ar em cada um dos braços foi calibrada para 5,0 L/h.

Para os testes, as fêmeas eram individualizadas em cápsulas gelatinosas. Para evitar que essas passassem muito tempo sem alimento, somente cinco fêmeas eram individualizadas de cada vez e então testadas. A abertura para a entrada do parasitóide na arena do olfatômetro foi coberta com organza e as fêmeas colocadas no centro da arena para o início dos testes.

Como fonte de odor foram utilizadas de seis a oito plantas de milho colocadas em uma bandeja, que por sua vez era colocada dentro de uma bandeja maior (60 x 40 x 4,5 cm) com água. Uma caixa de acrílico (50 x 36 x 43 cm) foi então colocada sobre as plantas de modo que a água vedasse o sistema.

**Testes para avaliar a eficiência de busca:** Com o objetivo de avaliar se as fêmeas experientes utilizam mais eficientemente os estímulos provenientes do hospedeiro e da

planta hospedeira, comparou-se a resposta de fêmeas experientes e não-experientes a plantas de milho com posturas naturalmente depositadas.

**Testes para avaliar a discriminação de plantas com e sem ovos:** Com o objetivo de avaliar se fêmeas experientes discriminam mais eficientemente plantas com e sem ovos, em comparação a fêmeas sem experiência.

**Análise dos dados:** Os dados referentes aos testes de eficiência de busca e comparação entre as duas espécies, foram submetidos ao teste de Wilcoxon e referentes aos testes de discriminação de plantas com e sem ovos, submetidos ao teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de comparações múltiplas (Zar 1984).

## Resultados

Não houve diferença na resposta das fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. remus*, com e sem experiência, às plantas de milho com ovos ( $P < 0,05$ ) (Figura 1). As fêmeas de *T. atopovirilia* sem experiência passaram  $443,72 \pm 35,13$  segundos (média  $\pm$  erro-padrão) no campo com voláteis provenientes de plantas de milho + ovos, enquanto as fêmeas de *T. atopovirilia* experientes passaram  $455,77 \pm 33,81$  segundos nesse campo. Com relação às fêmeas de *T. remus*, as fêmeas inexperientes passaram  $510,03 \pm 38,07$  segundos e as fêmeas experientes passaram  $469,87 \pm 42,28$  segundos no campo milho + ovos.

Quando as fêmeas tiveram a chance de escolher entre plantas de milho com e sem ovos, as fêmeas de *T. remus* experientes e inexperientes foram significativamente atraídas por plantas com ovos ( $P < 0,05$ ). Entretanto fêmeas experientes foram significativamente mais arrestadas por plantas de milho com ovos que as inexperientes ( $P < 0,05$ ) (Figura 2), uma vez que as fêmeas experientes passaram  $30,09 \pm 13,05$  segundos no campo milho e  $517,67 \pm 27,37$  segundos no campo milho + ovos; enquanto as inexperientes passaram  $143,67 \pm 43,32$  segundos no campo milho e  $401,44 \pm 74,13$  segundos no campo milho + ovos.

Já as fêmeas de *T. atopovirilia* se comportaram da mesma forma independentemente de serem experientes ou não ( $P < 0,05$ ) (Figura 2), pois fêmeas experientes passaram 111,76 segundos no campo milho, e  $410,31 \pm 52,41$  segundos no campo milho + ovos; e fêmeas inexperientes passaram 130,99  $\pm$  38,14 segundos no campo milho, e  $408,81 \pm 43,98$  segundos no campo milho + ovos.

## Discussão

Os resultados obtidos mostram a ocorrência de aprendizagem no momento da emergência somente em *T. remus* e não em *T. atopovirilia*. Apesar da aprendizagem ser um fenômeno comum em parasitóides, ela pode ser variável até mesmo dentro da espécie, como demonstrado por Bjorksten & Hoffman (1998b) que testaram duas linhagens de *Trichogramma nr. brassicae* e observaram que só uma das linhagens aumentou o tempo de busca e parasitismo quando emergiu na presença da planta hospedeira. Os autores observaram também que as fêmeas das duas linhagens que emergiram em plantas de tomate, buscaram mais eficientemente que fêmeas não-experientes, sugerindo que em uma das linhagens, para que ocorra aprendizado é necessário que o estímulo da planta esteja fisicamente associado ao hospedeiro. Além disso, fêmeas de nenhuma das linhagens tiveram seu comportamento de busca e parasitismo alterados quando colocadas na presença da planta hospedeira logo após a emergência, o que indica que nessa espécie, o processo através do qual a experiência na planta altera o comportamento de busca envolve também a detecção de estímulos provenientes dos restos do hospedeiro. Isto significa que a aprendizagem associativa está ocorrendo, sendo os restos do hospedeiro o estímulo-chave.

Kester & Barbosa (1991) observaram um processo semelhante ocorrendo em *Cotesia congregata* (Say) que quando emerge na presença de uma planta não atrativa associada aos restos do seu hospedeiro passa a ser atraído para a planta, sugerindo que os restos do hospedeiro são o estímulo-chave da aprendizagem associativa também nesse sistema. No presente estudo, o fato de *T. remus* que emergiram na presença de plantas de milho e adultos do hospedeiro demonstrarem maior capacidade de discriminar entre plantas com e sem ovos de *S. frugiperda*, pode ser uma indicação de que também nesse sistema os restos do hospedeiro, como o cório ou substâncias depositadas sobre o ovo, sejam o estímulo-chave para a aprendizagem.

Aprendizagem em parasitóides vem sendo exaustivamente estudada, no entanto a maioria dos trabalhos se refere à aprendizagem que ocorre após uma oviposição bem sucedida. Entretanto, quando se tem o objetivo de tornar parasitóides criados massalmente mais eficientes, condicionando-os aos semioquímicos do hospedeiro-alvo, utilizar essa forma de aprendizagem provavelmente traria mais custos que benefícios. Já o condicionamento de parasitóides no momento da emergência seria uma estratégia mais eficiente. Porém, a maioria dos trabalhos que avalia o efeito da aprendizagem no

momento da emergência é feita com parasitóides que emergem de herbívoros que se localizam dentro de estruturas da planta, de forma que, depois que o parasitóide emerge do hospedeiro, ele passa algum tempo em contato íntimo com produtos do hospedeiro, para então emergir da planta hospedeira. São exemplos, *Eupelmus vuilleti* Crw (Cortesero *et al.* 1995) e *Dinarmus basalis* Rondani (Caubert & Jasson 1991) - parasitóides de larvas localizadas dentro de sementes de leguminosas - e *Cotesia flavipes* (Cameron) (Potting *et al.* 1997) - parasitóide de larvas que atacam a parte apical de gramíneas. Caubert & Jaisson (1991) e Cortesero *et al.* (1995) demonstraram que *D. basalis* e *E. vuilleti* têm uma fase sensível à aprendizagem após a emergência do hospedeiro mas antes da emergência da semente em que a larva está. Já no caso de *C. flavipes*, seria esperado que também ocorresse aprendizagem entre a emergência do corpo do hospedeiro e a emergência da planta, entretanto o ambiente de emergência não afetou a resposta das fêmeas, que também não alteraram seu forrageamento quando tiveram experiências anteriores com determinados complexos planta-hospedeiro (Potting *et al.* 1977). Os autores sugerem que uma possível explicação para a ausência de aprendizagem em *C. flavipes* pode se dar pelo fato de que esses parasitóides só ovipositam cinco ou seis vezes e vivem por pouco tempo, situações que tornariam a aprendizagem supérflua. O sistema aqui estudado difere desses, pois quando *T. atopovirilia* e *T. remus* emergem, eles já estão livres no ambiente, ao contrário dos exemplos citados anteriormente, onde além de emergirem do hospedeiro, os parasitóides têm que emergir da estrutura da planta onde se localiza o hospedeiro e, nesse intervalo, os parasitóides estão em contato íntimo com sinais da planta hospedeira e do hospedeiro.

