

**Universidade de São Paulo**

**Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto**

**Programa de Pós – Graduação em Entomologia**

**Estratégias de parasitismo da vespa parasitóide**

*Cotesia flavipes,*

**Cameron, 1891 (Hymenoptera: Braconidae)**

**Márcia Terumi Uehara**

**Universidade de São Paulo**  
**Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto**  
**Programa de Pós – Graduação em Entomologia**

**Estratégias de parasitismo da vespa parasitóide**  
*Cotesia flavipes*,  
**Cameron, 1891 (Hymenoptera: Braconidae)**

**Márcia Terumi Uehara**  
**Prof. Dr. Nivar Gobbi**

Tese apresentada a Faculdade de  
Filosofia, Ciências de Ribeirão  
Preto, como parte das exigências  
para a obtenção do título em  
Doutora em Ciências – Área de  
Entomologia

**2005**  
**Ribeirão Preto – Brasil**

*Dedico e ofereço a toda minha família universal sem eles nada  
disso seria possível*

*Especialmente agradeço aos meus pais, irmãos e sobrinhos*

*Ofereço com carinho a Júlio César Ribeiro*

*Ainda que eu falasse a língua dos homens  
E falasse a língua dos anjos,  
Sem amor eu nada seria.*

*É só o amor, é só amor  
Que conhece o que é verdade  
O amor é bom, não quer o mal  
Não sente inveja ou se envaidece.*

*Amor é fogo que arde sem se ver  
É ferida que dói e não se sente  
É um contentamento descontente  
É dor que desatina sem doer.*

*Ainda que eu falasse a língua dos homens  
E falasse a língua dos anjos,  
Sem amor eu nada seria....*

*Monte Castelo  
(Renato Russo)*

## ***Agradecimentos***

*Ao Prof. Dr. Nivar Gobbi, pela orientação, amizade, confiança, incentivo e principalmente pela total liberdade, sem ela eu não poderia crescer. Obrigada a este que iniciou-me na pesquisa científica.*

*Agradeço a Usina São João, especialmente ao pessoal do laboratório de Controle biológico: Ana Maria, Andrezão, Débora, Edivan, Felipe, Maria Rosa, Mirtes, Mônia, Ricardo e Sérgio pela total assistência e colaboração no desenvolvimento deste trabalho, obrigada pela alegria e carinho.*

*A Unesp de Rio Claro pela estrutura oferecida, especialmente a biblioteca e ao Departamento de Ecologia.*

*Ao Prof. Dr. Júlio César Ribeiro pela análise estatística.*

*Ao Nozor Paulo Pinto pelo desenho da arena, Ms Monique Oliveira Lima pela revisão gramatical, Heraldo Negri pelas fotos.*

*Aos amigos de sempre e de todas horas, vocês moram em meu coração: Adilson, D. Ana, Ana Clara, Ana Paula, Arlete, Bete, Luceli, Luzia, Maria Sandra, Rosana, Rosângela, Silvia Picelli, Simone Oliveira, Simone Soave, Sueli Marangon, Valentina.*

*Ao amigo, companheiro e esposo que sempre me apoiou em todos os sentidos.*

*A secretaria (Renata) da pós graduação da Faculdade de Filosofia, Ciências de Ribeirão Preto por toda assistência prestada.*

*Ao CNPq pela bolsa e apoio concedidos.*

*E a cidade de Rio Claro na qual passei bons anos de minha vida.*

*E a todos que colaboraram direta ou indiretamente com o meu trabalho.*

## Índice

	página
Introdução geral	7
Revisão da Literatura	11
Capítulo I – Comparação de três idades do parasitóide <i>Cotesia flavipes</i> no parasitismo de <i>Diatraea saccharalis</i>	18
Capítulo II – Parasitismo e superparasitismo de <i>Cotesia flavipes</i> dentro de um simulador de planta – tubo em y	59
Capítulo III- Estratégias do parasitóide <i>Cotesia flavipes</i> no parasitismo de <i>Diatraea saccharalis</i> em uma arena	89
Bibliografia da Introdução geral	119

## Lista de Figuras

	Página
Fig. 1 <i>Cotesia flavipes</i>	1
Fig. 2 Mapa de distribuição de <i>Cotesia flavipes</i> pelo mund	13
Fig. 3 Adulto de <i>Diatraea saccharalis</i>	16
Fig. 4 Postura de <i>Diatraea saccharalis</i>	16
Fig. 5 Pupa de <i>Diatraea saccharalis</i> .	16
Fig. 6 Lagarta de <i>Diatraea saccharalis</i>	16
Fig. 7 Dano causado por <i>Diatraea saccharalis</i>	16
Fig.8 <i>Cotesia flavipes</i> parasitando <i>Diatraea saccharalis</i>	17
Fig.9 Larva de <i>Cotesia flavipes</i> saindo de <i>Diatraea saccharalis</i> .	17
Fig.10 Massa de pupas de <i>Cotesia flavipes</i>	17
Fig.11 Arena	101

## Introdução Geral

A teoria da ecologia comportamental fornece um arcabouço adequado para o delineamento de programas de pesquisa para controle biológico, propondo o desenvolvimento do critério de seleção de agentes para uso em controle biológico, a melhoria da criação massal de inimigos naturais e a avaliação do sucesso ou da falha na liberação de inimigos naturais (Lenteren, 2003).

Godfray e Waage (1990), descreveram que o controle biológico se iniciou em 1888, para controlar a praga do algodão na Califórnia com parasitóides vindos da Austrália. Depois disso, muitos inimigos naturais foram importados e exportados ao redor do mundo para controlar uma variedade de artrópodes e, em 1991, registrou-se cerca de 4.300 introduções de parasitóides. Gurr e Wratten (2000) afirmaram que mais de 125 espécies de inimigos naturais são comercializadas mundialmente, dentre eles o parasitóide *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae).

Segundo Godfray (1994) um inseto parasitóide é definido pelo hábito alimentar de sua larva, que se alimenta exclusivamente do corpo outro artrópode, seu hospedeiro, matando-o. Um único hospedeiro é necessário para o parasitóide completar seu desenvolvimento, e é muito comum os parasitóides se desenvolverem de forma gregária em um hospedeiro. Os parasitóides são intermediários entre os predadores e parasitas. O termo parasitóide hoje está mais sedimentado e aceito; observamos pelo histórico que os parasitóides já tiveram outros nomes como parasita protélico e carniveróide.

Os insetos parasitóides estão classificados de acordo com sua ecologia em ectoparasitóides e endoparasitóides. Os ectoparasitóides, são parasitóides de ovos e de pupas tendem a ter uma variação maior de hospedeiros, porque eles não se deparam com o sistema imune do hospedeiro. Os endoparasitóides larvais, como *C. flavipes*, tendem a ter uma relação mais específica e íntima com o seu hospedeiro, requerendo uma compatibilidade fisiológica. O endoparasitóide pode ser solitário quando deposita um único ovo no hospedeiro e gregário quando deposita vários ovos em um hospedeiro (Rutledge e Wiedenmann 1999). Os endoparasitóides atacam hospedeiros que estão disponíveis por um período de tempo menor que os ectoparasitóides (Mayhew e Blackburn, 1999).

Outra classificação importante para o estudo dos insetos parasitóides é reconhecer se estão identificados como idiobiontes ou koinobiontes. Hawpkins (1994), observa que a classificação representa uma potencialidade de informações para interpretar os padrões de interações do complexo parasitóide-hospedeiro. Os idiobiontes são geralmente especialistas; e geralmente matam ou paralizam permanentemente seus hospedeiros durante a oviposição, são relativamente raros, porque, estes ficam na maioria das vezes, imobilizados durante o desenvolvimento dos parasitóides e ficam

expostos ao ataque dos predadores. Os coinobiontes, por outro lado, permitem que os hospedeiros continuem a se mover, alimentar e defender.

As interações coevolutivas entre o parasitóide e o hospedeiro, são vitais para a manutenção de ambos. Certamente o hospedeiro e o parasitóide devem ter evoluído para superar ou reduzir as defesas dos hospedeiros e as estratégias de sobrevivência dos parasitóides. A coevolução resulta no aumento da especialização do parasitóide e em um indivíduo mais altamente adaptado, utilizando certas estratégias que devem estreitar muito o seu nicho de exploração, com o resultado potencial que outras espécies de parasitóides possam evoluir e coexistir. Os caminhos da vida dos parasitóides podem resultar na mudança da distribuição dos hospedeiros, comportamento, socialidade, morfologia e tempo de emergência (Price, 1975).

Os endoparasitóides provocam muitas mudanças no hospedeiro, particularmente no seu desenvolvimento e desencadeiam uma resposta imune, sendo a defesa fisiológica mais comum a habilidade de encapsulamento do ovo ou primeiro instar larval do parasitóide (Quicke, 1997).

Os parasitóides, após um ataque bem-sucedido, não matam imediatamente seu hospedeiro, mas podem permanecer como parasitos por períodos variáveis. Entretanto, no final, o hospedeiro é morto ou, pelo menos, não ocorre a transferência de genes para a próxima geração. O hospedeiro pode ser considerado como um recipiente para o desenvolvimento do parasitóide e como tal, impõe certas restrições ao seu desenvolvimento. Além disso, a fisiologia e o comportamento do hospedeiro, enquanto ele vive, são em benefício do parasitóide que se desenvolve e, quando necessário, ele pode controlá-los. Como resultado, o parasitóide tem a oportunidade de regular a fisiologia do hospedeiro (Vinson e Iwantsch, 1980 apud Parra et al., 2002).

Os parasitóides de um modo geral, atacam um vasto grupo de hospedeiros, sua distribuição não é uniforme. Algumas espécies de insetos são hospedeiros de um complexo de 20 ou mais espécies de parasitóides; porém, um grande número é atacado por apenas uma ou duas espécies. Observou-se também que há uma variação geográfica em comunidades de parasitóides pois os mesmos atacam hospedeiros amplamente relacionados de áreas separadas podendo ser climaticamente similares (Askew e Shaw 1986).

As características do “fitness” dos insetos parasitóides que são apropriadas para o campo podem ser muito diferentes daquelas do laboratório. Estes ambientes poderão ter valores diferentes na habilidade para localizar hospedeiros, presas ou mesmo para cópula Lenteren, (2003).

Leppla (2003) sugere um sistema “TQC – Total Quality control” para resolver problemas em criação massal. Um dos problemas que atingem a criação massal de parasitóides com insetos himenópteras é a diminuição da produção de fêmeas durante determinadas épocas do ano e segundo Scaglia (2001), os meses mais críticos para a produção de descendentes fêmeas de *C. flavipes* em *D. saccharalis* foram julho e dezembro. Para o controle de qualidade na produção de insetos não existe um critério absoluto, mas critérios diferentes que podem ser definidos em relação aos objetivos para os quais foram produzidos (Grenier e Clerq, 2003). O nível de diferenças entre insetos produzidos *in vivo* e *in vitro* pode ser aceitos dependendo dos objetivos da produção, e da eficiência no controle da praga no campo (Moore et al., 1985). Uma das maneiras de buscar soluções é estudar o comportamento relacionando com biologia destes animais.

## Revisão de Literatura

*Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) é uma vespa endoparasitóide larval e gregária introduzida no Brasil há mais de 30 anos para o controle biológico de *Diatraea saccharalis*, conhecida como broca da cana-de-açúcar. A “chave do sucesso” de *C. flavipes* é o fato de ela atacar larvas jovens (fig. 8, 9 e 10), impedindo, desta forma, que as brocas cheguem à idade adulta. Verifica-se que atualmente o nível de dano de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) situa-se cerca de 5% acima do que é considerado aceitável (Botelho e Macedo, 2002).

A existência de diferenças geográficas, de linhagens específicas de hospedeiros e/ou de plantas preferidas por *C. flavipes* tem sido levada em consideração quando se analisa o comportamento de *C. flavipes*. A hipótese de que tais diferenças influenciam o comportamento deste parasitóide baseia-se em pesquisas de laboratório, nas quais foi estudado o comportamento de preferência do parasitóide de diferentes linhagens por certas plantas (Shami e Mohyuddin, 1992).

Depois que a fêmea de *C. flavipes* encontra uma planta infestada, ela precisa localizar o hospedeiro, que está escondido no caule da planta (Potting et al., 1997a). Já foi demonstrado que as fezes da lagarta (Leerdam et al., 1986), o material regurgitado (Leerdam et al., 1986; Potting et al., 1995) e o sistema de galerias no caule são usados na localização do hospedeiro por *C. flavipes*. Sendo assim, após ter localizado a abertura da galeria da broca, onde as fezes são acumuladas, a fêmea do parasitóide tenta entrar na galeria. Nesta atividade o parasitóide pode despender muito tempo, uma vez que o túnel está freqüentemente bloqueado pelas fezes das lagartas, além disso, algumas vezes ela pode ficar presa nos pequenos túneis. Observe-se, portanto, que o tempo gasto no

túnel é bastante variável e depende da posição da larva e da quantidade de fezes dentro da galeria. (Potting et al., 1997).

O uso de semioquímicos voláteis na localização de microhabitats muito variados é bem documentado no estudo das diversas espécies de parasitóides (Vet e Dicke, 1992; Vet et al., 1995).

As fêmeas de *C. flavipes* também utilizam de estímulos olfativos para localizar plantas infestadas por hospedeiros. Em um experimento com o olfatômetro de tubo Y, Potting et al., (1995) demonstrou que a maior fonte de voláteis do complexo planta-hospedeiro é o caule que foi injuriado pela lagarta, incluindo-se aí as fezes produzidas pelas larvas. Observa-se, além disso, que a produção de substâncias voláteis atrativas para os parasitóides não se restringe à parte infestada, mas ocorre sistematicamente em toda a planta. Partes das plantas de cana-de-açúcar podem também emitir voláteis que atraem fêmeas de *C. flavipes*.

*C. flavipes* foi introduzida em mais de 40 países (Fig. 2) (Potting et al., 1997a) e tem demonstrado ser um eficiente controlador de outros lepidópteros como *Chilo partellus*, *Chilo orichalcociliellus*, *Busseola fusca* e *Sesamia calamistis* (Overholt et al., 1994) perfuradores comuns em milho, cana-de-açúcar e sorgo no leste da África. Ao contrário do sugerido por Overholt et al., (1994) o controle de *B. fusca* é ineficiente tendo em vista o encapsulamento de ovos de *C. flavipes* (Ngi-Song 1995).

Segundo Arakaki e Ganaha (1986) os machos de *C. flavipes* têm hábitos poligâmicos e as fêmeas monogâmicos, pois elas voam após o acasalamento, enquanto os machos permanecem sobre a cana-de-açúcar procurando outras fêmeas, até que estas se tornem escassas. O comportamento monogâmico das fêmeas de *C. flavipes* foi confirmado por Campos-Farinha (1996). Em estudos laboratoriais Cueva et al (1980), observaram que os machos estão aptos para o acasalamento em média 13,5 minutos

após a emergência e as fêmeas após 27,5 minutos. A duração média da cópula foi de 8,2 segundos e número médio de cópulas para machos e fêmeas foi de 17 e 5 vezes, respectivamente.

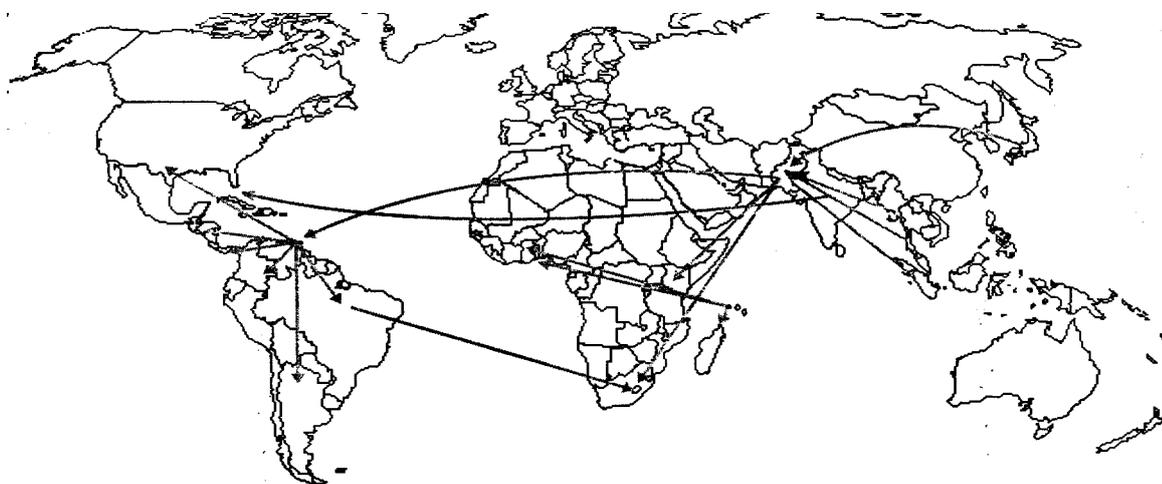


Fig. 2 Mapa de distribuição e comercialização de *Cotesia flavipes* pelo mundo (Potting, 1997).

Segundo Arakaki e Ganaha (1986), a emergência de *C. flavipes*, no campo, concentrou-se entre as duas primeiras horas da manhã (6:00 e 7:00 horas). Esses mesmos autores observaram que após a emergência os adultos permanecem andando sobre a superfície inferior da folha de cana-de-açúcar, acerca de 50 cm da massa de

pupas. A primeira cópula foi observada 10 minutos depois do início da emergência e todas as fêmeas que emergiram copularam em um período 40 minutos.

Shami e Moyuddin (1992), verificaram que *C. flavipes* tem uma grande plasticidade entre as espécies e linhagens e constataram que *C. flavipes* ao parasitar hospedeiros de *Chilo* criados em milho pôde mudar em poucas gerações a preferência por hospedeiros criados em cana-de-açúcar e vice-versa.

A broca da cana-de-açúcar, *D. saccharalis*, é um inseto que apresenta desenvolvimento holometabólico, ou seja, passa pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto. Seus ovos (fig. 4) são depositados freqüentemente nas folhas ainda verdes, tanto na face superior como inferior do limbo foliar e, ocasionalmente, na bainha. São de formato oval achatado, sendo depositados em grupos de forma embricada, onde um ovo cobre 2/3 ou a metade do que vem logo a seguir. No início de coloração, amarelo-pálida, passando a rósea e então, marrom escuro, quando são visíveis as cápsulas cefálicas dos embriões no interior do ovo (Botelho e Macedo, 2002).

Após a eclosão, a lagarta migra para a região do cartucho da planta a procura de abrigo, permanecendo ali por um período que varia de uma a duas semanas, alimentando-se pela raspagem da folha da cana ou da casca do entrenó em formação. Na fase larval, *D. saccharalis* pode causar danos direto e indiretos (fig.5, 6 e 7). Os danos diretos decorrem da alimentação do inseto e caracterizam-se por: perda de peso (pela abertura de galerias no entrenó), morte da gema apical, encurtamento do entrenó, quebra da cana, enraizamento aéreo e germinação das gemas laterais (Botelho e Macedo, 2002). Cruz (1976), através de coletas em armadilhas luminosas constatou a ocorrência de 10 espécies de *Diatraea* no Estado de São Paulo, incluindo, entre elas, *D. flavipennella*, tendo assinalado que, apenas *D. saccharalis* foi encontrada em cana-de-açúcar. Mendonça Filho (1978), citou que a *D. saccharalis* distribui-se por todo o

Brasil, enquanto que a *D. flavipennella* é encontrada apenas nos Estados do Norte, Nordeste e Rio de Janeiro, não tendo sido assinalada no sul do país.

Segundo Botelho e Macedo, (2002) as liberações massais de *C. flavipes*, iniciadas no estado de São Paulo em 1977, variaram ao longo dos anos de forma crescente, atingindo o máximo em 1994, quando mais de 2 bilhões de parasitóides foram liberados em cerca de 360.000 hectares de cana-de-açúcar. O parasitismo médio por essa espécie iniciou-se com valores ao redor de 0,14% em 1979, mas foi aumentando, situando-se nos últimos cinco anos entre 30 a 40%. Assim, esse parasitóide tem tido participação expressiva no parasitismo de *D. saccharalis*, uma vez que atualmente é responsável por mais de 80% do parasitismo total. Hoje, no estado de São Paulo o nível de infestação está em 2%. O objetivo do presente estudo foi o de avaliar algumas estratégias do parasitóide *C. flavipes* com ênfase no efeito em relação a capacidade de parasitar *D. saccharalis* ( capítulo I ), o comportamento de parasitismo e superparasitismo dentro de tubo simulador de planta ( capítulo II ), e também o desempenho de parasitismo sob uma arena ( capítulo III ).

