

AMALIA VICTORIA CEBALLOS GONZÁLEZ

LOCALIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE *Cotesia flavipes* EM
LAGARTAS DE *Diatraea saccharalis* ALIMENTADAS COM
DIFERENTES GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR *Saccharum* sp.

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das exi-
gências do Programa de Pós-Graduação
em Entomologia, para obtenção do tí-
tulo de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2017

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

C3871 Ceballos González, Amalia Victoria, 1987-
2017 Localização e desenvolvimento de *Cotesia flavipes*
em lagartas de *Diatraea saccharalis* alimentadas com
diferentes genótipos de cana-de-açúcar *Saccharum* sp /
Amalia Victoria Ceballos González. - Viçosa, MG, 2017.
xi, 45f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Eraldo Rodrigues de Lima.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. *Diatraea saccharalis*. 2. *Saccharum* sp.. 3. Broca
da cana - Controle. 4. Cana-de-açúcar - Doenças e
pragas. 5. *Cotesia flavipes*. I. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Entomologia. Programa de
Pós-graduação em Entomologia. II. Título.

CDD 22 ed. 632.7

AMALIA VICTORIA CEBALLOS GONZÁLEZ

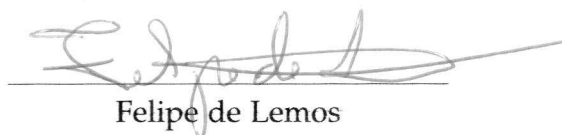
**LOCALIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE *Cotesia flavipes* EM
LAGARTAS DE *Diatraea saccharalis* ALIMENTADAS COM
DIFERENTES GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR *Saccharum* sp.**

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das exi-
gências do Programa de Pós-Graduação
em Entomologia, para obtenção do tí-
tulo de *Magister Scientiae*.

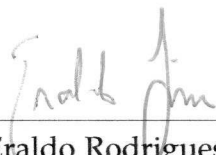
APROVADA: 09 de maio de 2017.



Arnoldus Rudolf Maria Janssen



Felipe de Lemos



Eraldo Rodrigues de Lima
(Orientador)

Dedicatória

Dedico a minha mãe, meu pai e meus irmãos, a força e amor sempre
presentes na minha vida.

Epígrafe

"La decisión y el trabajo duro basados en una pasión perdurable nunca nos van a decepcionar". *Edward O. Wilson.*

Agradecimentos

A meu pai, quem até o último dia de sua vida deu para mim todo o apoio e amor possível; sei o quão feliz estaria com esta conquista. A minha mãe, uma lutadora da vida, as palavras sempre ficam curtas para tudo o que devo a ela, é o motor da minha vida. A meus irmãos por todo o apoio, carinho e a confiança em mim e em meus sonhos, por estarem sempre torcendo por mim, mesmo estando tão distantes.

Ao professor Rodrigo, quem semeou em mim o amor e paixão pelos insetos, essa semente pouco a pouco está germinando e não vai parar de crescer.

A OEA, Brasil, a Universidade Federal de Viçosa e o Departamento de Entomologia, pela oportunidade de estudar na universidade e crescer profissionalmente e pessoalmente.

A Capes pelo apoio financeiro durante estes dois anos.

Ao professor Eraldo, quem desde meu primeiro dia no Brasil ofereceu seu laboratório, sua ajuda, sua orientação e sempre que procurado estava lá para me ajudar e apoiar, muito além dos problemas acadêmicos.

Ao professor Arne, por toda a assessoria nos experimentos, os ensinamentos quanto ao uso dos aparelhos, a paciência em todas as minhas dúvidas, a ajuda nas análises estatísticas e por sempre ter sua porta aberta e estar disposto a resolver minhas inquietudes.

Ao Felipe Lemos pelas primeiras assessorias no uso do ofatômetro e pelas oportunas correções ao documento final.

Ao professor Márcio e Adriano Tomaz pela disponibilização de informação importante sobre a cana, a disponibilização das plantas, das lagartas e todo o apoio oferecido durante o desenvolvimento do trabalho.

Ao Evandro, pela ajuda com as pantas, as criações e demais. Muito obrigada por sempre estar disposto a ajudar.

A Laura por ser minha amiga-irmã, pelos ensinamentos, pela paciência, pelos conselhos, por sempre estar comigo, mesmo quando estive mal e senti que não iria conseguir. Muito obrigada pelo apoio em cada passo deste trabalho, desde as viradas de noite fazendo os experimentos até as correções na escrita e na apresentação.

Ao Mika, por ser mais que um estagiário, um amigo-irmão. Muito obrigada pela paciência com meu jeito de ser, pelo apoio constante em cada passo deste trabalho, por cuidar de meus bichos sempre, pelo carinho verdadeiro e ajuda nos meus momentos mais difíceis.

Ao Lucas, pela amizade sincera, pelo apoio e companhia desde os experimentos até o desenho dos gráficos, às correções de português. Muito obrigada pela ajuda e companhia nos meus dias difíceis e escuros.

A Bruna, Carlos e Linda por seu apoio no cuidado das criações, pelo apoio e companhia nos experimentos, pela amizade e carinho sincero. A Gislaine, Diego, Afonso, Lucas Fárias e Mozart pela amizade e ajuda durante seu tempo na UFV, especialmente por me acompanhar nos dias críticos. A Aline pela preocupação constante, pela assessoria no trabalho com as vespas e apoio sempre que precisei.

A Manuel, Hernane, Natália, Antonio, Carla e Nataly pelos ensinamentos, o carinho, a ajuda quando precisei e apoio em meus dias difíceis. A Morgana pelos conselhos sempre oportunos, pela ajuda e por ceder sempre espaço para que eu pudesse trabalhar no olfatômetro. A Anyela e Julieth pelo carinho, preocupação e ajuda sempre que precisei.

A Eugênio, Claudia e Nerilda, pelo carinho e por oferecerem sua casa para que a gente pudesse matar um pouco as saudades de casa em dias especiais como Natal e Ano Novo. Muito obrigada mesmo.

A Angélica, Juliana, Veronica, Marisela pelas palavras sempre certas e por sempre lembrarem para mim os motivos pelos quais eu devia continuar.

A todos os que de uma forma ou outra contribuíram para eu estar aqui e conseguisse cumprir esse objetivo que me faz tão feliz e que é um passo a mais na procura de meu grande sonho.

Sumário

Lista de Figuras	vii
Resumo	viii
Abstract	x
1 Introdução Geral	1
Referências Bibliográficas	5
2 Preferência de <i>Cotesia flavipes</i> por genótipos de cana-de-açúcar infestadas com <i>Diatraea saccharalis</i>	10
Resumo	11
Abstract	12
Introdução	13
Material e Métodos	15
Resultados	17
Discussão	18
Conclusões	22
Referências Bibliográficas	23
3 Desenvolvimento de <i>Cotesia flavipes</i> em lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i> alimentadas com dois genótipos de cana-de-açúcar (<i>Saccharum</i> sp.)	28
Resumo	29
Abstract	30
Introdução	31
Material e Métodos	34
Resultados	36
Discussão	38
Conclusões	42
Referências Bibliográficas	43

Lista de Figuras

2.1	Resposta de <i>C. flavipes</i> a odores de plantas de cana-de-açúcar do genótipo RB867515 limpas ou infestadas por <i>D. saccharalis</i> . Os asteriscos mostram as diferenças significativas.	17
2.2	Resposta de <i>C. flavipes</i> a odores de plantas de cana-de-açúcar do genótipo IM76-228 limpas ou infestadas por <i>D. saccharalis</i> . Os asteriscos mostram as diferenças significativas.	18
2.3	Resposta de <i>C. flavipes</i> a odores de plantas de cana-de-açúcar do genótipos RB867515 e IM76-228 infestados com lagartas de <i>D. saccharalis</i>	19
3.1	Média de adultos de <i>C. flavipes</i> emergidos de lagartas de <i>D. saccharalis</i> alimentadas com dois genótipos de plantas de cana-de-açúcar RB867515 (suscetível) e IM76-228 (resistente).	36
3.2	Proporção de fêmeas de <i>C. flavipes</i> emergidas de lagartas de <i>D. saccharalis</i> alimentadas com dois tipos de plantas de cana-de-açúcar RB867515 (suscetível) e IM76-228 (resistente).	37
3.3	Sobrevivência de lagartas de <i>D. saccharalis</i> parasitadas com <i>C. flavipes</i> antes da emergência do parasitóide, alimentadas com dois genótipos de plantas de cana-de-açúcar RB867515 (suscetível) e IM76-228 (resistente).	38
3.4	Tempo de desenvolvimento (ovo até à emergência do adulto) do parasitóide <i>C. flavipes</i> em lagartas de <i>D. saccharalis</i> alimentadas com dois genótipos de plantas de cana-de-açúcar RB867515 (suscetível) e IM76-228 (resistente).	39

Resumo

CEBALLOS, Amalia Victoria, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2017. **Localização e desenvolvimento de *Cotesia flavipes* em lagartas de *Diatraea saccharalis* alimentadas com diferentes genótipos de cana-de-açúcar *Saccharum* sp.** Orientador: Eraldo Rodrigues de Lima.

Os parasitoides fazem parte de um sistema tritrófico e seu sucesso é fortemente influenciado pelo segundo e primeiro nível trófico. Alguns voláteis induzidos por herbívoros são utilizados como sinais por inimigos naturais dos herbívoros para localizar seus hospedeiros ou presas. Também tem se demonstrado que o sucesso dos parasitoides também pode mudar com a qualidade e características da planta que serviu de alimento ao hospedeiro. Nos estudamos a preferência de *C. flavipes* por plantas limpas e infestadas com lagartas de *Diatraea saccharalis* de dois genótipos (RB867515 e IM76-228) de cana-de-açúcar. Fêmeas de *C. flavipes* preferem odores emitidos por plantas infestadas com lagartas de *D. saccharalis* sobre plantas limpas, tanto no genótipo RB867515 como no IM76-228. Quando foram contrastados os odores emitidos por plantas do genótipo RB867515 infestado com *D. saccharalis* com plantas do genótipo IM76-228 também infestadas, o parasitoide não mostrou preferência. Também avaliamos o tempo de desenvolvimento, sobrevivência de lagartas parasitadas, número de parasitoides e a proporção de fêmeas de *Cotesia flavipes* emergidas de lagartas de *Diatraea saccharalis* alimentadas com plantas de cana-de-açúcar dos genótipos RB867515 e IM76-228. O número de adultos de *C. flavipes* foi maior para vespas desenvolvidas em lagartas alimentadas com o genótipo IM76-228, quando comparado com o genótipo RB867515. Por outro lado, não houve diferenças para o tempo de desenvolvimento, sobrevivência de lagartas parasitadas e a proporção de fêmeas de *C. flavipes* emergidas de lagartas

alimentadas em plantas de cana-de-açúcar nos dois genótipos. Os resultados encontrados mostram que o genótipo considerado moderadamente resistente (IM76-228) não afeta negativamente a preferência, desenvolvimento e fitness de *C. flavipes* portanto tem potencial para ser utilizado em programas de MIP.

Abstract

CEBALLOS, Amalia Victoria, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, May, 2017. **Localization and development of *Cotesia flavipes* in *Diatraea saccharalis* larvae fed different genotypes of sugarcane *Saccharum* sp.** Adviser: Eraldo Rodrigues de Lima.

Parasitoids are part of tritrophic systems and their success is strongly influenced by the second and first trophic level. Some HIPVs are used as signals by natural enemies of the herbivores to locate their hosts and prey. It has been shown that the success of parasitoids can also change with the quality and characteristics of the plant that serves as food for the host. We studied the preference of *Cotesia flavipes* for plants of two genotypes of sugar cane (RB68515 and IM76-228) that were either infested by caterpillars of the pest *Diatraea saccharalis* or were uninfested. *Cotesia flavipes* showed a significant preference for the odours of infested plants with caterpillars of *D. saccharalis* over the odours of intact plants, for both genotypes. When the odours of infested RB68515 genotype were offered together with the odours of the infested IM76-228 genotype, the parasitoid did not show a significant preference. We also studied the development time, survival of parasitized caterpillars, the number of emerged parasitoids and the sex ratio of *Cotesia flavipes* from *Diatraea saccharalis* caterpillars fed with sugarcane plants of genotypes RB68515 and IM76-228. Higher numbers of adults emerged from caterpillars fed on genotype IM76-228, than on genotype RB68515. In contrast, there were no differences in development time, the survival of parasitized caterpillars and the proportion of females of *C. flavipes* emerging from caterpillars fed on sugarcane plants of the two genotypes. The results show that the genotype considered moderately resistant (IM76-228) does not negatively affect the preference, development and fitness of *C. Flavipes*,

therefore has potential to be used in IPM programs.