Segundo van Alphen & Vet (1986) a habilidade de aprender sinais durante a busca, ao contrário de um comportamento de busca geneticamente fixado, parece ser mais adaptativa para parasitóides não muito polípagos e generalistas para a planta hospedeira, nos quais sucessivas gerações podem estar expostas a diferentes hospedeiros, vivendo em diferentes microhabitats. Este parece ser o caso de *T. remus* e *T. atopovirilia* pois, segundo Wojcik *et al* (1976), *T. remus* parasita principalmente espécies de *Spodoptera* e estas se alimentam de várias plantas hospedeiras; e segundo Zucchi & Monteiro (1997), *T. atopovirilia* já foram recolhidos de ovos de *Alabama argillacea* (Hueb.) e *Heliothis* spp. em algodoeiro e tomateiro, *Helicoverpa zea* (Bod.) e *S. frugiperda* em milho e *Erynnis ello* (L.) em mandioca, indicando que a ocorrência de

aprendizagem nesses parasitóides seria uma forma eficiente de otimizar a busca por hospedeiros.

A ausência de aprendizagem no momento de emergência por *T. atopovirilia* pode indicar que, para esse parasitóide, um processo de busca fixo no início do forrageamento é mais vantajoso. Entretanto, não significa que esse processo não ocorra em outros momentos da vida adulta do parasitóide, como demonstrado por Kaiser *et al.* (1989) que observaram que *Trichogramma maidis* Pint. *et* Voeg. que ovipositaram na presença de odor de milho e combinação dos odores de milho, ovo e feromônio sexual do hospedeiro imediatamente antes dos testes, foram significativamente arrestadas pelos odores combinados. Além disso, Bjorksten & Hoffman (1995, 1998a) observaram que *T. nr. brassicae* aprende a espécie de hospedeiro na qual se desenvolve provavelmente através de contato com o hospedeiro pouco antes ou durante a emergência. Essa afirmativa associada ao fato como citado anteriormente, em uma das linhagens de *T. nr. brassicae* testadas por Bjorksten & Hoffman (1998b) só ocorreu aprendizagem na emergência quando as fêmeas tinham contato direto com a planta-alvo; e ao fato de que quando escamas do hospedeiro-alvo (*H. zea*) foram depositadas sobre ovos do hospedeiro alternativo, parasitados por *Trichogramma pretiosum* Riley, as fêmeas apresentaram maior taxa de parasitismo (Lewis *et al.* 1976), podem levar à hipótese de que é necessário que a fêmea de *Trichogramma* entre em contato direto com sinais do hospedeiro ou planta hospedeira para que ocorra a aprendizagem. No presente estudo, tubos com ovos de *A. kuehniella* parasitados por *T. atopovirilia* foram colocados em potes plásticos onde estava a planta hospedeira e as fêmeas de *S. frugiperda* mortas, de forma que as fêmeas dos parasitóides foram expostas a estímulos da planta hospedeira e do hospedeiro no momento da emergência, entretanto não tiveram contato direto com nenhum dos dois estímulos.

### **Implicações para o Manejo de Pragas**

O fenômeno da aprendizagem pode ser explorado no manejo de pragas, e a forma mais realista de fazê-lo é através do condicionamento dos inimigos naturais criados massalmente, antes da sua liberação na área-alvo, o que poderia aumentar a sua eficiência de busca (Lewis & Martin 1990).

Segundo Godfray (1994) criações massais e dietas artificiais facilitam e diminuem os custos da produção de inimigos naturais, entretanto podem fazer com que a sua eficiência em campo seja reduzida. Por exemplo, Herard *et al.* (1988) observaram que o parasitóide *Microplitis demolitor* Wilkinson responde a voláteis provenientes da planta

hospedeira da qual seu hospedeiro se alimentou, entretanto não respondem a esses voláteis quando emergem de hospedeiros criados em dieta artificial. Da mesma forma, a utilização de hospedeiros alternativos para a criação de parasitóides pode afetar a sua resposta a semioquímicos importantes no processo de localização e seleção do hospedeiro. Em casos como esses e naqueles em que os parasitóides tendem a abandonar a área-alvo, como relatado por Gross *et al.* (1975) para *T. pretiosum*, a utilização da aprendizagem para tornar os parasitóides mais eficientes seria particularmente importante.

O fato de que em *T. remus* ocorre aprendizagem no momento da emergência pode ser utilizado como uma ferramenta para aumentar a eficiência de parasitóides criados massalmente. O próximo passo será avaliar se o parasitismo promovido por indivíduos experientes de *T. remus* é maior que o promovido por indivíduos inexperientes e, a partir daí, desenvolver metodologias eficientes de condicionamento dos parasitóides antes da liberação.