Figuras cotesia e diatraea



***Capítulo I***

**Comparação entre três idades do parasitóide**

***Cotesia flavipes* no parasitismo de *Diatraea***

***saccharalis***

**Comparação entre três idades do parasitóide**  
***Cotesia flavipes* no parasitismo de *Diatraea saccharalis***

*Márcia Terumi Uehara*  
*Tese- FFCLRP-USP-2005*

### 1.0 Resumo

*Cotesia flavipes* é uma vespa endoparasitóide introduzida no Brasil para controlar biologicamente o hospedeiro *Diatraea saccharalis*, conhecida como a broca da cana-de-açúcar. Estes insetos são criados há mais de trinta anos no Brasil em laboratórios de criação massal. Em épocas de boa produtividade de fêmeas nos laboratórios de criação massal os parasitóides são utilizados logo após a emergência. Porém, em alguns períodos do ano, a produção de insetos apresenta com a razão sexual desviada para machos então, os insetos são utilizados após 24 horas, para tentar garantir a cópula. O objetivo deste trabalho foi comparar a eficiência de *C. flavipes* de três idades (0, 24 e 48h) no parasitismo de *D. saccharalis* de 5º instar e com a densidade de 3 hospedeiros. Três hospedeiros foram oferecidos à fêmea parasitóide para que a mesma realizasse as posturas em um curto intervalo de tempo e com densidade fixa. Verificou-se que *C. flavipes* das três idades foram capazes de parasitar os 3 hospedeiros oferecidos para oviposição e também de gerar prole nos mesmos. Porém, os hospedeiros que receberam a primeira postura das vespas com 0, 24 e 48 de idade tiveram o maior tamanho de prole. Houve diferença no tamanho da prole para as 3ª lagartas parasitadas de 24 e 48 horas de idade enquanto as vespas de 0 h parasitaram, mas não geraram prole

no hospedeiro *D. saccharalis*. Mas, quando comparou-se estatisticamente o a média das três idades o tamanho da prole foi igual. A razão sexual também foi estatisticamente igual em todas idades e nas três posturas. Concluí-se que *C. flavipes* de 0, 24 e 48 horas de idade são igualmente eficientes no parasitismo de *Diatraea saccharalis*.

Palavras-Chave: parasitóide, idade, *Cotesia flavipes*, *Diatraea saccharalis*, controle biológico, comportamento de oviposição, densidade.

**Comparison between three ages of the parasitoid *Cotesia flavipes* in the parasitism of *Diatraea saccharalis***

*Márcia Terumi Uehara*  
*Tese - FFCLRP-USP-2005*

**1.1 ABSTRACT**

*Cotesia flavipes* is an endoparasitoid wasp introduced in Brazil to biologically control the host *Diatraea saccharalis*, commonly known as the “sugar cane drill”. These insects have been reared for more than thirty years in Brazil, in massal rearing creation laboratories. In times of good female productivity in massal rearing creation laboratories, the parasitoids are used immediately after emergence. Though, in certain periods of the year, insect production presents a sex ratio towards males, so the insects are used after 24 hours in order to guarantee copulation. The objective of this work was to compare the efficiency of *C. flavipes* of three ages (0, 24 and 48h) in the parasitism of 5<sup>th</sup> instar *D. saccharalis* with a density of three hosts. Three hosts were offered to a female parasitoid so that she would deposit eggs in a short time interval with a fixed density. The study verified that *C. flavipes* of all three ages was capable of parasitizing the three hosts offered for oviposition and also of generating offspring from them. Though, the host which received the wasps first deposit with 0, 24 and 48h of age, had the largest number of offspring. There was a difference in the number of offspring for the third parasitized caterpillar for wasps’ aged 24 and 48 h, while newly emerged (0h) wasps parasitized the host *D. saccharalis* without generating offspring. Although, when

the means for the three ages were compared statistically, offspring sizes were equal. Sexual bias was also statistically equal in all three ages and in the three deposits. We conclude that *C. flavipes* aged 0, 24 and 48 h are equally efficient in the parasitism of *D. saccharalis*.

Key words: parasitoids, age, *Cotesia flavipes*, *Diatraea saccharalis*, biological control, oviposition, density.

## 2.0 Introdução

A qualidade do habitat é favorável para o parasitóide, isto é, quando não tem a limitação do suprimento de hospedeiros que pode ser um fator limitante para o sucesso reprodutivo (Zaviezo e Mills, 2000).

O curto tempo de vida do parasitóide pode diminuir a quantidade de critérios que utiliza para a seleção do hospedeiro, pois quanto maior for o tempo gasto com a manipulação e o reconhecimento da qualidade do hospedeiro, menores serão as chances de usar o seu potencial reprodutivo; nesses casos, a fêmea precisaria equilibrar as duas necessidades, a temporal e a reprodutiva (Papaj, 2000).

A idade da fêmea e a qualidade do hospedeiro (espécie e tamanho) são fatores importantes que definem os recursos reprodutivos disponíveis uma vez que contribuem para a maturação dos ovos dos parasitóides (Ramadan, 2004).

Deve-se notar que a razão sexual é adaptativa, isto é, varia de acordo com o tamanho do hospedeiro, conforme constatou Ueno (1998), em experimentos com

*Itoplectis naranyae*. O pesquisador verificou que a média do tamanho da prole de fêmeas oriunda de hospedeiros maiores foi maior, bem como as larvas de machos foram menos eficientes no consumo interno de grandes hospedeiros do que as larvas de fêmeas.

O aumento da razão sexual desviada para machos da progênie de *Apanteles galleriae* (Hym., Braconidae) na fase adulta pode originar-se da não-fertilização dos ovos, o que ocorre devido à depleção ou degeneração dos espermatozoides. Observou-se que as idades maternas tiveram um impacto significativo na produção da razão sexual, juntamente com a melhor fecundidade ocorrida nas duas semanas, independentemente das espécies de hospedeiros que possam ser de importância para a criação massal (Uçkan e Gulel, 2002).

Hagen (1953), segundo Ramadan (2004), descreveu que os machos de *Fopius vandenboschi* precisam de um período de pré-cópula de aproximadamente 6 dias após a emergência, a fim de alcançar a maturidade sexual. Ramadan et al., (1991) verificaram que 73,3 % das fêmeas copularam no primeiro dia de emergência e que, em média, foram necessários 7,4 dias para que houvesse o número máximo de fêmeas fecundadas. O mesmo autor explicou que a produção antecipada de machos *Fopius vandenboschi* poderia garantir a maximização da taxa de inseminação das fêmeas.

Segundo Fitz-Earle e Barclay (1989), a razão sexual ótima para a criação massal dos insetos depende dos animais que serão usados. A criação massal, para ser liberada aos programas de controle biológico, bem como a produção de insetos para fins experimentais podem requerer valores diferentes para a razão sexual no cruzamento da população; tais valores devem otimizar a produção da prole de machos, fêmeas ou a combinação de ambos.

Christiansen e Hardie (1999) observaram que em *Aphidius ervi*, a razão sexual da população desviou para machos em períodos com menor fotoperíodo ou pós diapausa foi desviada para machos, demonstrando que ambos os fenômenos afetam a razão sexual.

Para Charnov e Skinner (1984 e 1985), os custos reprodutivos, como o tempo gasto pelo parasitóide para localizar o hospedeiro e para se preparar para a oviposição, devem ser considerados na manipulação do tamanho da prole.

As vespas parasitóides estão incluídas no grupo dos insetos Hymenoptera, que, usualmente, têm o sistema de determinação do sexo por haplodiploidia. Isso permite escolher o sexo dos ovos pelo controle do acesso ao esperma (Flanders, 1956 citado por Godfray, 1994). Ressalte-se, porém, que os Hymenoptera podem ter a variabilidade genética reduzida, o que causa um problema adicional, que é a produção de machos diplóides de ovos fertilizados. A ocorrência de machos diplóides é uma consequência do mecanismo de determinação do sexo descrito por Whiting (1961) apud Godfray (1994).

Os entomologistas têm conhecimento, desde o século XIX, de que vespas parasitóides alteram facultativamente a razão sexual da sua progênie, em resposta às mudanças no ambiente (Kirby e Spence, 1816, citados por Godfray, 1994). O controle da razão sexual dos insetos himenópteros torna-os ideais para testar a teoria da razão sexual (Charnov, 1982).

As vespas parasitóides têm freqüentemente a razão sexual desviada para fêmeas. Este evento é observado geralmente em parasitóides gregários, entre os quais existe uma grande probabilidade de a cópula ocorrer entre irmãos, inclusive de modo competitivo. Em relação a esse aspecto, existe o estudo de Hamilton (1967), que descreveu o mecanismo como LMC – Competição Local por Cópula, conhecida como exemplo de

um fenômeno específico, que envolve interações relativas entre a estrutura espacial da população (Charnov, 1982) e a capacidade de alterar a razão sexual.

Charnov (1979) sugeriu que as vespas parasitóides poderiam determinar o número de machos e fêmeas de suas progênes levando em consideração uma avaliação dos hospedeiros, a fim de maximizar o “fitness” da prole. De acordo modelo proposto, o tamanho relativo do hospedeiro seria o fator mais importante na determinação da razão sexual da progênie depositada em um hospedeiro de certo tamanho. As vespas fêmeas adaptam a distribuição da prole no hospedeiro ao tamanho deste e ajustam a razão sexual para maximizar a aptidão coletiva de suas crias.

Os parasitóides podem tornar-se mais seletivos em relação à qualidade do hospedeiro, reduzindo inclusive a taxa de oviposição (Heimpel e Rosenheim, 1998). É importante mencionar que o estoque de ovos também está envolvido no sucesso reprodutivo dos parasitóides, podendo variar de acordo com a sua biologia. Nesse aspecto, os parasitóides estão classificados como sinovigênicos, quando seu estoque de ovos não é limitado, isto é, pode aumentar em número no transcorrer da vida do inseto, ou proovigênicos, quando apresentam quantidade fixa de ovos na fase adulta (Heimpel e Rosenheim, 1998). Sendo que *C. flavipes* foi classificada como proovigênica (Potting et al., 1997b).

É necessário mencionar que a quantidade de ovos diminui com a idade. Stokkebo e Hardy (2000) verificaram que os ovos da vespa *Goniozus nephantidis* parasitando *Opisina arenosella* foram influenciados pelos fatores idade, peso e alimentação. Singh et al., (2001) demonstraram que as cópulas tardias de *Binodoxys indicus* têm sido observadas como um dos fatores que influenciam a fecundidade e a razão sexual. Verificou-se que uma fêmea jovem (0-12h), inseminada por um macho de (0-12h), produziu 131,6 indivíduos em quatro dias de intensa reprodução, e que o

envelhecimento desses machos e fêmeas provocou-lhes a redução da capacidade reprodutiva.

O modelo do tamanho da prole de parasitóides proovigênicos é invariável: os insetos têm um número limitado de ovos e ovipositam proles de tamanho constante durante toda a sua vida. Sendo assim, as vespas poderiam fazer uma programação dinâmica e otimizar o tamanho da prole por meio de uma delimitação da área e da reserva de ovos, reduzindo o número de oviposições quando os suprimentos fossem escassos (Parker e Courtney, 1984). Isso foi chamado por Waage (1986) de “planejamento familiar”. Segundo Potting et al., (1997a), as vespas provigênicas *C. flavipes* têm cerca de 150 ovos disponíveis para a oviposição e fazem a postura que, em termos quantitativos, varia entre 20% e 25% desse total, em cada hospedeiro, em condições laboratoriais; desse modo, segundo esse autor, a fêmea poderia esgotar e distribuir os seus ovos em cinco ou seis hospedeiros.

Com base nas informações de Potting et al., (1997a) e Singh et al., (2001), realizamos testes com o parasitóide *C. flavipes* com três idades diferentes, aos quais foram oferecidos três hospedeiros *D. saccharalis* para o parasitismo.

### 3.0 Objetivos

O objetivo deste experimento foi comparar a eficiência do parasitismo de *C. flavipes* de três idades, 0, 24 e 48 horas após a emergência, em hospedeiros *D. saccharalis* do 5º instar. Os seguintes aspectos foram analisados:

- 3.1 O intervalo de tempo de parasitismo entre os hospedeiros *D. saccharalis* realizados por *C. flavipes* das três idades.
- 3.2 A capacidade de *C. flavipes* de 0, 24 e 48h de idade parasitar e gerar prole em 3 hospedeiros de *D. saccharalis* em um curto intervalo de tempo;
- 3.3 O tamanho da prole gerada na 1ª, 2ª e 3ª posturas de *C. flavipes* com 0, 24 e 48h de idade;
- 3.4 A razão sexual gerada por *C. flavipes* de 0, 24 e 48 horas de idade em hospedeiros *D. saccharalis*.

## 4.0 Metodologia

Os experimentos foram realizados nos laboratórios de criação massal da Usina São João de Araras – SP – Brasil. Os insetos foram criados em condições laboratoriais controladas, com temperatura de  $27^{\circ}\text{C} \pm 1$ , fotoperíodo de 14 horas e umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e alimentados com dieta artificial de Bowling. Os parasitóides *C. flavipes* foram separados em frascos de vidro transparente branco, de 30 mL, em 3 grupos de idade: os parasitóides com 0, 24 e 48 horas após a emergência.

Os hospedeiros (lagartas) de 5º instar foram selecionados de acordo com o tamanho de sua cápsula cefálica, medida com o auxílio de uma ocular com retículo micrométrico, inserida em um esteromicroscópio. Essas medidas foram comparadas com as obtidas por Mélo (1984).

Utilizaram-se lagartas *D. saccharalis* do 5º instar por apresentarem melhores resultados nas pesquisas de Pádua (1983) e também porque lagartas desse tamanho são as mais utilizadas em laboratórios de criação massal.

Três hospedeiros *D. saccharalis* do 5º instar foram colocados dentro de uma placa de Petri transparente branca com 10 cm de diâmetro; em seguida, uma fêmea de *C. flavipes* foi liberada na placa para observação. Após o parasitismo, *C. flavipes* foi mantida, *D. saccharalis* parasitada foi retirada da placa de Petri e outra foi colocada em seu lugar, a fim de se evitar o superparasitismo e de manter a densidade de 3 hospedeiros. Foram realizadas até duas retiradas e duas reposições de *D. saccharalis* para manter a densidade constante de hospedeiros por experimento. Uma vespa parasitóide *C. flavipes* teve, então, a oportunidade de ovipositar e distribuir seus ovos em três hospedeiros.

Comparou-se o comportamento de *C. flavipes* de três idades diferentes, a fim de se verificar quanto tempo cada parasitóide levaria para escolher o hospedeiro e parasitá-lo, qual a capacidade de *C. flavipes* ovipositar e gerar prole em hospedeiros *D. saccharalis*, o tamanho da prole em cada postura e a razão sexual.

O limite de tempo para cada experimento foi de quinze minutos. Foram realizadas 35 repetições. Foram usadas 5 lagartas hospedeiras de *D. saccharalis* e uma fêmea de *C. flavipes*, totalizando em cada experimento 35 fêmeas e 175 hospedeiros por classe. Neste experimento foram utilizados o total de 105 parasitóides (vespas) e 525 hospedeiros.

Em termos estatísticos, observaram-se os seguintes aspectos:

- A) O tempo que o parasitóide levou para escolher um dos 3 hospedeiros e parasitá-lo. Para efeito de normalização, os dados para cada hospedeiro foram transformados em escala logarítmica. As análises de variância foram feitas com os dados transformados para comparação das médias; posteriormente foi utilizado o teste de Tukey (5%).
- B) O tamanho da prole. As médias obtidas foram comparadas por meio da utilização dos testes de Kruskal Wallis e Mann-Whitney, para as proles da 1ª e 2ª lagartas da

classe I, 0h, e de Anova, para comparar os tamanhos das proles produzidas nas lagartas parasitadas por *C. flavipes* com idades de 24h e 48h.

C) A razão sexual para fêmeas ( total de fêmeas/ total de machos + total de fêmeas) foi utilizada para calcular a razão sexual e em seguida os dados foram comparados. Utilizaram-se os testes de Kruskal Wallis e Mann Whitney para comparar as razões sexuais das proles da 1ª e 2ª lagartas dos parasitóides com 0h, e os testes de Anova para comparar as 3 lagartas parasitadas por *C. flavipes* com 24h e 48h.

## 5.0 Resultados

### 5.1 Determinação do intervalo de tempo de parasitismo realizado por *C. flavipes* das três idades em hospedeiros *D. saccharalis*

O resultado da relação entre a idade do parasitóide *C. flavipes* 0 h e o intervalo de tempo de parasitismo nos hospedeiros *D. saccharalis* foi de  $1,89 \pm 0,41$ , sendo  $n = 35$  para o primeiro hospedeiro; para o segundo hospedeiro a média de tempo foi de  $2,51 \pm 0,30$ , sendo  $n = 32$ ; para a terceira lagarta a média foi de  $2,73 \pm 0,14$ , sendo  $n = 12$ . O tempo médio para o parasitismo nos três hospedeiros foi de  $1,89 \pm 0,407$ , conforme se verifica na tabela 1.

Para os parasitóides com idade de 24h os resultados dos intervalos de parasitismo foram de  $1,65 \pm 0,40$ , sendo  $n = 34$  para a 1ª lagarta;  $2,22 \pm 0,27$ , sendo  $n = 32$  para a 2ª lagarta; e  $2,52 \pm 0,233$  para a 3ª lagarta, sendo  $n = 29$ . A média dos resultados dos intervalos de parasitismo para *C. flavipes* de idade 24h foi de  $1,64 \pm 0,39$ .



*C. flavipes* com idade de 48h teve média  $1,45 \pm 0,42$ , sendo  $n = 35$  para a primeira lagarta;  $2,10 \pm 0,35$ , sendo  $n = 24$  para a 2ª lagarta; e  $2,45 \pm 0,23$ , sendo  $n = 24$  para a 3ª lagarta. *C. flavipes* teve média dos resultados dos intervalos de parasitismo de  $1,64 \pm 0,39$ .

Os tempos médios de parasitismo para as 1ªs lagartas de parasitóides com idades de 0, 24 e 48h, de acordo com Anova, apresentaram diferença significativa entre os grupos ( $F = 10,430$ ).

Os tempos médios de parasitismo do parasitóide com idades de 0, 24h e 48h nas 2ªs lagartas comparadas pelo Anova apresentaram diferenças significativas entre os grupos ( $F = 15,183$ ).

Os tempos médios de parasitismo do parasitóide com idades de 0, 24 e 48h, pela Anova, apontam que houve diferença significativa entre os grupos, ( $F = 6,601$ ).

Os tempos médios de parasitismo nas 1ªs lagartas, realizados por parasitóides de idades de 0, 24 e 48h foram analisados pelo teste de múltiplas comparações de Tukey e registrou-se diferença significativa entre o comportamento de parasitóides de idades de 0 e 24h; isso também se verificou com os de idades de 0 e 48h. Já entre os de idades de 24 e 48h não houve diferença significativa. O resultado foi o mesmo para a 2ª e 3ª lagartas.

Houve diferença significativa no tempo de parasitismo entre os parasitóides *C. flavipes* das idades de 0 e 24h. Foi registrada também diferença significativa entre os parasitóides de idades de 0 e 48h. Entre os parasitóides de idades de 24 e 48h não houve diferença significativa. Há diferença entre as idades de 0h e 24h, e 0 e 36h. Não há diferença no comportamento de parasitóides com idades de 24h e 36h.

### 5.2.1 Capacidade de *C. flavipes* de 0, 24 e 48h de idade parasitar e gerar prole em hospedeiros *D. saccharalis*

Quanto à capacidade de *C. flavipes* ovipositar e gerar prole em hospedeiros *D. saccharalis* com idade de **0h**, os resultados indicam que na oviposição na 1ª lagarta houve 100% de parasitismo, ou seja, o parasitóide ovipositou em todas as 35 lagartas oferecidas e conseguiu gerar prole em 17 hospedeiros, ou seja, 48,5 %,  $0,45 \pm 0,85$ .

Na segunda oviposição, ou seja, no momento em que a 2ª lagarta foi oferecida no experimento, das 35 fêmeas de *C. flavipes*, 32 conseguiram parasitar e 5 hospedeiros, 15 % geraram prole,  $0,14 \pm 0,6$ .

Na terceira e última oviposição, foram oferecidos 35 hospedeiros, 12 foram parasitados e houve 0 de prole. A média geral das fêmeas *C. flavipes* de idade **0h** que geraram prole foi de  $2,26 \pm 0,10$ .

Parasitóides com idade de **24h** ovipositaram em 34 hospedeiros, dos 35 oferecidos, e 17 hospedeiros (48,5%) deram origem a prole,  $0,48 \pm 0,85$ , na primeira postura.

Na segunda oviposição, 35 hospedeiros foram oferecidos, 32 foram parasitados e em 6 ou seja, 18,75% geraram prole.

Na terceira oviposição, 35 *D. saccharalis* foram oferecidas; em 29 ocorreu parasitismo e em 3 ou 10% deram origem a prole. A média geral de parasitóides de idade de 24h que geraram prole nos hospedeiros foi de  $2,74 \pm 0,95$ .

A capacidade de ovipositar dos parasitóides *C. flavipes* com idade de **48h** foi de 100% para a 1ª lagarta, com geração de prole em 20 hospedeiros, 57%,  $0,54 \pm 0,85$ .

Na segunda oviposição 35 hospedeiros foram oferecidos, dos quais 24 foram parasitados e em 3, ou seja, 12,5% houve geração de prole,  $0,08 \pm 0,04$ .

Na terceira oviposição 35 hospedeiros foram oferecidos, dos quais 24 foram parasitados e em 4, ou 18%, geraram prole,  $0,11 \pm 0,80$ .