Capítulo 1

Introdução Geral

A interação entre plantas e insetos herbívoros, ao longo do tempo, gerou um conjunto de estratégias de defesa e ataque em ambos (Agrawal, 2007). Entre as várias estratégias de defesa das plantas contra insetos herbívoros, destacam-se as barreiras físicas; como ceras, espinhos, tricomas ou folhagens resistentes (Smith, 1989). Os insetos superam essas barreiras com garras tarsais, substâncias que possibilitam a aderência e desenvolvendo mandíbulas fortemente esclerotizadas para possibilitar a alimentação (Schoonhoven et al., 2005; Arimura et al., 2005). As plantas também evoluíram a capacidade de se defenderem via defesas químicas, tais como toxinas, redutores de digestibilidade, repelentes e outros produtos secundários (Smith, 1989). Por sua vez, alguns insetos superam estas defesas com uma rápida excreção, destoxificação dos compostos secundários ou sequestrando e usando esses compostos posteriormente para sua própria defesa contra predadores (Schoonhoven et al., 2005). Desse modo, para este grupo de insetos que conseguem superar tais barreiras, plantas que só produzem estas defesas diretas ainda seriam vulneráveis (Price et al., 1980).

Além dessas defesas diretas, as plantas também podem fazer uso das defesas indiretas e interagindo com o terceiro nível trófico, melhorando o desempenho dos inimigos naturais dos insetos herbívoros (Dicke and Sabelis, 1988; Price et al., 1980). Sabe-se que alguns voláteis liberados pelas plantas de forma constitutiva atraem predadores e parasitóides dos insetos herbívoros (Vinson, 1976; Williams et al., 1988; Vet and Dicke, 1992; Dicke and Loon, 2000). A liberação de alguns voláteis pelas plantas é induzida apenas após injúria causada pelos herbívoros, e esses compostos atraem os inimigos naturais de àqueles herbívoros (Vet and Dicke, 1992; Dicke and Baldwin, 2010).

A liberação de voláteis nas plantas, induzido pelo ataque de herbívoros têm vantagens sobre a liberação de voláteis em plantas intactas e que são emitidos de forma constitutiva. Por exemplo, sabe-se que a liberação de alguns terpenos usados como sinais pelos inimigos naturais só são induzidos pela interação das plantas com as secreções de seus herbívoros (Dicke and Sabelis, 1988; Dicke et al., 1990). O dano feito pelos herbívoros também pode aumentar enormemente a emissão de voláteis nas plantas, o que não

acontece com as plantas intactas ou artificialmente danificadas (Turlings et al., 1990; Dicke et al., 1990). Além disso, plantas que foram atacadas por herbívoros emitem produtos químicos não só no local do dano do herbívoro, mas também sistematicamente nas folhas não infestadas (Dicke et al., 1990; Aartsma et al., 2017). Assim, plantas induzidas apresentam um diverso conjunto de informação química, considerável em quantidade e que pode ser aproveitado por inimigos naturais como parasitoides (Turlings and Benrey, 1998).

As fêmeas dos parasitoides têm uma tarefa fundamental, encontrar hospedeiros onde depositar seus ovos (Vet and Groenewold, 1990). A tarefa não é fácil, devido seus alvos serem pequenos e estarem dispersos num complexo entorno espacial e químico. Além disso, os hospedeiros possuem numerosas adaptações que os dificultam de serem descobertos e atacados pelos parasitoides (Vet and Dicke, 1992). Para localizar os hospedeiros onde depositarão seus ovos, os parasitoides podem usar a informação proveniente diretamente do hospedeiro. Os odores emitidos pelos hospedeiros são muito confiáveis, no entanto constituem uma parte diminuta dos odores do ambiente o que os tornam pouco perceptíveis à distância (Steinberg et al., 1992). Com essa dificuldade, os parasitoides devem procurar outra fonte de informação e muitas vezes as plantas em que seus hospedeiros se alimentam podem auxiliar.

A influência das plantas na localização do hospedeiro pelos parasitoides têm sido de interesse nas pesquisas em ecologia química. Estudos mostram que parasitoides procuram plantas hospedeiras dos herbívoros e fazem tentativas de parasitar, mesmo sem a presença desses herbívoros nas plantas (Picard and Rabaud, 1914; Vinson, 1975; Elzen et al., 1983; Beyaert and Hilker, 2014). É comum os parasitoides serem atraídos por voláteis induzidas por herbivoria nas plantas (Lecomte and Thibout, 1984; Whitman and Eller, 1990; McAuslane et al., 1991; Udayagiri and Jones, 1992; Steinberg et al., 1993; Mattiacci et al., 1994). Além disso, sabe-se que parasitoides podem distinguir entre diferentes espécies de plantas (Dicke et al., 1990; Turlings et al., 1990) e entre cultivares de plantas que são infestadas pela mesma espécie de herbívoro (Dicke et al., 1990). Assim, as plantas parecem apresentar uma boa solução para os parasitoides, já que ao ter maior biomassa, são mais perceptíveis à distância (Turlings et al., 1995).

Entre diferentes espécies de plantas, a quantidade e qualidade dos voláteis mudam, mas também variedades diferentes de uma mesma espécie de planta parece produzir diferentes perfis de voláteis (Turlings and Benrey, 1998; Abdala-Roberts and Mooney, 2013; Ali et al., 2016; Axelsson et al., 2015; Chen et al., 2015; Gols et al., 2011; Hare, 2011). Uma das espécies que tem sido objeto de melhoramento genético é a cana-de-açúcar *Saccharum* sp. Todos os atuais cultivares da cana são derivados de híbridos provenientes do cruzamento entre espécies do gênero *Saccharum* (Moraes et al., 2015). Através do melhoramento genético feito nessa base de híbridos, têm-se conseguido cultivares modernos com alta produtividade (Berding et al.,

1997; Hogarth et al., 1997). A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) é a principal fonte para a produção de açúcar, energia e derivados, como o etanol e fibras (Moraes et al., 2015). O melhoramento genético tem seu foco em adaptações ao clima, maior tolerância ao estresse hídrico, maior resistência às pragas e doenças (Cheavegatti-Gianotto et al., 2011). Atualmente o Brasil conta com inumeráveis variedades que tentam responder a essas condições desfavoráveis.

Um dos fatores que afetam a produtividade nas culturas são as pragas. No caso da cana-de-açúcar, a broca da cana, *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera:Crambidae) é uma praga que se destaca por provocar sérias injúrias ao perfurar o colmo da planta (Mendoza et al., 1996). Os danos provocados pelas lagartas de *D. saccharalis* incluem falhas na brotação pela morte de gemas em toletes atacados, o desenvolvimento reduzido dos colmos e a perda na qualidade da cana. Além da ação direta da broca, há um efeito indireto pela penetração de fungos e bactérias nas galerias feitas pelas lagartas (Lourenção et al., 1982). Devido a sua distribuição ser ampla em todo o Brasil, pela sua alta frequência e pelos danos que ocasiona *D. saccharalis* é considerada como praga-chave da cultura da cana (Mendoza et al., 1996; Nava et al., 2009)

O principal método para o controle de *D. Saccharalis* tem sido o biológico, usando o endoparasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cameron,1981) (Hymenoptera: Braconidae) (Botelho and Macedo, 2002). Esta vespa originária da Ásia e parasita de vários lepidópteros broqueadores de caule (Muirhead et al., 2006), foi introduzida no Brasil em 1974 mostrando resultados efetivos no controle da broca da cana (Mendoza et al., 1996). As fêmeas de *C. flavipes* possuem a capacidade de localizar e atacar de forma satisfatória as lagartas dentro da planta (Smith et al., 1993). *Cotesia flavipes* localiza seu hospedeiro, penetra no túnel feito pelas lagartas de *D. saccharalis* no interior da planta e os parasita (Potting et al., 1997). A localização é influenciada pelos voláteis que as plantas liberam como resposta a atividade alimentar das lagartas (Potting et al., 1995). Potting (1993) e Ngi-Song (1995) demonstraram que fêmeas de *C. flavipes* são atraídas a odores emanados por plantas de milho infestadas com broqueadores de caule. Potting (1993) demonstrou que *Cotesia flavipes* prefere plantas infestadas com lagartas a plantas não infestadas e que a liberação dos voláteis pela planta acontece de forma sistêmica na planta.

Outra estratégia para o controle da broca da cana é o uso de variedades resistentes. Esta estratégia tem vantagens, já que reduz as populações de insetos, não interfere no ecossistema e seu efeito é persistente e acumulativo (Lara, 1991). No entanto, a resistência das plantas a insetos e o controle biológico, em alguns casos, podem ser antagonistas, tornando assim importante a compreensão da interação tritrófica entre planta-herbívoro-parasitoide (Boiça Jr et al., 1997). É conhecido que as diferenças entre um genótipo e outro é conferido em muitos casos no nível dos produtos químicos e eles estão as vezes implicados nas interações tritróficas tanto de forma

direita como indireta. No caso, Pimentel et al. (2016) mostrou que a variedade de cana-de-açúcar IM76-228, por possuir características de resistência, é menos preferida para oviposição pelas fêmeas de *Diatraea saccharalis*, em relação ao genótipo RB867515. O desempenho larval da *D. saccharalis* nos colmos da cana foi menor no IM76-228, com índices baixos de infestação e injúria, em relação a RB867515. Além disso, o genótipo IM76-228 apresentou maior quantidade de compostos voláteis, em comparação com o genótipo RB867515. Além das diferenças no perfil de voláteis, na oviposição por parte do herbívoro e no desenvolvimento da lagarta, é provável que também seja influenciado o parasitoide *C. flavipes*, respondendo diferentemente aos dois genótipos da cana quando infestados com a lagarta. Assim, os diferentes genótipos de cana tem influencia na localização de hospedeiro e desenvolvimento de *C. flavipes*?

Referências Bibliográficas

- Aartsma, Y., Bianchi, F. J., Werf, W., Poelman, E. H., and Dicke, M. (2017). Herbivore-induced plant volatiles and tritrophic interactions across spatial scales. *New Phytologist*.
- Abdala-Roberts, L. and Mooney, K. A. (2013). Environmental and plant genetic effects on tri-trophic interactions. *Oikos*, 122(8):1157–1166.
- Agrawal, A. A. (2007). Macroevolution of plant defense strategies. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(2):103–109.
- Ali, A., Desneux, N., Lu, Y., Liu, B., and Wu, K. (2016). Characterization of the natural enemy community attacking cotton aphid in the Bt cotton ecosystem in Northern China. *Scientific reports*, 6.
- Arimura, G., Kost, C., and Boland, W. (2005). Herbivore-induced, indirect plant defences. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1734(2):91–111.
- Axelsson, E. P., Iason, G. R., Julkunen-Tiitto, R., and Whitham, T. G. (2015). Host genetics and environment drive divergent responses of two resource sharing gall-formers on norway spruce: a common garden analysis. *PloS one*, 10(11):e0142257.
- Berding, N., Moore, P., and Smith, G. (1997). Advances in breeding technology for sugarcane. In Keating, B. A. and Wilson, J. R., editors, *Intensive sugarcane Production: Meeting the challenges Beyond 2000*, pages 189–220.
- Beyaert, I. and Hilker, M. (2014). Plant odour plumes as mediators of plant–insect interactions. *Biological Reviews*, 89(1):68–81.
- Boiça Jr, A. L., Lara, F. M., and Bellodi, M. P. (1997). Influência de variedades de cana-de-açúcar, incorporadas em dieta artificial, no desenvolvimento de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e no seu parasitismo por *Cotesia flavipes*(Cam.). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*.
- Botelho, P. and Macedo, N. (2002). *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*. *Controle Biológico no Brasil: Parasitóides e Predadores*, 3(3):38–38.
- Cheavegatti-Gianotto, A., de Abreu, H. M. C., Arruda, P., Bessalho Filho, J. C., Burnquist, W. L., Creste, S., di Ciero, L., Ferro, J. A., de Oliveira Figueira, A. V., de Sousa Filgueiras, T., et al. (2011). Sugarcane *Saccharum officinarum*: a reference study for the regulation of genetically modified cultivars in Brazil. *Tropical plant biology*, 22(3):129–136.
- Chen, Y. H., Gols, R., and Benrey, B. (2015). Crop domestication and its impact on naturally selected trophic interactions. *Annual Review of Entomology*, 60:35–58.