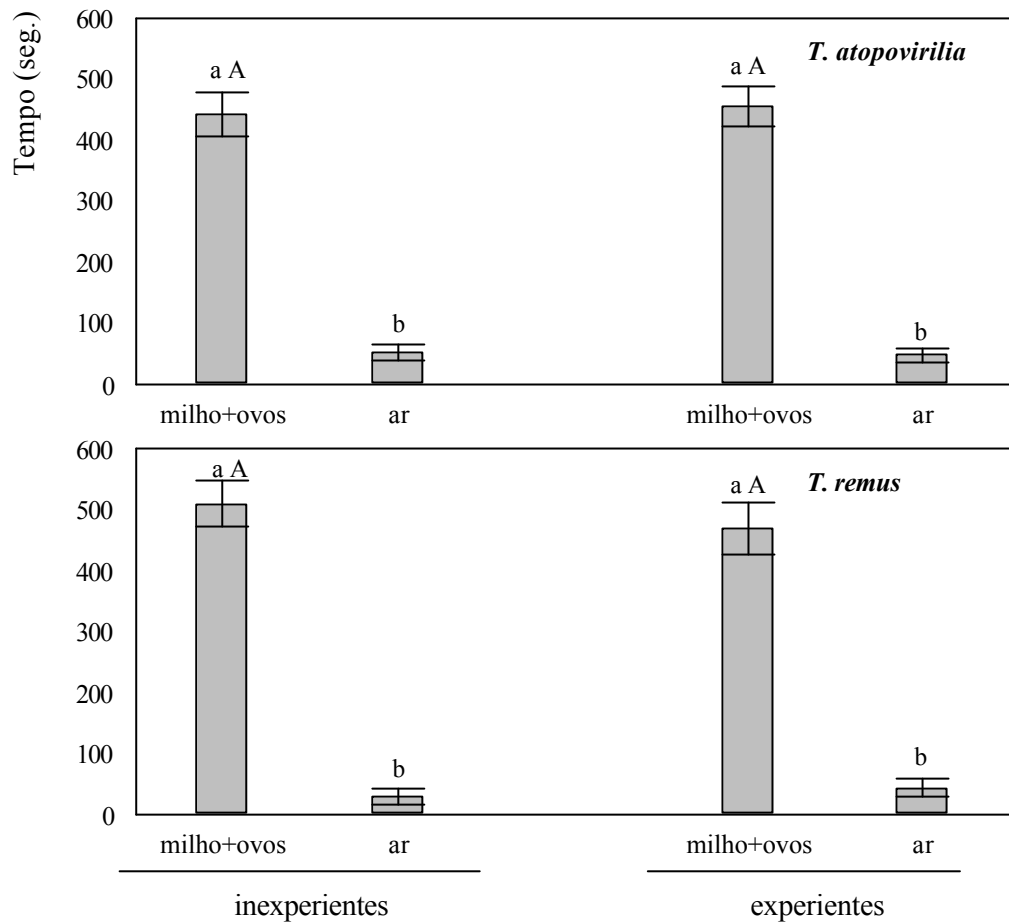


Figura 1. Resposta de fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. remus* experientes ou não a voláteis provenientes de plantas de milho com ovos de *S. frugiperda* em olfatômetro de 4 braços (Média do tempo gasto em cada braço ± EP). Barras sob a mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Wilcoxon ( $P < 0,05$ ) para cada comparação entre milho+ovos e ar. Barras sob a mesma letra maiúscula não diferem pelo teste de Wilcoxon ( $P < 0,05$ ) para comparação entre fêmeas experientes e inexperientes,  $n = 20$ ; ar = ar umidificado.

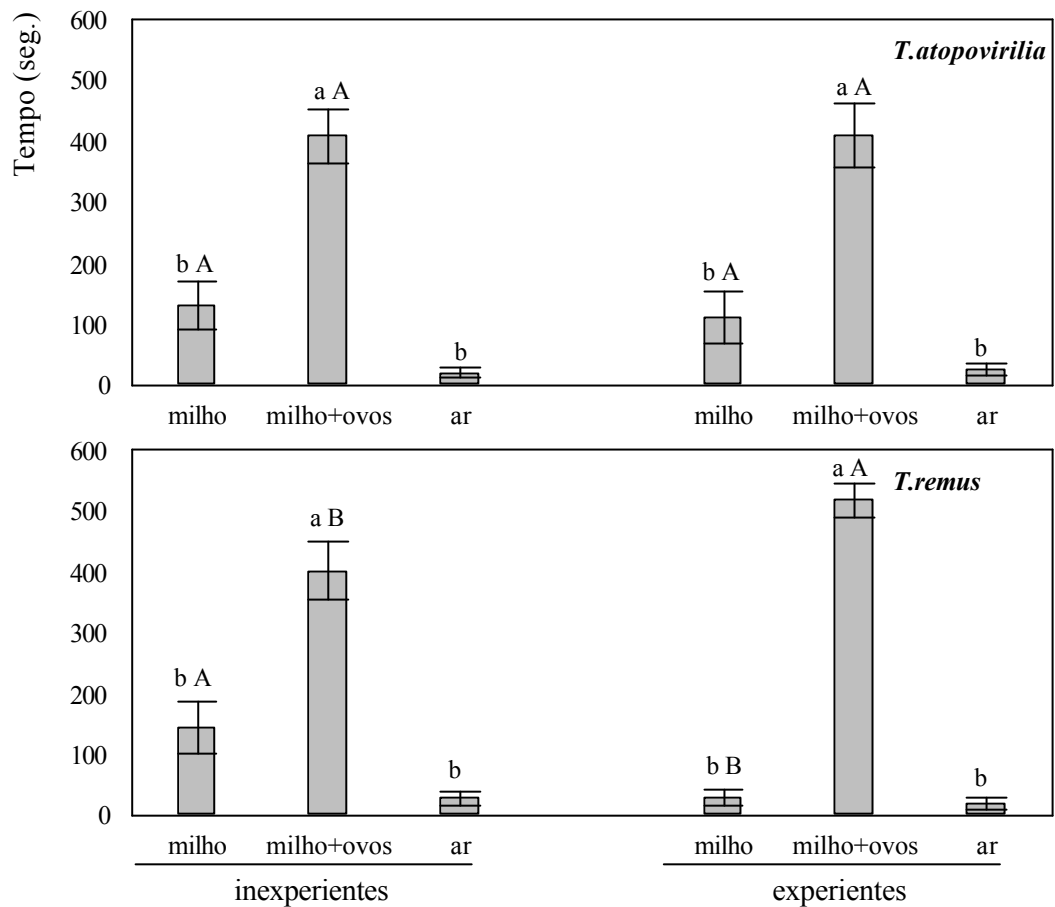


Figura 2. Capacidade de fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. remus* experientes ou não, discriminarem entre plantas de milho com e sem ovos de *S. frugiperda* em olfatômetro de 4 braços (Média do tempo gasto em cada braço ± EP). Barras sob a mesma letra minúscula não diferem para cada combinação de milho, milho+ovos e ar, pelo teste de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ). Barras sob a mesma letra maiúscula não diferem pelo teste de Wilcoxon ( $P < 0,05$ ) para cada uma das fontes de odor para comparação entre fêmeas experientes e inexperientes,  $n = 20$ ; ar = ar umidificado.

## Literatura Citada

- Andrews, K.L. 1980.** The whorlworm, *Spodoptera frugiperda*, in Central America and neighboring areas. Fla. Entomol. 63:456-467.
- Bjorksten, T.A. & A.A. Hoffman. 1995.** Effects of pre-adult and adult experience on host acceptance in choice and non-choice tests in two strains of *Trichogramma*. Entomol Exp. Appl. 76: 49-58.
- Bjorksten, T.A. & A.A. Hoffman. 1998a.** Persistence of experience effects in the parasitoid *Trichogramma* nr. *brassicae*. Ecol. Entomol. 23: 110-117.
- Bjorksten, T.A. & A.A. Hoffman. 1998b.** Plant cues influence searching behavior and parasitism in the egg parasitoid *Trichogramma* nr. *brassicae*. Ecol. Entomol. 23: 355-362.
- Caubert, Y & P. Jaisson. 1991.** A post eclosion-learning involved in host recognition by *Dinarmus basalis* Rondani (Hymenoptera: Pteromalidae). Anim. Behav. 42: 977-980.
- Cortesero, A.M., J.P. Monge & J. Huignard. 1995.** Influence of two successive learning processes on the response of *Eupelmus vuilleti* Crw (Hymenoptera: Eupelmidae) to volatile stimuli from host and host plants. J. Insect Behav. 8: 751-762.
- Cruz, I. 1994.** Aspectos biológicos de *Spodoptera frugiperda* criadas com diferentes dietas artificiais. Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1992-1993. 6: 75.
- De Jong, R. & L. Kaiser. 1991.** Odour learning by *Leptopilina bouvardi*, a specialist parasitoid (Hymenoptera: Eucoilidae). J. Insect Behav. 4: 743-450.
- Godfray, H.C.J. 1994.** Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology. Princeton, Princeton University Press, 437p.
- Gross Jr., H.R., W.J. Lewis & D.A. Nordlund. 1975.** Kairomones and their use for management of entomophagous insects. III. Stimulation of *Trichogramma achaeae*, *T.*