Verificou-se, portanto, em relação à capacidade de parasitar e gerar prole, que a média geral dos resultados obtidos com parasitóides de **48h** foi de  $2,69 \pm 0,80$ .

A capacidade de ovipositar de parasitóides das três idades (**0h, 24h e 48**) foi comparada, tendo sido constatado que, quanto à capacidade de ovipositar as 1ª lagartas, não houve diferença significativa ( $H = 0,52$ ;  $gl = 2$ ). Também não apresentou diferença estatística significativa a 2ª lagarta. ( $H = 1,14$ ;  $gl = 2$ ). Na terceira oviposição, Mann – Whitney  $U = 542$ ,  $p=0,04$ , constatou-se diferença entre os hospedeiros que produziram prole.

Comparando-se, entretanto, a capacidade de gerar prole de *C. flavipes* de idades de 0h, 24h e 48h, utilizando-se o teste de Kruskal Wallis, verificou-se que não houve diferença significativa  $H = 48$ ,  $gl = 2$  nos resultados obtidos, (gráfico 1).

### **5.3 Tamanho da prole gerada nas 1ª, 2ª e 3ª posturas de *C. flavipes* com 0, 24 e 48h de idade**

Nas 1ªs lagartas de *D. saccharalis* parasitadas por *C. flavipes* de **0h**, o tamanho médio da prole desta foi de  $19,54 \pm 3,85$  ( $n = 17$ ). Nas 2ªs lagartas, o tamanho médio da prole foi de  $5,83 \pm 3,07$ . Nas 3ªs lagartas, embora tenha ocorrido o parasitismo, não houve prole, conforme se verifica na tabela 1.

O tamanho médio da prole de *C. flavipes* de **24h** criada em *D. saccharalis* foi de  $24,14 \pm 4,78$  para as 1ªs lagartas, sendo  $n= 17$ ;  $3,71 \pm 2,18$ , sendo  $n= 6$  para as 2ªs lagartas; e  $4,63 \pm 2,94$ , sendo  $n=3$  para as 3ªs lagartas hospedeiras.

*C. flavipes* de **48h** teve o tamanho médio da prole de  $22,17 \pm 4,05$ , sendo  $n = 20$  para as 1<sup>as</sup> lagartas;  $0,69 \pm 0,43$ , sendo  $n = 3$  para as 2<sup>as</sup> lagartas; e  $1,26 \pm 0,73$ , sendo  $n = 4$  para as 3<sup>as</sup> lagartas.

O tamanho das proles originárias das **1<sup>as</sup>** lagartas das três idades de parasitóides foi comparado pelo teste estatístico de Kruskal Wallis e não se verificou diferença significativa entre os resultados obtidos ( $H = 0,41$ ;  $gl = 2$ ).

As proles originárias das **2<sup>as</sup>** lagartas também não apresentaram diferença significativa quanto ao tamanho ( $H = 1,21$ ,  $gl = 2$ ).

Observou-se, porém, nas **3<sup>as</sup>** lagartas, que o tamanho da prole de parasitóides de idades de 24h e 48h, conforme Mann Whitney,  $U = 542,5$ ;  $p = 0,04$ , apresentou diferença significativa.

Constatou-se diferença significativa no tamanho da prole de *C. flavipes* de 0h (Mann Whitney  $U = 409,5$ ;  $p = 0,04$ ) criada nas 1<sup>as</sup> e 2<sup>as</sup> lagartas; nas 3<sup>a</sup> lagartas não houve geração de prole.

O tamanho da prole de *C. flavipes* de 24h criada nas três lagartas foi diferente ( $H = 16,05$ ;  $gl = 2$ ,  $p = 0$ ). Nas fêmeas de 48h, também houve diferença significativa entre o tamanho da prole criada nos 3 hospedeiros ( $H = 29,57$ ;  $gl = 2$ ,  $p = 0$ ).

#### **5.4 Razão sexual gerada por *C. flavipes* de 0, 24 e 48 horas de idade em hospedeiros *D. saccharalis***

A razão sexual foi calculada para os indivíduos que tiveram prole. Nas proles de parasitóides *C. flavipes* de idade **0h** oriundos das 1<sup>as</sup> lagartas hospedeiras de *D.*

*saccharalis*, a razão sexual foi, em média, de  $0,52 \pm 0,09$ ; para as 2<sup>as</sup> lagartas, de  $0,65 \pm 0,23$ .

Parasitóides com idade de 24h tiveram média de  $0,73 \pm 0,71$  para as 1<sup>as</sup> lagartas;  $3,71 \pm 2,18$  para as 2<sup>as</sup> lagartas e  $0,75 \pm 0,08$  para as 3<sup>as</sup>.

A média da razão sexual das proles produzidas por *C. flavipes* com idades de 48h para as 1<sup>as</sup> lagartas foi de  $0,64 \pm 0,61$ ;  $0,68 \pm 0,16$  para as 2<sup>a</sup> lagartas e  $0,48 \pm 0,35$  para as 3<sup>as</sup>.

Observou-se que *C. flavipes* de idades de 0h, 24h e 48h não apresentaram diferenças significativas no que se refere à razão sexual. Para as 1<sup>as</sup> lagartas,  $H = 3,373$ ;  $gl = 2$ . Na comparação entre as 2<sup>as</sup> lagartas, também não houve diferença significativa da razão sexual entre proles de *C. flavipes* de idades diferentes, sendo  $H = 2,45$ ;  $gl = 2$ . Nas 3<sup>as</sup> lagartas, da mesma forma que ocorreu nos casos anteriores, não houve diferença significativa da razão sexual entre proles de idades de 24h e 48h; conforme Mann-Whitney,  $U = 2,0$ ;  $p = 0,229$ .

A razão sexual das proles de *C. flavipes* foi analisada pelo teste comparativo de Kruskal-Wallis com parasitóides de idades de 0h, 24h e 48h ( $H = 1,83$ ;  $gl = 2$ ) e verificou-se que não houve diferença significativa.

A razão sexual das proles de *C. flavipes* de idades de 0h, 24h e 48h oriundas das 1<sup>as</sup> lagartas não apresentou diferenças significativas ( $H = 3,37$ ,  $gl = 2$ ). Entre as proles de idades de 0h, 24h e 48h oriundas das 2<sup>as</sup> lagartas também a diferença não foi significativa ( $H = 2,45$ ;  $gl = 2$ ). Para as proles de idades de 24h e 48h oriundas das 3<sup>as</sup> lagartas, ainda o mesmo resultado se repetiu, isto é, não houve diferença significativa ( $U = 2$ ;  $p = 0,23$ ) na razão sexual.

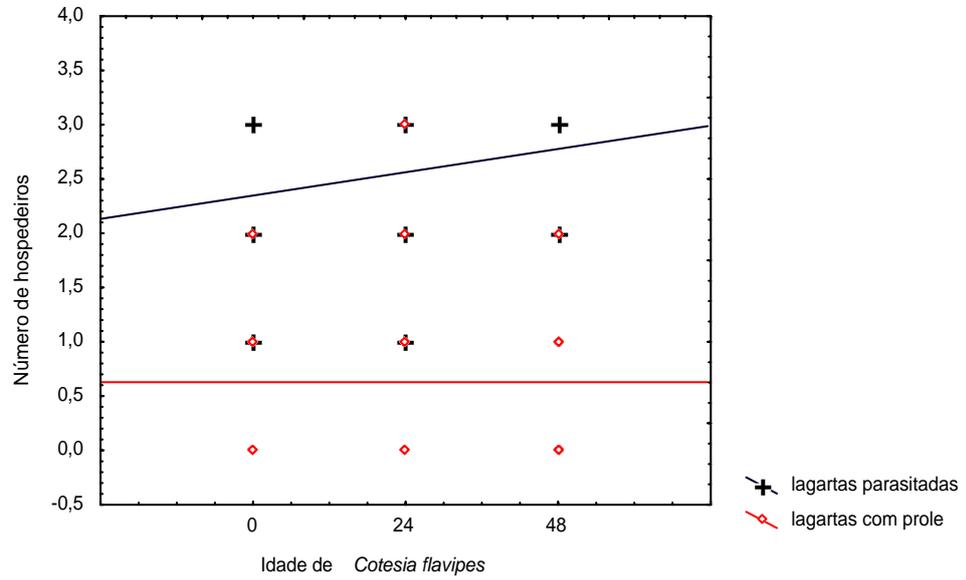


Gráfico 1. Relação entre as idades da vespa *C. flavipes* e o número de lagartas hospedeiras *D. saccharalis* parasitadas e lagartas parasitadas que conseguiram gerar prole.

## 6.0 Discussão

### 6.1 Determinação do intervalo de tempo de parasitismo realizado por *C. flavipes* das três idades em hospedeiros *D. saccharalis*

*C. flavipes* realizou 3 oviposições com média de tempo menor entre o parasitismo entre um hospedeiro e outro foi a de 48, 24 e 0 h, respectivamente, ou seja, os parasitóides com idade de 48 h tiveram o menor intervalo de tempo entre uma postura e outra. Scaglia (2001) obteve resultados semelhantes quando realizou experimentos com os mesmos insetos, porém, com a densidade de 6 hospedeiros, houve a realização de 3 posturas nos hospedeiros com intervalo de 5 horas entre cada uma.

Segundo Mangel (1989), vespas com mais idade realizaram mais oviposições, levando a crer que a baixa expectativa de vida pode motivar um maior número de oviposições; em contrapartida, vespas que ainda não depositaram seus ovos podem ter

uma menor ou nenhuma motivação para ovipositar (Collins e Dixon, 1986). Driessen et al., (1995) demonstraram que *V. canescens* precisou de menos tempo para realizar múltiplas oviposições em uma área que continha 4 hospedeiros do que em uma área que tinha somente um hospedeiro.

O tempo de parasitismo entre as primeiras lagartas que receberam postura de *C. flavipes* de 0, 24 e 48 h foi comparado e verificou-se que não foi o mesmo para *C. flavipes* de idades diferentes. *C. flavipes* de 48 h teve o tempo menor, seguida por *C. flavipes* de 24h e esta por *C. flavipes* de 0h. Resultados similares foram observados nas segundas e terceiras lagartas.

Estes resultados indicam a possibilidade de *C. flavipes* ovipositar em uma alta densidade de hospedeiros em condições naturais, realizando posturas em mais de uma lagarta hospedeira em um curto período de tempo, principalmente em áreas onde a densidade de hospedeiros é alta. Na criação massal da Usina São João, os parasitóides efetuam apenas uma oviposição, sendo posteriormente descartados (Bonfanti-Almeida, 2001).

## **6.2 Capacidade de *C. flavipes* de idades de 0, 24 e 48h parasitar e gerar prole em hospedeiros *D. saccharalis***

*C. flavipes* teve a capacidade de realizar três oviposições em hospedeiros diferentes em um curto período de tempo, mas não gerou prole em todos, conforme mostra a tabela 1. As primeiras posturas realizadas por *C. flavipes* de todas as idades (0, 24 e 48h) foram as que mais geraram prole; as segundas e terceiras posturas tiveram o

tamanho da prole reduzido. As terceiras posturas realizadas por vespas com idade de 0h não geraram prole.

Uehara (2000), em experimentos com os mesmos insetos criados em laboratório, verificou que *C. flavipes* tem a capacidade de parasitar 2 hospedeiros com intervalo de 24 horas e gerar prole num período de tempo. Verificou, porém, que o inverso ocorreu na população de campo, em que *C. flavipes* teve muita dificuldade de parasitar 2 vezes hospedeiros em intervalos também de 24 horas.

Scaglia (2001), em experimentos com os mesmos insetos, descreve que a viabilidade dos ovos de *C. flavipes* foi efetivamente maior na 1ª oviposição das fêmeas fecundadas, e a freqüência de encapsulamento foi a menor das 3 posturas; justifica a elevada porcentagem de crisálidas observadas na 3ª oviposição em função da tentativa que as fêmeas faziam de introduzir o ovipositor, entretanto, sem consumir a postura.

É provável que o maior número de indivíduos na primeira oviposição decorra do comportamento dos parasitóides gregários de tentar otimizar o tamanho da progênie com os hospedeiros disponíveis e adequados à postura (Waage, 1986).

Os parasitóides depositam um número limitado de ovos por hospedeiro e os distribuem entre os mais adequados (Iwasa et al., 1984), pois pode ser mais vantajoso não ovipositar todos os ovos em um único hospedeiro.

Nos resultados, provavelmente, não houve a maximização do número de ovos, pois é sabido que a quantidade de ovos que a vespa possui é bem maior, cerca de 150 (Potting et al., 1997a). Segundo essa teoria, as vespas maximizarão a quantidade de ovos por hospedeiro atacado somente quando houver escassez deste; se a quantidade de hospedeiros tornar-se abundante, isso poderá levá-las à oviposição de pequenas proles nas lagartas disponíveis; observe-se que este fato ocorreu a partir da segunda lagarta nestes experimentos.

*C. flavipes* depositou de 30 a 35 ovos por lagarta e, após a terceira oviposição, aproximadamente 80% dos ovos disponíveis haviam sido depositados (Potting et al., 1997a).

Em Potting et al., (1997a) o número de ovos alocados por *C. flavipes* em lagartas de *Chilo partellus* decresce significativamente somente a partir da quarta lagarta parasitada, não havendo diferença significativa no número de ovos depositados nas três primeiras lagartas.

Potting et al., (1997a) indicam que *C. flavipes* deposita em lagartas de *Chilo partellus* uma proporção relativamente grande (20-25%) de ovos no primeiro hospedeiro localizado, devido à pequena possibilidade de encontro entre o hospedeiro e o parasitóide, ao curto tempo de vida do parasitóide e ainda ao grande risco de mortalidade deste.

A capacidade de ovipositar em uma grande quantidade de hospedeiros é importante tanto para a produção massal quanto para a liberação dos insetos no campo. No laboratório haveria uma economia na produção de parasitóides e hospedeiros se estes tivessem gerado proles maiores. No campo, este aspecto é mais vantajoso do que na criação massal, já que o objetivo maior é impedir que a lagarta hospedeira se desenvolva e se reproduza.

Em plantações com uma alta densidade de hospedeiros ou em lugares como o Kênia (Overholt et al., 1997), onde o controle biológico foi implantado recentemente, é possível que exista mais de um hospedeiro por planta e, se pensarmos nestas condições, *C. flavipes* é eficiente em realizar várias posturas em um curto período de tempo, conforme mostram os resultados.

### **6.3 Tamanho da prole e razão sexual gerados na 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> posturas de *C. flavipes* com 0, 24 e 48h de idade**

*C. flavipes* de 0, 24 e 48 horas tiveram as maiores proles nas primeiras lagartas de *D. saccharalis* que receberam a postura (vide tabela 1). As segundas e terceiras lagartas tiveram um número médio menor que as primeiras. Nos experimentos de Uehara (2000), houve posturas realizadas com intervalo de 24 horas com *C. flavipes* coletados no campo e que realizaram as oviposições em *D. saccharalis* do laboratório. Em termos quantitativos, os resultados obtidos foram superiores aos desta pesquisa; a média do tamanho da prole com duas posturas realizadas por uma única fêmea em dois hospedeiros foi de 38,33 e 42,55 indivíduos.

Comparando os dados da presente pesquisa com os resultados de Uehara (2000), é possível supor que a duração do experimento, 15 minutos, não tenha sido suficiente para *C. flavipes* distribuir os seus ovos adequadamente entre os hospedeiros, gerando menor tamanho de prole na segunda postura.

Resultados semelhantes aos destes experimentos foram obtidos por Bonfanti-Almeida (2001); nesse experimento *C. flavipes* parasitou duas ou três lagartas. Observou-se, entretanto, que, após a oviposição na primeira lagarta, o número de ovos alocados na segunda e terceira lagartas hospedeiras diminuiu significativamente, reduzindo, assim, o tamanho da prole.

Segundo Kagita e Dake (1969), o potencial de fecundidade (número de ovos que a fêmea carrega) é de aproximadamente 159 ovos, e o tamanho médio da prole é de 36,5 no hospedeiro *Chilo suppressalis*, sendo que, teoricamente, a fêmea esgota os seus ovos após 4 oviposições.

Observações com *C. flavipes* parasitando *Chilo partellus* e *B. fusca* – criados em hospedeiros de milho -, verificou-se que o tamanho da prole diminuiu com o número de oviposições e que, após a terceira oviposição, a fêmea já havia depositado 80% dos seus ovos. No mesmo estudo foi constatado que *C. flavipes* é provigênica e tem cerca de 150 ovos disponíveis para a oviposição (Potting et al., 1997a).

É possível que *C. flavipes* não tenha excedido o tamanho da prole como os resultados de Rabinovich (1971). As fêmeas parasitóides, às vezes, não excedem o máximo do tamanho da prole em razão de ataque de hospedeiro e de fatores como a qualidade e a quantidade de recursos disponíveis e também em virtude do sexo das larvas, que competiriam entre si. Pode haver, segundo Waage (1986), um declínio do tamanho da prole em decorrência, provavelmente, de competição larval.

Segundo Scaglia (2001) a reação do hospedeiro ao parasitismo induz o processo de encapsulamento de ovos e/ou larvas do parasitóide. Os dados de sua pesquisa revelaram que o número de lagartas de *D. saccharalis* que reagiram ao parasitismo de *C. flavipes* foi maior na 2ª e 3ª oviposições; o número de reações na 1ª postura foi pequeno se comparado ao ocorrido nas outras; provavelmente os ovos depositados na 1ª postura de *C. flavipes* sejam mais protegidos pelos componentes ovarianos, permitindo-lhes contornar os mecanismos de defesa do hospedeiro.

Os resultados da presente pesquisa estão em consonância com os obtidos por Scaglia (2001), pois se verificou que a 2ª e 3ª posturas tiveram o tamanho da prole bastante reduzido. A existência de uma correlação inversa entre o número de larvas e ovos encapsulados e o número de posturas efetuadas sugeriu que os ovos perdem a proteção à medida que mais posturas vão sendo efetuadas.

Em fêmeas de *Catolaccus grandis* (Hymenoptera: Pteromalidae) com idades entre 5 e 10 dias, a porcentagem da progênie aumentou de 64,0 para 77,2, respectivamente. Entretanto, quando as fêmeas estavam com idades entre 20 e 25 dias, diminuiu a porcentagem de fêmeas de 54 para 48,5 (Greenberg et al., 1995).

A maior média do tamanho da prole foi para as fêmeas de **24 h** com  $24,14 \pm 4,78$  em seguida foram as fêmeas de **48 h**  $22,17 \pm 4,78$  e para **0 h**  $19,54 \pm 3,85$ . As proles estatisticamente são iguais, não houve diferença significativa entre as idades (Anova  $F=17$ ).

Campos-Farinha et al (2000) registraram números médios de parasitóides por hospedeiros *D. saccharalis* de 4º e 5º instar (32 e 45 indivíduos, respectivamente). Cumagay et al., (1992) obtiveram  $31,15 \pm 19,38$  parasitóides por hospedeiro para acasalamentos endogâmicos e  $48,15 \pm$  parasitóides para acasalamentos não endogâmicos.

Fêmeas virgens de *C. flavipes* parasitaram três lagartas *D. saccharalis* e produziram proles maiores do que as de fêmeas previamente fecundadas que também haviam parasitado três lagartas; não houve diferença no número de descendentes das que parasitaram um ou dois hospedeiros (Bonfanti-Almeida, 2001). No campo, observações do tamanho da prole, isto é, da quantidade de parasitóides *C. flavipes* parasitando *Sesamia inferens* em cana-de-açúcar no inverno foi, em média, de 17 a 26,8 indivíduos e, no verão, foi maior, de 48,8 a 59,2, variando conforme a estação (Mia e Iwahashi, 1999). Nos dados de Ngi-Song et al., (1999), em experimentos com lagartas de *D. saccharalis* de 4º instar, a média do tamanho da prole foi bem menor, com 19 indivíduos de *C. flavipes*.

Considera-se a possibilidade de que um maior número de indivíduos na primeira postura decorra do comportamento dos parasitóides gregários de tentar otimizar o tamanho da progênie com os hospedeiros disponíveis e adequados à oviposição (Waage, 1986).

Pitcairn e Gutierrez (1992), estudando a influência do tamanho do hospedeiro e da idade na fecundidade e longevidade de *Tetrastichus incertus*, verificaram que o padrão de fecundidade foi similar ao encontrado na maioria dos insetos: um rápido aumento seguido de um declínio devido à idade.

Segundo o padrão, o tamanho da prole de parasitóides provigênicos é sempre igual, isto é, o inseto tem um número limitado de ovos e oviposita um tamanho de prole constante durante a sua vida. Sendo assim, as vespas poderiam fazer uma programação dinâmica e otimizar o tamanho da prole efetuando uma delimitação da área e uma reserva de ovos, reduzindo o número de ovos colocados quando houver escassez de suprimentos, denominado por Waage (1986) como planejamento familiar. Note-se que os resultados da presente pesquisa não condizem com o modelo, pois *C. flavipes* gerou a maior prole no primeiro hospedeiro; nos demais houve a geração de um número bastante reduzido de indivíduos.