-
- Dicke, M. and Baldwin, I. T. (2010). The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the cry for help. *Trends in plant science*, 15(3):167–175.
- Dicke, M. and Loon, J. J. (2000). Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. *Entomologia experimentalis et applicata*, 97(3):237–249.
- Dicke, M. and Sabelis, M. W. (1988). Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds. *Functional Ecology*, pages 131–139.
- Dicke, M., Sabelis, M. W., Takabayashi, J., Bruin, J., and Posthumus, M. A. (1990). Plant strategies of manipulating predator-prey interactions through allelochemicals: prospects for application in pest control. *Journal of Chemical Ecology*, 16(11):3091–3118.
- Elzen, G., Williams, H., and Vinson, S. (1983). Response by the parasitoid *Camponotus sonorensis* (hymenoptera: Ichneumonidae) to chemicals (synomones) in plants: implications for host habitat location. *Environmental Entomology*, 12(6):1873–1877.
- Gols, R., Bullock, J. M., Dicke, M., Bukovinszky, T., and Harvey, J. A. (2011). Smelling the wood from the trees: non-linear parasitoid responses to volatile attractants produced by wild and cultivated cabbage. *Journal of chemical ecology*, 37(8):795.
- Hare, J. D. (2011). Ecological role of volatiles produced by plants in response to damage by herbivorous insects. *Annual review of entomology*, 56:161–180.
- Hogarth, D., Cox, M., and Bull, J. (1997). Sugarcane improvement: past achievements and future prospects. *Crop improvement for the 21st century. Research signpost, Trivandrum, India*, pages 29–56.
- Lara, F. M. (1991). *Princípios De Resistência Das Plantas A Insetos*. Ícone.
- Lecomte, C. and Thibout, E. (1984). Etude olfactométrique de l'action de diverses substances allélochimiques végétales dans la recherche de l'hôte par *Diadromus pulchellus* (Hymenoptera, Ichneumonidae). *Entomologia experimentalis et applicata*, 35(3):295–303.
- Lourenção, A. L., Rossetto, C. J., Germek, E. B., Igue, T., Rezende, J. A. M., and Pereira, J. C. V. N. A. (1982). Comportamento de clones de cana-de-açúcar em relação a *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). *Bragantia*, 41(1):145–154.
- Mattiacci, L., Dicke, M., and Posthumus, M. A. (1994). Induction of parasitoid attracting synomone in brussels sprouts plants by feeding of *Pieris*

-
- brassicae* larvae: Role of mechanical damage and herbivore elicitor. *Journal of chemical ecology*, 20(9):2229–2247.
- McAuslane, H., Vinson, S., and Williams, H. (1991). Stimuli influencing host microhabitat location in the parasitoid *campoletis sonorensis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 58(3):267–277.
- Mendoza, Ramón, M., Pérez, M., Mendoza, C., and Mauriello, F. (1996). Reacción de 18 cultivares de caña de azúcar al ataque del taladrador de las caña de azúcar *Diatraea* spp. en el Estado Portuguesa, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía*, pages 541–580.
- Morais, L., dos Santos João M, and Monalisa, S. (2015). Melhoramento genético da cana de açúcar. *Embrapa Tabuleiros Costeiros*.
- Muirhead, K. A., Murphy, N. P., Sallam, M. N., Donnellan, S. C., and Austin, A. D. (2006). Mitochondrial DNA phylogeography of the *Cotesia flavipes* complex of parasitic wasps (Hymenoptera: Braconidae). In *Annales de la Société entomologique de France*, volume 42, pages 309–318. Taylor & Francis.
- Nava, D., Schneid, A., Melo, M., Pinto, A., and dos Anjos, S. (2009). Controle biológico da broca da cana-de-açúcar. Technical report, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado.
- Picard, F. and Rabaud, E. (1914). Sur le parasitisme externe des braconides (hym.). *Bull. Ent. Soc. France*, 1914:266–9.
- Pimentel, G. V. et al. (2016). Comportamento de oviposição e desempenho larval de *Diatraea saccharalis* em genótipos de cana-de-açúcar. Master's thesis, Universidade Federal de Viçosa.
- Potting, R., Overholt, W., Danso, F., and Takasu, K. (1997). Foraging behavior and life history of the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes* (hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior*, 10(1):13.
- Potting, R. P., Vet, L. E., and Dicke, M. (1995). Host microhabitat location by stem-borer parasitoid *Cotesia flavipes*: the role of herbivore volatiles and locally and systemically induced plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 21(5):525–539.
- Price, P. W., Bouton, C. E., Gross, P., McPheron, B. A., Thompson, J. N., and Weis, A. E. (1980). Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Annual review of Ecology and Systematics*, 11(1):41–65.
- Schoonhoven, L. M., Van Loon, J. J., and Dicke, M. (2005). *Insect-plant Biology*. Oxford University Press on Demand.

-
- Smith, C. M. (1989). *Plant resistance to insects. A fundamental approach*. John Wiley and Sons Ltd.
- Smith, J. J., Wiedenmann, R., and Overholt, W. (1993). *Parasites of Lepidopteran stemborers of tropical gramineous plants*. ICIPE Science Press.
- Steinberg, S., Dicke, M., Vet, L., and Wanningen, R. (1992). Response of the braconid parasitoid *Cotesia* (= *Apanteles*) *glomerata* to volatile infochemicals: effects of bioassay set-up, parasitoid age and experience and barometric flux. *Entomologia experimentalis et applicata*, 63(2):163–175.
- Steinberg, S., Dicke, M., and Vet, L. E. (1993). Relative importance of infochemicals from first and second trophic level in long-range host location by the larval parasitoid *Cotesia glomerata*. *Journal of chemical ecology*, 19(1):47–59.
- Turlings, T., Loughrin, J. H., McCall, P. J., Röse, U., Lewis, W. J., and Tumlinson, J. H. (1995). How caterpillar-damaged plants protect themselves by attracting parasitic wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(10):4169–4174.
- Turlings, T. C. and Benrey, B. (1998). Effects of plant metabolites on the behavior and development of parasitic wasps. *Ecoscience*, 5(3):321–333.
- Turlings, T. C., Tumlinson, J. H., and Lewis, W. J. (1990). Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science*, 250(4985):1251.
- Udayagiri, S. and Jones, R. L. (1992). Role of plant odor in parasitism of european corn borer by braconid specialist parasitoid *Macrocentrus grandii* goidanich: Isolation and characterization of plant synomones eliciting parasitoid flight response. *Journal of chemical ecology*, 18(10):1841–1855.
- Vet, L. E. and Dicke, M. (1992). Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annual Review of Entomology*, 37(1):141–172.
- Vet, L. E. and Groenewold, A. W. (1990). Semiochemicals and learning in parasitoids. *Journal of Chemical Ecology*, 16(11):3119–3135.
- Vinson, S. (1975). Biochemical coevolution between parasitoids and their hosts. In *Evolutionary strategies of parasitic insects and mites*, pages 14–48. Springer.
- Vinson, S. B. (1976). Host selection by insect parasitoids. *Annual review of entomology*, 21(1):109–133.
- Whitman, D. W. and Eller, F. J. (1990). Parasitic wasps orient to green leaf volatiles. *Chemoecology*, 1(2):69–76.

Williams, H., Elzen, G., and Vinson, S. (1988). *Parasitoid-host-plant interactions, emphasizing cotton (Gossypium)*. New York: Wiley.

Capítulo 2

Preferência de *Cotesia flavipes* por genótipos de cana-de-açúcar infestadas com *Diatraea saccharalis*

Resumo

Plantas atacadas por herbívoros sintetizam e emitem voláteis que podem ter função no segundo ou terceiro nível trófico. Alguns voláteis induzidos por herbívoros são utilizados como sinais por inimigos naturais dos herbívoros para localizar seus hospedeiros ou presas. Estudos feitos com *Cotesia flavipes* relatam que para localizar seus hospedeiros na longa distância, a vespa utiliza os voláteis emitidos por plantas que tem sido atacadas. Nos estudamos a preferência de *C. flavipes* por plantas limpas e infestadas com lagartas de *Diatraea saccharalis* de dois genótipos (RB867515 e IM76-228) de cana-de-açúcar. Fêmeas de *C. flavipes* preferem odores emitidos por plantas infestadas com lagartas de *D. saccharalis* sobre plantas limpas, tanto no genótipo RB867515 como no IM76-228. Quando foram contrastados os odores emitidos por plantas do genótipo RB867515 infestado com *D. saccharalis* com plantas do genótipo IM76-228 também infestadas, o parasitoide não mostrou preferência. Resultados encontrados demonstram que fêmeas de *C. flavipes* preferem odores de plantas infestadas com *D. saccharalis* sobre plantas limpas, mas não tem preferência entre os odores emitidos por os dois genótipos de plantas infestados com a broca da cana.

Palavras-chave. Voláteis induzidos por herbívoros, *Saccharum*. sp., IM76-228, RB867515.

Abstract

Plants attacked by herbivores synthesize and emit volatiles that may be used by the second and third trophic level. Some HIPVs are used as signals by natural enemies of the herbivores to locate their hosts and prey. Studies on *Cotesia flavipes* show that this parasitoid uses these volatiles for long distance detection, of plants with hosts. We studied the preference of *Cotesia flavipes* for plants of two genotypes of sugar cane (RB68515 and IM76-228) that were either infested by caterpillars of the pest *Diatraea saccharalis* or were uninfested. *Cotesia flavipes* showed a significant preference for the odours of infested plants with caterpillars of *D. saccharalis* over the odours of intact plants, for both genotypes. When the odours of infested RB867515 genotype were offered together with the odours of the infested IM76-228 genotype, the parasitoid did not show a significant preference. These results show that females of *Cotesia flavipes* prefer odours of infested plants with *D. saccharalis* over intact plants, but they do not have preference for the odours of either of the two genotypes when these are infested with the sugarcane borer.

Key words. HIPVs, *Saccharum* sp., IM76-228, RB867515.

Introdução

O sucesso reprodutivo dos parasitoides depende da capacidade de forrageio e localização adequada dos hospedeiros. Assim, a seleção natural tende a favorecer aos parasitoides que discriminam mais eficientemente entre os sinais do ambiente, aqueles vinculados diretamente à presença do hospedeiro (Geervliet et al., 1994). Os sinais do ambiente que os parasitoides podem usar para localizar seus hospedeiros são visuais, mecânicos, acústicos e químicos (Godfray, 1994; Vet et al., 2002). Embora os parasitoides possam usar vários destes sinais em combinação (Wackers and Lewis, 1994), estudos mostram que os sinais químicos parecem ser os mais importantes nessa exploração da informação do ambiente (Turlings et al., 1993).

Os sinais químicos que os parasitoides usam no forrageio e localização do hospedeiro podem ter origem diversa. Os parasitoides podem usar informação química da planta onde o hospedeiro se alimenta, do próprio hospedeiro, outros organismos associados ao hospedeiro, ou compostos químicos liberados como resultado das interações entre o hospedeiro e sua planta hospedeira (Lewis and Martin, 1990). Os sinais emitidos por hospedeiros ou seus subprodutos estão presentes em quantidades muito baixas, enquanto os voláteis das plantas são liberados em grandes quantidades (Turlings et al., 1991). Além disso, muitos artrópodes que são vítimas de parasitoides são herbívoros (Turlings and Benrey, 1998). Assim os voláteis provenientes das plantas parecem representar os sinais mais perceptíveis para os parasitoides (De Moraes et al., 2000).

Price et al. (1980) iniciou os estudos dos efeitos das plantas, não só sobre os herbívoros, mas também sobre os inimigos naturais dos mesmos. Alguns parasitoides usam voláteis emitidos por plantas intactas para localizar habitats de seus hospedeiros (Elzen et al., 1983; Ngi-Song et al., 1996). No entanto, há maiores vantagens para os parasitoides que podem responder a voláteis emitidos por plantas que tem sido atacadas pelos hospedeiros desses parasitoides (Turlings et al., 1993). Estes voláteis são fontes mais confiáveis da presença do hospedeiro, além de estarem disponíveis em grandes quantidades, o que os fazem facilmente detectáveis (De Moraes et al., 2000).

Dicke and Sabelis (1988) e seus colaboradores apresentaram uma das primeiras provas sobre esses voláteis induzidos nas plantas como consequência do ataque dos herbívoros e seu papel na atratividade de inimigos naturais. Estes compostos são chamados de voláteis de plantas induzidos por herbívoros, e não são emitidos por plantas intactas ou que sofreram danos mecânicos, pelo menos não nas mesmas proporções (Choh et al., 2004). Além disso, estes voláteis são liberados não só no sítio do dano, mas também de forma sistêmica nos tecidos intactos da planta (Turlings and Tumlinson, 1992; Rose et al., 1996).

A liberação dos voláteis de plantas induzidos por herbívoros e seu uso pelos inimigos naturais como sinais para localizar os herbívoros é um fenô-

meno amplamente observado em vários sistemas tritróficos (Degen et al., 2004). Por um lado estão os predadores, como ácaros predadores e a localização de ácaros herbívoros em plantas de feijão (Dicke and Sabelis, 1988) ou predadores antocorídeos e a localização de psilídeos herbívoros de árvores de pera (Scutareanu et al., 1997). Por outro lado estão os parasitoides, como vespas e a localização de lagartas de milho (Turlings et al., 1990; de Lange et al., 2016a), brássicas (Mattiacci et al., 1994; Gols et al., 2011), algodão (Loughrin et al., 1995), arroz (Liu et al., 2015)

Os voláteis de plantas induzidos por herbívoros podem ser específicos dependendo da espécie do herbívoro que a ataca e sua etapa de desenvolvimento, assim como da espécie da planta e a idade da mesma (Uefune et al., 2012). Somado a isso, genótipos ou variedades da mesma espécie de planta podem também se diferenciar na emissão de voláteis (Degen et al., 2004; Poelman et al., 2009; Gols et al., 2011). Drost et al. (1988) encontrou que o parasitoide *Microplitis croceipes* foi atraído diferencialmente a odores liberados por várias espécies de plantas que servem como alimento para seu hospedeiro e de Lange et al. (2016b), mostrou que *Cotesia marginiventris* foi atraída diferencialmente a vários cultivares de milho infestados com lagartas.