- pretiosum* and *Microplitis croceipes* with host-seeking stimuli at the time of release to improve their efficiency. *J. Chem. Ecol.* 4: 431-438.
- Hérard, F., M.A. Keller, W.J. Lewis & J.H. Tumlinson. 1988.** Beneficial arthropod behavior mediated by airborne semiochemicals. IV- Influence of host diet on host oriented flight chamber responses of *Microplitis demolitor* Wilkinson. *J. Chem. Ecol.* 14: 1597-1606.
- Kaiser, L. M.H. Pham-Delegue, E. Bakchine & C. Masson. 1989.** Olfactory responses of *Trichogramma maidis* Pint. et Voeg., effects of chemical cues and behavioral plasticity. *J. Insect Behav.* 2: 701-712.
- Kester, K.M. & P. Barbosa. 1991.** Postemergence learning in the insect parasitoid *Cotesia congregata* (Say) (Hymenoptera: Braconidae). *J. Insect Behav.* 4: 727-742.
- Lewis, W.J., R.L. Jones, H.R. Gross Jr. & D.A. Nordlund. 1976.** The role of kairomones and other behavioral chemicals in host finding by parasitic insects. *Behav. Biol.* 16: 267-289.
- Lewis, W.J. & D.A. Nordlund. 1984.** Semiochemicals influencing fall armyworm parasitoid behavior: implications for behavioral manipulation. *Fla. Entomol.* 67:343-349.
- Lewis, W.J. & W.R. Martin. 1990.** Semiochemicals for use with parasitoids: status and future. *J. Chem. Ecol.* 16: 3067-3089.
- Lewis, W.J., L.E.M. Vet, J.H. Tumlinson, J.C. van Lenteren & D.R. Papaj. 1990.** Variation in parasitoid foraging behavior: Essential elements of a sound biological control theory. *Environm. Entomol.* 19: 1183-1193.
- Potting, R.P.J., H. Otten & L.E.M. Vet. 1997.** Absence of odour learning in the steamborer parasitoid *Cotesia flavipes*. *Anim. Behav.* 53: 1211-1223.
- Turlings, T.C.J., J.W.A. Scheepmaker, L.E.M. Vet, J.H. Tumlinson & W.J. Lewis. 1990.** How contact foraging experiences affect preferences for host-related odours in the larval parasitoid *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae). *J. Chem. Ecol.* 16: 1577-1589.

- Turlings, T.C.J., F.L. Wäckers, L.E.M. Vet, W.J. Lewis & J.H. Tumlinson. 1993.** Learning of host finding cues by hymenopterous parasitoids, p. 51-78. In: D.R. Papaj & W.J. Lewis (eds.), *Insect learning: Ecological and evolutionary perspectives*. New York, Chapman & Hall, 385p.
- van Alphen, J.J.M. & L.E.M. Vet. 1986.** An evolutionary approach to host finding and selection, p. 23-61. In: J. Waage & D. Greathead (eds.), *Insect parasitoids*. London, Academic Press, 389p.
- Vet, L.E.M. 1983.** Host-habitat location through olfactory cues by *Leptopilina clavipes* (Hartig) (Hym.: Eucoilidae) a parasitoid of fungivorous *Drosophila*: The influence of conditioning. *Neth. J. Zool.* 33: 225-248.
- Vet, L.E.M., van Lenteren, J.C., Heymans, M & E. Meelis. 1984.** An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. *Physiol. Entomol.* 8: 97 - 106
- Vet, L.E.M. & J.J.M. A.W. Groenewold. 1990.** Semiochemicals and learning in parasitoids. *J. Chem. Ecol.* 16: 3119-3135.
- Vet, L.E.M. & M. Dicke. 1992.** Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annu. Rev. Entomol.* 37: 141-172.
- Wojcik, B., W.H. Whitcomb & D.H. Habec. 1976.** Host range testing of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae). *Fla. Entomol.* 59: 195-198.
- Zar, J.H. 1984.** *Biostatistical analysis*. New Jersey, Prentice-Hall, 718p.
- Zucchi, R.A & R.C. Monteiro. 1997.** O gênero *Trichogramma* na América do Sul, p. 41-66. In: J.R.P. Parra & R.A. Zucchi (eds.), *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba, FEALQ, 324p.

## Capítulo 3

### **Resposta de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) a Ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) Parasitados Intra e Interespecificamente**

O entendimento das interações que ocorrem entre os inimigos naturais é de grande importância para programas de controle biológico de pragas, pois é um passo fundamental para a seleção dos agentes de controle candidatos à importação e liberação, auxilia o desenvolvimento de métodos para a sua conservação e incremento de eficiência, e pode auxiliar a prever os resultados da utilização de mais de um inimigo natural (Conti *et al.* 1990, Hawkins 1993, Murdoch & Briggs 1996).

Parasitóides, ao contrário de predadores, podem reencontrar um hospedeiro já atacado, podendo parasitá-lo novamente ou não. Essa decisão pode ser influenciada por marcações internas ou externas feitas no hospedeiro pela fêmea que o parasitou. Outro ponto importante dessa relação é que a fêmea do parasitóide pode encontrar um hospedeiro parasitado por uma fêmea coespecífica ou de outra espécie e reagir de forma diferente de acordo com a situação.

A detecção de marcas deixadas no hospedeiro por fêmeas coespecíficas é comum entre parasitóides e, na maioria das vezes, as fêmeas evitam superparasitar os hospedeiros. Já o multiparasitismo (interespecífico) é comum na natureza, indicando que as fêmeas geralmente não reconhecem ou não respeitam feromônios de marcação deixados por outras fêmeas (van Alphen & Visser 1990).

As marcações externas depositadas nos hospedeiros parasitados geralmente são pouco voláteis ou atuam por contato (Strand 1986) e os mecanismos utilizados pelas fêmeas dos parasitóides para reconhecer hospedeiros parasitados vêm sendo exaustivamente estudados (Takasu & Hirose 1988, van Alphen & Visser 1990, De Moraes *et al.* 1999). Entretanto, não se sabe se esses compostos são reconhecidos à distância e como as fêmeas se comportam em resposta a eles.

Para uma fêmea, avaliar à distância a qualidade de um hospedeiro, seria uma estratégia mais eficiente que fazer essa avaliação somente após o contato com o hospedeiro. Dessa forma, a fêmea poderia economizar o tempo e a energia que seriam gastos manipulando um hospedeiro inadequado, buscando um hospedeiro adequado. Bernstein & Driessen (1996) afirmam que a eficiência de busca de predadores e parasitóides aumenta com a capacidade de evitar áreas buscadas anteriormente e demonstraram que o parasitóide *Venturia canescens* (Gravenhorst) é capaz de reconhecer áreas nas quais coespecíficos já estiveram, preterindo-as em relação a áreas que ainda não foram visitadas. Entretanto, esses autores realizaram testes em placas de Petri, o que torna impossível avaliar se as fêmeas do parasitóide são capazes de distinguir à distância áreas buscadas e não buscadas.