Em todas as idades (0, 24 e 48h) e em todas as posturas os resultados obtidos quanto à razão sexual foram estatisticamente iguais. A idade de *C. flavipes* não influenciou a proporção de machos e fêmeas de sua prole. Cumagay et al., (1992) registraram o índice de *C. flavipes* parasitando *D. saccharalis* de 69,10% de machos e fêmeas para casais isolados durante 1 hora. Bonfanti-Almeida (2001) obteve com os mesmos insetos as seguintes razões sexuais obtidas para as proles de fêmeas que efetuaram parasitismo em uma, duas e três lagartas, que foram: 0,79; 0,72 e 0,79 respectivamente; os resultados sugerem que não houve variação na razão sexual da

prole, em relação ao número de lagartas de *D. saccharalis* parasitadas por fêmeas de *C. flavipes*.

Bonfanti -Almeida (2001) manteve casais de *C. flavipes* por 24 horas e obteve em seus resultados 88,33% de machos e fêmeas, confirmando a cópula dos casais, e 11,67% da prole de descendentes machos, indicando que não houve cópula. O mesmo autor escreveu também que a frequência de acasalamentos foi elevada quando as fêmeas puderam copular antes de efetuarem o parasitismo e baixa quando as fêmeas copularam após efetuarem o primeiro parasitismo em uma lagarta hospedeira.

Scaglia (2001) afirma que a produção de fêmeas de *C. flavipes* foi sensivelmente menor nos meses de julho, agosto e dezembro, sendo necessário aumentar o número de adultos para liberar no campo em uma quantidade de fêmeas suficientemente elevada, para que o controle atingisse o nível desejado. Segundo Botelho (1985), exatamente nesta época do ano foi observado o maior número de lagartas da broca da cana-de-açúcar nos canaviais. Assim sendo, o sucesso do controle biológico da praga depende da eficiência do parasitismo, que, por sua vez, depende de fêmeas liberadas na área de controle. Para o controle biológico, a frequência de fêmeas na população de parasitóides é importante, porque somente as fêmeas são agentes efetivos de controle. Além disso, o número de fêmeas produzido por prole é também determinante e essencial para a taxa de crescimento de uma população: quanto mais filhas cada mãe produzir, mais rapidamente a população aumenta e mais eficazmente são suprimidos os hospedeiros (Stouthamer et al., 1992).

A razão sexual de *C. flavipes* de idades diferentes na presente pesquisa se diferenciam de Horowitz e Gerling (1992), que estudaram a razão sexual em populações silvestres de *Bemisia tabaci* e verificaram que a progênie do parasitóide variou com a idade da mãe, havendo uma grande proporção de machos à medida que elas

envelhecem. Os mesmos pesquisadores verificaram também que a razão sexual foi desviada para um maior número de fêmeas no começo do verão e para um maior número de machos na metade da estação. Segundo esses estudiosos, o tamanho do hospedeiro também deve ser levado em consideração, pois está diretamente relacionado à produção de fêmeas e machos, à razão sexual e ao crescimento da população.

A idade do macho também pode ser responsável pela razão sexual desviada para eles. Tagawa (2002) estudou a capacidade de inseminação dos machos em *C. glomerata*. Tal capacidade foi investigada em condições laboratoriais e verificou-se que machos com idade de 24 horas são capazes de inseminar dez fêmeas virgens, sendo esta capacidade diminuída consideravelmente a partir do terceiro dia. Em *C. glomerata* somente as fêmeas mais velhas fizeram posturas com a razão sexual desviada para machos, o que ocorreu devido à depleção de esperma.

Kawaguchi e Tanaka (1999) estudaram a preferência do estágio do hospedeiro e a razão sexual de *Cotesia plutellae* e observaram que a vespa não regula a razão sexual de sua progênie de acordo com o estágio ou o tamanho do hospedeiro e sim de acordo com a idade dos parasitóides, após cinco dias da emergência a razão sexual ficou desviada para fêmeas, diminuindo gradualmente com o tempo de vida restante.

Observou-se a copulação tardia em *B. indicus*, com casais que copularam 4 dias depois da emergência e verificou-se que a razão sexual progênie teve valor máximo para fêmeas (Singh et al., 2001).

A idade da fêmea influencia na secreção das glândulas da espermateca, que se esvazia com o tempo, resultando em uma disponibilidade reduzida da atividade dos espermatozoides para a fertilização dos ovos Flanders (1946) apud Singh et al., (2001).

Wiedenmann e Smith (1993) afirmam que a resposta funcional do parasitóide *C. flavipes* foi medida a uma baixa densidade de *D. saccharalis* em caixas de milho no

campo. Os 34 parasitóides produziram em média 41.2 parasitóides por progênie; 29, 3 foram fêmeas, produzindo uma razão sexual de (fêmeas-machos) of 2,33:1. Bonfanti-Almeida (2001) relatou que a razão sexual entre os descendentes de *C. flavipes* produzidos por fêmeas previamente fecundadas sofre um desvio em direção às fêmeas; para a prole de fêmeas fecundadas após efetuarem uma postura como virgens, registrou-se um desvio em direção aos machos.

A sazonalidade pode também estar relacionada com a razão sexual de *C. flavipes* e não com a condição de oviposição efetuada. Nos meses de maio, setembro e fevereiro foram observados, em condições de laboratório, aumentos na população de fêmeas, enquanto a população de machos apresentou menor número de parasitóides (Scaglia, 2001).

A chance de *C. glomerata* encontrar um hospedeiro no campo nem sempre é grande (Ikawa e Okabe, 1985 e Vos et al., 1998), e uma fêmea gastaria muito tempo procurando por um hospedeiro no campo; convém lembrar que os parasitóides em condições de campo têm, em média, somente 3 dias de vida (Geervliet et al., 1998). Em tais situações *C. glomerata* tem provavelmente o tempo de vida mais limitado do que a quantidade de ovos disponíveis (Vos e Hemerik, 2002).

É provável que, além do fator tempo, o problema da estrutura do ovipositor tenha colaborado também para a obtenção de nossos resultados, em que figuram proles de tamanho reduzido (Vinson, 1976 e Scaglia, 2001).

Vinson (1976) afirma que existe a possibilidade de a textura resistente da cutícula do hospedeiro poder afetar a estrutura do ovipositor, fazendo com que a fêmea do parasitóide se torne menos apta para o parasitismo, por ter realizado posturas anteriores.

Portanto, eliminada a hipótese, por meio destes experimentos, de que a idade poderia afetar o tamanho da prole e a razão sexual, a explicação mais plausível para que *C. flavipes* não maximizasse seus 150 ovos diante dos 3 hospedeiros seria a estrutura do ovipositor, que, após várias oviposições, poderia ter se tornado menos apto devido à resistência da textura da cutícula do hospedeiro, conforme já mencionado por Vinson (1976) e Scaglia (2001).

## 7.0 Conclusões

A vespa parasitóide *C. flavipes* com 0, 24 e 48 horas de idade foi eficiente em parasitar 3 hospedeiros *D. saccharalis* em quinze minutos.

O intervalo de tempo de parasitismo de um hospedeiro e outro foi igual nas três idades.

*C. flavipes* de 0, 24 e 48 tiveram a capacidade de gerar prole nos três hospedeiros oferecidos, com exceção de *C. flavipes* de 0 hora pois, a vespa parasitou o hospedeiro, mas não gerou prole.

A maior prole de parasitóides geradas em hospedeiros *D. saccharalis* foram oriundas da primeira oviposição. As 2<sup>as</sup> e 3<sup>as</sup> oviposições geraram proles menores.

Não houve diferença entre as razões sexuais das proles de *C. flavipes* das três idades.

## 8.0 Bibliografia

Bonfanti-Almeida, J.C. **Comportamento reprodutivo de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) e sua influência na progênie.** Tese apresentada no instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP, 108p, 2001.

Botelho, P.S.M. **Tabela de vida Ecológica e Simulação da Fase Larval de *Diatraea saccharalis* (Fabr.1794) (Lep.:Pyralidae).**(Doutorado em Entomologia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 110p, 1985.

Campos-Farinha, A.E.C.; Chaud-Netto, J.; Gobbi, N. Biologia reprodutiva de *Cotesia flavipes* (Cam.). IV Discriminação de lagartas parasitadas e não parasitadas de *Diatraea saccharalis*. Fabr. pelo endoparasitóide. **Arq. Inst. Biol.**, 67, n.2, 229-234, 2000.

Charnov, E.L.; Skinner, S.W. Complementary approaches to the understanding of parasitoid oviposition decisions. **Environ. Entom.**, 14, 383-391, 1985.

Charnov, E.L. **The Theory of Sex Allocation.** New Jersey: Princeton University Press, 355p, 1982.

Charnov, E.L. The genetical evolution of patterns of sexuality Darwinian fitness. **Am. Nat.** v. 113, p.465-480, 1979.

Christiansen.W.P.; Hardie, J. Environmental and physiological factors for diapause induction and termination in the aphid parasitoid, *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Aphidiidae). **J. Insect Physiol.**, v. 45, p.357-364, 1999.

Collins, M. D.; Dixon , A.F.G. The effect of egg depletion on the foraging behaviour of an aphid parasitoid. **J. Appl. Ent.** 102, 342-352, 1986.

Cumagay, M.M. et al Reproductive biology of *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae). I. Inbreeding effect on productivity of females mated to a single male. **An. Soc. Entomol. Brasil**, v.21, n.3, p. 297-305, 1992.

Driessen, G., Bernstein, C., van-Alphen, J.J.M. e Kacelnick, A. A count-down mechanism for host search in the parasitoid *Venturia canescens*. **J. Anim. Ecol.**, 64, 117-125, 1995.

Fitz-Earl, M.; Barclay, H.J. Is there an optimal sex ratio for insect mass rearing? **Ecol. Model.**, v.45, p.2-5-220, 1989.

Geerviliet, J.B.; Ariens, S.; Dicke, M.; Vet, L.E.M. Long-Distance Assessment of Patch profitability through volatile infochemicals by the parasitoids *Cotesia glomerata* and *C. rubecula* (Hymenoptera: Braconidae), **Biol. Control**, 11, 113-121, 1998.

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

Greenberg. J.; Morales-Ramos., A.; King E.G.; Summy, K.R.; Rojas, M.G. Biological Parameters for Mass Propagation of *Cotolaccus grandis* (Hymenoptera: Pteromalidae). **Environ. Entomol.** v.24 (5): p.1322-1327, 1995.

Hamilton, W.D. Extraordinary sex ratios. **Science**, v.156, p. 477-88, 1967.

Heimpel, G.E.; Rosenheim, J.A. Egg Limitation in Parasitoids: A Review of the Evidence and a Case Study. **Biol. Control**, **11**, p.160-168, 1998.

Horowitz, A.R.; Gerling, D. Seasonal Variation of sex Ratio in *Bemisia tabaci* on Cotton in Israel. **Environ. Entom.**, v. 21, n.3, p. 556-559, 1992.

Ikawa, T.; Okabe, H. Regulation of egg number per host to maximize the reproductive success in the eggs laid in a host by the gregarious parasitoid, *Apanteles glomeratus* L. (Hymenoptera: Braconidae). **Appl. Ent. Zool.** v.20: p.331-339, 1985.

Iwasa, Y.; Suzuki, Y.; Matsuda, H. Theory of oviposition strategy of parasitoids. I. Effect of mortality and limited egg number. **Theor. Pop. Biol.**, v.26, p.205-227, 1984.

Kajita, H.; Drake, E.F. Biology of *Apanteles chilonis* and *Apanteles flavipes* (Hymenoptera: Braconidae), parasites of *Chilo suppressalis*. **Mushi**, v.42, p.163-179, 1969.

Kawaguchi, M.; Tanaka, T. Time and Location of Larval Emergence of the Endoparasitoid *Cotesia kariyai* (Hymenoptera: Braconidae) from the Lepidopteran Host *Pseudaletia separata* (Lepidoptera: Noctuidae). **Ann. Entomol. Soc. Am.**, v 92, n.1, 101-107, 1999.

Mangel, M. An evolutionary explanation of the motivation to oviposit. **J. Evol. Biol.**, 2, 157-172, 1989.

Mélo, A.B.P. **Biologia de *D.saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Pyralidae) em diferentes temperaturas para determinação das exigências térmicas.** 1984, Dissertação, (Mestrado em Ciências Biológicas- Entomologia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/ Universidade de São Paulo, Piracicaba, 101 p, 1984.

Mia, A.M.; Iwahashi, O. Seasonal changes in infestation level sugarcane by the pink borer, *Sesamia inferens* (Lepidoptera: Noctuidae), in relation to a parasitoid, *C. flavipes*

(Hymenoptera: Braconidae), in Okinawa Island, **Appl. Ent. Zool.**, v.34, n.4, p.429-434, 1999.

Overholt, W.A.; Ngi-Song, A.J.; Omwega, C.O.; Kimani-Njogu, S.W.; Mbapila, J.; Sallam, M.N. e Ofomata, V. A review of the introduction and establishment of *Cotesia flavipes* Cameron in East Africa for Biological control of Cereal stemborers. **Insect Sci Applic.** V.17, n.1, 79-88, 1997.

Pádua, L.E.M. **Biologia comparada de *Apanteles flavipes* (Cameron, 1981) (Hymenoptera: Braconidae) para determinação das exigências térmicas.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas Entomologia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/Universidade de São Paulo. Piracicaba, p. 53, 1983.

Papaj, D.R. Ovarian dynamics and host use. **Annu. Rev. Entomol.**, v.45, p.423-448, 2000.

Parker, G.A.; Courtney, S.P. Models of clutch size in insect oviposition. **Theor. Popul. Biol.**, v.26, p.27-48, 1984.

Pitcairn, M.J.; Gutierrez, A.P. Influence of Adult Size and Age on the fecundity and longevity of *Techastichus incertus* (Hymenoptera:Eulophidae) **Ann. Entomol. Soc. Am.**, v. 85, n.1, p.53-57, 1992.

Potting, R.P.J.; Snellen, H.M.; Vet, L.E.M.a) Fitness consequences of superparasitism and mechanism of host discrimination in the stemborer parasitoid *C. flavipes*. **Ent. Exp. Appl.**, v. 82, p.341-348, 1997.

Potting, R.P.J.; Otten, H.; Vet, L.E.M.b) Absence of odour learning in the stembores parasitoid *C. flavipes*. **Anim. Behav.**, v.53, p. 1211-1223, 1997.

Rabinovich, J.E. Population dynamics of *Telenomus fariai* (Hymenoptera : Scelionidae), a parasite of Chagas" disease vectors. V. Parasite size and vital space. **Rev. Biol. Trop.**, v. 19, p. 109-120, 1971.

Ramadan, M. M. **Mass-rearing biology of *Fopius vandenboschi* (Hym., Braconidae).** **Ent. Exp. Appl.** v.128. p.226-232, 2004.

Ramadan, M. M.; Wong,T.T.Y.; Wong, M. A. Influence of parasitoid size and age on male mating success of Opiinae ( Hymenoptera: Braconidae), larval parasitoids of fruit flies ( Diptera: Tephritidae). **Biol. Control** v.1, p.248-255, 1991.

Scaglia, M., **Capacidade reprodutiva de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1981) (Hymenoptera: Braconidae) e alterações no perfil protéico e enzimático da Hemolinfa de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) induzidas pelo parasitismo.** Tese Universidade Estadual Paulista - Rio Claro/SP: Brasil. 154p, 2001.

Singh, R.; Singh, A.; Upadhyay.B.S. Influence of belated copulation and oviposition on the fecundy and progeny sex ratio of *Binodoxys* (= *Trioxys*) *indicus* (Subba Rao and Sharma) (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). **J. Biol. Control**, 15(2): p.105-112, 2001.

Sttokebo, S.; Hardy, I. C. W. The importance of being gravid: egg load and contest outcome in a parasitoid wasp. **Anim. Behav.** 59, 1111-1118, 2000.

Stouthamer, R.; Luck, R.F.; Werren, J.H. Genetics of Sex Determination and the Improvement of Biological Control Using Parasitoids. **Environ. Entomol.**, v.21, p.427-35, 1992.

Tagawa, J. Male insemination capability in the parasitoid wasp, *Cotesia glomerata*. L. (Hymenoptera: Braconidae). **Neth. J. Zool.**, v.52, p.1-10, 2002.

Uçkan, F.; Gulel, A. Age-related and sex ratio variation in *Apanteles galleriae* (Hym., Braconidae) and host effect on fecundity and sex ratio of its hyperparasitoid *Dibrachys oariae* (Hym., Pteromalidae). **J. Appl. Entomol.** 126, p. 534-537, 2002.

Uehara, M. T. **Avaliação da aptidão “fitness” das populações do parasitóide *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) (Cameron, 1981)** Dissertação. Universidade de São Paulo/ FFCLRP, Ribeirão Preto/SP, 94p, 2000.

Ueno, T. Abdominal tip movements during oviposition by two parasitoids (Hymenoptera: Ichneumonidae) as an index of predicting the sex of depositing eggs. **Appl. Entomol. Zool.**, v.30, p.590-592, 1998.

Vinson, S.B. Host selection by insect parasitoids. **Annu. Rev. Entomol.**, v. 21, p. 109-133, 1976.

Vos, M.; Hemerik, L. Linking foraging behavior to life time reproductive success for an insect parasitoid: adaptation to host distributions. **Beh. Ecol.** p.727-739, 2002

Vos, M.; Hemerik, L.; Vet, L.E.M. Patch exploitation by the parasitoids *Cotesia rubecula* and *Cotesia glomerata* in multipatch environments with different host distributions. **J. Anim. Ecol.**, 1998.

Waage, J.K., Family planning in parasitoids: patterns of progeny and sex allocation **in: Insects parasitoids**. Waage, J.K and Greathead, D., eds . Academic Press, London, p.63-95, 1986.

Wiedenmann, R.N.; Smith, Jr. Functional response of the parasite *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) at low densities of the host *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). **Environ. Entomol.**, v.22., nn.4, p.849-858, 1993.

Zaviezo, T.; Mills, N. Factors influencing the evolution of clutch size in a gregarious parasitoid. **J. Anim. Ecol.**, 69, p.1047-1057, 2000.

## *Capítulo II*

**Parasitismo e superparasitismo do parasitóide *Cotesia flavipes*  
dentro de um tubo simulador de planta ( Tubo – Y )**

## **Parasitismo e superparasitismo do parasitóide *Cotesia flavipes* dentro de um tubo simulador de planta ( Tubo – Y )**

Márcia Terumi Uehara

Tese – FFCLRP- USP, 2005

### **1.0 Resumo**

A vespa endoparasitóide *Cotesia flavipes* parasita lagartas de hospedeiros *Diatraea saccharalis* que vivem escondidos dentro do caule da cana-de-açúcar. Para fazer a postura de ovos *C. flavipes* localiza o hospedeiro através de pistas como os odores das fezes deixadas por *D. saccharalis* e outros voláteis emitidos pela planta infestada e pelo hospedeiro. O objetivo deste trabalho foi verificar o processo de escolha de parasitismo ou superparasitismo de *C. flavipes* dentro de tubo simulador de planta – tubo y. Na tentativa de simular um meio similar ao encontrado na natureza, colocou-se neste experimento *C. flavipes* dentro do tubo y com dois hospedeiros, de tamanhos e qualidades diferentes (parasitadas e não parasitadas). Verificou-se através dos experimentos que *C. flavipes* quando se deparou com dois hospedeiros *D. saccharalis* dentro do tubo-y não interrompeu a sua busca para escolher qual hospedeiro ovipositaria. A vespa entrou dentro de tubo e saiu dele somente depois de parasitar um hospedeiro, independente de sua qualidade ou tamanho. *C. flavipes* parasitou e superparasitou hospedeiros do 4º e 5º instar dentro do tubo y. A fêmea parasitóide preferiu superparasitar *D. saccharalis* do 4º instar a parasitar um hospedeiro menor (3º

instar). Conclui-se que *C. flavipes* não discriminou os hospedeiros dentro dessas condições experimentais.

Palavras-chave: *Cotesia flavipes*, *Diatraea saccharalis*, parasitismo, superparasitismo, tubo y

## **Parasitism and Superparasitism of the parasitoid *Cotesia flavipes* within a plant simulator tube ( Y - Tube )**

Márcia Terumi Uehara

Tese – FFCLRP- USP, 2005

### **1.2 Abstract**

The endoparasitoid wasp *Cotesia flavipes* parasitizes caterpillars of *Diatraea saccharalis* which live hidden within the stems of sugar cane. In order to deposit its eggs, *C. flavipes* locates its host through clues like the odor of feces left by *D. saccharalis*, and other vapors emitted by the infested plant and by the host. The objective of this work was to verify the parasitism choosing process of *C. flavipes* inside a plant simulating tube – Y tube. In an attempt to simulate an environment similar to the found in nature, *C. flavipes* was placed inside the Y- tube with two hosts, of differing sizes and qualities (parasitized or unparasitized). The experiments verified that *C. flavipes* when it discovered two *D. saccharalis* hosts inside the Y- tube, did not interrupt its search to choose which host it would oviposit. The wasp entered the tube and left only after parasitizing a host, independent of its quality or size. *C. flavipes* parasitized and superparasitized hosts of the 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> instars inside the Y- tube. The female parasitoid preferred to superparasitize 4<sup>th</sup> instar *D. saccharalis* than to parasitize a smaller host (3<sup>rd</sup> instar). In conclusion, *C. flavipes* did not discriminate hosts under these experimental conditions.