A *Cotesia flavipes* é um endoparasitoide larval da broca da cana que possui a capacidade de localizar e atacar de forma satisfatória as lagartas dentro da planta Smith et al. (1993). *Cotesia flavipes* localiza seu hospedeiro, penetra no túnel feito pelas lagartas de *D. saccharalis* no interior da planta e os parasita (Potting et al., 1997). A localização é influenciada por voláteis que as plantas liberam como resposta a atividade alimentária das lagartas (Potting et al., 1995). Potting et al. (1993) e Ngi-Song (1995) demonstraram que fêmeas de *C. flavipes* são atraídas a odores emanados por plantas de milho infestadas com broqueadores de caule. Também Potting et al. (1993) demonstrou que *Cotesia flavipes* prefere plantas infestadas com lagartas a plantas não infestadas e que a liberação dos voláteis pela planta acontece de forma sistêmica na planta.

Pimentel et al. (2016) mostrou que a variedade de cana-de-acúcar IM76-228, por possuir características de resistência, é menos preferida para oviposição pelas fêmeas de *Diatraea saccharalis*, em relação ao genótipo RB867515. O desempenho larval da *D. saccharalis* nos colmos da cana foi menor no IM76-228, com índices baixos de infestação e injúria, em relação a RB867515. Além disso, o genótipo IM76-228 apresentou maior quantidade de compostos voláteis, em comparação com o genótipo RB867515. Assim, é possível que estas diferenças influenciem o terceiro nível trófico e *C. flavipes* tenha preferências pelos voláteis induzidos por *D. saccharalis* em plantas de cana dos genótipos RB867515 ou IM76-228?

Material e Métodos

Produção da cana de açúcar

Colmos de plantas maduras de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), das variedades RB867515 e IM76-228, foram seccionados em toletes (contendo gema lateral), semeados em bandejas com substrato e mantidas em casa de vegetação. Após 30 dias, as plantas foram transplantadas individualmente para vasos plásticos de 1,5L e depois de uma semana foram adubadas com NPK (20-5-20). Para os testes de localização de hospedeiro foram usadas plantas de 40 dias de idade e com seis folhas desenvolvidas. Todas as plantas foram mantidas em casa de vegetação, com controle de temperatura e umidade.

Criação de *Diatraea saccharalis* e *Cotesia flavipes*

Ovos de *D. saccharalis* foram obtidos a partir de posturas retiradas de gaiolas de pvc (30x20cm) com 50 casais de adultos. A postura dos ovos foi feita em folhas de papel branco colocado no interior das gaiolas. As massas de ovos mais escuras, o seja as maisertas a emerger foram selecionadas, repartidas em partes menores (em uma média de 400 a 500 ovos) e colocados em dieta de alimentação contendo água destilada (400ml fria e 400ml quente, açúcar cristal (9,3g), farelo de soja (64,3g), germe de trigo (24,3g), levadura de cana (79,3g, nipagim (5,0g, sais de Wenson (2,86g), ácido ascórbico (1,43g), cloreto de colina (0,57g), solução vitamínica (10,7ml, formol (2,43ml), ampicilina comprimido (0,108g) e ágar (12,0g), por cada dieta (Hensley and Hammond, 1968). Esta dieta de alimentação foi depositada em frascos de vidro vedado para evitar contaminação, e os vidros foram colocados em BOD, em condições controladas, a uma temperatura de 28°C a 30°C, umidade relativa de 60 % e fotoperíodo de 10-14 horas.

Depois das lagartas atingirem 17 a 21 dias de idade, foram retiradas e transferidas para dieta de realimentação contendo água destilada (500ml fria e 350ml quente), açúcar cristal (40,0g), farelo de soja (60,0g), germe de trigo (19,5g), levadura de cana (34,5g), nipagim (4,5g), ácido sórbico (0,75g), ácido ascórbico (0,75g), cloreto de colina (0,3g), solução vitamínica (6,0ml), formol (1,5ml), ácido acético (6,0ml), wintomylom (1,0ml), vita Gold (0,75g), ampicilina comprimido (0,073g) e ágar (18g), para cada dieta (Hensley and Hammond, 1968). A dieta de realimentação com as lagartas foi colocada em placas de Petri esterilizadas até as lagartas atingirem o estado de pupa ou até serem usadas como hospedeiros de *C. flavipes*. Os insetos foram criados em condições controladas, a uma temperatura de 26°C a 28°C, umidade relativa de 60 % e fotoperíodo de 10-14 horas.

Os indivíduos de *C. flavipes* foram criados em lagartas de *D. saccharalis* de quarto ínstar. Para parasitar as lagartas, cada lagarta foi segurada com a mão e colocada perto de uma só fêmea de *C. flavipes*, a qual ovipositou dentro da lagarta. Lagartas parasitadas foram colocadas de dez em dez em

placas de Petri com dieta de realimentação. As placas foram depositadas numa sala com temperatura de 23 a 25 °C, permanecendo nessa sala até se formar as massas de casulos. Os casulos foram removidos com pinças e colocadas em pequenas placas de Petri até atingir o estado de adulto para serem usados nos bioensaios.

Prefêrências de *C. flavipes* por genótipos cana-de-açúcar infestados com *D. saccharalis*

Foram infestadas plantas de cana-de-açúcar, das variedades RB867515 e IM76-228 com 8 lagartas de 2 instar (por planta), 48 h antes dos testes. Para cada repetição, foram utilizadas um conjunto de 2 plantas por tratamento. As respostas das fêmeas do parasitóide foram medidas em um olfatômetro de tubo em Y (Pallini et al., 1997; Janssen, 1999). Este consiste de um tubo de vidro em forma de Y, duas mangueiras de plástico escuro que vão conectadas a cada braço, dois recipientes de vidro (38x50x8cm), onde foram colocadas as fontes de odores, e uma bomba de vácuo, que permitia conduzir os odores para o olfatômetro. A velocidade foi medida com anemômetro (VelociCalc[®], Modelo: 3A-181WP09), tendo sempre nos dois braços 0,46 m/s.

Fêmeas do parasitoide *C. flavipes* com menos de 24h de idade foram testadas individualmente com cinco repetições para cada combinação. Os testes se fizeram entre as 4 e 10 hrs da manhã. A resposta foi positiva quando o parasitóide atingia o extremo final do braço escolhido. Foram testadas as seguintes combinações: (i) RB867515 limpa x RB867515 infestada; (ii) IM76-228 limpa x IM76-228 infestada; (iii) RB867515 infestada x IM76-228 infestada. Em cada repetição foram testados 20 parasitóides. Os parasitóides tiveram um prazo de até dez minutos para a escolha das fontes de odores, após esse tempo, eles foram retirados e a resposta marcada como negativa, não sendo usada para a análise. As fontes de odores foram trocadas de posição nos braços do olfatômetro, após testar 5 insetos.

Análise estatística

Os dados obtidos nos diferentes testes de olfatômetro foram analisados com o Modelo Linear Generalizado (GLM) e com a distribuição Poisson (Crawley, 2012), e a ferramenta estatística utilizada foi o programa R (R Development Core Team, 2008)

Resultados

Fêmeas do parasitóide *C. flavipes* mostraram preferência por plantas infestadas do genótipo RB867515 ($df= 4$; $X^2 = 38.5$; $p < 0.001$) quando estas foram contrastadas com plantas limpas do mesmo genótipo (Fig.2.1).

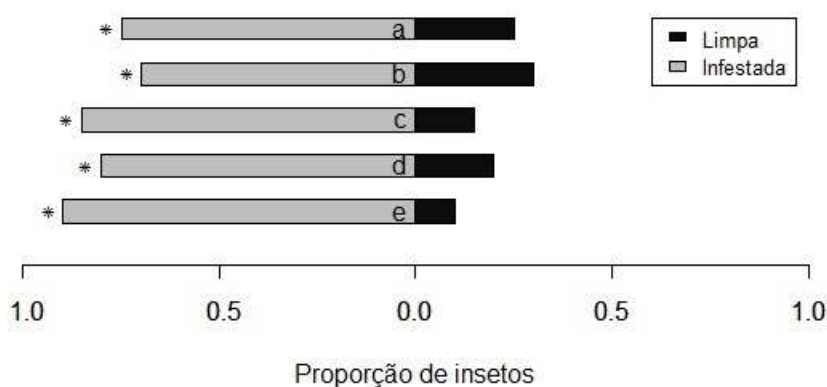


Figura 2.1: Resposta de *C. flavipes* a odores de plantas de cana-de-açúcar do genótipo RB867515 limpas ou infestadas por *D. saccharalis*. Os asteriscos mostram as diferenças significativas.

Do mesmo modo, *C. flavipes* mostrou preferência por plantas do genótipo IM76-228 infestadas por lagartas de *D. saccharalis* ($df= 4$; $X^2 = 28.4$; $p < 0.001$) sobre plantas limpas desse mesmo genótipo (Fig.2.2).

Quando foram contrastados os genótipos RB867515 e IM76-228 infestados com lagartas de *D. saccharalis*, a vespa *C. flavipes* não apresentou preferência significativa ($df= 4$; $X^2 = 3.26$; $p = 0.07109$) (Fig.2.3).

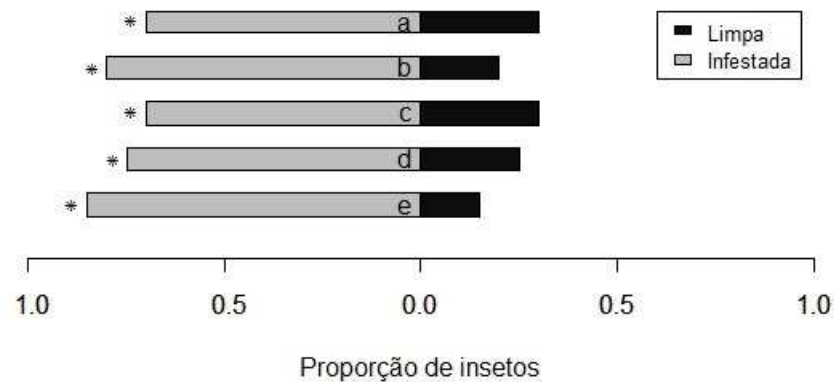


Figura 2.2: Resposta de *C. flavipes* a odores de plantas de cana-de-açúcar do genótipo IM76-228 limpas ou infestadas por *D. saccharalis*. Os asteriscos mostram as diferenças significativas.

Discussão

As fontes de voláteis que atraem um parasitoide podem ser fontes diretas do hospedeiro, as fezes deste ou a planta induzida pelo hospedeiro (Turlings et al., 1990). Plantas atacadas por herbívoros sintetizam e liberam variados compostos químicos, esses compostos podem ajudar a curar feridas, servir como antibióticos, como repelentes ou também podem ser tóxicos para os herbívoros (Levin, 1976; Turlings et al., 1993). Além destas funções, diversos trabalhos têm demonstrado que alguns compostos químicos induzidos pelo ataque de herbívoros também têm função no terceiro nível trófico. Por exemplo, voláteis induzidos por herbívoros são usados como sinais pelos inimigos naturais dos herbívoros para localizar suas presas ou hospedeiros (Dicke et al., 1990; Takabayashi et al., 1995; Turlings et al., 1990, 1991; De Moraes and Lewis, 1999). Para o caso de *C. flavipes*, inimigo natural de muitos broqueadores de caule, há evidências que o regurgitado das lagartas induzem a liberação de voláteis nas plantas e o parasitoide utiliza estes voláteis como sinais para localizar as lagartas a longa distância (Potting et al., 1995).

