

ESTUDOS MORFOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS DO PARASITOIDE *Bracon vulgaris*

ASHMEAD (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

por

THIAGO JOSÉ DE SOUZA ALVES

(Sob orientação da Professora Valéria Wanderley Teixeira – UFRPE)

RESUMO

O controle biológico natural do bicudo-do-algodoeiro, no Brasil, é realizado principalmente por parasitoides. Entre eles, *Bracon vulgaris* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae), um ectoparasitoide larval, constitui o principal agente biológico responsável pela redução natural das populações do bicudo no agroecossistema algodoeiro no Nordeste brasileiro. Embora possua importância na cotonicultura, são escassos os dados referentes à ação de parasitismo de *B. vulgaris* sobre *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) tais como o efeito da idade, fotoperíodo e disponibilidade de hospedeiro no comportamento de parasitismo deste parasitoide, assim como os mecanismos morfológicos envolvidos nesta interação parasitoide/hospedeiro. Deste modo, este estudo avaliou os componentes sensoriais envolvidos no sucesso do parasitismo de *B. vulgaris* sobre *A. grandis*, bem como o efeito da idade, fotoperíodo e disponibilidade de hospedeiro no comportamento de parasitismo. Através de técnicas de microscopia eletrônica de varredura foi verificado que o ovipositor de *B. vulgaris* é um órgão multifuncional cuja morfologia e composição estão intimamente relacionadas às funções que exerce, e suas antenas apresentaram quatro tipos de sensilas (tricóides, basicônicas, coelocônicas e placóides) que atuam como receptores olfativos e gustativos e ou expressam função tátil, termo e de higrorrecepção. Os testes comportamentais, por sua vez, mostraram que fêmeas de *B. vulgaris* com cinco dias de

idades, quando submetidas às densidades de seis e 12 larvas hospedeiras por parasitoide, apresentaram as maiores taxas de parasitismo, sendo que o menor tempo para localização do hospedeiro ocorreu após 8h de exposição à luz, onde os parasitoides se mostraram mais ativos em busca do hospedeiro. Quanto ao repertório comportamental de parasitismo, *B. vulgaris* apresentou os seguintes eventos comportamentais em sequência: busca, parada, autolimpeza, aceite, oviposição e repouso. Através da avaliação associativa da morfologia das estruturas sensoriais e de estudos comportamentais, foi possível compreender melhor os altos índices de parasitismo apresentados por *B. vulgaris* sobre *A. grandis*.

PALAVRAS-CHAVE: Ectoparasitoide, *Anthonomus grandis*, comportamento de parasitismo, ultraestrutura, órgãos sensoriais, controle biológico.

MORPHOLOGICAL AND BEHAVIORAL STUDIES OF THE PARASITOID *Bracon vulgaris*

ASHMEAD (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

by

THIAGO JOSÉ DE SOUZA ALVES

(Under the direction of professor Valéria Wanderley Teixeira – UFRPE)

ABSTRACT

The biological control of the boll weevil in Brazil is realized mostly by insect parasitoids, in which *Bracon vulgaris* Ashmead, a gregarious larval ectoparasitoid, is the most important biocontrol agent responsible for natural reduction of boll weevil populations in cotton ecosystem in the Northeast of Brazil. Even though it has a major importance in cotton production, there is no much data referring to parasitism of *A. grandis* by *B. vulgaris*, such as the effect of age, photoperiod and host availability in the parasitism behavior of this braconid wasp, as well as the morphological mechanisms involved in the parasitoid-host interaction. Therefore, this study investigated the morphological components involved in the success of parasitism of boll weevil by *B. vulgaris*, and the effects of age, photoperiod and host availability in the parasitism behavior of this natural enemy. Through techniques of scanning electron microscopy that the *B. vulgaris* ovipositor is a multifunctional structure whose composition and morphology are closely related to the role they play, and the parasitoid's antennae present four types of sensilla (trichoids, basiconical, coeloconical, and placodes) that act as olfactory and gustatory receptors and or express tactile, therm, and hygro-reception functions. Behavioral tests showed that female five days old, the shortest time to host location occurred 8h after light exposure, when parasitoids were most active searching for the host. In relation to the behavioral repertoire of parasitism, *B.*

vulgaris showed the sequence of following behaviors: host search, static, grooming, host acceptance, oviposition and resting. An associative evaluation of the morphology of sensory structures and behavioral studies allowed the better understanding the high rates of parasitism presented by *B. vulgaris* on *A. grandis*.

KEY WORDS: Ectoparasitoid, *Anthonomus grandis*, parasitism behavior, ultrastructure, sensory organs, biological control.