Key-words: *Cotesia flavipes*, *Diatraea saccharalis*, parasitism, superparasitism, tube -y

## **2.0 Introdução e Revisão de Literatura**

O sucesso do parasitismo pode ser dividido em duas etapas: a primeira inclui a procura e a posterior seleção dos hospedeiros; a segunda abrange o desenvolvimento dos parasitóides imaturos (Wharton, 1993). Observa-se que, na fase de seleção, os parasitóides avaliam se o hospedeiro já fora anteriormente parasitado, uma vez que um hospedeiro parasitado torna-se de baixa qualidade, em razão da menor disponibilidade alimentar para os parasitóides que se desenvolverão no seu interior (Alphen e Vet, 1986).

A qualidade do hospedeiro pode ser definida em função de suas várias condições, dentre elas a qualidade de recursos disponíveis no momento da oviposição, o crescimento potencial depois da postura e a quantidade de tempo que viverá, levando-se em consideração que esses parâmetros variam com a idade ou o estágio de desenvolvimento do hospedeiro (Mackauer, 1996).

Embora relevante, a qualidade do hospedeiro pode ser considerada pelos parasitóides como um valor relativo e não absoluto, em virtude de, no ambiente, poder existir grande densidade de hospedeiros de baixa qualidade e pequena dos de alta qualidade. Desse modo, tal ocorrência pode levar a fêmea a ovipositar naqueles de baixa qualidade, em razão de serem predominantes na população e da escassez dos que seriam os mais apropriados (Alphen e Jansen, 1982).

O primeiro critério para a seleção de hospedeiro, após o seu reconhecimento como espécie adequada ao parasitismo, relaciona-se diretamente à observação da idade e/ ou do tamanho do dele (Kraaijeveld et al., 1999).

Deve ser mencionado aqui também o superparasitismo, definido como a deposição de uma prole de ovos, ou mesmo de um único ovo, em um hospedeiro que já tenha sido parasitado por um indivíduo parasitóide da mesma espécie (Dijken e Waage, 1987). O superparasitismo pode ser adaptativo sob certas circunstâncias, especialmente quando a densidade de hospedeiros é baixa e os hospedeiros não parasitados são raros no habitat (Gu et al. 2003).

Conjectura-se que o superparasitismo seria um erro, do ponto de vista adaptativo, uma vez que há uma importante redução da probabilidade de sobrevivência do segundo conjunto de ovos postos, tal hipótese foi sustentada por trabalhos experimentais com *Leptopilina heterotoma* (Hubbard et al., 1999). A fêmea parasitóide, quando encontra um hospedeiro parasitado, tem de decidir se vai superparasitar ou rejeitar o hospedeiro. Deve-se notar, entretanto, que o superparasitismo pode ter conseqüências para o “fitness” da prole da referida fêmea, por causar ou aumentar a competição intraespecífica dos parasitóides dentro do hospedeiro (Alphen e Visser, 1990).

Segundo Tagawa (2000), o superparasitismo em campo é bastante comum com o parasitóide *Cotesia glomerata*, pois as fêmeas produzem proles com maior proporção de ovos haplóides em hospedeiros parasitados do que em hospedeiros não parasitados. Em alguns parasitóides, as fêmeas aumentaram a razão sexual de sua prole quando atacaram hospedeiros parasitados, alterando a seqüência da oviposição de ovos fertilizados e não fertilizados (Welzen e Waage, 1987 e King, 1993).

O superparasitismo *C. flavipes* em *Chilo partellus* não resulta em uma prole maior devido à grande mortalidade dos hospedeiros superparasitados, mas o tempo de desenvolvimento dos parasitóides imaturos se prolonga e reduz o tamanho dos insetos (Potting et al. 1997).

Salt (1935), citado por Godfray (1994), foi um dos primeiros pesquisadores a estudar a discriminação em hospedeiros. Discriminar é reconhecer e evitar hospedeiros já parasitados. A discriminação é definida como a prévia rejeição dos hospedeiros para a oviposição. Observa-se que os parasitóides podem apresentar graus diferentes de capacidade de discriminação, de acordo com a sua experiência prévia em ovipositar (Hubbard et al., 1999).

A discriminação ocorrerá somente se houver algum tipo de modificação que altere a fisiologia e o comportamento do hospedeiro, como marcas físicas pelo corpo, liberação de feromônios, entre outras alterações (Godfray, 1994).

Strand (1986) descreveu que algumas marcas deixadas pela oviposição das fêmeas e o desenvolvimento do parasitóide causam mudanças fisiológicas no hospedeiro, e que tais alterações também são usadas por um parasitóide subsequente como critério para a discriminação dos hospedeiros. Existem duas formas de marcação química: a interna e a externa. O pteromalídeo *Nasonia vitripennis* e os eucoilídeos (parasitóide de *Drosophila*, *Leptopilina*) usam marcas internas em seu hospedeiro. Em

contraste, outras espécies usam marcas externas, como os scelionídeos *Trissolcus*, que atacam ovos de *Nezara viridula*, e os mimarídeos aquáticos *Caraphractus cinctus*, que atacam ovos submersos de coleópteros.

Em parasitismo de ovos, nota-se que o tecido do hospedeiro é frequentemente banhado por substâncias químicas secretadas pela vespa parasitóide ou por teratócitos do parasitóide imaturo.

Algumas espécies de parasitóides, como *C. flavipes* por exemplo, desenvolveram características morfológicas e comportamentais, como um longo e forte ovipositor, com o qual eles perfuram o tecido das plantas e fazem a postura no hospedeiro; outras espécies adentram os hospedeiros por um túnel da planta em que estes se encontram alojados e os parasitam. Estas adaptações ocorrem geralmente quando os parasitóides procuram por hospedeiros que vivem escondidos, como os minadores de folha e as brocas perfuradoras de caules (Potting et al., 1997b).

Segundo Leerdam et al., (1985), a localização do hospedeiro pela fêmea de *C. flavipes* é mediada por uma substância hidrossolúvel, presente em fezes secas ou reidratadas de larvas de *D. saccharalis*. O parasitóide, em contato com as fezes, é induzido ao comportamento de procura, caracterizado por uma redução no ritmo de locomoção e tateamento das fezes com as antenas.

Potting et al., (1997b), porém, contrariaram esta idéia, afirmando que *C. flavipes* não localiza o hospedeiro pelo odor de suas fezes, uma vez que não encontraram nenhuma relação entre o local de emergência do parasitóide e a sua posterior tentativa de postura. Esses pesquisadores realizaram experimentos com parasitóides criados em duas espécies de hospedeiros, *C. partellus* e *S. calamistes*.

Wiedenmann e Smith (1993) e Potting et al., (1997a) descreveram o risco para *C. flavipes* ao atacar uma lagarta dentro de um tubo artificial de vidro, que simula as

condições naturais de parasitismo. Observa-se que uma porcentagem, que varia entre 30% e 40% das fêmeas parasitóides, morre e sofre o ataque de *D. saccharalis*. Verifica-se que as lagartas reagem ao ataque do parasitóide e defendem-se vigorosamente.

*C. flavipes* pode usar um tempo médio dentro do túnel; dependendo da acessibilidade da larva, pode permanecer no local por 16 segundos e levar de 4 a 6 segundos para ovipositar. O ataque à larva e a defesa desta no espaço confinado do túnel aumentam o risco de mortalidade para a fêmea parasitóide (Potting et al., 1996). É importante ressaltar que as brocas mantêm relativamente limpo o túnel onde permanecem; geralmente empurram suas fezes para fora do túnel, acumulando-as na parte externa deste, ao redor do orifício de entrada. Os parasitóides, por sua vez, ao detectarem a presença destas fezes, têm nisso um indício de que há hospedeiros nas proximidades. (Potting et al., 1997b).

A presente pesquisa estudou o comportamento de escolha de *C. flavipes* entre dois hospedeiros *D. saccharalis*, de qualidades e tamanhos diferentes, sendo que todos também estavam colocados dentro de um tubo –Y. Tanto a pesquisa de Potting et al., (1997) como esta visaram à observação do comportamento do parasitóide, simulando os túneis encontrados na natureza.

### 3.0 Objetivos

- 3.1 Avaliar o processo de escolha, entre o parasitismo ou o superparasitismo, do parasitóide *C. flavipes* em hospedeiros *D. saccharalis* de diferentes tamanhos e qualidade, dentro do tubo-Y.
- 3.2 Quantificar o número de contatos realizados por *C. flavipes* antes de ovipositar em *D. saccharalis*, ou seja, a verificação do fato de a vespa ter tido contato anterior com um ou dois hospedeiros e quais foram eles.
- 3.3 Verificar a preferência de *C. flavipes* pelo parasitismo ou pelo superparasitismo em *D. saccharalis*, no tubo-Y.

## 4.0 Metodologia

Insetos da criação massal da Usina São João/Araras/SP foram utilizados neste experimento. *C. flavipes* e *D. saccharalis* foram criados em temperatura controlada de  $28^{\circ}\text{C} \pm 2$ , umidade relativa de  $65 \pm 10\%$  e luminosidade de 970 a 1700 Lux. A metodologia da criação do parasitóide e do hospedeiro *D. saccharalis* está descrita em Botelho e Macedo (2002).

A lagarta hospedeira *D. saccharalis* vive escondida dentro do colmo da cana-de-açúcar, em galerias escavadas com suas próprias mandíbulas. O parasitóide *C. flavipes* entra na galeria, a fim de depositar seus ovos no hospedeiro. O experimento realizado simulou a galeria de *D. saccharalis*, com um tubo de vidro branco transparente em forma de Y, medindo 10 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro. Quinze minutos antes do início da observação, colocaram-se duas lagartas próximas do tubo-Y, uma em cada extremidade. Assim, verificou-se que um dos hospedeiros foi parasitado por *C. flavipes* antes de ser introduzido no tubo-Y e o outro não. Denominou-se neste

experimento o hospedeiro não parasitado de “hospedeiro fresco”, pelo fato de não ter entrado em contato com parasitóides. As duas saídas do tubo foram fechadas com algodão logo após as lagartas terem sido ali inseridas, a fim de se evitar a fuga destas; na outra extremidade, introduziu-se o parasitóide para a observação de seu comportamento. Verificou-se que a qualidade dos hospedeiros, tanto do parasitado quanto do fresco, foi constante em todas as situações, porém, o tamanho deles foi variável. Foram utilizados hospedeiros do 3º ao 5º instar, que foram medidos pela cápsula cefálica definida por Mélo (1984). Cada etapa do experimento foi repetida 36 vezes. O experimento analisou três aspectos:

- 4.1) O processo de escolha, entre o parasitismo ou o superparasitismo, do parasitóide *C. flavipes* no hospedeiro *D. saccharalis*, dentro do tubo – Y. A análise foi feita com base na observação do fato de a vespa ter entrado direto no tubo, não interrompendo sua busca, ou ter parado para escolher antes de entrar no tubo que continha o hospedeiro.
- 4.2) O número de contatos realizados por *C. flavipes* antes de ovipositar em *D. saccharalis*, ou seja, a verificação do fato de a vespa ter tido contato anterior com um ou dois hospedeiros e quais foram eles.
- 4.3) A preferência de *C. flavipes* pelo parasitismo ou pelo superparasitismo em *D. saccharalis*, no tubo-Y.

A fim de estudar os aspectos mencionados, foram utilizados no experimento hospedeiros de idades e tamanhos diferentes:

- a) Um hospedeiro parasitado do 5º instar e outro não parasitado do 5º;
- b) Um hospedeiro parasitado do 5º instar e outro não parasitado do 4º;
- c) Um hospedeiro parasitado do 4º instar e outro não parasitado do 3º.

Foram utilizadas 216 fêmeas do parasitóide *C. flavipes* e 216 lagartas hospedeiras de *D. saccharalis* para a realização do experimento. Do total de 216 fêmeas, 108 foram usadas inicialmente para realizar a primeira oviposição nos hospedeiros, tornando-os hospedeiros parasitados e 108 foram usadas como hospedeiros não parasitados ou frescos.

## 5.0 Resultados

### 5.1 Processo de escolha do hospedeiro *D. saccharalis* pelo parasitóide *C. flavipes* dentro do tubo-Y, com ou sem interrupção.

Como resultados do processo de escolha entre o parasitismo ou o superparasitismo do parasitóide *C. flavipes*, dentro do tubo-Y, no hospedeiro *D. saccharalis* de 5º instar parasitado e de 5º não parasitado, observa-se que 58% dos parasitóides preferiram não interromper a busca antes de escolher um hospedeiro e 42 % das vespas pararam antes de entrar no tubo que continha o hospedeiro. Nota-se que, estatisticamente, os resultados não diferiram, conforme mostram a tabela 2 ( $Z = -0,67$ ,  $\alpha = 5\%$ , parasitóides  $n= 72$  e hospedeiros  $n= 72$ ) e o gráfico 2.

Na simulação em que foram utilizados hospedeiros de 5º instar parasitados e de 4º não parasitados, os resultados foram iguais, ou seja, 50% interromperam a busca para

entrar no tubo que continha o hospedeiro e 50 % não interromperam. Assim, verifica-se que, em termos quantitativos, os resultados não diferiram, conforme se verifica pela tabela 2 ( $Z = -0,166$ ,  $\alpha = 5\%$ , parasitóides,  $n = 72$  e hospedeiros  $n = 72$ ) e pelo gráfico 2.

No experimento com os hospedeiros de 4º instar parasitados e de 3º não parasitados não houve diferença quantitativa entre os resultados obtidos nos dois grupos, conforme pode ser observado na tabela 2 ( $Z = 0,16$ ;  $\alpha = 5\%$ , parasitóides  $n = 72$  e hospedeiros  $n = 72$ ) e no gráfico 2, ou seja, 47% interromperam a busca por hospedeiros e 53 % não o fizeram.

## **5.2 Número de contatos com o hospedeiro *D. saccharalis* realizados por *C. flavipes* no processo de escolha entre o parasitismo ou o superparasitismo**

A quantidade de contatos que *C. flavipes* fez antes de escolher o hospedeiro para depositar seus ovos em *D. saccharalis* foi significativa. O parasitóide teve contato com apenas um hospedeiro e, em seguida, depositou seus ovos. Quando se testaram hospedeiros de 5º instar parasitados e não parasitados, houve diferença significativa nos resultados obtidos, conforme se pode verificar na tabela 2 e no gráfico 3 ( $Z = 4,73$ ;  $\alpha = 5\%$ ;  $n = 72$  *C. flavipes* e 72 *D. saccharalis*). Encontrou-se diferença significativa, o que se pode verificar observando a tabela 2 e o gráfico 3 ( $Z = 5,83$ ;  $\alpha = 5\%$ ;  $n = 72$  *C. flavipes* e 72 *D. saccharalis*), entre o número de contatos da fêmea com larvas de 5º instar parasitadas e de 4º instar não parasitadas. No teste com *D. saccharalis* de 4º instar parasitada e de 3º instar não parasitada o resultado também apresenta diferenças

significativas em termos estatísticos ( $Z= 6,16$ ;  $\alpha = 5\%$ ;  $n = 72$  *C. flavipes* e 72 *D. saccharalis*).

### **5.3 Tipo de hospedeiro *D. saccharalis* escolhido pelo parasitóide *C. flavipes* parasitar ou superparasitar**

Com relação à preferência de *C. flavipes* parasitar ou superparasitar *D. saccharalis* no tubo-Y, verificou-se que não houve diferença estatística significativa entre a preferência por hospedeiros de 5º instar parasitados ou pelos de 5º instar não parasitados, como se pode verificar na tabela 2 ( $Z = 0,33$ ;  $\alpha = 5\%$ ;  $n = 72$  *C. flavipes* e 72 *D. saccharalis*). No gráfico 4, observa-se que 52 % preferiram fazer a postura no hospedeiro não parasitado e 48% preferiram superparasitar. Resultados similares se repetem no teste com os hospedeiros de 4º instar não parasitados e de 5º instar parasitados ( $Z = 0,166$ ;  $\alpha = 5\%$ ;  $n = 72$  *C. flavipes* e 72 *D. saccharalis*), ou seja, não há diferença quantitativa significativa.

Na simulação entre os hospedeiros de 4º instar parasitados e de 3º instar não parasitados, a preferência foi pelo superparasitismo 4º instar (72%). Houve diferença significativa entre os grupos, conforme a tabela 2 e o gráfico 4 ( $Z = 2,83$ ;  $\alpha = 5\%$ ;  $n = 72$ ).

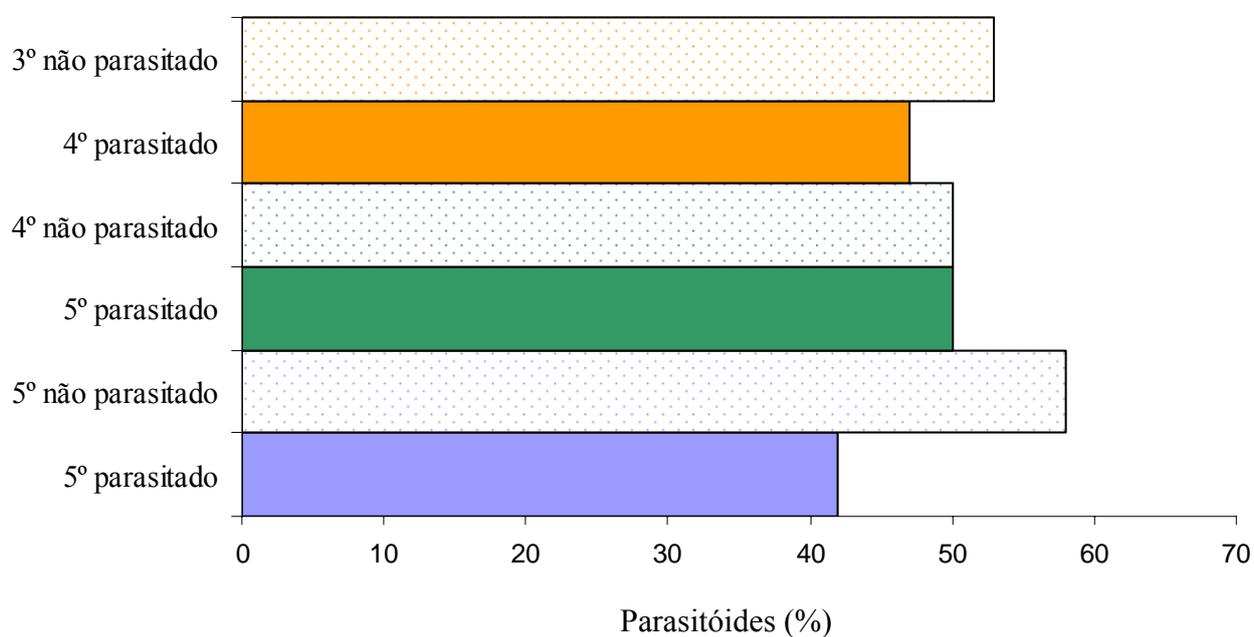


Gráfico 2: Escolha do parasitóide *Cotesia flavipes*, através do tubo-Y, do hospedeiro *Diatraea saccharalis*. As barras com pontos representam os parasitoides que não interromperam a busca antes de entrar no tubo que continha o hospedeiro e as barras preenchidas representam os que interromperam antes de entrar no tubo. *C. flavipes* e *D. saccharalis*).

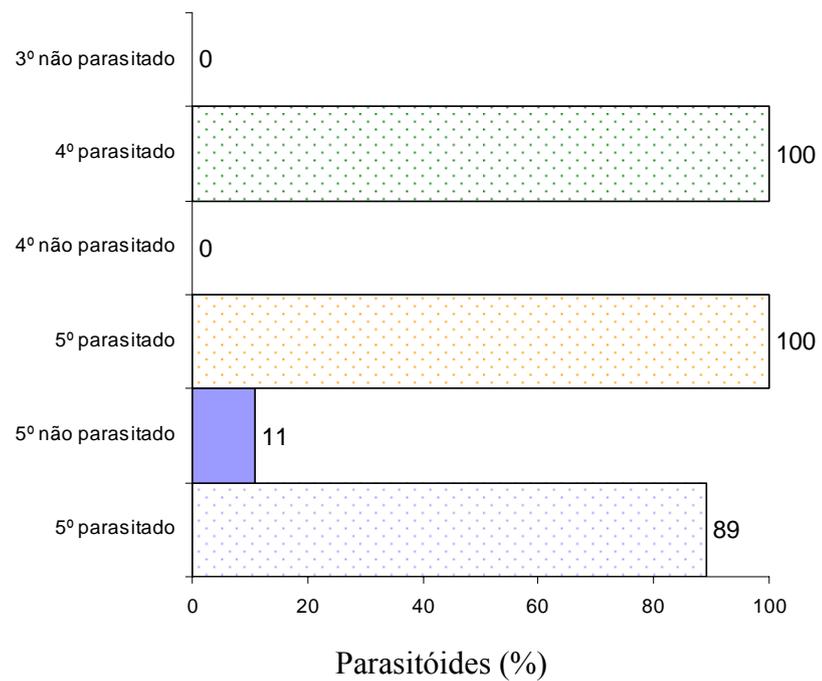


Gráfico 3: Número de contatos, em porcentagem, de *Cotesia flavipes* com um ou dois hospedeiros *Diatraea saccharalis* nos experimentos usando o tubo em Y. As barras com pontos representam os hospedeiros que tiveram somente um contato com a vespa e as não preenchidas as que tiveram 2 contatos pelo parasitóide.