A preferência de *C. flavipes* por plantas de cana-de-açúcar infestadas com lagartas de *D. saccharalis* sobre plantas não infestadas, sugere que os compostos envolvidos na localização do hospedeiro pelo parasitoide es-

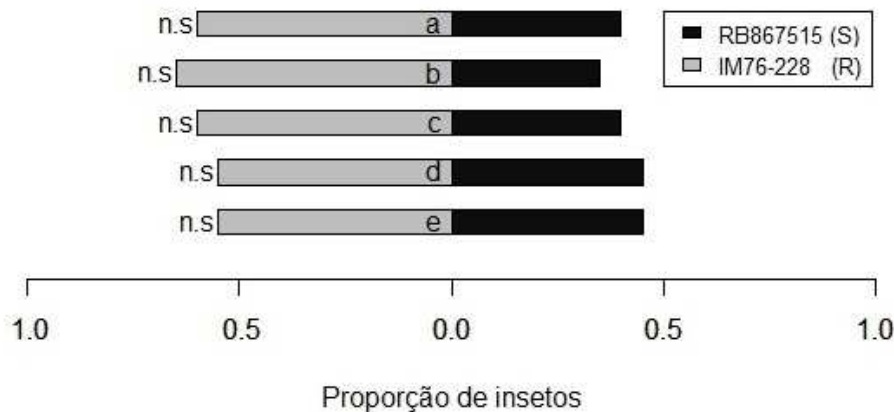


Figura 2.3: Resposta de *C. flavipes* a odores de plantas de cana-de-açúcar do genótipos RB867515 e IM76-228 infestados com lagartas de *D. saccharalis*

tão presentes no complexo planta-herbívoros e não na planta sozinha. No caso, os odores disponíveis para o parasitoide são os voláteis induzidos na planta pelo regurgitado da lagarta ao se alimentar, os odores emitidos pelo herbívoro ou os odores dos subprodutos deste como as fezes. Já foi demonstrada a importância dos odores emitidos pelas fezes dos herbívoros para *C. flavipes*, mais eles se fazem mais importantes na localização do hospedeiro na curta distância. Os voláteis induzidos nas plantas após o ataque de herbívoros, por estarem presentes em maior quantidade e serem mais diversos, são a melhor alternativa para serem usados como sinais de localização. No entanto, também é possível que a vespa seja atraída não só por um dos componentes do complexo planta-herbívoros. Resultados similares foram relatados por Potting (1995), onde *C. flavipes* preferiu odores liberados por plantas de milho infestadas sobre odores de plantas de milho não infestadas. Ngi-Song (1996) encontrou que *C. flavipes* tinha preferência por plantas de diferentes espécies infestadas por lagartas, quando comparadas com plantas não infestadas. Além de *C. flavipes*, a preferência de parasitoides por plantas infestadas com herbívoros sobre plantas não infestadas foi demonstrada para outros parasitoides como *C. nigriceps* (Nordlund and Lewis, 1976), *C. marginiventris* (Turlings et al., 1991), *C. glomerata* (Steinberg et al., 1992), *C. rubecula* (Agelopoulos and Keller, 1994) e *C. vestalis* (Uefune et al., 2012). Assim, plantas induzidas por herbívoros proporcionam para o parasitoide uma informação altamente detectável e confiável que não pode rejeitar.

A não preferência de *C. flavipes* pelas plantas dos dois genótipos infestadas com *D. saccharalis*, quando contrastadas, sugere que as diferenças entre

os odores emitidos pelos dois complexos RB867515-herbívoro e IM76-228-herbívoro produto da seleção dos segregantes advindos dos cruzamentos e aplicados para conferir resistência, não tem influencia na preferência da vespa na hora de utilizar como sinal. Resultados similares já foram relatados por Setámou (2002), onde plantas de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.) convencionais e transgênicas infestadas com *D. saccharalis* foram igualmente atrativas para fêmeas de *C. flavipes*. Outros trabalhos têm demonstrado que *C. flavipes* é atraída por voláteis liberados por plantas infestadas, independentemente das espécies de herbívoros, mesmo que o herbívoro não seja um hospedeiro adequado (Potting et al., 1997).

O endoparasitoide larval *C. flavipes* ataca várias espécies de broqueadores de caule que por sua vez se alimentam de uma grande variedade de plantas e provavelmente não utiliza sinais específicos do conjunto planta-lagarta na localização do hospedeiro. Embora a avaliação do perfil de voláteis tenha mostrado que há diferença entre os voláteis emitidos de forma constitutiva pelo genótipo IM76-228 e o genótipo RB867515 (Pimentel et al., 2016) é possível que *C. flavipes* tenha se adaptado a responder aos voláteis comuns entre várias espécies da família Poaceae que podem ser atacadas também por diversas espécies de broqueadores do caule (Schoonhoven et al., 2005). Por isso, a vespa não tem preferência pelos diferentes odores dos dois genótipos de cana-de-açúcar.

de Lange et al. (2016b) encontrou resultados similares para *C. sonorensis*, uma vespa que também parasita diversas lagartas que se alimentam de um grande número de plantas. Quando foram testados vários cultivares de milho infestados, tanto selvagens como modificados, o parasitoide não mostrou preferência por um ou outro cultivar. No entanto, *C. marginiventris*, um parasitoide também generalista, é capaz de diferenciar entre odores de duas espécies de plantas infestadas pelo mesmo hospedeiro, entre cultivares da mesma espécie de plantas e também entre duas espécies de herbívoros que se alimentam da mesma espécie de planta (Turlings et al., 1989; de Lange et al., 2016b).

Uma característica de *C. flavipes* que pode explicar os resultados da não preferência por um ou outro genótipo infestado é que os adultos desta vespa vivem só entre 2 ou 3 dias podendo parasitar poucos hospedeiros. Potting et al. (1995) reportou que a taxa de mortalidade é relativamente alta para *C. flavipes* dentro do caule, sendo assim, o número de encontros com hospedeiros na sua vida é baixo. Estes limitantes podem fazer com que a vespa tenha se tornado uma forrageira oportunista que aceita muitos dos hospedeiros que se encontram no habitat que frequenta (Potting et al., 1997). Nesse forrageio oportunista *C. flavipes* não responderá a sinais específicos do sistema planta-hospedeiro, e sim, a sinais mais gerais.

É conhecido que a diferença no perfil de voláteis dos dois genótipos é a responsável pela preferência de oviposição de fêmeas de *D. saccharalis* entre os genótipos. Não entanto, lagartas que se desenvolvem no genótipo resistente conseguem se alimentar e a resistência neste caso é devida às

barreras físicas da planta, como a presença de tricomas. Assim, pelo menos para os dois genótipos testados, é possível sugerir que os programas de melhoramento genético para conferir resistência, para o caso de localização do hábitat do hospedeiro, não estão interferindo com os programas de controle biológico. Agora, é importante observar se a oviposição dentro de lagartas alimentadas com um ou outro genótipo de cana-de-açúcar influencia o desenvolvimento de *C. flavipes*.

Conclusões

Cotesia flavipes diferencia entre odores provenientes de plantas infestadas e não infestadas e é mais atraída a odores de plantas infestadas. O parasitóide foi mais atraído a odores emitidos por plantas dos genótipos RB867515 e IM76-228 infestadas com *D. saccharalis*, quando comparados com odores de plantas dos mesmos genótipos, mas limpas.

Plantas dos genótipos RB867515 e IM76-228 infestadas com lagartas de *D. saccharalis* foram similarmente preferidas por fêmeas de *C. flavipes*, demonstrando que o parasitóide não consegue diferenciar entre os dois genótipos de plantas infestadas.

Referências Bibliográficas

- Agelopoulos, N. G. and Keller, M. A. (1994). Plant-natural enemy association in tritrophic system, *Cotesia rubecula*-*Pieris rapae*-brassicaceae (cruciferae). iii: Collection and identification of plant and frass volatiles. *Journal of chemical ecology*, 20(8):1955–1967.
- Choh, Y., Shimoda, T., Ozawa, R., Dicke, M., and Takabayashi, J. (2004). Exposure of lima bean leaves to volatiles from herbivore-induced conspecific plants results in emission of carnivore attractants: active or passive process? *Journal of chemical ecology*, 30(7):1305–1317.
- Crawley, M. J. (2012). *The R book*. John Wiley & Sons.
- de Lange, E. S., Farnier, K., Gaudillat, B., and Turlings, T. C. (2016a). Comparing the attraction of two parasitoids to herbivore-induced volatiles of maize and its wild ancestors, the teosintes. *Chemoecology*, 26(1):33–44.
- de Lange, E. S., Farnier, K., Gaudillat, B., and Turlings, T. C. (2016b). Comparing the attraction of two parasitoids to herbivore-induced volatiles of maize and its wild ancestors, the teosintes. *Chemoecology*, 26(1):33–44.
- De Moraes, C. M. and Lewis, W. (1999). Analyses of two parasitoids with convergent foraging strategies. *Journal of Insect Behavior*, 12(5):571–583.
- De Moraes, C. M., Lewis, W., and Tumlinson, J. H. (2000). Examining plant-parasitoid interactions in tritrophic systems. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 29(2):189–203.
- Degen, T., Dillmann, C., Marion-Poll, F., and Turlings, T. C. (2004). High genetic variability of herbivore-induced volatile emission within a broad range of maize inbred lines. *Plant physiology*, 135(4):1928–1938.
- Dicke, M. and Sabelis, M. W. (1988). Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds. *Functional Ecology*, pages 131–139.
- Dicke, M., Sabelis, M. W., Takabayashi, J., Bruin, J., and Posthumus, M. A. (1990). Plant strategies of manipulating predator-prey interactions through allelochemicals: prospects for application in pest control. *Journal of Chemical Ecology*, 16(11):3091–3118.
- Drost, Y., Lewis, W., and Tumlinson, J. (1988). Beneficial arthropod behavior mediated by airborne semiochemicals: V. influence of rearing method, host plant, and adult experience on host-searching behavior of *Microplitis croceipes* (cresson), a larval parasitoid of *Heliothis*. *Journal of chemical ecology*, 14(7):1607–1616.

-
- Elzen, G., Williams, H., and Vinson, S. (1983). Response by the parasitoid *Campoletis sonorensis* (hymenoptera: Ichneumonidae) to chemicals (synomones) in plants: implications for host habitat location. *Environmental Entomology*, 12(6):1873–1877.
- Geervliet, J. B., Vet, L. E., and Dicke, M. (1994). Volatiles from damaged plants as major cues in long-range host-searching by the specialist parasitoid *Cotesia rubecula*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 73(3):289–297.
- Godfray, H. C. J. (1994). *Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology*. Princeton University Press.
- Gols, R., Bullock, J. M., Dicke, M., Bukovinszky, T., and Harvey, J. A. (2011). Smelling the wood from the trees: non-linear parasitoid responses to volatile attractants produced by wild and cultivated cabbage. *Journal of chemical ecology*, 37(8):795.
- Hensley, S. and Hammond, A. M. (1968). Laboratory techniques for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. *Journal of Economic Entomology*, 61(6):1742–1743.
- Janssen, A. (1999). Plants with spider-mite prey attract more predatory mites than clean plants under greenhouse conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 90(2):191–198.
- Levin, D. A. (1976). The chemical defenses of plants to pathogens and herbivores. *Annual review of Ecology and Systematics*, 7(1):121–159.
- Lewis, W. and Martin, W. (1990). Semiochemicals for use with parasitoids: status and future. *Journal of Chemical Ecology*, 16(11):3067–3089.
- Liu, Q., Romeis, J., Yu, H., Zhang, Y., Li, Y., and Peng, Y. (2015). Bt rice does not disrupt the host-searching behavior of the parasitoid *Cotesia chilonis*. *Scientific reports*, 5.
- Loughrin, J. H., Manukian, A., Heath, R. R., and Tumlinson, J. H. (1995). Volatiles emitted by different cotton varieties damaged by feeding beet armyworm larvae. *Journal of Chemical Ecology*, 21(8):1217–1227.
- Mattiacci, L., Dicke, M., and Posthumus, M. A. (1994). Induction of parasitoid attracting synomone in brussels sprouts plants by feeding of *Pieris brassicae* larvae: Role of mechanical damage and herbivore elicitor. *Journal of chemical ecology*, 20(9):2229–2247.
- Ngi-Song, A. (1995). *Parasitization of Selected African stemborers By Cotesia flavipes Cameron and Cotesia sesamiae (Cameron)(Hymenoptera: Braconidae) with Emphasis on Host Selection and Host Suitability*. PhD thesis, University of Ghana.