O sistema utilizado nesse estudo foi a lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e os parasitóides de ovos *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Spodoptera frugiperda* é uma praga polífaga de grande importância econômica para várias culturas, sendo *T. remus* e *T. atopovirilia* parasitóides com grande potencial para controlá-la. Figueiredo (1998), após a liberação de *T. remus* em uma área de milho, quantificou o parasitismo em ovos de *S. frugiperda* que, somado ao parasitismo natural por *T. atopovirilia*, chegou a 85,4%.

Strand (1986) afirma que a marcação externa em ovos parasitados é comum em Scelionidae e Trichogrammatidae e sugere que esses compostos são instáveis ou voláteis, pelo fato dos marcadores não serem muito persistentes. Além disso, segundo I. Cruz (comunicação pessoal), quando *T. remus* e *Trichogramma* sp. parasitam o mesmo ovo, geralmente é *T. remus* quem vence a competição.

O objetivo desse estudo foi avaliar se *T. remus* e *T. atopovirilia* são capazes de reconhecer à distância ovos parasitados por co e heteroespecíficos e como respondem a eles.

## Material e Métodos

***S. frugiperda*:** A criação de *S. frugiperda* foi mantida em dieta artificial à base de feijão, segundo metodologia proposta por Cruz (1994). Para os testes foram utilizados ovos com até 48 h e para padronizar a quantidade de ovos utilizada o papel onde as posturas

eram depositadas foi cortado em volta destas e utilizou-se cerca de 0,5 g de ovos+papel como fonte de odor.

Nos testes em que ovos parasitados eram utilizados como fonte de odor, ovos com até 24 h foram oferecidos a *ca.*100 fêmeas de *T. remus* ou *T. atopovirilia* por 24 h e, então, utilizados nos testes. A verificação do parasitismo foi feita colocando-se os ovos parasitados em placas de Petri até a emergência dos parasitóides.

**Parasitóides:** Os parasitóides utilizados nos testes foram provenientes do LACRI, Embrapa Milho e Sorgo, sendo *T. remus* multiplicado em ovos de *S. frugiperda* e *T. atopovirilia* em ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller). Nos testes foram utilizadas fêmeas com dois a quatro dias de idade, alimentadas com mel.

**Procedimentos gerais:** Os testes foram realizados no olfatômetro de 4 braços proposto por Vet *et al.* (1984a) (ver Figura 1 do Capítulo 1). O tempo máximo de cada observação foi 600 segundos, avaliando-se o tempo que cada fêmea passou em cada um dos campos de odor do olfatômetro. Quando a fêmea entrava em um dos braços do olfatômetro, o tempo restante da observação era somado ao tempo gasto no campo. Fêmeas que não se movimentavam por mais de 300 segundos foram descartadas das observações.

As fontes de odor foram conectadas a um ou mais braços do olfatômetro e, aos outros, foi conectada água destilada para umidificar o ar. Quando duas ou mais fontes de odor eram testadas simultaneamente, estas eram colocadas em braços adjacentes do olfatômetro. O fluxo em cada um dos braços foi calibrado para 5,0 L/h.

Para a introdução no olfatômetro, as fêmeas foram individualizadas em cápsulas gelatinosas e, para evitar que passassem muito tempo sem alimento, somente cinco fêmeas eram individualizadas de cada vez. A abertura para a entrada do parasitóide na arena do olfatômetro foi coberta com organza e as fêmeas colocadas no centro da arena para o início dos testes. Para cada fonte de odor foram testadas 20 fêmeas, e a cada cinco fêmeas a posição da fonte de odor foi modificada. Este procedimento teve o objetivo de eliminar efeitos da posição da fonte sobre a escolha da fêmea. A análise dos dados foi feita utilizando-se a média do tempo gasto pelas fêmeas nos campos com ar umidificado. Os testes foram realizados em mais de um dia, utilizando-se diferentes conjuntos de plantas.

**Testes para avaliar o arrestamento por ovos parasitados por co e heteroespecíficos:** Ovos parasitados por co e heteroespecíficos e ovos não-parasitados foram utilizados como fontes de odor para avaliar as respostas das duas espécies de parasitóides.

**Testes para avaliar a capacidade de discriminação de ovos parasitados e não-parasitados:** Ovos parasitados por co ou heteroespecíficos e ovos não-parasitados foram utilizados como fontes de odor para avaliar se as fêmeas de *T. remus* e *T. atopovirilia* conseguem discriminá-los através de voláteis que atuam à distância.

**Análise dos dados:** Os dados referentes aos testes de arrestamento e comparação entre as fêmeas das duas espécies foram submetidos ao teste de Wilcoxon, e os referentes aos testes de discriminação de ovos parasitados e não-parasitados foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de comparações múltiplas (Zar 1984).

## Resultados

As fêmeas das duas espécies de parasitóides foram significativamente arrestadas por ovos parasitados por co ou heteroespecíficos, não havendo diferença de arrestamento entre ovos parasitados e não-parasitados ( $P < 0,05$ ) (Figura 1). As fêmeas de *T. atopovirilia* passaram  $473,50 \pm 41,80$  segundos (média  $\pm$  erro-padrão) no campo com voláteis provenientes de ovos não-parasitados,  $374,08 \pm 42,02$  segundos no campo com voláteis provenientes de ovos parasitados por coespecíficos, e  $389,22 \pm 47,39$  segundos no campo com voláteis provenientes de ovos parasitados por heteroespecíficos. As fêmeas de *T. remus* passaram  $398,70 \pm 47,69$  segundos no campo com voláteis de ovos não-parasitados,  $394,80 \pm 39,31$  segundos no campo com voláteis provenientes de ovos parasitados por coespecíficos, e  $451,93 \pm 35,83$  segundos no campo com voláteis provenientes de ovos parasitados por heteroespecíficos.

Quando as fêmeas tiveram a chance de escolher entre ovos parasitados por co ou heteroespecíficos e não-parasitados, foram igualmente arrestadas para eles ( $P < 0,05$ ) (Figura 2). As fêmeas de *T. atopovirilia* passaram  $312,08 \pm 48,26$  segundos no campo com voláteis provenientes de ovos não-parasitados,  $200,29 \pm 49,31$  segundos no campo com voláteis provenientes de ovos parasitados por coespecíficos, quando ambos foram oferecidos ao mesmo tempo,  $312,49 \pm 52,77$  segundos no campo com ovos não-parasitados, e  $211,14 \pm 55,81$  segundos no campo com ovos parasitados por heteroespecíficos quando ambos foram oferecidos ao mesmo tempo. As fêmeas de *T. remus* passaram  $306,59 \pm 54,08$  segundos no campo com ovos não-parasitados,  $245,27 \pm 51,00$  segundos no campo com ovos parasitados por coespecíficos, quando ambos foram oferecidos juntos,  $341,64 \pm 45,45$  no campo com ovos não-parasitados, e

198,49 ? 44,53 segundos no campo com ovos parasitados por heteroespecíficos, quando estes foram oferecidos ao mesmo tempo.