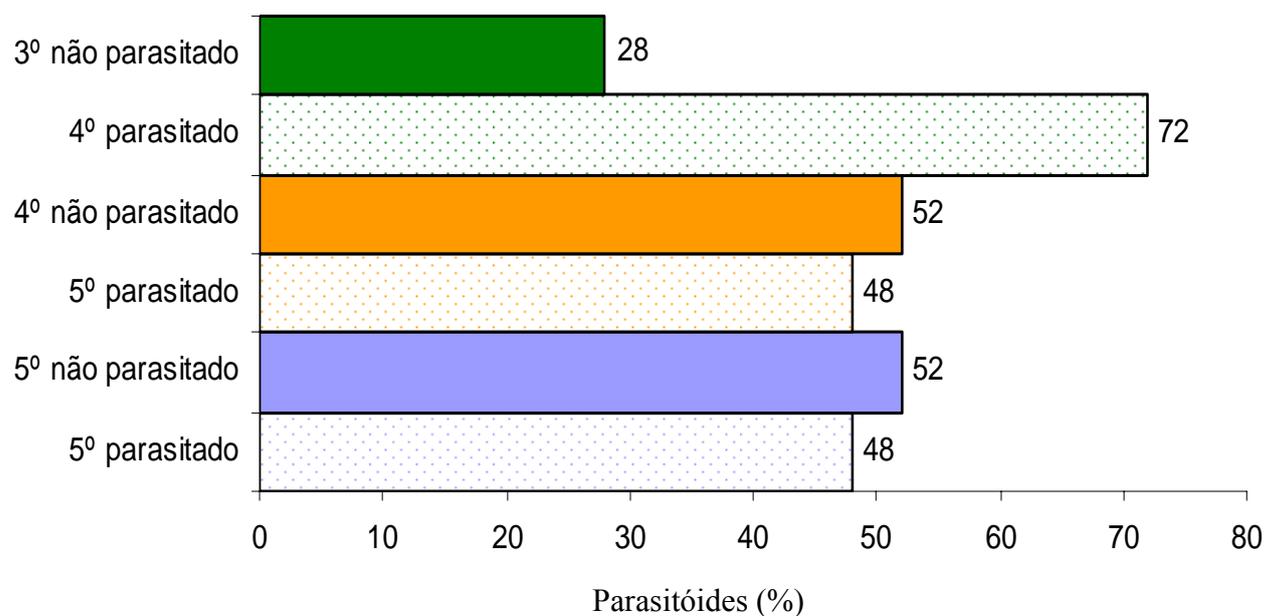


Gráfico 4: Tipo de hospedeiro escolhido, em porcentagem, para oviposição pelo parasitóide *Cotesia flavipes* no hospedeiro *Diatraea saccharalis* em um tubo y . As barras com pontos representam parasitismo e as barras preenchidas o superparasitismo

	Com interrupção/sem interrupção	Contato com 1 ou 2 hopedeiros D. saccharalis	Hospedeiro escolhido superparasitado e parasitado
	Z	Z	Z
<i>D. saccharalis</i> 5°instar parasitada e 5° não parasitada	- 0,67	4,73*	-0,33
<i>D. saccharalis</i> 5°instar parasitada e 4° não parasitada	-0,16	5,83*	0,166
<i>D. saccharalis</i> 4°instar parasitada e 3° não parasitada	0,16	6,16*	2,83*

\* valores estatisticamente significativos

Tabela 2: Parasitismo e superparasitismo do parasitóide *Cotesia flavipes* e o hospedeiro *Diatraea saccharalis* em um tubo – Y. Os dados foram analisados pelo teste não paramétrico dos Sinais com  $\alpha = 5\%$ .

## 6.0 Discussão

### 6.1 Processo de escolha do hospedeiro *D. saccharalis* pelo parasitóide *C. flavipes* dentro do tubo-Y, com ou sem interrupção.

A análise estatística do processo de escolha do parasitóide *C. flavipes* em hospedeiros *D. saccharalis* nos experimentos realizados no tubo-y, simulador da planta hospedeira, demonstrou que o parasitóide fez a sua busca com interrupção e sem interrupção na mesma proporção, não havendo, portanto, um padrão de comportamento.

Observou-se que a qualidade e o tamanho do hospedeiro *D. saccharalis* não influenciaram no comportamento de escolha de *C. flavipes*. Verificou-se que houve a oportunidade de *C. flavipes* fazer a sua escolha entre as duas opções oferecidas, sem o contato físico; porém, outras formas de estímulos, visuais e olfativos, estavam à sua disposição, podendo também subsidiar a escolha, tanto para o parasitismo como para o superparasitismo.

## 6.2 Número de contatos com o hospedeiro *D. saccharalis* realizados por *C. flavipes* no processo de escolha entre o parasitismo ou o superparasitismo

Os resultados dos experimentos em que dois hospedeiros *D. saccharalis* foram oferecidos simultaneamente a *C. flavipes* demonstram que a vespa fez contato apenas com um deles. Assim que a vespa entrou em uma das extremidades do tubo-y onde a lagarta hospedeira estava, não houve o recuo sem que antes aquela parasitasse ou superparasitasse esta. A vespa sempre saiu de uma das extremidades do tubo-y, no qual o hospedeiro estava inserido, somente depois de fazer a postura dos ovos. Observou-se que as vespas entraram no tubo-y em busca de hospedeiro, independente do tamanho ou da qualidade deste, o que provavelmente simula a situação de túnel encontrada na natureza. Verifica-se que, nas três situações, em que se variou o tamanho e a qualidade do hospedeiro {5° p e 5° np}; {5° p e 4 np} e {4p e 3° np}, não houve diferença significativa nos resultados obtidos.

Segundo Campos-Farinha (1996), *C. flavipes* é capaz de discriminar uma lagarta de *D. saccharalis* parasitada por contato físico, até 24 horas após o parasitismo, e que após 48 horas este “poder” de discriminação deixa de existir. A fêmea faz um pequeno orifício no tegumento da lagarta para colocar os ovos, provocando a extrusão da hemolinfa, o que pode ser um indicador de parasitismo para as outras fêmeas.

Nos experimentos de Campos-Farinha (1996) foram oferecidas, em placas de Petri, várias lagartas *D. saccharalis* parasitadas até 24 horas e não parasitadas para *C. flavipes* parasitar ou superparasitar; observou-se que esta tateou com as antenas os hospedeiros, discriminando-os. Nos referidos experimentos, portanto, convém enfatizar que a vespa usou as antenas para tatear e analisar o hospedeiro, o que não ocorreu nos presentes testes. Por outro lado, tanto em nestes experimentos como nos da autora

citada, o estímulo visual foi usado por *C. flavipes*, o que, provavelmente, não ocorra na natureza, já que os hospedeiros vivem escondidos em túneis escuros. Desse modo, isso nos indica que outras pistas podem estar envolvidas na localização do hospedeiro. Segundo Marris e Casperd (1996), os parasitóides também são hábeis em marcar tecidos necrosados do hospedeiro e ainda verificar previamente se ele foi parasitado ou não. As marcas internas e externas em alguns ichneumonídeos têm sido relacionadas às secreções das glândulas de Dufour e serviriam para discriminar os indivíduos que foram atacados ou não, podendo também produzir um “coquetel” de feromônios característico de cada linhagem genética.

### **6.3 Tipo de hospedeiro *D. saccharalis* escolhido pelo parasitóide *C. flavipes* parasitar ou superparasitar**

Observa-se nas simulações com os hospedeiros o seguinte:

- a) No caso de 5° P e 5° NP, **não houve** diferença significativa nos resultados obtidos;
- b) No caso de 5° P e 4° NP, **não houve** diferença significativa nos resultados obtidos.
- c) No caso de 4° P e 3° NP, **houve** diferença significativa entre os hospedeiros; nessa situação, as vespas preferiram superparasitar a parasitar.

Verifica-se que tanto em a) quanto em b) houve parasitismo e superparasitismo na mesma proporção. Note-se que nestes dois grupos há lagartas de 5° e 4° instar e que o tamanho e a qualidade do hospedeiro não interferiram na escolha do parasitóide. Pelos resultados obtidos é possível afirmar-se que a vespa não discriminou os hospedeiros. É possível também que o espaço de tempo usado no experimento para o parasitismo ou superparasitismo possa ter sido insuficiente para *C. flavipes* assimilar os

odores e perceber que o hospedeiro já estava parasitado. Mas não se descarta a possibilidade de *C. flavipes* ter o mesmo comportamento na natureza, ou seja, parasite ou superparasite.

Nos resultados desta pesquisa *C. flavipes* não discriminou os hospedeiros, e os superparasitou, e portanto é possível que o contato físico do parasitóide com o hospedeiro seja fundamental para que ocorra a discriminação.

Nas situações a) {5ºP e 5ºNP} e b) {5ºP e 4ºNP} a vespa *C. flavipes* pode também não ter reconhecido nem a qualidade nem o tamanho das lagartas hospedeiras e ter parasitado e superparasitado aleatoriamente. Potting et al., (1997b) verificaram, em seus experimentos, o ataque de *C. flavipes* e *Cotesia sesamiae* a hospedeiros que não compartilhavam da mesma história coevolutiva. Ressalte-se que o parasitóide *C. flavipes* é originário da região Indo-Australiana e o referido hospedeiro, *Busseola fusca*, da África. Observe-se também que os parasitóides foram inábeis em discriminar entre voláteis de fezes de larvas produzidas por quatro brocas diferentes, que foram alimentadas com milho (Potting, 1997). Os dados evidenciam ainda que *C. flavipes* entrou em um túnel em que havia um hospedeiro totalmente inadequado, bem como a fêmea aceitou ovipositar em 4 espécies de brocas (Ngi-Song e Overholt, 1997).

Estudos em laboratório com *Cotesia glomerata* demonstraram que tanto fêmeas experientes quanto não experientes estavam prontas a atacar hospedeiros parasitados há pouco tempo por elas mesmas ou por outros (Gu et al., 2003), nos resultados da presente pesquisa observou-se que o mesmo pode ter ocorrido, tendo em vista que o experimento ocorreu em um curto período.

Na situação c) 4º P e 3º NP em que a fêmea preferiu superparasitar, os hospedeiros oferecidos a *C. flavipes* foram de instares menores que nas situações a) {5ºP e 5ºNP} e b) {5ºP e 4ºNP}. É sabido que um hospedeiro que já fora

anteriormente parasitado se torna de baixa qualidade e representa menor disponibilidade alimentar para os parasitóides que se desenvolverão no seu interior (Alphen e Vet, 1986), entretanto, o curto tempo de vida do parasitóide poderia modificar ou reduzir suas exigências, induzindo-o a aceitar tal hospedeiro. Para Potting et al. (1997a), a baixa expectativa de vida e a restrita possibilidade de encontro de hospedeiros de *C. flavipes* (2 – 3 dias) levam-no a buscar o que lhe parece ser a melhor estratégia: a fêmea aceita o hospedeiro encontrado e nele deposita seus ovos, independente da qualidade deste.

Observou-se também que não houve contato do parasitóide com outros hospedeiros antes de realizar a postura, ou seja, assim que a vespa encontrou um hospedeiro, independente de sua qualidade ou tamanho a fêmea depositou os seus ovos. Os resultados da presente pesquisa concordam com os de Potting et al., (1997a) onde a restrita possibilidade de encontro de hospedeiros são muito baixas em *C. flavipes*, então, em virtude dessas condições, a melhor estratégia para a fêmea é aceitar o hospedeiro encontrado e depositar nele seus ovos, independente da qualidade deste.

Para Iwasa et al., (1984) quando o parasitóide tem um alto risco de mortalidade em cada postura, a bionomia indica uma alta seletividade para evitar um desperdício da progênie. Arriscar a sobrevivência e desperdiçar ovos em um hospedeiro inadequado parecem não constituir uma estratégia adaptativa adequada. Sendo assim, o parasitóide poderá não arriscar a sobrevivência, ovipositando em um hospedeiro de baixa qualidade. Esta afirmação são contrárias aos resultados das estratégias adotadas por *C. flavipes* neste experimento, pois a mesma preferiu correr o risco de ser atacada e também de superparasitar.

Além dos voláteis emitidos pela fezes, o contato físico do parasitóide com o hospedeiro, outras estratégias podem estar ou não envolvidas no processo de seleção dos parasitóides por esses hospedeiros que vivem escondidos dentro de caules ou folhas.

## 7.0 Conclusões

Não houve um padrão de comportamento no processo de busca do parasitóide *C. flavipes* dentro do tubo y, o parasitóide realizou a busca por hospedeiro com e sem interrupção.

*C. flavipes* fez contato apenas com 1 hospedeiro antes de fazer a postura, independente de sua qualidade.

*C. flavipes* parasitou e superparasitou na mesma proporção hospedeiros do 4º e 5º instar dentro do tubo y.

A vespa parasitóide preferiu superparasitar *D. saccharalis* do 4º instar a parasitar um hospedeiro menor (3º instar).

## 8.0 Bibliografia

Alphen, J.J. M ; Visser M.E. Superparasitism as an adaptative strategy for insect parasitoids. **Ann. Rev. Ent.**, 35, 59-79, 1990.

Alphen, J.J.M.; Jansen A. R. M. Host selection by *Asobara tabida* Nees (Braconidae: Alysiinae), a larval parasitoid of fruit inhabiting *Drosophila* species. II Host species selection. **Neth. J. Zool.** 32, 215-231, 1982.

Alphen, J.J.M.; Vet L.E.M. An evolutionary approach to host finding and selection. **In** J.K. Waage and D. Greathead, eds., **Insect Parasitoids**, pp.23-61, London: Academic Press, 1986.

Botelho, P.S.M.; Macedo N. *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis* **in Controle Biológico no Brasil, parasitóides e predadores..** Parra, J.P. et al. , São Paulo: Ed. Manole 409-425, 2002.

Campos-Farinha, A.E.C. **Biologia reprodutiva de *C. flavipes* (Hymenoptera: Braconidae).** Rio Claro, p. 97. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Zoologia) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, 1996.

Dijken, M. J.; Waage, J. K. Self and conspecific superparasitism by the egg parasitoid *Trichogramma evanescens*. **Ent. Exp. Appl.**, 43, 183-192, 1987.

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

Gu, H.; Wang, Q.; Dorn, S. Superparasitism in *Cotesia glomerata*: response of hosts and consequences for parasitoids. **Ecol. Entomon.** 28, 422-431, 2003.

Hubbard, S.F.; Harvey, I.F.; Fletcher, J.P. Avoidance of superparasitism: a matter of learnig? **Anim. Behav.**, 57,1193-1197, 1999.

Iwasa, Y.; Suzuki, Y.; Matsuda, H. Theory od oviposition strategy of parasitoids. I. Effect of mortality and limited egg number. **Theor. Pop. Biol.**, v.26, p.205-227, 1984.

King, B.H. Sex ratio manipulation by parasitoid wasps. **In**: Wrensch DL, Ebbert MA, eds. **Evolution and diversity of sex ratio in insects and mites**. New York: Chapman and Hall, 418-441, 1993.

Kraaijeveld, A.R; Adriaanse I.C.T. e van den Bergh B,. Parasitoid size as a function of host sex: potential for different sex allocation strategies. **Ent. Exp. Appl.**, v 92, 289-294, 1999.

Leerdam, M.B. Van; Smith, J.W.; Funchs, T.W. Frass – mediated, host finding behavior of *C. flavipes*, a braconid parasite of *D. saccharalis* (Lepidoptera:Pyralidae). **Ann. Entomol. Soc. Am.**, v. 78, p. 647-50, 1985.

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

Marris, G.C. ; Casperd, J. The relationship between conspecific superparasitism and the outcome of in vitro contests staged between different larval instars of the solitary endoparasitoid *Venturia canescens*. **Behav. Ecol. Sociobiol**, v.39, p.61-69, 1996.

Mélo, A.B.P. **Biologia de *D. saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Pyralidae) em diferentes temperaturas para determinação das exigências térmicas.** Piracicaba, 101 p. Dissertação, (Mestrado em Ciências Biológicas-Entomologia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/Universidade de São Paulo, 1984.

Ngi-Song, A. J. ; Overholt, W.A. Host selection and host acceptance by *Cotesia flavipes* Cameron *S. sesamie* Cameron (Hymenoptera: Braconidae), parasitoids of African gramineous stemborers: role of frass and other host cues. **Biol. Control.**, 9:136-142, 1997.

Potting, R.P.J.; Overholt, W.A.; Danso, F.O. ; Takasu K. Foraging behavior and life history of the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes*. **J. Ins. Behav.**, 1996.

Potting, R.P.J., Snellen, H.M., Vet, L.E.M. Fitness consequences of superparasitism and mechanism of host discrimination in the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes* . **Ent. Exp. Appl.** , v.82, p.341-348, 1997a.

Potting, R.P.J.; Otten, H.; Vet, L.E.M. Absence of odour learning in the stembores parasitoid *C. flavipes*. **Anim. Behav.**, v.53, p. 1211-23, 1997 b.

Strand, M.R. The physiological interactions of parasitoids with their hosts and their influence on reproductive strategies. **In:** J.K. Waage and D. Greathead, eds. **Insect Parasitoids**, London: Academic Press, pp.97-136, 1986.

Tagawa, J., Sex allocation and clutch size in the gregarious larval endoparasitoid wasp, *Cotesia glomerata*. **Ent. Exp. Appl.**, 97:193-202, 2000.

Welzen, C. R. L. van e Waage, J.K. Adaptative response to local mate competition by the parasitoid, *Telenomus remus*. **Beh. Ecol. Sociob.**, 21:359-365, 1987.

Wharton, R.A. Bionomics of the braconidae. **Annu. Rev. Entomol.**, v. 38, p.121-143, 1993.

Wiedenmann, R.N; Smith Jr, J.W. Functional response of the parasite *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) at low densities of the host *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Braconidae). **Environ. Entomol.**, v.22, p.849-858, 1993.

### ***Capítulo III***

**Estratégias do parasitóide *Cotesia flavipes* no  
parasitismo de *Diatraea saccharalis* em uma arena**

# **Estratégias do parasitóide *Cotesia flavipes* no parasitismo de *Diatraea saccharalis* em uma arena**

*Márcia Terumi Uehara*

*Tese - FFCLRP - 2005*

## **1.0 Resumo**

Objetivando testar a seleção e a escolha do parasitóide nos hospedeiros de instares iguais e diferentes, e de verificar a opção pelo parasitismo e superparasitismo, construiu-se uma arena em poliestireno, contendo tubos de vidro transparente, na qual se observou o comportamento de *Cotesia flavipes* em diversas densidades. Avaliou-se o parasitismo de *C. flavipes* em *D. saccharalis* de 2º, 3º, 4º e 5º instares dentro da arena e constatou-se que o instar preferido para o parasitismo foi o 3º. Estudou-se o parasitismo de *C. flavipes* em hospedeiros de 5º instar de *D. saccharalis* e em seguida o mesmo foi substituído por outro na mesma posição em que estava na arena e verificou-se que *C. flavipes* não teve o mesmo comportamento da primeira vespa liberada na arena. *C. flavipes* parasitou hospedeiros que estavam em outra posição. Examinou-se o parasitismo ou superparasitismo de *C. flavipes* em hospedeiros de 5º instar de *D. saccharalis*, **com e sem** mudança de posição do hospedeiro parasitado e ambos tiveram o mesmo comportamento, parasitaram e superparasitaram na mesma proporção.

**Palavras chave:** *C. flavipes*, *D. saccharalis*, superparasitismo, seleção de hospedeiros, densidade.

## Strategies of the parasitoid *Cotesia flavipes* in the parasitism of *Diatraea saccharalis* in an arena

Márcia Terumi Uehara

Tese - FFCLRP - 2005

### 1.0 Abstract

With the objective of testing the selection and choice of the parasitoid in hosts of equal and distinct instars and of verifying the option of parasitism or superparasitism, an arena was constructed in polystyrene, containing transparent glass tubes, in which the behavior of *Cotesia flavipes* in differing host densities was observed. The parasitism of *C. flavipes* in 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup>, 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> *D. saccharalis* instars inside the arena was evaluated, determining that the preferred instar for parasitism was the 3<sup>rd</sup>. *C. flavipes* parasitism in 5<sup>th</sup> instar hosts of *D. saccharalis* was studied, followed by substitution of other host in the same position in the arena, verifying that *C. flavipes* did not repeated the same behavior as the first wasp liberated in the arena. *C. flavipes* parasitized hosts which were in other positions. Parasitism and superparasitism of *C. flavipes* in 5<sup>th</sup> *D. saccharalis* instar hosts was examined, with and without changing the parasitized host position, and both revealed the same behavior, that is they parasitized and superparasitized in the same proportion.

Key-words: *Cotesia flavipes*, *Diatraea saccharalis*, superparasitism, host selection, density.