-
- Ngi-Song, A. J., Overholt, W. A., Njagi, P. G., Dicke, M., Ayertey, J. N., and Lwande, W. (1996). Volatile infochemicals used in host and host habitat location by *Cotesia flavipes* cameron and *Cotesia sesamiae* (cameron) (hymenoptera: Braconidae), larval parasitoids of stemborers on gramineae. *Journal of Chemical Ecology*, 22(2):307–323.
- Nordlund, D. A. and Lewis, W. (1976). Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. *Journal of Chemical Ecology*, 2(2):211–220.
- Pallini, A., Janssen, A., and Sabelis, M. W. (1997). Odour-mediated responses of phytophagous mites to conspecific and heterospecific competitors. *Oecologia*, 110(2):179–185.
- Pimentel, G. V. et al. (2016). Comportamento de oviposição e desempenho larval de *Diatraea saccharalis* em genótipos de cana-de-açúcar. Master's thesis, Universidade Federal de Viçosa.
- Poelman, E. H., Oduor, A. M., Broekgaarden, C., Hordijk, C. A., Jansen, J. J., Van Loon, J. J., Van Dam, N. M., Vet, L. E., and Dicke, M. (2009). Field parasitism rates of caterpillars on *Brassica oleracea* plants are reliably predicted by differential attraction of *Cotesia* parasitoids. *Functional Ecology*, 23(5):951–962.
- Potting, R., Osaе-Danso, F., Overholt, W., and Ngi-Song, A. (1993). Host selection in *Cotesia flavipes*, parasitoid of tropical stemborers. *Proce. Expe. & Appl. Entomol.*
- Potting, R., Overholt, W., Danso, F., and Takasu, K. (1997). Foraging behavior and life history of the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes* (hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior*, 10(1):13.
- Potting, R. P., Vet, L. E., and Dicke, M. (1995). Host microhabitat location by stem-borer parasitoid *Cotesia flavipes*: the role of herbivore volatiles and locally and systemically induced plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 21(5):525–539.
- Price, P. W., Bouton, C. E., Gross, P., McPherson, B. A., Thompson, J. N., and Weis, A. E. (1980). Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Annual review of Ecology and Systematics*, 11(1):41–65.
- R Development Core Team (2008). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0.
- Rose, U. S., Manukian, A., Heath, R. R., and Tumlinson, J. H. (1996). Volatile semiochemicals released from undamaged cotton leaves (a systemic response of living plants to caterpillar damage). *Plant Physiology*, 111(2):487–495.

-
- Schoonhoven, L. M., Van Loon, J. J., and Dicke, M. (2005). *Insect-plant Biology*. Oxford University Press on Demand.
- Scutareanu, P., Drukker, B., Bruin, J., Posthumus, M. A., and Sabelis, M. W. (1997). Volatiles from psylla-infested pear trees and their possible involvement in attraction of anthocorid predators. *Journal of Chemical Ecology*, 23(10):2241–2260.
- Smith, J. J., Wiedenmann, R., and Overholt, W. (1993). *Parasites of Lepidopteran stemborers of tropical gramineous plants*. ICIPE Science Press.
- Steinberg, S., Dicke, M., Vet, L., and Wanningen, R. (1992). Response of the braconid parasitoid *Cotesia* (= *Apanteles*) *glomerata* to volatile infochemicals: effects of bioassay set-up, parasitoid age and experience and barometric flux. *Entomologia experimentalis et applicata*, 63(2):163–175.
- Takabayashi, J., Takahashi, S., Dicke, M., and Posthumus, M. (1995). Developmental stage of herbivore *Pseudaletia separata* affects production of herbivore-induced synomone by corn plants. *Journal of Chemical Ecology*, 21(3):273–287.
- Turlings, T., Tumlinson, J., Eller, F., and Lewis, W. (1991). Larval-damaged plants: source of volatile synomones that guide the parasitoid *Cotesia marginiventris* to the micro-habitat of its hosts. *Entomologia experimentalis et applicata*, 58(1):75–82.
- Turlings, T. and Tumlinson, J. H. (1992). Systemic release of chemical signals by herbivore-injured corn. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(17):8399–8402.
- Turlings, T. C. and Benrey, B. (1998). Effects of plant metabolites on the behavior and development of parasitic wasps. *Ecoscience*, 5(3):321–333.
- Turlings, T. C., McCall, P. J., Alborn, H. T., and Tumlinson, J. H. (1993). An elicitor in caterpillar oral secretions that induces corn seedlings to emit chemical signals attractive to parasitic wasps. *Journal of Chemical Ecology*, 19(3):411–425.
- Turlings, T. C., Tumlinson, J. H., and Lewis, W. J. (1990). Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science*, 250(4985):1251.
- Turlings, T. C., Tumlinson, J. H., Lewis, W. J., and Vet, L. E. (1989). Beneficial arthropod behavior mediated by airborne semiochemicals. viii. learning of host-related odors induced by a brief contact experience with host by-products in *Cotesia marginiventris* (cresson), a generalist larval parasitoid. *Journal of Insect Behavior*, 2(2):217–225.

-
- Uefune, M., Kugimiya, S., Sano, K., and Takabayashi, J. (2012). Herbivore-induced plant volatiles enhance the ability of parasitic wasps to find hosts on a plant. *Journal of Applied Entomology*, 136(1-2):133–138.
- Vet, L. E., Hemerik, L., and Visser, M. E. (2002). Flexibility in host-search and 3 patch-use strategies of insect. *The Behavioural Ecology of Parasites*, page 39.
- Wackers, F. and Lewis, W. (1994). Olfactory and visual learning and their combined influence on host site location by the parasitoid *Microplitis croceipes* (cresson). *Biological Control*, 4(2):105–112.

Capítulo 3

Desenvolvimento de *Cotesia flavipes* em lagartas de *Diatraea saccharalis* alimentadas com dois genótipos de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.)

Resumo

Os parasitoides fazem parte de um sistema tritrófico e seu sucesso é fortemente influenciado pelo segundo e primeiro nível trófico. Além da qualidade do hospedeiro, tem se demonstrado que o sucesso dos parasitoides também pode mudar com a qualidade e características da planta que serviu de alimento ao hospedeiro. Aqui avaliamos o tempo de desenvolvimento, sobrevivência de lagartas parasitadas, número de parasitoides e a proporção de fêmeas de *Cotesia flavipes* emergidas de lagartas de *Diatraea saccharalis* alimentadas com plantas de cana-de-açúcar dos genótipos RB867515 e IM76-228. O número de adultos de *C. flavipes* foi maior para vespas desenvolvidas em lagartas alimentadas com o genótipo IM76-228, quando comparado com o genótipo RB867515. Por outro lado, não houve diferenças para o tempo de desenvolvimento, sobrevivência de lagartas parasitadas e a proporção de fêmeas de *C. flavipes* emergidas de lagartas alimentadas em plantas de cana-de-açúcar nos dois genótipos. Os resultados encontrados mostram que o genótipo considerado moderadamente resistente (IM76-228) não afeta negativamente o desenvolvimento e fitness de *C. flavipes* portanto tem potencial para ser utilizado em programas de MIP.

Palavras-chave. *Saccharum* sp., *Cotesia flavipes*, RB867515, IM76-228, Desenvolvimento, fitness.

Abstract

Parasitoids are part of tritrophic systems and their success is strongly influenced by the second and first trophic level. Besides the quality of the host, it has been show that the succes of parasitoids can also change with the quality and characteristics of the plant that serves as food for the host. We studied the development time, survival of parasitized caterpillars, the number of emerged parasitoids and the sex ratio of *Cotesia flavipes* from *Diatraea saccharalis* caterpillars fed with sugarcane plants of genotypes RB867515 and IM76-228. Higher numbers of adults emerged from caterpillars fed on genotype IM76-228, than on genotype RB867515. In constrast, there were no differences in devolpment time, the survival parasitized caterpillars and the proportion of females of *C. flavipes* emerging from caterpillars fed on sugarcane plants of the two genotypes. The results show that the genotype considered moderately resistant (IM76-228) does not negatively affect the development and fitness of *C. Flavipes*, therefore has potential to be used in IPM programs.

Key words: *Diatraea saccharalis*, *Saccharum* sp., *Cotesia flavipes*, RB867515, IM76-228, development, fitness.

Introdução

Insetos nos quais a fêmea oviposita dentro ou próximo a outro inseto e a progênie se alimenta deste, são chamados de parasitoides (Matthews, 1974). Os parasitoides ocorrem quase exclusivamente nas ordens Hymenoptera e Diptera, porém são componentes abundantes nos ecossistemas, tanto em número de espécies quanto em número de indivíduos. O grande número e o sucesso destes insetos se deve a características e adaptações diversas. Os parasitoides têm se adaptado a parasitar só uma etapa de vida de seu hospedeiro (ovo, larva, pupa ou adulto) (Strand and Obrycki, 1996), e podem se desenvolver dentro dos hospedeiros (endoparasitoides) ou fora deles (ectoparasitoides). Além disso, os parasitoides também podem ser idiobiontes, ou seja que após serem parasitados, os hospedeiros cessam o desenvolvimento. Em outro caso, os hospedeiros continuam desenvolvendo-se após serem parasitados, e eles são chamados de koinobiontes (Askew and Shaw, 1986).

Encontrar um hospedeiro não é uma tarefa fácil para os parasitoides, isso porque os hospedeiros têm desenvolvido ao longo do tempo diversas estratégias de defesa. Uma dessas estratégias dos hospedeiros é alimentar-se no interior das plantas e permanecer não visíveis. No entanto, os parasitoides têm desenvolvido também muitas estratégias para procurar e parasitar hospedeiros ocultos. Alguns parasitoides tem oviposidores longos e fortes que possibilitam perfurar plantas e atacar hospedeiros crípticos. Outros parasitoides ovipositam perto de túneis feitos pelos herbívoros, e ao emergir as larvas procuram ativamente o hospedeiro. Outras espécies de parasitoides depositam ovos nos túneis e esses ovos são ingeridos pelos hospedeiros (Bradleigh, 1976). Por outro lado, algumas pequenas espécies de parasitoides penetram nos túneis e parasitam o hospedeiro (Potting et al., 1997).

Devido a que muitos parasitoides se desenvolvem no interior do seu hospedeiro, o segundo desafio será sobreviver nesse microhabitat cheio de defesas. Parasitoides evadem o mecanismo interno de defesas do hospedeiro ovipositando dentro de certos tecidos (ganglio, corpo gorduroso) ou etapas (ovos, pupa) que proporcionam uma melhor proteção ao parasitoide (Vinson and Iwantsch, 1980). Outros parasitoides conseguem superar as defesas por meio da regulação do hospedeiro ou com o desenvolvimento de estruturas que protegem a progênie dos fatores imunes do hospedeiro. Em certos casos, parasitoides adquirem simbioses que produzem substâncias imunossupressoras (Pennacchio and Strand, 2006).

A grande maioria dos hospedeiros dos parasitoides são herbívoros e é de se esperar que as plantas tenham um papel fundamental para os parasitoides, por exemplo emitindo voláteis que servem como sinais na localização de hospedeiros (Faeth, 1994; Godfray, 1994; Turlings et al., 1995). No entanto, as plantas não só tem papel na localização dos hospedeiros, mas também no desenvolvimento dos parasitoides. Diversos estudos de-

monstram a influência das plantas na sobrevivência, o tamanho da população, desenvolvimento, longevidade, e sexo dos parasitoides (Vinson and Iwantsch, 1980; Godfray, 1994). Os efeitos podem ser pela presença ou ausência de nutrientes na dieta do hospedeiro, pela ação dos aleloquímicos que podem ser tóxicos para parasitoides ou pela interação entre nutrientes e aleloquímicos (Fox et al., 1990). O efeito da planta sobre o parasitoide pode ser direto se as substâncias das plantas estão presentes no tecido do hospedeiro ou indireto, quando a planta influencia a idoneidade e condição do herbívoro que depois vai ser hospedeiro do parasitoide imaturo (Fox et al., 1990).

No caso dos aleloquímicos, diversas são as alterações que podem provocar os produtos químicos das plantas nos parasitoides. Os compostos químicos das plantas podem ter alguma ação tóxica nos órgãos ou tecidos dos parasitoides e isso vai impedir o uso normal de nutrientes. Também pode esgotar certos nutrientes essenciais no tecido do hospedeiro e formar complexos indigeríveis ou se unir com enzimas digestivas do hospedeiro e inibir o uso de certos nutrientes pelo parasitoide. Finalmente, os produtos químicos das plantas também podem estimular a desintoxicação de sistemas enzimáticos no hospedeiro ou parasitoide e alterar os requerimentos energéticos e bioquímicos (Fox et al., 1990).

Espécies diferentes de plantas, variedades de plantas da mesma espécie, diferentes idades das plantas ou inclusive alimentação dos herbívoros em diferentes tecidos das plantas, podem ter influência nos herbívoros e consequentemente nos parasitoides (Lewis et al., 1990). É conhecido que a variação na resistência a herbivoria entre espécies ou cultivares está baseada na composição química e isso pode causar diferenças no desenvolvimento dos parasitoides. Por exemplo, vespas *Comperiella bifasciata* e *Habrolepis rouxi* se desenvolveram satisfatoriamente em um hospedeiro quando este se alimentou de cítricos, mas não quando esse mesmo hospedeiro se alimentou na palmeira sagú (Smith et al., 1993). Orr and Boethel (1986) encontraram que o desenvolvimento e pupação de *Copidosoma truncatellum* tinha sido lento no hospedeiro *Pseudoplusia includens* alimentado com genótipo resistente de soja, quando comparado com hospedeiro alimentado no genótipo susceptível.