## Discussão

O fato de que fêmeas das duas espécies de parasitóides foram significativamente arrestadas por ovos parasitados por co ou heteroespecíficos (Figura 1) pode ser explicado de várias formas: 1) sabe-se que o multiparasitismo é bastante comum e que a discriminação interespecífica, quando ocorre, geralmente é em espécies intimamente relacionadas (Vet *et al.* 1984b). Turlings *et al.* (1985) afirmam que, quando qualquer uma das espécies pode vencer a competição pelo hospedeiro, o hábito de discriminar interespecificamente só seria fixado se surgisse ao mesmo tempo nas duas espécies, pois a primeira espécie a discriminar interespecificamente estaria em desvantagem, já que abandonar áreas em que ainda poderia haver hospedeiros disponíveis beneficiaria a outra espécie (van Alphen & Vet 1986). Nos casos em que uma das espécies é um competidor superior pelo hospedeiro, a discriminação interespecífica se fixaria quando a presença do competidor inferior no hospedeiro aumentasse as chances do competidor superior (evitando a possibilidade de encapsulamento, por exemplo). Assim, o competidor inferior utilizaria a marcação deixada pelo competidor superior para evitar a oviposição; 2) a ausência de reconhecimento de marcações intraespecíficas levaria ao superparasitismo. No passado, esse comportamento era considerado o resultado de “erros cometidos por animais imperfeitos” (van Alphen & Visser 1990), ou então considerava-se que as fêmeas eram capazes de discriminar entre ovos parasitados ou não somente após uma experiência com um hospedeiro não-parasitado, a partir da qual ela passaria a rejeitar hospedeiros parasitados (Klomp *et al.* 1980, Suzuki *et al.* 1984). Entretanto, van Alphen *et al.* (1987) mostraram que fêmeas sem experiência de parasitismo são capazes de reconhecer que um hospedeiro está parasitado, mas, enquanto não encontram um hospedeiro não-parasitado, superparasitar é a melhor estratégia, já que fêmeas não-experientes não têm informações sobre a densidade de hospedeiros e competidoras na área; 3) as fêmeas reconhecem as posturas como parasitadas, mas respondem positivamente a elas, pois podem indicar a existência de hospedeiros não-parasitados nas proximidades. Estes, por sua vez, seriam reconhecidos através da utilização de substâncias pouco voláteis ou que atuam por contato, e 4) as

fêmeas das duas espécies de parasitóides realmente não conseguem reconhecer ovos parasitados intra ou interespecificamente, utilizando compostos voláteis.

As hipóteses 1, 2 e 3 podem ser agrupadas numa só hipótese: as fêmeas reconhecem os ovos como parasitados, mas respondem positivamente a eles quando não têm chance de escolha. A hipótese alternativa seria que as fêmeas não conseguem reconhecer ovos parasitados utilizando voláteis que agem à distância. Para testar essas hipóteses foi realizado o experimento em que as fêmeas tiveram a chance de escolher entre ovos não-parasitados e parasitados por co ou heteroespecíficos (Figura 2). Os resultados obtidos confirmaram a hipótese de que os parasitóides não são capazes de reconhecer à distância ovos parasitados e não-parasitados, pois as fêmeas das duas espécies responderam da mesma forma a ovos parasitados, tanto intra como interespecificamente, e a ovos não-parasitados.

Estudos sobre super e multiparasitismo são bastante comuns, entretanto sempre avaliam a resposta do parasitóide a marcações que atuam por contato ou a curta distância, não havendo estudos que avaliem a possibilidade de haver o reconhecimento de hospedeiros parasitados pela detecção de voláteis que atuam à distância. Esse mecanismo seria particularmente adaptativo na detecção de hospedeiros sésseis parasitados por fêmeas heteroespecíficas.

No sistema estudado seria esperado que os parasitóides conseguissem discriminar à distância áreas com ovos parasitados e não-parasitados, o que aumentaria a sua eficiência, pois as fêmeas dos parasitóides estariam evitando áreas com hospedeiros de baixa qualidade e alocariam na busca por hospedeiros de boa qualidade, o tempo e a energia que seriam gastos manipulando hospedeiros parasitados, abandonando a área. Entretanto, isso não foi detectado no presente experimento. Uma hipótese que explica a não-existência de marcadores que atuam à distância é que estes tornariam os ovos mais conspícuos para hiperparasitóides e predadores, o que conseqüentemente seria prejudicial para os parasitóides.

A marcação externa de ovos é comum em scelionídeos e trichogrammatídeos (Strand 1986), sendo eles comumente usados na discriminação intraespecífica (Ables *et al.* 1981, Strand & Vinson 1983, Shufen & Huang 1990, Tavares & Voegelé 1990). Com relação a *T. remus*, as fêmeas dessa espécie toleram a presença de coespecíficas parasitando a mesma massa de ovos (Schwartz & Gerling 1974), entretanto, quando podem escolher entre ovos parasitados e não-parasitados, têm forte tendência para evitar o superparasitismo (van Welzen & Waage 1987). Com relação a *T. atopovirilia*, não há

estudos feitos com esta espécie, entretanto seu comportamento com relação ao superparasitismo deve ser semelhante ao da maioria das espécies de *Trichogramma* que, quando podem escolher entre ovos não-parasitados e parasitados, evitam superparasitar (Klomp *et al.* 1980, Tavares & Voegelé 1990, Miura *et al.* 1994). Entretanto, estes estudos investigaram o comportamento da fêmea na presença do ovo, situação na qual compostos pouco ou não voláteis estão atuando, o que não foi investigado no presente estudo.

Ao contrário da capacidade de discriminar intraespecificamente, a capacidade de discriminar interespecificamente não é comum em trichogrammatídeos e scelionídeos. Cruz (comunicação pessoal) observou em laboratório multiparasitismo entre *T. remus* e *Trichogramma* sp., sendo que geralmente é *T. remus* quem emerge de ovos multiparasitados. Esta situação é semelhante à estudada por Earl & Graham (1984) que observaram que, quando *T. remus* e *Chelonus insularis* Cresson parasitam o mesmo ovo, geralmente *T. remus* emerge do ovo. Os autores observaram também que *T. remus* não é capaz de discriminar ovos parasitados e não-parasitados por *C. insularis*; já as fêmeas deste último evitam ovipositar em ovos parasitados por *T. remus*, sugerindo que as fêmeas de *T. atopovirilia* podem reconhecer ovos parasitados por *T. remus* durante a manipulação, utilizando marcadores que atuam à curta distância ou por contato, evitando-os conseqüentemente.

Figueiredo (1998) observou em campo que a mesma postura de *S. frugiperda* pode ser parasitada por *T. remus* e *Trichogramma* spp., entretanto não informa sobre a frequência de ocorrência de parasitismo por mais de uma espécie na mesma postura, o que seria uma pista sobre o nível de sobreposição dos nichos de *T. atopovirilia* e *T. remus*. A importância dessa informação se deve ao fato de que se não houver grande sobreposição de nichos, não haveria necessidade de que *T. atopovirilia* desenvolvesse mecanismo de reconhecimento interespecífico. Isso foi observado por Tavares & Voegelé (1990) para *Trichogramma embryophagum* Hartig e *Trichogramma maidis* Pintureau & Voegelé, que não reconhecem ovos parasitados interespecificamente. Quando os dois parasitóides ovipositam no mesmo ovo, *T. embryophagum* sempre elimina *T. maidis*, entretanto este último não está sob pressão para reconhecer ovos parasitados por *T. embryophagum*, pois é pouco provável que as duas espécies se encontrem naturalmente, já que *T. embryophagum* coloniza preferencialmente plantas arbóreas, ao contrário de *T. maidis*.