## 2.0 Introdução

As estratégias usadas para otimizar a exploração de recursos têm sido bastante investigadas. Giraldeau e Kramer (1982) nos mamíferos; Kacelnick (1984), nas aves; Alphen e Galis (1993), nos insetos.

Os recursos usados pelas fêmeas dos insetos parasitóides são os hospedeiros, que podem estar dispersos no habitat ou agregados em mosaicos. O valor do hospedeiro varia de acordo com a espécie e a idade, além de serem levados em conta o fato de ele ter sido ou não parasitado e o tempo gasto no deslocamento entre um agrupamento de hospedeiros e outro. Observe-se que a distância, bem como a extensão de cada mosaico de hospedeiros que pode ser explorado, são alguns dos fatores-chave na determinação do sucesso no forrageio das fêmeas dos parasitóides, sendo também uma questão central na ecologia comportamental dos parasitóides (Boivin et al., 2004).

As vespas parasitóides constituem um bom exemplo para o estudo do comportamento dos animais diante de mudanças em ambientes com recursos limitados (Godfray 1994). Uma das importantes decisões que um parasitóide gregário deve tomar

refere-se à conveniência de oviposição em todo e qualquer hospedeiro encontrado; outra, não menos importante, diz respeito à quantidade de ovos que deve ser alocada em cada um destes hospedeiros (Waage 1986; Godfray 1994).

Lack (1947, apud Godfray, 1994) estudando aves, foi o primeiro a sugerir que as fêmeas poderiam depositar um número de ovos que maximizasse o ganho de aptidão em uma única prole (Charnov e Skinner, 1985; Godfray, 1994). Na prática o tamanho da prole de parasitóides gregários é estimado pelo pico da curva de aptidão relacionado à mesma medida de performance ou de ganho em aptidão para o tamanho da prole (Bezemer e Mills, 2003).

As curvas de aptidão levam em conta o tamanho da fêmea e a competição por recursos como fatores influentes no tamanho da progênie produzida (Godfray, 1994).

Como resultado, verifica-se que a oviposição de grandes proles em hospedeiros de alta qualidade, usualmente os maiores, maximiza o “fitness” da fêmea (Masurier, 1987; Godfray, 1994).

Os parasitóides empregam uma diversidade de modos de ataque aos hospedeiros. Observa-se que o método de ataque é determinado pela localização do hospedeiro em seu microhabitat e pelas adaptações que permitem ao parasitóide acessar o hospedeiro. Os parasitóides podem ser agrupados em função do método utilizado na localização do hospedeiro; aliás, tais métodos permitem também caracterizar padrões relacionados ao ataque e ao microhabitat do hospedeiro, independente do estágio de vida deste e do meio do parasitóide (Smith e Wiedenmann, 1997).

Cada estratégia de forrageio representa uma série de adaptações associada ao estilo de vida da broca da cana-de-açúcar. A identificação do método de ataque é um aparato artificial, construído com base nas características biológicas e funcionais aparentes nos padrões de forrageio do parasitóide (Smith e Wiedenmann, 1997).

A estratégia de ataque usada por parasitóides é definida com base nas adaptações em seu comportamento e em sua morfologia, que permitem à fêmea localizar e parasitar hospedeiros escondidos e aparentes. Note-se que a adaptação particular e a estratégia empregada por um parasitóide para explorar seu hospedeiro contrastam com o comportamento, o estágio de vida e a bionomia do hospedeiro. Desse modo, a disposição física do hospedeiro dentro do microhabitat dita as adaptações comportamentais e morfológicas necessárias ao parasitóide na localização e acesso ao hospedeiro (Godfray, 1994).

Observe-se que, em cada estágio de sua vida, o hospedeiro ocupa um lugar diferente na planta. Ovos depositados em folhas e caules são mais visíveis do que aqueles depositados em microhabitats protegidos (Godfray, 1994).

O contato físico do parasitóide (por meio de toque com o ovipositor) com hospedeiros dos primeiros estágios que estejam escondidos pode estar impedido pela inabilidade do parasitóide em alcançar o hospedeiro, que pode estar entre a folha e o caule. O acesso às larvas mais velhas, pré-pupas e pupas, por meio do batimento das antenas e do ovipositor, é limitado pela distância do hospedeiro em relação à superfície do caule. A entrada e a oviposição do parasitóide são limitadas pela obstrução do túnel de alimentação (Smith e Wiedenmann 1997).

As diferenças qualitativas nas pistas entre os complexos plantas-hospedeiros podem resultar de indícios químicos específicos, tais como aqueles derivados de fezes, ou de indicadores produzidos pelas plantas como resposta à herbivoria (sinomonios induzidos pela herbivoria (Dicke, 1994). Os indicadores visuais como o padrão de dano e imagem de estruturas específicas do vegetal (flores, folhas e brotos) podem também produzir diferenças qualitativas nos indicadores (Wackers, 1994 ; Harrys e Foster, 1995).

Os parasitóides que atacam hospedeiros que se alimentam de plantas têm de lidar com a variação nos maiores indicadores da presença de hospedeiro, como as diferenças nas pistas voláteis, que podem ser qualitativas, quantitativas, ou ambas. O habitat e os recursos, na forma de hospedeiros, com os quais os parasitóides se confrontam são variáveis numa mesma geração e entre gerações diferentes (Takabayashi e Dicke, 1996).

Os objetivos deste trabalho foram variar os recursos (hospedeiros) dentro de uma área restrita (arena) e observar as estratégias de escolha e seleção que *C. flavipes* usou para ovipositar os seus ovos.

### 3.0 Objetivos

Com o objetivo de testar a seleção e a escolha do parasitóide nos hospedeiros de instares iguais e diferentes, e de verificar a opção pelo parasitismo e superparasitismo, construiu-se uma arena em poliestireno, contendo tubos de vidro transparente, na qual se observou o comportamento de *C. flavipes* em diversas densidades.

1. Avaliar o parasitismo de *C. flavipes* em *D. saccharalis* de 2º, 3º, 4º e 5º instares dentro da arena.
2. Verificar o parasitismo de *C. flavipes* em hospedeiros de 5º instar de *D. saccharalis* **com** substituição do hospedeiro na mesma posição na arena.
3. Examinar o parasitismo ou superparasitismo de *C. flavipes* em hospedeiros de 5º. instar de *D. saccharalis*, **com e sem** mudança de posição do hospedeiro parasitado.

## 4.0 Metodologia

Os experimentos foram realizados nos laboratórios do Departamento de Ecologia da UNESP – Campus de Rio Claro e na Usina São João de Araras - São Paulo.

A fim de se observar o comportamento de seleção de acordo com o tamanho, qualidade e densidade do hospedeiro, construiu-se uma arena (Fig.11) com uma placa de poliestireno de 100 mm de comprimento, 90mm de largura e 2mm de espessura, na qual cinco tubos de ensaio transparentes, de 10mm de diâmetro e 100mm de comprimento foram distribuídos.

No primeiro experimento, um hospedeiro foi colocado dentro de cada tubo, ou seja, quatro hospedeiros, sendo que um destes foi deixado vazio no primeiro experimento. Nos experimentos 2 e 3 utilizou-se hospedeiros do 5º instar. Três tubos foram ocupados com hospedeiros e dois permaneceram vazios, para que pudessem ser manipulados de acordo com cada teste.

Como demonstrado por Potting et al., (1997b), o ataque de larva escondida em um espaço confinado, a galeria da broca, não só consome tempo, mas também implica risco para o parasitóide. Durante cada ataque observa-se que a fêmea parasitóide corre

considerável risco de ser morta pelas atitudes agressivas do hospedeiro, verificando-se que entre 30 e 40% dos parasitóides são mortos por mordidas e por ação do líquido regurgitado pelos hospedeiros.

De acordo com Campos-Farinha (1996), *C. flavipes* faz um pequeno orifício no tegumento de *D. saccharalis* para depositar os ovos, provocando a extrusão de hemolinfa; a abertura pode ser observada por até 24 horas depois do parasitismo, e pode servir como uma pista ou sinal para outras fêmeas. Informação deste tipo pode ou não levar ao superparasitismo, que é a deposição de ovos em um hospedeiro já parasitado pela própria fêmea ou por outra da mesma espécie.

Tendo em vista esses dados, colocaram-se os hospedeiros nos tubos da arena com o objetivo de se verificar a seleção e a escolha para a oviposição de *C. flavipes* antes de manter contato físico com o hospedeiro; também se pretendeu a observação dos comportamentos de seleção de hospedeiro, de parasitismo e de superparasitismo.

A escolha de *C. flavipes* entre parasitar e superparasitar na arena foi verificada nos seguintes experimentos:

#### **4.1 Parasitismo de *C. flavipes* em *D. saccharalis* de 2º, 3º, 4º e 5º instares dentro da arena.**

Dos cinco tubos existentes na arena, um tubo permaneceu vazio e nos quatro restantes foram colocados individualmente hospedeiros *D. saccharalis* do 2º, 3º, 4º e 5º instares em cada tubo 15 minutos antes de cada experimento. As medidas dos instares foram baseadas em Mélo (1984). Uma vespa foi liberada na arena aleatoriamente o tamanho do hospedeiro escolhido para o parasitismo foi registrado. O experimento foi repetido 35 vezes, com 35 parasitóides e 140 hospedeiros.

#### **4.2 Parasitismo de *C. flavipes* em hospedeiros de 5° instar de *D. saccharalis* com substituição do hospedeiro na mesma posição na arena.**

Este experimento foi dividido em duas fases;

a) Três hospedeiros de 5° instar *D. saccharalis* foram colocados individualmente em cada tubo de ensaio 15 minutos antes do experimento. As larvas de 5° instar foram usadas por serem consideradas as mais adequadas para o parasitismo de *C. flavipes* (Wiedenmann et al., 1992; Gobbi et al., 1994). Um parasitóide inexperiente (sem experiência em oviposição) foi liberado na arena, aleatoriamente, e o parasitismo foi observado.

b) Depois da oviposição a lagarta parasitada foi retirada e outra não parasitada foi colocada na mesma posição. A vespa que foi inicialmente liberada aleatoriamente na arena, para a primeira oviposição foi também substituída por uma outra, inexperiente. O parasitismo das duas vespas foi comparado, utilizando-se 70 parasitóides e 105 lagartas, o experimento foi repetido 35 vezes.

#### **4.3 Parasitismo ou superparasitismo de *C. flavipes* em hospedeiros de 5° instar de *D. saccharalis*, com e sem mudança de posição do hospedeiro parasitado.**

Três hospedeiros de 5° instar de *D. saccharalis* foram colocados individualmente em cada tubo de ensaio 15 minutos antes de cada experimento. Um parasitóide inexperiente foi liberado na arena e o parasitismo foi observado. Depois de parasitado, o hospedeiro foi transferido para outro tubo na arena, tendo sido disponibilizado ao

superparasitismo; então, uma outra vespa inexperiente foi liberada a fim de se comparar os comportamentos das duas vespas e de se avaliar a ocorrência de superparasitismo ou parasitismo; nesse experimento foram usados 140 parasitóides e 210 hospedeiros, o experimento foi repetido 35 vezes cada.

**Figura 11. Arena**

## 5.0 Resultados

### 5.1 Parasitismo de *C. flavipes* em *D. saccharalis* de 2º, 3º, 4º e 5º ínstaes dentro da arena.

O parasitismo de *C. flavipes* com o 2º, 3º, 4º e 5º ínstaes de *D. saccharalis* na arena mostrou uma prevalência de parasitismo com o primeiro hospedeiro, com o qual as fêmeas parasitóides tiveram contato; em 19 “encontros” de parasitóides com hospedeiros houve contato e parasitismo (Teste de Kolmogorov-Smirnov,  $D_{max}=10,5$ ). A comparação das médias de parasitismo de *C. flavipes* no 2º, 3º, 4º e 5º ínstaes indica que há diferença entre elas ( $G=13,916$ ,  $gl=3$ ,  $p<0,005$ ). Conforme o gráfico 5, o 3º instar foi o mais parasitado.

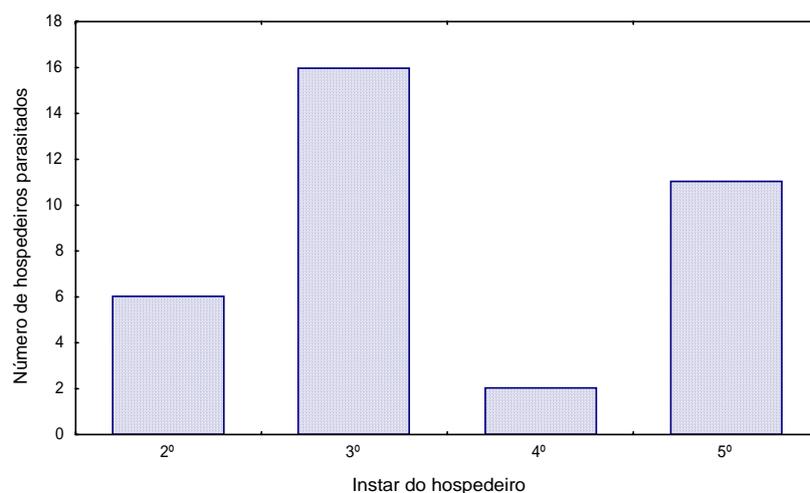


Gráfico 5. Parasitismo de *Cotesia flavipes* em hospedeiros *Diatraea saccharalis* do 2º a 5º instares na arena (parasitóides n=35 e hospedeiros n = 140).

## 5.2 Parasitismo de *C. flavipes* em hospedeiros de 5º instar de *D. saccharalis* com substituição do hospedeiro na mesma posição na arena.

No contato de *C. flavipes* com hospedeiros de 5º instar, com substituição do hospedeiro parasitado por outro na mesma localização na arena, houve prevalência de parasitismo no primeiro hospedeiro contactado, com 23 parasitóides contactando e parasitando o primeiro hospedeiro encontrado (Teste de Kolmogorov-Smirnov Test,  $D_{max} = 14,5$ ). *C. flavipes*

No caso do segundo parasitóide liberado na mesma arena com recolocação do hospedeiro, houve uma prevalência de parasitismo, com 20 parasitóides parasitando o primeiro hospedeiro contactado. (Teste de Kolmogorov-Smirnov,  $D_{max} = 14$ ).

### **5.3 Parasitismo ou superparasitismo de *C. flavipes* em hospedeiros de 5o. instar de *D. saccharalis* , com e sem mudança de posição do hospedeiro parasitado.**

No caso de contato de *C. flavipes* com hospedeiros de 5º instar, com troca de posição de hospedeiros parasitados, houve uma prevalência do parasitismo, com 23 parasitóides parasitando o primeiro hospedeiro contatado (Teste de Kolmogorov-Smirnov, D max = 14.25). Imediatamente depois, quando a segunda vespa foi liberada na mesma arena, o primeiro hospedeiro encontrado foi o mais parasitado, 9 parasitóides fizeram contato e parasitaram a primeira lagarta encontrada. (Teste de Kolmogorov-Smirnov D max = 7.75). No superparasitismo, 12 parasitóides fizeram contato e parasitaram um hospedeiro. (Teste de Kolmogorov-Smirnov , Dmax = 6.00). Não houve diferença significativa entre o número de vespas que parasitaram e o número das que superparasitaram ( $\chi^2 = 0.028$ , df = 1, p < 0.8657), (Gráfico 6).

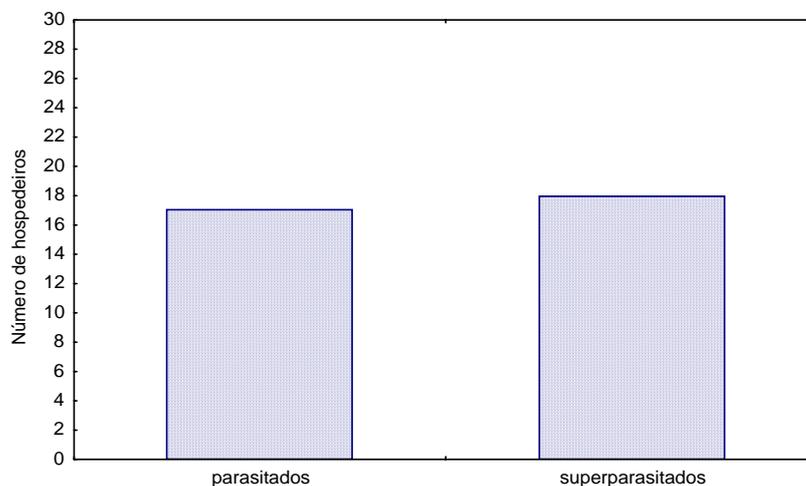


Gráfico 6 :Parasitismo e superparasitismo do forrageamento de *C. flavipes* com hospedeiros de 5º instar **com** mudança de posição do hospedeiro parasitado (*C. flavipes* n = 70 e *D. saccharalis* n = 105),  $\chi^2 = 0,028$ , gl =1, p < 0,8657.

No parasitismo de *C. flavipes* em hospedeiros de 5º instar **sem** mudança de posição do hospedeiro parasitado, houve uma prevalência do parasitismo no primeiro hospedeiro encontrado, com 26 contatos e parasitismo nas primeiras lagartas encontradas (Teste de Kolmogorov-Smirnov Dmax = 14.6).

No parasitismo de *C. flavipes* com hospedeiros de 5º. instar sem mudança de posição do hospedeiro parasitado, não houve predominância de oviposição no primeiro hospedeiro encontrado e manipulado; 13 parasitóides fizeram contato e parasitaram o primeiro hospedeiro (Teste de Kolmogorov-Smirnov, Dmax = 6.3). Não houve

diferença significativa entre o número de vespas que parasitaram e o daquelas que superparasitaram ( $\chi^2 = 1.0588$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0.3034$ ). (vide gráfico 7).

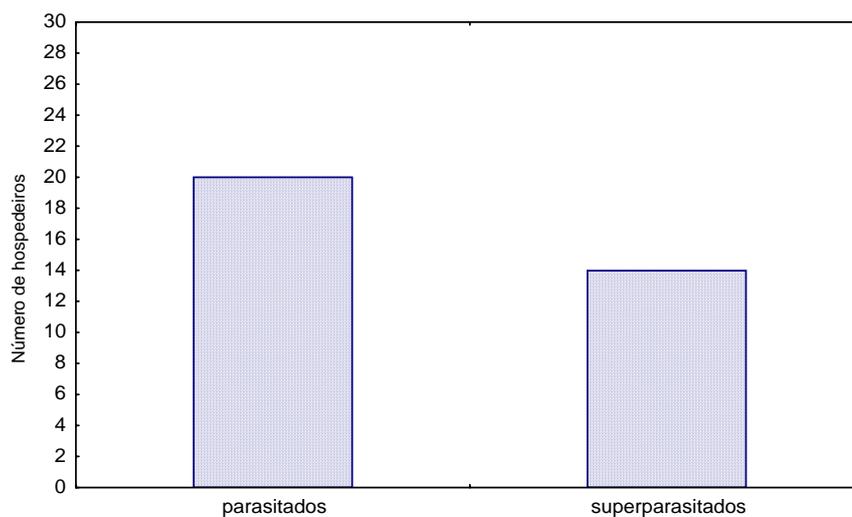


Gráfico 7: Parasitismo e superparasitismo de *C. flavipes* com hospedeiros de 5º instar sem mudança de posição hospedeiro parasitado. (*C. flavipes*  $n = 70$  e *D. saccharalis*  $n = 105$ ),  $\chi^2 = 1,0588$ ,  $gl = 1$ ,  $p < 0,3034$ .

## **6.0 Discussão**

### **6.1 Parasitismo de *C. flavipes* em *D. saccharalis* de 2º, 3º, 4º e 5º instares dentro da arena.**

No experimento 1, no parasitismo de *C. flavipes* em hospedeiros *D. saccharalis* de 2º, 3º, 4º e 5º instares, observou-se que os hospedeiros mais parasitados foram as larvas de 3º instar, em seguida foram os do 5º, 2º e 4º instares. Isto confirma dados já obtidos por outros pesquisadores, como Wiedenmann et al., (1992), Gobbi et al., (1994), Campos-Farinha (1996), Botelho e Macedo (2002), que mostraram a preferência de parasitóides por hospedeiros de 3º a 5º instares. Em experimentos do capítulo anterior – tubo y, o 3º instar não foi o mais parasitado na simulação com um hospedeiro parasitado de 4º instar. Talvez, a densidade de hospedeiros tenha levado o parasitóide a tal comportamento.

## **6.2 Parasitismo de *C. flavipes* em hospedeiros de 5° instar de *D. saccharalis* com substituição do hospedeiro na mesma posição na arena.**

Se houvesse comunicação entre a primeira e a segunda, talvez, a primeira vespa deixasse alguma pista dentro dos tubos, ou mesmo na superfície da arena mas, para a segunda vespa. Mas, os resultados indicam que os rastros deixados pela primeira vespa não influenciam o comportamento da segunda vespa na arena. Em condições naturais o estudo da comunicação entre as vespas parasitóides em uma mesma área ainda não foram estudados.