As plantas também podem afetar a proporção de sexos dos parasitoides ou a sobrevivência dos sexos (Fox et al., 1990; Kester and Barbosa, 1991; Hare and Luck, 1991; Turlings and Benrey, 1998). Em estudos feitos com *Aphytis melinus*, parasitoide de *Aonidiella aurantii* se encontrou que há uma maior produção de progênie feminina quando o hospedeiro do parasitoide foi criado no limão que em aqueles criados em pomelo, laranja ou tangerina (Hare and Luck, 1991). Similarmente, se obteve uma maior proporção de fêmeas de *Dadegma insulare*, quando seu hospedeiro *Plutella xylostella* foi criado em col com aplicação de fertilizantes (Kester and Barbosa, 1991).

Cotesia flavipes é um koinobionte e endoparasitóide larval de muitos broqueadores de caule, dentro desses, de *Diatraea saccharalis*, a praga alvo da

cultura da cana-de-açúcar. A alimentação de *D. saccharalis* em diferentes genótipos de cana-de-açúcar pode ter efeitos não só na lagarta, mas também no inimigo natural desta. Assim, há diferenças no tempo de desenvolvimento, sobrevivência, proporção de fêmeas e quantidade de adultos emergidos de *C. flavipes*, quando as lagartas da broca são alimentadas nos genótipos RB867515 (suscetível) ou MI76-228 (resistente)?

Material e Métodos

Produção da cana de açúcar

Colmos de plantas maduras de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), das variedades RB867515 e IM76-228, foram seccionados em toletes (contendo gema lateral), semeados em bandejas com substrato e mantidas em casa de vegetação. Após 30 dias, as plantas foram transplantadas individualmente para vasos plásticos de 1,5L e depois de uma semana foram adubadas com NPK (20-5-20). Para os testes de localização de hospedeiro foram usadas plantas de 40 dias de idade e com seis folhas desenvolvidas. Todas as plantas foram mantidas em casa de vegetação, com controle de temperatura e umidade.

Criação de *Diatraea saccharalis* e *Cotesia flavipes*

Ovos de *D. saccharalis* foram obtidos a partir de posturas retiradas de gaiolas de pvc (30x20cm) com 50 casais de adultos. A postura dos ovos foi feita em folhas de papel branco colocado no interior das gaiolas. As massas de ovos mais escuras, oseja as maisertas a emerger foram selecionadas, repartidas em partes menores (em uma média de 400 a 500 ovos) e colocados em dieta de alimentação contendo água destilada (400ml fria e 400ml quente, açúcar cristal (9,3g), farelo de soja (64,3g), germe de trigo (24,3g), levadura de cana (79,3g, nipagim (5,0g, sais de Wenson (2,86g), ácido ascórbico (1,43g), cloreto de colina (0,57g), solução vitamínica (10,7ml, formol (2,43ml), ampicilina comprimido (0,108g) e ágar (12,0g), por cada dieta (Hensley and Hammond, 1968). Esta dieta de alimentação foi depositada em frascos de vidro vedado para evitar contaminação, e os vidros foram colocados em BOD, em condições controladas, a uma temperatura de 28°C a 30°C, umidade relativa de 60 % e fotoperíodo de 10-14 horas.

Depois das lagartas atingirem 17 a 21 dias de idade, foram retiradas e transferidas para dieta de realimentação contendo água destilada (500ml fria e 350ml quente), açúcar cristal (40,0g), farelo de soja (60,0g), germe de trigo (19,5g), levadura de cana (34,5g), nipagim (4,5g), ácido sórbico (0,75g), ácido ascórbico (0,75g), cloreto de colina (0,3g), solução vitamínica (6,0ml), formol (1,5ml), ácido acético (6,0ml), wintomylom (1,0ml), vita Gold (0,75g), ampicilina comprimido (0,073g) e ágar (18g), para cada dieta (Hensley and Hammond, 1968). A dieta de realimentação com as lagartas foi colocada em placas de Petri esterilizadas até as lagartas atingirem o estado de pupa ou até serem usadas como hospedeiros de *C. flavipes*. Os insetos foram criados em condições controladas, a uma temperatura de 26°C a 28°C, umidade relativa de 60 % e fotoperíodo de 10-14 horas.

Os indivíduos de *C. flavipes* foram criados em lagartas de *D. saccharalis* de quarto ínstar. Para parasitar as lagartas, cada lagarta foi segurada com a mão e colocada perto de uma só fêmea de *C. flavipes*, a qual ovipositou dentro da lagarta. Lagartas parasitadas foram colocadas de dez em dez em

placas de Petri com dieta de realimentação. As placas foram depositadas numa sala com temperatura de 23 a 25 °C, permanecendo nessa sala até se formar as massas de casulos. Os casulos foram removidos com pinças e colocadas em pequenas placas de Petri até atingir o estado de adulto para serem usados nos bioensaios.

Desenvolvimento de *Cotesia flavipes* em lagartas de *Diatraea saccharalis* alimentadas com plantas do genótipo RB867515 ou IM76-228

Se infestaram plantas das variedades RB867515 e IM76-228 com lagartas de 10 dias de idade, segundo instar. As lagartas se alimentaram das plantas por 11 dias e logo foram retiradas para serem parasitadas por fêmeas de *C. flavipes*. As fêmeas utilizadas para este experimento estavam acasaladas e tinham um dia de idade. As lagartas parasitadas foram colocadas individualmente em dieta de realimentação em pequenas placas de Petri. Foi avaliado o tempo de desenvolvimento, a proporção de fêmeas, média de adultos emergidos das lagartas, e sobrevivência.

Análise estatística

Os dados de tempo de desenvolvimento e a média de adultos emergidos foram analisados com o Modelo Linear Generalizado (GLM) e distribuição Gaussian, os dados de proporção de fêmeas foram analisados com GML e distribuição quasibinomial e os dados de sobrevivência foram analisados com GLM e distribuição binomial (Crawley, 2012). A ferramenta estatística utilizada foi o programa R (R Development Core Team, 2008).

Resultados

O número de adultos de *C. flavipes* emergidos foi influenciado pelo genótipo de cana-de-açúcar. Foi obtido maior quantidade de adultos de *C. flavipes* em lagartas de *D. saccharalis* alimentadas com o genótipo de cana IM76-228, que em lagartas alimentadas com o genótipo RB867515 ($df= 8$; $F =62.54$; $p < 0.001$)(Fig.3.1).

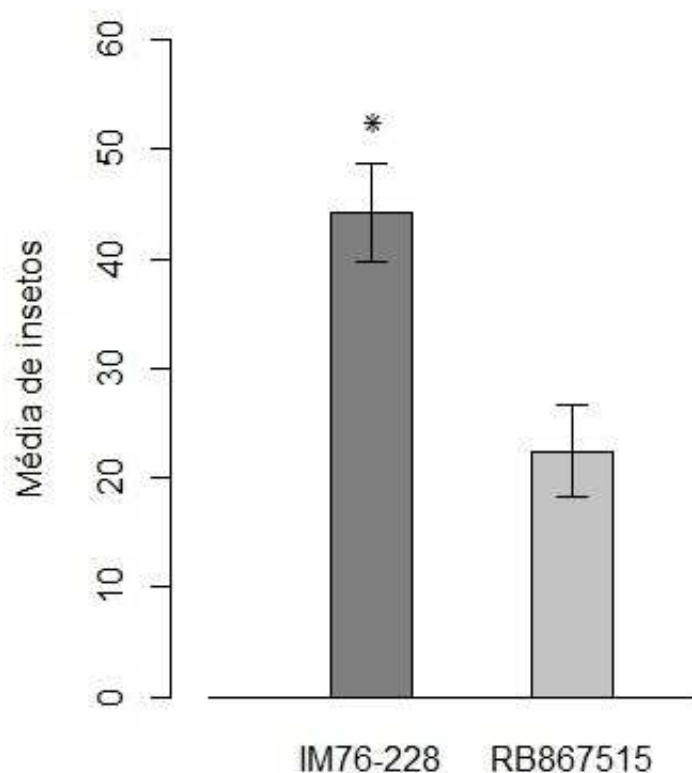


Figura 3.1: Média de adultos de *C. flavipes* emergidos de lagartas de *D. saccharalis* alimentadas com dois genótipos de plantas de cana-de-açúcar RB867515 (suscetível) e IM76-228 (resistente).

Não houve diferença na proporção de fêmeas *C. flavipes* emergidas de lagartas de *D. saccharalis* alimentadas com os genótipos de cana-de-açúcar RB867515 e IM76-228 ($df= 8$; $F =0.38$; $p= 0.6$) (Fig.3.2).

A sobrevivência de lagartas de *D. saccharalis* parasitadas com *C. flavipes* antes da emergência do parasitóide, foi igual para lagartas alimentadas em plantas de cana-de-açúcar do genótipo RB867515 e IM76-228 ($df= 8$; $X^2 =0.082$; $p= 0.77$). (Fig.3.3).

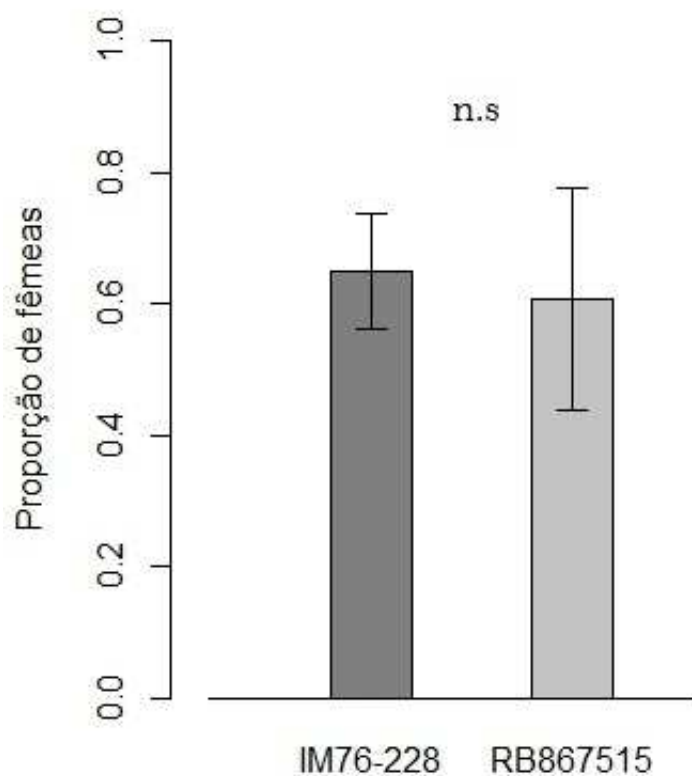


Figura 3.2: Proporção de fêmeas de *C. flavipes* emergidas de lagartas de *D. saccharalis* alimentadas com dois tipos de plantas de cana-de-açúcar RB867515 (suscetível) e IM76-228 (resistente).

O tempo de desenvolvimento (ovo até a emergência do adulto) do parasitóide *C. flavipes*, foi igual para vespas desenvolvidas em lagartas de *D. saccharalis* alimentadas com plantas de cana-de-açúcar do genótipo RB867515 e do genótipo IM76-228 ($df= 8$; $F =0.67$; $p=0.44$). (Fig.3.4).

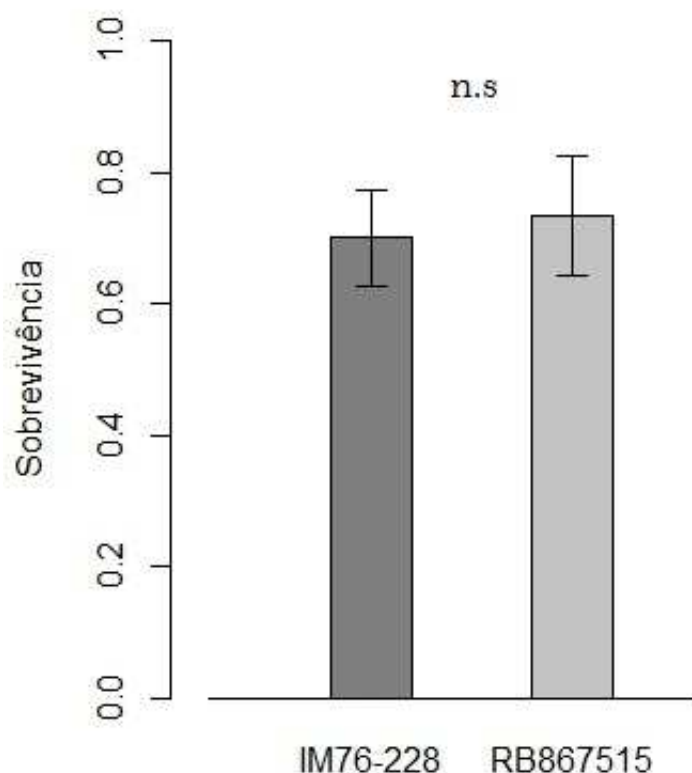


Figura 3.3: Sobrevivência de lagartas de *D. saccharalis* parasitadas com *C. flavipes* antes da emergência do parasitóide, alimentadas com dois genótipos de plantas de cana-de-açúcar RB867515 (suscetível) e IM76-228 (resistente).