A partir do exposto, pode-se perceber que, apesar do grande potencial para controlar *S. frugiperda*, o conhecimento da forma como *T. remus* e *T. atopovirilia* interagem ainda é insuficiente. Este trabalho mostrou que as fêmeas das duas espécies são arrestadas para ovos parasitados e não-parasitados, não discriminando-os à distância. O próximo passo é avaliar a existência de reconhecimento intra e interespecífico por contato e, a partir daí, inferir sobre como estas interações podem influenciar o manejo de pragas.

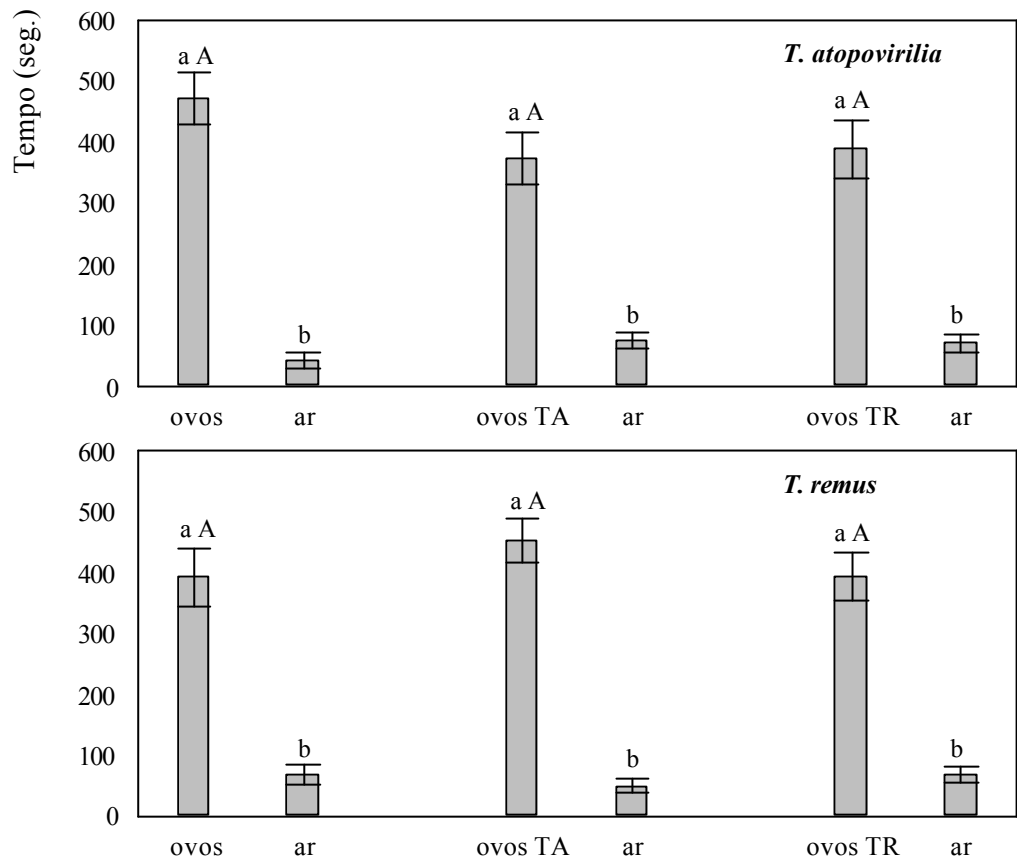


Figura 1. Resposta de fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. remus* a ovos de *S. frugiperda* não-parasitados e parasitados por coespecíficos ou heteroespecíficos em olfatômetro de 4 braços (Média do tempo gasto em cada campo ? EP). Barras sob a mesma letra minúscula não diferem entre cada tratamento e seu controle (ar) pelo teste de Wilcoxon ( $P < 0,05$ ). Barras sob a mesma letra maiúscula não diferem entre os diferentes tratamentos para cada espécie, quando comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ),  $n = 20$ . Ovos = ovos de *S. frugiperda* não-parasitados; ovos TA = ovos de *S. frugiperda* parasitados por *T. atopovirilia*; ovos TR = ovos de *S. frugiperda* parasitados por *T. remus*; ar = ar umidificado.

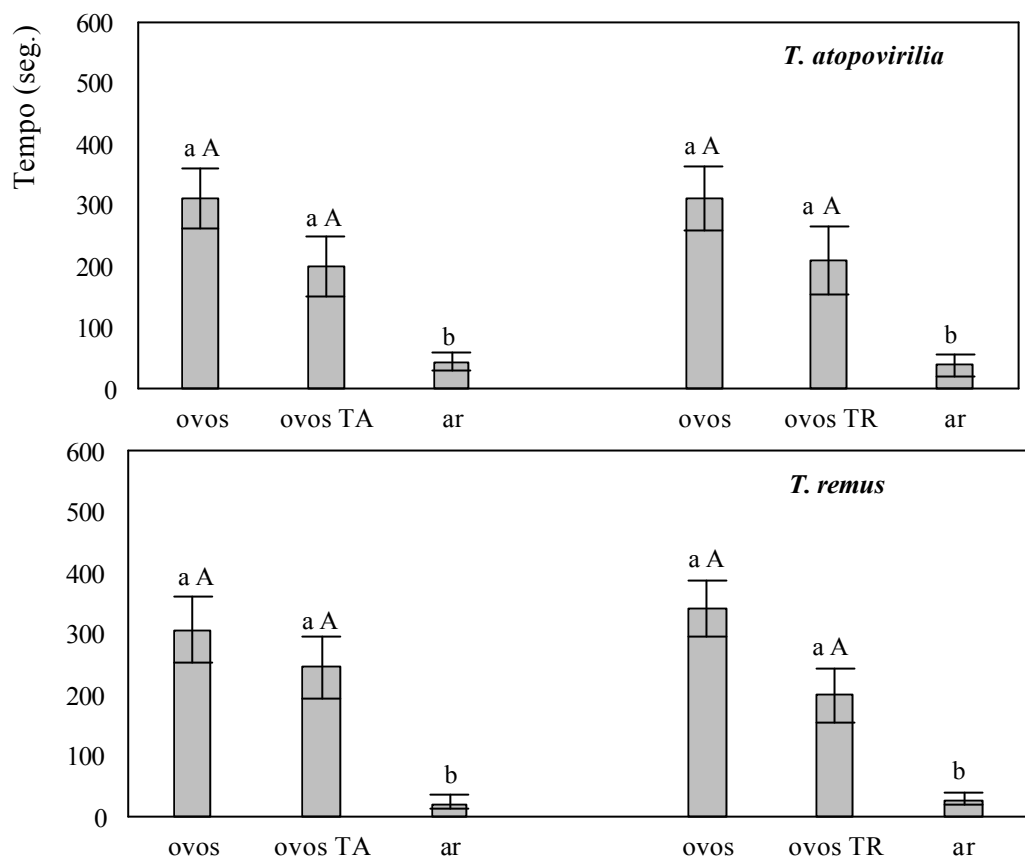


Figura 2. Capacidade de fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. remus* discriminarem ovos de *S. frugiperda* não-parasitados e parasitados por coespecíficos ou heteroespecíficos em olfatômetro de 4 braços (Média do tempo gasto em cada campo ? EP). Barras sob a mesma letra minúscula não diferem dentro de cada combinação de: ovos, ovos parasitados por coespecíficos ou heteroespecíficos e controle (ar) quando comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ). Barras sob a mesma letra maiúscula não diferem entre as combinações de ovos, ovos parasitados por coespecíficos ou heteroespecíficos e controle (ar) quando comparadas pelo teste de Wilcoxon ( $P < 0,05$ ),  $n = 20$ . Ovos = ovos de *S. frugiperda* não-parasitados; ovos TA = ovos de *S. frugiperda* parasitados por *T. atopovirilia*; ovos TR = ovos de *S. frugiperda* parasitados por *T. remus*; ar = ar umidificado.