## **6.3 Parasitismo ou superparasitismo de *C. flavipes* em hospedeiros de 5° instar de *D. saccharalis*, com e sem mudança de posição do hospedeiro parasitado de lugar.**

Os resultados da primeira fase dos experimentos, tiveram respostas iguais aos do itens 1 e 2, ou seja, o comportamento de *C. flavipes* foi entrar no primeiro tubo em que estava o hospedeiro.

Na segunda fase do experimento 3.a) e 3b), na qual os hospedeiros ficaram na mesma posição *C. flavipes* parasitou e superparasitou na mesma proporção, não houve diferença significativa entre os hospedeiros escolhidos. Os resultados podem sugerir que

o ato da primeira vespa ter caminhado sobre a arena, realizar um percurso, parasitar e aparentemente não deixar pistas ou rastros indicando para a segunda vespa que a área está ou esteve ocupada por outra fêmea parasitóide, não tiveram nenhuma influência no seu comportamento para o parasitismo ou superparasitismo.

Em testes anteriores, no tubo Y verificou-se que *C. flavipes* quando se deparou com dois hospedeiros de qualidades diferentes e tamanhos muito próximos também tiveram o mesmo comportamento. Talvez, *C. flavipes* em situações de alta densidade tenha avaliado a quantidade de hospedeiros disponíveis para a oviposição, lembrando que mesma possui grande quantidade de ovos para distribuir em três ou quatro hospedeiros, mesmo em diferentes condições experimentais (3a e 3b).

Godfray (1994). afirma que o parasitóide depois de localizar os hospedeiros e parasitá-los, as fêmeas mudam a forma de avaliar a área em que estão procurando hospedeiros para parasitar. Em nossos trabalhos, as duas fêmeas usadas nas primeira e segunda fase do experimento foram inexperientes, ou seja, não tiveram contato até então com hospedeiros; ambas tiveram a mesma estratégia de parasitar o primeiro hospedeiro encontrado. Talvez, este seja um comportamento comum de *C. flavipes* quando inicia a exploração de uma área com hospedeiros.

Para Lewis et al., (1990) uma fêmea inexperiente já nasce com essa pré-disposição inata, e a mesma carrega um potencial de repostas e na presença de hospedeiros esses estímulos ficam ainda mais salientes. Os resultados desta pesquisa confirmam que *C. flavipes* apresentou padrão de comportamento como o sugerido pela teoria pois, a segunda vespa no experimento repetiu o mesmo comportamento da primeira vespa liberada na arena.

Em experimentos em que o hospedeiro foi manipulado dentro do tubo de ensaio, mostrou-se que a fêmea *C. flavipes* deixou marcas no local ao parasitar um hospedeiro *Chilo partellus* (Potting et al., 1997).

As marcas diretas ou indiretas podem servir como forma de comunicação entre insetos que exploram a mesma área onde se encontram os hospedeiros. A função das marcas deixadas pelas fêmeas é evitar um hospedeiro que tenha sido parasitado. As fêmeas marcam os hospedeiros que tem o objetivo de funcionar como um alerta, indicando que a área já foi visitada. As marcas podem ser altruístas e ajudar no forrageamento das outras fêmeas que estão ou que chegarão na área. Tanto a primeira fêmea que parasitou um hospedeiro quanto qualquer fêmea subsequente pode se beneficiar da discriminação e evitar o superparasitismo (Godfray, 1994). O comportamento de evitar o hospedeiro já parasitado não ocorreu nos experimentos. A primeira fêmea *C. flavipes* que explorou a arena em busca de hospedeiros, aparentemente não deixou marcas para a segunda fêmea nas duas situações, ou seja com e sem a mudança de hospedeiro de lugar. Se *C. flavipes* tivesse deixado marcas pela área explorada na arena, talvez, a segunda vespa tivesse recebido esta informação como um alerta, indicando que o já fora hospedeiro parasitado, evitando o superparasitismo. Os resultados indicam que *C. flavipes* não conseguiu discriminar o hospedeiro parasitado nesta densidade na arena.

Se for considerado que *C. flavipes* pode discriminar *D. saccharalis*, por meio de contato físico, por um período de até 24 horas, verificou-se que, sem tal contato, o parasitóide não foi capaz de efetuar essa discriminação, ou seja, parasitou e superparasitou, nas mesmas proporções, os hospedeiros disponíveis na arena.

Nos experimentos, no capítulo anterior tubo y, observamos que na simulação 4º parasitado e 3 não parasitado, *C. flavipes* preferiu superparasitar a parasitar. Neste

experimento onde os hospedeiros foram todos do mesmo tamanho a resposta foi diferente, *C. flavipes* parasitou e superparasitou na mesma proporção.

O fato de o parasitóide entrar no primeiro tubo com um hospedeiro e escolher um trajeto curto e simples na arena leva à conclusão de que a vespa parasita o primeiro hospedeiro que encontra, independente de suas qualidades. Isto poderia ser um fato inato, já que a expectativa de vida do parasitóide é muito baixa – por volta de 2 dias. Sendo assim, parasitar o primeiro hospedeiro encontrado seria a única chance de garantir sua prole.

Vinson (1998) afirma que as fêmeas adultas dos parasitóides despendem uma grande parte do seu tempo de vida na procura por hospedeiros. Durante este período de forrageio, elas usam uma variedade de pistas para tomar suas decisões sobre onde procurá-los e quão longa será a procura nos diferentes locais, já no presente experimento *C. flavipes* não investiu muito tempo a procura por hospedeiros. .

O modelo clássico de uso da área afirma que o parasitóide quando entra em uma área a sua taxa de lucro é inicialmente alta e o mesmo só a abandona quando esgota todos os recursos que estas poderiam oferecer. Observamos que este comportamento não se justifica em *C. flavipes*, porque a mesma usou recursos de qualidade mais baixa – hospedeiros parasitados, não esgotando os lucros que a arena oferecia.

A maior densidade de hospedeiros por arena ocorreu no primeiro experimento e mesmo com uma densidade mais baixa, a preferência de *C. flavipes* foi adentrar o primeiro tubo encontrado e parasitar ou superparasitar o primeiro hospedeiro encontrado. Nos experimentos do capítulo anterior (II), com *C. flavipes* dentro de tubo-Y, onde 2 hospedeiros foram oferecidos observamos o mesmo comportamento de entrar direto em uma das extremidades do tubo. Este resultado não coincide com a afirmação de Godfray (1994) que o tempo investido pelos parasitóides na localização dos

hospedeiros está adaptado a densidade e distribuição espacial dos mesmos (hospedeiros) na área. Os hospedeiros podem aparecer sozinhos ou em grupos (Godfray, 1994).

Charnov (1976) demonstra em seu teorema marginal que o animal poderá investir e gastar muito mais tempo em áreas ricas. Quando a acessibilidade de uma área é boa, os parasitóides tenderam a investir um bom tempo, e pouco tempo quando a área é pobre em recursos. Os resultados da presente pesquisa com *C. flavipes* discordam do teorema citado, pois o parasitóide esteve em uma área qualitativamente boa e gastou pouco tempo explorando os seus recursos. É possível também que *C. flavipes* tenha este comportamento de exploração rápida do ambiente não importando se a área seja de alta ou baixa qualidade.

Waage (1979) usou um modelo e propôs um mecanismo de exploração da área por *Venturia canescens*: quando um parasitóide entra numa área ele tem a tendência de permanecer, e avaliar toda a área e verificar se os voláteis estão presentes. Em *C. flavipes* esta avaliação da área talvez, tenha a sido a mesma em dois ambientes diferentes, arena e no tubo y.

É possível que as marcas deixadas nos tubos pela *C. flavipes* não tenham induzido ao parasitismo ou ao superparasitismo; a expectativa era de que as marcas ou rastros deixados pela primeira vespa inexperiente servissem para orientar a segunda vespa, também inexperiente, entretanto, os resultados não mostram qualquer conexão entre os dois eventos. As marcas deixadas pela primeira fêmea não foram tomadas como rastros, informações ou “pistas” pela segunda vespa.

Takasu e Hirose (1991) estudaram os encirtideos, e observaram que somente vespas inexperientes ou, vespas que ainda não tinham ovipositado, estavam prontas para superparasitar. Surpreendentemente, as fêmeas preferiram superparasitar, mesmo sabendo que estes hospedeiros diminuiriam a sobrevivência de suas larvas. Os autores

argüiram que os parasitóides aumentaram a sua taxa de lucro, concentrando seu tempo em hospedeiros parasitados. Talvez, esta seja também uma explicação para *C. flavipes* ter o comportamento de parasitar e superparasitar, pois pode ser mais vantajoso para o parasitóide superparasitar a despendar mais tempo na procura por mais hospedeiros adequados.

O comportamento de *C. flavipes* corroboram com a teoria clássica do “forrageio ótimo” de Stephens e Krebs (1986), nas quais os animais ajustam seu comportamento para maximizar o seu tempo de vida e o sucesso reprodutivo sob diferentes condições ecológicas. Onde um dos maiores desafios encarados por eles é a distribuição variável de recursos no tempo e no espaço.

Conclui-se que *C. flavipes*, parasitou e superparasitou *D. saccharalis* na arena, não explorou a área utilizada em busca de hospedeiros mais adequados tendo o comportamento pouco seletivo talvez, devido a estratégia de vida curta, onde o tempo é muito valioso.

## 7.0 Conclusões

Conclui-se que 3º instar de lagartas de *D. saccharalis* foi o preferido no parasitismo por *C. flavipes* na arena.

*C. flavipes* não teve o mesmo comportamento que a primeira vespa liberada na arena, a fêmea parasitou hospedeiros que estavam em outra posição.

As vespas *C. flavipes* parasitaram e superparasitaram na mesma proporção na arena com 3 hospedeiros.

## 8.0 Bibliografia

Alphen J.J.M.; Galis, F. Patch time allocation and parasitization efficiency of *Asobara tabida*, a larval parasitoid of *Drosophila*. **J. Anim. Ecol.**, 52:937-952, 1993.

Bezemer, T. M.; Mills, N.J. Clutch size decisions of a gregarious parasitoid under laboratory and field conditions. **Anim. Behav.**, 66, 1119-1128, 2003.

Boivin, G; Fauvergue, X.; Wajnberg, E. Optimal patch residence time in egg parasitoids: innate versus learned estimate of patch quality. **Oecologia**, 138:640-647, 2004.

Botelho, P.M.S.; Macedo, N. *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*, **in: Controle Biológico no Brasil parasitóides e predadores**, Parra, J.R.P. et al eds., São Paulo: Manole, 635 p., 2002.

Campos-Farinha A.E.C. **Biologia reprodutiva de *C. flavipes* (Hymenoptera: Braconidae)**. Rio Claro, Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Zoologia) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista. pp. 97, 1996.

Charnov, E.L. Optimal foraging: The marginal value theorem. **Theor. Popul. Biol.**, 9, 129-136, 1976.

Charnov, E.L.; Skinner, S.W. complementary approaches to the understanding of parasitoid oviposition decisions. **Environ. Entom.**, 14, 383-391, 1985.

Dicke, M. Local and systemic production of volatile herbivore-induced terpenoids: Their role in plant-carnivore mutualism. **J. Plant Physiol.** 143, 465-472, 1994.

Giraldeau L. Kramer DL The marginal value theorem: a quantitative test using load size variation in a central place, the eastern chipmunk, *Tamias striatus*. **Anim. Behav.**, 30:1036-1042, 1982.

Gobbi, N.; Chaud-Netto, J.; Diniz-Filho, J.A.F.; Tornisielo, S.M.T.; Almeida, L.C.; Nazareth, S.L. Estudo do relacionamento entre *C. flavipes* (Cameron) e *D. saccharalis* (Fabricius). II. Efeito do parasitismo no consumo de lagartas de 5o instar. **An. Entomol. Brasil.**, v.23, n.1, p.45-9, 1994.

Godfray, H.C.J. **In: Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology**, New Jersey: Princeton University Press, p. 473, 1994.

Harrys, M.O.; Foster, S.P. Behavior and integration. **In: Chemical Ecology of Insects 2** (R.T. Cardé and W.J. Bells, Eds), p. 3-46. New York:Chapman e Hall, 1995.

Kacelnick A. Central place foraging in starlings (*Sternus vulgaris*.I. Patch residence time. **J. Anim. Ecol.**, 53:283-299, 1984.

Leerdam, M.B. Van; Smith, J.W.; Funchs, T.W. Frass mediated, host finding behavior of *C. flavipes*, a braconid parasite of *D. saccharalis* (Lepidoptera:Pyralidae). **Ann.Entomol. Soc. Am.** 78: 647-50, 1986.

Lewis, W.J.; Vet, L.E.M.; Tumlinson, J.H.; Lenteren, J.C. e Papaj, D.R. Variations in parasitoid foraging behavior: Essential element of a sound biological control theory. **Env. Entom.** 19, 1183-1193, 1990.

Masurier, A.D. A comparative study of the relationship between host size and brood size in *Apanteles* spp. (Hymenoptera: Braconidae). **Ecol. Entomol.**, 12, 383-393, 1987.

Mélo, A.B.P. **Biologia de *D.saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Pyralidae) em diferentes temperaturas para determinação das exigências térmicas.** 1984, Dissertação, (Mestrado em Ciências Biológicas- Entomologia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz Universidade de São Paulo, Piracicaba, 101 p, 1984.

Potting, R.P.J., Snellen, H.M., Vet, L.E.M. Fitness consequences of superparasitism and mechanism of host discrimination in the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes*. **Ent. Exp. Appl.** , v.82, p.341-348, 1997.

Smith, J.W. Wiedmann Foraging strategies of stemborer parasites and their application to biological control, **Insect. Sci. Applic.** V.17, 37-49, 1997.

Stephens, D.W. Krebs J.R. **Foraging theory**. Princeton, N.J.: Princeton University Press., 1986.

Takabayashi, J.; Dicke, M. Plant-carnivore mutualism through-herbivore-induced carnivore attractants. **Trends Plant Sci.** 1, 109-113, 1996.

Takasu, K.; Hirose, Y. Host searching behavior in the parasitoid *Oeencyrtus nezarae* ISHII (hymenoptera:Encyrtidae) influenced by non-host food deprivation. **Appl. Entomol. Zool.** 26:415-417, 1991.

Vinson, S.B. The general host selection behaviour of parasitoid hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biol. Control.** 11, 79-96, 1998.

Waage, J.K. Family planning in parasitoids: adaptive patterns of progeny and sex allocation. **In:Insect Parasitoids** (Ed. By J. Waage e D.Greathead), p.449-470. London: Academic Press, 1986.

Waage, J.K. Foraging for patchily-distributed hosts by the parasitoid, *Nemeritis canescens*. **J. Anim. Ecol.**, 48, 353-371, 1979.

Wackers, F.L. Foraging for patchily-distributed hosts by the parasitoid *Nemeritis canescens*. **J. Anim. Ecol.**, 48, 353-371, 1994.

Wiedenmann, R.N.; Smith Jr., J.W.; Darnell, P.O. Laboratory rearing and biology of the parasite *C. flavipes* (Hymenoptera : Braconidae) using *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera:Pyralidae) as a host. **Environ. Entomol.** 21: 1160-67, 1992.

### **Bibliografia da Introdução geral**

Arakaki N.; Ganaha, Y. Emergence pattern and mating behavior of *Apanteles flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae). **Appl. Ent. Zool.**, v. 21, n.3, p. 382-8, 1986.

Askew, R.R.; Shaw, M.R., Parasitoid communities: Their size, structure and development. In: **Insects Parasitoids**-Waage, J.K; Greathead, D., (Ed.) London: Academic Press, p.225-64, 1986.

Botelho, P.M.S.; Macedo, N. *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*, **in: Controle Biológico no Brasil parasitóides e predadores**, Parra, J.R.P. et al eds., São Paulo: Manole, 635 p., 2002.

Campos-Farinha, A.E.C. **Biologia reprodutiva de *C. flavipes* (Hymenoptera: Braconidae)**. Rio Claro, p. 97. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Zoologia) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, 1996.

Cruz, F.L. **Espécies do gênero *Diatraea* Grulding, 1928 (Lepidoptera: Crambidae) coletadas em canaviais de algumas regiões do Estado de São Paulo, Brasil.** Piracicaba, 1976, p.49. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Entomologia).Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/Universidade de São Paulo.

Cueva, M.C; Ayquipa G.A.; Méscua, V.B. Estudios sobre *Apanteles flavipes* (Cameron), introducido para controlar *D. saccharalis* (Fabricius, 1794) en el **Peru. Rev. Per. Ent.**, v. 23, n.1, p.73-6, 1980.

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

Godfray, H.C.J.; Waage, J.K. The evolution of highly skewed sex ratio in aphelinid wasps. **Am. Nat.**, v. 136, p.715-21, 1990.

Grenier, S.; Clercq, P. Comparison of Artificially vs. Naturally Reared Natural Enemies and their Potencial for Use in Biological Control. **In: Quality Control and production of biological control agents – Theory and Testing Procedures.** (J.C. van Lenteren ed.), Oxon UK : Cabi Publishing, 115-132, 2003.

Gurr, G.; Wratten, S. (eds) **Measures of Success in Biological Control.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000.

Hawkins, B.A., In: **Pattern and process in host-parasitoid interactions**, Cambridge: Cambridge Press, p. 190, 1994.

Leerdam, M.B. van; Smith, J.W.; Funcht, T.W. Frass – mediated, host finding behavior of *C. flavipes*, a braconid parasite of *D. saccharalis* (Lepidoptera:Pyralidae). **Ann. Entomol. Soc. Am.**, v. 78, p. 647-50, 1986..

Lenteren, J.C. Need for quality control of mass-produced Biological Control Agents. **In: Quality Control and production of biological control agents – Theory and Testing Procedures.** (J.C. van Lenteren ed.), Oxon UK : Cabi Publishing, 1-18, 2003.

Leppla, N.C. aspects of Total Quality Control for the Production of Natural Enemies . **In: Quality Control and production of biological control agents – Theory and Testing Procedures.** (J.C. van Lenteren ed.), Oxon UK : Cabi Publishing, 19-24, 2003.

Mayhew, P. J. e Blackburn, T. M. Does development mode organize life history evolution in the parasitoid Hymenoptera? **J. Anim. Ecol.** v. 68: 906-916, 1999.

Mendonça-filho, A.F. **As Brocas da Cana-de-Açúcar *D. saccharalis* (Fabricius, 1794) e *D. flavipennella* Box, 1931 (Lepidoptera : Pyralidae) e seu controle biológico no Estado de Alagoas.** Piracicaba, 1978, 201 p.

Moore, R. F.; Odell, T. M. e Calkins, C. O. Quality assessment in laboratory-reared insects *in* Singh, P. e Moore, R. F.(eds.) **Handbook of Insect Rearing**, vol. 1, Amsterdam: Elsevier, p. 107-135, 1985.

Ngi-Song, A.J.; Overholt, W.A.; Ayertey, J.N. Host suitability of African stemborers for the development of *Cotesia flavipes* Cameron and *Cotesia sesamiae* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae). **Environ. entomol.**, v24, p.978-84, 1995.

Overholt, W.A.; Ochieng, J.O.; Lamers, P.; Ogedah, K.,. Rearing and field release methods for *C. flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of tropical gramineous stemborers. **Insect Sci. Appl.** v.15, n.3, p.253-59, 1994.

Parra, J.R.P.; Botelho, P.S.M.; Corrêa-Ferreira, B.S.; Bento, J.M.S. **in: Controle Biológico no Brasil parasitóides e predadores**, Parra, J.R.P. et al eds., São Paulo: Manole, 635 p., 2002.

Potting, R.P.J. Evolutionary and applied aspects of the behavioural ecology of the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes*. **Ins. Sci. Applic.**, vol 17, n.1, 109-118, 1997.

Potting, R.P.J., Snellen, H.M., Vet, L.E.M. Fitness consequences of superparasitism and mechanism of host discrimination in the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes* . **Ent. Exp. Appl.**, v.82, p.341-348, 1997 a.

Potting, R.P.J.; L.E.M.; Vet; Dicke, M. Host microhabitat location location by stemborer parasitoid *Cotesia flavipes*: the role of herbivore volatiles and locally and systemically induced plant volatiles. **J. Chem. Ecol.**, 21:525-539, 1997b.

Price, P. W. Reproductive strategies of parasitoids. In: **Evolutionary Strategies of Parasitoids**, New York:Plenum, 1975, p. 87-111.

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

Rutledge, C.E. ; Wiedenmann, R.N. Habitat preferences of three congeneric Braconid parasitoids: implications for host-range testing in biological control, **Biol. Control.**, v. 16, 144-154,1999.

Scaglia, M., **Capacidade reprodutiva de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1981) (Hymenoptera: Braconidae) e alterações no perfil protéico e enzimático da Hemolinfa de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) induzidas pelo parasitismo. Tese Universidade Estadual Paulista - Rio Claro/SP: Brasil. 154p, 2001.**

Shami S.; Mohyuddin A. I. Studies on host plant preference of *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) an important parasitoid of graminaceous stalk borers. **Pakistan j. Zool.** **24**, 313-316, 1992.

Vet, L.E.M.; Dicke, M. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. **Annu. Rev. Entomol.** **37**, 141-172, 1992.

Vinson, S.B.; Iwantsch, G.F. Host suitability for insect parasitoids. **Annu. Rev. Entomol.**, v.25, p. 397-419, 1980.