Discussão

Parasitoides que conseguem satisfatoriamente localizar e parasitar hospedeiros enfrentam um segundo desafio, superar as defesas desse hospedeiro (Laing, 1937; Flanders, 1953; Douth, 1964; Vinson, 1975). Particularmente, os endoparasitoides possuem adaptações fisiológicas e comportamentais que permitem sobreviver no interior do seu hospedeiro (De Moraes et al., 2000). Ao se alimentar no interior do hospedeiro, os parasitoides vão ser fortemente influenciados pelos nutrientes e produtos químicos provenientes das plantas onde esse herbívoro se alimentou. Assim, as diferenças nos aleloquímicos e nos nutrientes entre espécies de plantas ou cultivares da mesma espécie podem modificar as interações parasitóides-hospedeiros, influenciando no crescimento, quantidade, proporção de sexos, tempo de desenvolvimento e sobrevivência dos parasitoides (Campbell and Duffey,

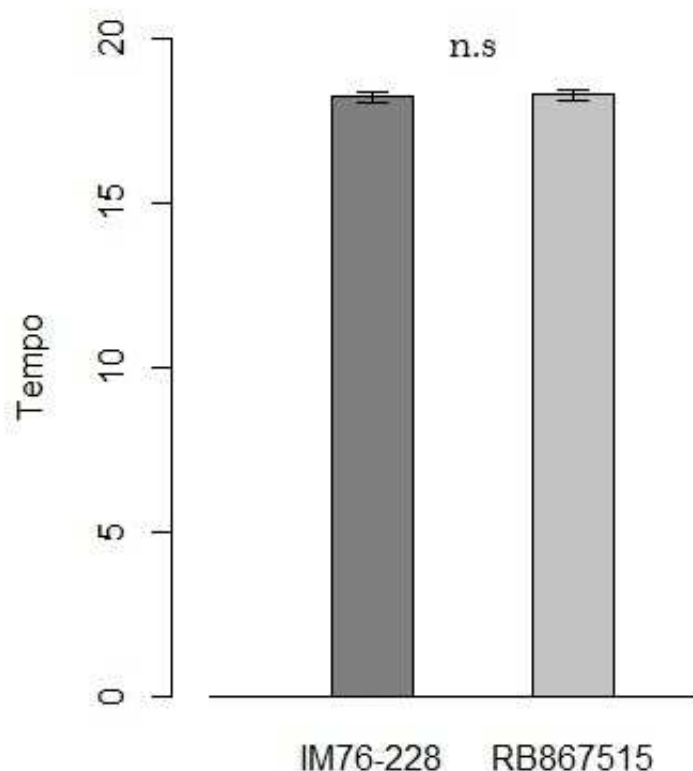


Figura 3.4: Tempo de desenvolvimento (ovo até à emergência do adulto) do parasitóide *C. flavipes* em lagartas de *D. saccharalis* alimentadas com dois genótipos de plantas de cana-de-açúcar RB867515 (suscetível) e IM76-228 (resistente).

1979; Barbosa and Saunders, 1985).

Cotesia flavipes é um endoparasitoide larval que se alimenta no interior de seu hospedeiro, um desses hospedeiros é a *Diatraea saccharalis* (Smith et al., 1993). Estudos demonstram que alguns produtos químicos das plantas podem modificar a qualidade nutricional do hospedeiro ou podem se acumular no intestino e estar presentes na hemolinfa, sendo disponível para o parasitóide (Fitches and Gatehouse, 1998). Assim, as larvas de *C. flavipes* poderiam ser objeto de potenciais efeitos diretos ou indiretos dos compostos químicos das plantas.

Os resultados aqui encontrados revelam que tanto para parasitoides criados em lagartas de *D. saccharalis* alimentadas no genótipo IM76-228 como no genótipo RB867515 não se apresentaram diferenças significativas na proporção de fêmeas, no tempo de desenvolvimento de ovo até a emergência do adulto e na sobrevivência das lagartas parasitadas. Também Boiça Jr

et al. (1997) relatou que não se encontraram diferenças significativas para tempo de desenvolvimento de ovo a pupa e o peso de pupas de *C. flavipes*, isso quando as lagartas hospedeiras foram alimentadas com dieta contendo cana-de-açúcar das variedades SP71-1081 1 e SP71-3146. Estes resultados demonstram que pelo menos, para os genótipos testados, o melhoramento genético não está influenciando negativamente o desempenho da *C. flavipes*, um inseto não alvo e sumamente utilizado como controle biológico de *D. saccharalis*.

Por outro lado, se encontrou que o número de parasitoides emergidos de lagartas de *D. saccharalis* alimentadas com o genótipo IM76-228 foi significativamente maior, quando comparado com os emergidos no genótipo RB867515. Por serem insetos gregários, as larvas de *C. flavipes* vão competir pelos recursos disponíveis de seus hospedeiros, e ao serem endoparasitoides, estão fisiologicamente limitados pelo hospedeiro no qual vivem e se alimentam (Brodeur and Boivin, 2004). Lagartas alimentadas no genótipo IM76-228 no momento de serem parasitadas tinham tamanhos relativamente maiores que as lagartas alimentadas no genótipo RB867515. Embora o genótipo IM76-228 apresente características como maior quantidade de tricomas e dureza do colmo, os quais dificultam o movimento e a alimentação e retardam a entrada no colmo; é possível que após conseguirem entrar, as lagartas possam se alimentar e aproveitar de mais recursos. Para os experimentos foram usadas lagartas com 10 dias de idade e, portanto, vão ter melhor capacidade para superar essas barreiras físicas que a planta impõe. Assim, as lagartas alimentadas no genótipo IM76-228 poderiam oferecer maiores recursos, que serão distribuídos entre um maior número de larvas de parasitoides, tendo ao final, um maior número de adultos.

Setamou et al. (2002) encontrou efeitos negativos diretos de um cultivar de cana-de-açúcar resistente a broca da cana sobre *C. flavipes*, quando comparado com um cultivar convencional. Além disso, similarmente ao encontrado aqui, observou que larvas que se alimentam em dieta contendo cana-de-açúcar transgênica crescem mais rápido e são fisiologicamente mais velhas no momento de serem parasitadas, quando comparadas com as lagartas alimentadas em cana convencional.

Resultados encontrados demonstram que o genótipo IM76-228 não só não influencia negativamente a *C. flavipes*, mas também aumenta a quantidade de adultos produzidos em cada lagarta. Ainda que não se apresentou diferença entre a proporção de fêmeas emergidas de cada lagarta nos dois genótipos, ao ter mais indivíduos emergidos de lagartas alimentadas no genótipo IM76-228, se produzirão maior número de fêmeas também e assim, com mais indivíduos produzidos, há uma maior probabilidade de sucesso no controle da broca da cana. O genótipo IM76-228 tem características potenciais que podem ser utilizadas nos programas de melhoramento genético para conseguir produzir uma variedade que possa ter uma resistência moderada e por sua vez, seja compatível com os programas de

controle biológico.

Conclusões

O tempo de desenvolvimento, proporção de fêmeas e sobrevivência da progênie de *C. flavipes* não é afetada se o parasitóide desenvolveu-se em lagartas de *D. saccharalis* alimentadas com cana-de-açúcar dos genótipos RB867515 e IM76-228.

A alimentação do hospedeiro *D. saccharalis* em genótipos de cana-de-açúcar RB867515 e IM76-228 teve efeito no número de adultos do parasitóide *C. flavipes*.

Referências Bibliográficas

- Askew, R. and Shaw, M. R. (1986). Parasitoid communities: Their size, structure and development. In Waage, J and Greathead, D (eds), *Insect Parasitoids, 13th Symposium of Royal Entomological Society of London*, pages 225–264. Academic Press, London: Elsevier.
- Barbosa, P. and Saunders, J. A. (1985). Plant allelochemicals: linkages between herbivores and their natural enemies. *Chemically mediated interactions between plants and other organisms*. Plenum, New York, pages 107–137.
- Boiça Jr, A. L., Lara, F. M., and Bellodi, M. P. (1997). Influência de variedades de cana-de-açúcar, incorporadas em dieta artificial, no desenvolvimento de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e no seu parasitismo por *Cotesia flavipes*(Cam.). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*.
- Bradleigh, V. S. (1976). Host selection by insect parasitoids. *Texas A&M University*, 15:17–22.
- Brodeur, J. and Boivin, G. (2004). Functional ecology of immature parasitoids. *Annual Reviews in Entomology*, 49(1):27–49.
- Campbell, B. C. and Duffey, S. S. (1979). Tomatine and parasitic wasps: potential incompatibility of plant antibiosis with biological control. *Science*, 205(4407):700–702.
- Crawley, M. J. (2012). *The R book*. John Wiley & Sons.
- De Moraes, C. M., Lewis, W., and Tumlinson, J. H. (2000). Examining plant-parasitoid interactions in tritrophic systems. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 29(2):189–203.
- Doutt, R. (1964). Biological characteristics of entomophagous adults. *De-Bach, Paul Biological Control of Insect Pests and Weeds*.
- Faeth, S. H. (1994). Induced plant responses: effects on parasitoids and other natural enemies of phytophagous insects. *Parasitoid community ecology*, pages 245–260.
- Fitches, E. and Gatehouse, J. A. (1998). A comparison of the short and long term effects of insecticidal lectins on the activities of soluble and brush border enzymes of tomato moth larvae *Lacanobia oleracea*. *Journal of Insect Physiology*, 44(12):1213–1224.
- Flanders, S. E. (1953). Variations in susceptibility of citrus-infesting coccids to parasitization. *Journal of Economic Entomology*, 46(2):266–269.

-
- Fox, L. R., Letourneau, D. K., Eisenbach, J., and Van Nouhuys, S. (1990). Parasitism rates and sex ratios of a parasitoid wasp: effects of herbivore and plant quality. *Oecologia*, 83(3):414–419.
- Godfray, H. C. J. (1994). *Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology*. Princeton University Press.
- Hare, J. D. and Luck, R. F. (1991). Indirect effects of citrus cultivars on life history parameters of a parasitic wasp. *Ecology*, 72(5):1576–1585.
- Hensley, S. and Hammond, A. M. (1968). Laboratory techniques for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. *Journal of Economic Entomology*, 61(6):1742–1743.
- Kester, K. and Barbosa, P. (1991). Behavioral and ecological constraints imposed by plants on insect parasitoids: implications for biological control. *Biological Control*, 1(2):94–106.
- Laing, J. (1937). Host-finding by insect parasites. 1. observations on the finding of hosts by *Alysia manducator*, *Mormoniella vitripennis*, and *Trichogramma evanescens*. *The Journal of Animal Ecology*, pages 298–317.
- Lewis, W., Vet, L. E., Tumlinson, J., Van Lenteren, J., and Papaj, D. (1990). Variations in parasitoid foraging behavior: essential element of a sound biological control theory. *Environmental Entomology*, 19(5):1183–1193.
- Matthews, R. W. (1974). Biology of braconidae. *Annual Review of Entomology*, 19:15–32.
- Orr, D. and Boethel, D. (1986). Influence of plant antibiosis through four trophic levels. *Oecologia*, 70(2):242–249.
- Pennacchio, F. and Strand, M. R. (2006). Evolution of developmental strategies in parasitic hymenoptera. *Annu. Rev. Entomol.*, 51:233–258.
- Potting, R., Overholt, W., Danso, F., and Takasu, K. (1997). Foraging behavior and life history of the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes* (hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior*, 10(1):13.
- R Development Core Team (2008). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0.
- Setamou, M., Bernal, J., Legaspi, J., and Mirkov, T. (2002). Parasitism and location of sugarcane borer (lepidoptera: Pyralidae) by *Cotesia flavipes* (hymenoptera: Braconidae) on transgenic and conventional sugarcane. *Environmental Entomology*, 31(6):1219–1225.
- Smith, J. J., Wiedenmann, R., and Overholt, W. (1993). *Parasites of Lepidopteran stemborers of tropical gramineous plants*. ICIPE Science Press.

-
- Strand, M. R. and Obrycki, J. J. (1996). Host specificity of insect parasitoids and predators. *BioScience*, 46(6):422–429.
- Turlings, T., Loughrin, J. H., McCall, P. J., Röse, U., Lewis, W. J., and Tumlinson, J. H. (1995). How caterpillar-damaged plants protect themselves by attracting parasitic wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(10):4169–4174.
- Turlings, T. C. and Benrey, B. (1998). Effects of plant metabolites on the behavior and development of parasitic wasps. *Ecoscience*, 5(3):321–333.
- Vinson, S. (1975). Biochemical coevolution between parasitoids and their hosts. In *Evolutionary strategies of parasitic insects and mites*, pages 14–48. Springer.
- Vinson, S. B. and Iwantsch, G. (1980). Host suitability for insect parasitoids. *Annual review of entomology*, 25(1):397–419.