## Literatura Citada

- Ables, J.R., S.B. Vinson & J.S. Ellis. 1981.** Host discrimination by *Chelonus insularis* (Hymenoptera: Braconidae), *Telenomus heliothidis* (Hymenoptera: Scelionidae) and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Entomophaga* 26: 149-156.
- Bernstein, C. & G. Driessen. 1996.** Patch-marking and optimal search patterns in the parasitoid *Venturia canescens*. *J. Anim. Ecol.* 65: 211-219.
- Conti, E., S. Colazza & F. Bin. 1990.** New associations in classical biological control: the case of oophagous parasitic Hymenoptera. *Les Colloques de l'INRA.* 56: 183-186
- Cruz, I. 1994.** Aspectos biológicos de *Spodoptera frugiperda* criadas com diferentes dietas artificiais. Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1992-1993. 6: 75
- De Moraes, C.M., A.M. Cortesero, J.O. Stapel & W.J. Lewis. 1999.** Intrinsic and extrinsic competitive interactions between two larval parasitoids of *Heliothis virescens*. *Ecol. Entomol.* 24: 402-410.
- Earl, S.L. & H.M. Graham. 1984.** Interactions between *Chelonus insularis* Cresson and *Telenomus remus* Nixon, parasitoids of *Spodoptera frugiperda* (Hübner). *South. Entomol.* 9: 326-333.
- Figueiredo, M.L.C. 1998.** Potencial de controle de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho com *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae). Tese de Mestrado, UFV, Viçosa. 76 p.
- Gerling, D. & A. Schwartz. 1974.** Host selection by *Telenomus remus*, a parasite of *Spodoptera littoralis* eggs. *Entomol. Exp. Appl.* 17: 391-396.
- Hawkins, B.A. 1993.** Parasitoid species richness, host mortality, and biological control. *Amer. Naturalist* 141: 634-641.
- Klomp, H., B.J. Teerink & W.C. Ma. 1980.** Discrimination between parasitized and unparasitized hosts by the egg parasitoid *Trichogramma embryophagum*

- (Hymenoptera: Trichogrammatidae): a matter of learning and forgetting. *Neth. J. Zool.* 30: 254-277.
- Miura, K., S. Matsuda & M Kobayashi. 1994.** Discrimination between parasitized and unparasitized hosts in an egg parasitoid, *Trichogramma chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Appl. Entomol. Zool.* 29: 317-322.
- Murdoch, W.W & C.J. Briggs. 1996.** Theory for biological control: recent developments. *Ecology* 77: 2001-2013.
- Schwartz, A. & D. Gerling. 1974.** Adult biology of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) under laboratory conditions. *Entomophaga* 19: 482-492.
- Shufen, W & Y. Huang. 1990.** Marking pheromone and its role in host discrimination in *Telenomus dendrolimus*. *Les Colloques de l'INRA.* 56: 221-226.
- Strand, M.R. 1986.** The physiological interactions of parasitoids with their hosts and their influence on reproductive strategies, p. 97-136. In: J. Waage & D. Greathead (eds.), *Insect parasitoids*. London, Academic Press, 389p.
- Strand, M.R. & S.B. Vinson. 1983.** Host acceptance behavior of *Telenomus heliothidis* (Hymenoptera: Scelionidae) toward *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 76: 781-785.
- Suzuki, Y., H. Tsuji & M. Sasakawa. 1984.** Sex allocation and effects of superparasitism on secondary sex ratios in the gregarious parasitoid *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Anim. Behav.* 32: 478-484.
- Tavares, J. & J. Voegelé. 1990.** Interspecific competition between three species of the genus *Trichogramma* (Hym., Trichogrammatidae). *Les Colloques de l'INRA.* 56: 45-48.
- Takasu, K. & Y. Hirose. 1988.** Host discrimination in the parasitoid *Ooencyrtus nezarae*: The role of the egg stalk as an external marker. *Entomol. Exp. Appl.* 47: 45-48.
- Turlings, T.C.J., F.D.H. van Batenburg & W.T.F.H. van Strien-van Liempt. 1985.** Why there is no interspecific host discrimination in the two coexisting larval

- parasitoids of *Drosophila* species, *Leptopilina heterotoma* (Thompson) and *Asorbara tabida* (Nees). *Oecologia* 67: 352-359.6
- van Alphen, J.J.M. & L.E.M. Vet. 1986.** An evolutionary approach to host finding and selection, p. 23-61. In: J. Waage & D. Greathead (eds.), *Insect parasitoids*. London, Academic Press, 389p.
- van Alphen, J.J.M., M.J. van Dijken & J.K. Waage. 1987.** A functional approach to superparasitism: host discrimination needs not to be learnt. *Neth. J. Zool.* 37: 161-179.
- van Alphen, J.J.M. & M.E. Visser. 1990.** Superparasitism as an adaptative strategy for insect parasitoids. *Ann. Rev. Entomol.* 35: 59-79.
- van Walzen, C.R.L. & J.K. Waage. 1987.** Adaptative responses to local mate competition by the parasitoid *Telenomus remus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 21: 359-369.
- Vet, L.M., van Lenteren, J.C., Heymans, M. & E. Meelis. 1984a.** An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. *Physiol. Entomol.* 8: 97 - 106
- Vet, L.E.M., M. Meyer, K. Bakker & J.J.M. van Alphen. 1984b.** Intra- and interspecific host discrimination in *Asorbara* (Hymenoptera) larval endoparasitoids of Drosophilidae: comparison between closely related and less closely related species. *Anim. Behav.* 32: 871-874.
- Zar, J.H. 1984.** *Biostatistical analysis*. New Jersey, Prentice-Hall, 718p.

## Conclusões Gerais

- \* As fêmeas de *T. remus* e *T. atopovirilia* utilizam voláteis de plantas hospedeiras e do hospedeiro para localizá-lo;
- \* O(s) composto(s) presente no ovo responsável pelo arretamento das fêmeas de *T. remus* e *T. atopovirilia* são solúveis em hexano;
- \* As fêmeas de *T. remus* utilizam voláteis do complexo planta + ovos mais eficientemente que as fêmeas de *T. atopovirilia*;
- \* As fêmeas das duas espécies de parasitoides são capazes de discriminar áreas com e sem ovos utilizando voláteis;
- \* Pode haver redução da sobreposição das guildas das duas espécies de parasitoides pela preferência por diferentes plantas hospedeiras;
- \* As fêmeas experientes de *T. remus* tem maior capacidade de discriminação de áreas com e sem ovos que as fêmeas não experientes;
- \* As fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. remus* não foram capazes de discriminar à distância entre ovos parasitados por co ou heteroespecíficos e não parasitados.