ESTUDOS MORFOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS DO PARASITOIDE *Bracon vulgaris*

ASHMEAD (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

por

THIAGO JOSÉ DE SOUZA ALVES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da
Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de
Mestre em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Julho – 2013

ESTUDOS MORFOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS DO PARASITOIDE *Bracon vulgaris*

ASHMEAD (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

por

THIAGO JOSÉ DE SOUZA ALVES

Comitê de Orientação:

Valéria Wanderley Teixeira – UFRPE

Christian Sherley Araújo da Silva-Torres – UFRPE

Álvaro Aguiar Coelho Teixeira - UFRPE

ESTUDOS MORFOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS DO PARASITOIDE *Bracon vulgaris*

ASHMEAD (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

por

THIAGO JOSÉ DE SOUZA ALVES

Orientadora:

Valéria Wanderley Teixeira – UFRPE

Examinadores:

Christian S. Araújo da Silva-Torres – PNPd/CAPES

Álvaro Aguiar Coelho Teixeira - UFRPE

Franklin Magliano da Cunha - PNPd/CAPES

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu Deus, pois tudo que tenho vivenciado e conquistado é fruto de seu cuidado para comigo. Sempre me conduza conforme a sua vontade porque ela é sempre boa, perfeita e agradável!

Cursar o mestrado foi para mim um processo de grande valia em meu desenvolvimento empírico e científico, assim agradeço à UFRPE e ao PPGEA, nos quais pude aprofundar meus conhecimentos e me desenvolver como pesquisador; assim como à CAPES pela concessão da bolsa de estudo que me garantiu o desenvolvimento deste projeto de pesquisa.

À minha orientadora Dr^a. Valéria Wanderley Teixeira e ao Dr. Álvaro Aguiar C. Teixeira com os quais tenho trabalhado desde a minha graduação. Obrigado por toda credibilidade e liberdade a mim conferidas na execução deste projeto de pesquisa, vosso apoio de modo irrestrito só fez crescer meu respeito e carinho por vocês.

À minha querida mãe, Maria Auxiliadora e irmãos Bruno e Danielle Alves por toda a torcida, incentivo e cooperação. Minha família é uma verdadeira equipe de apoio onde a doação, zelo e respeito que me prestam, muitas vezes foi o diferencial durante os obstáculos encontrados. Meu amor por vocês é incondicional.

À Dr^a. Christian Sherley Araújo da Silva Torres cujo apoio me tem sido ofertado desde o processo de elaboração deste projeto. Muito obrigado pela sua criticidade, disponibilidade para comigo, comentários e análises precisas. Aprendi a admirá-la por sua inteligência, competência e profissionalismo.

Ao meu amigo Dr. Franklin Magliano da Cunha, que mais uma vez colaborou na execução de meus experimentos e cujas valiosas discussões enriqueceram meu trabalho; assim como ao

Prof. Jorge Braz Torres, muito obrigado por sua enorme contribuição desde o início dos pré-testes; tanto na obtenção dos parasitoides quanto nos textos indicados e cedidos.

Ao Dr. Fábio Henrique Caetano e ao *Msc.* Bruno F. Pereira da Universidade Estadual Paulista (UNESP) pela obtenção das eletromicrografias de varredura das estruturas sensoriais, muito grato pelo suporte e sugestões. Às chefias e pesquisadores das unidades da Embrapa algodão em Barbalha – CE (Gildo Araújo) e Campina Grande – PB (Dr. Francisco Ramalho) por todo o suporte prestado para que os resultados fossem obtidos. Em especial, agradeço aos amigos Bruno Malaquias, Tardelly Andrade e Antônio Manoel, pela disposição e apoio inquestionáveis.

Aos amigos que também contribuíram cada um à sua maneira, para a realização desta dissertação: Cristiane Thalita, Fernanda Ângelo, Hilda Michelly, Jeanine Lemos, Karla Sombra e Lilian Ribeiro. Em destaque, gostaria de agradecer a Andresa Cristina e Mariana Cavalcanti pelo suporte nas traduções, ao Eduardo Barros pelo companheirismo e auxílio nos deslocamentos e ao R.R. Costa pela excelência na representação do comportamento de parasitismo do *Bracon vulgaris*, você elevou o trabalho a outro nível!

À Elaine Cristina, sua mãe Dona Adelize Alves e toda à sua hospitaleira e carismática família que me acolheram e deram o suporte necessário para a execução na etapa do projeto desenvolvida em Campina Grande–PB. Como bem diria a Dona Adelize: Tudo passa nessa vida velha!

Aos amigos do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola (PPGEA) e do Laboratório de Histologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) bem como as técnicas Conceição Carvalho e Gaby Vasconcelos do Centro de Tecnologias estratégicas do Nordeste (CETENE).

Aos meus familiares, orientadores, amigos e irmãos, muito obrigado por se doarem para que esta dissertação fosse concretizada, a estes o meu abraço e carinho.

SUMÁRIO

	Páginas
AGRADECIMENTOS	viii
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	1
LITERATURA CITADA	6
2 ESTUDOS COMPORTAMENTAIS DO PARASITOIDE <i>Bracon vulgaris</i> ASHMEAD (HYMENOPTERA: BRACONIDAE).....	12
RESUMO	13
ABSTRACT	14
INTRODUÇÃO	15
MATERIAL E MÉTODOS	18
RESULTADOS	22
DISCUSSÃO.....	26
AGRADECIMENTOS.....	31
LITERATURA CITADA.....	31
3 ULTRAESTRUTURA DOS COMPONENTES SENSORIAIS ENVOLVIDOS NO COMPORTAMENTO DE PARASITISMO DE <i>Bracon vulgaris</i> ASHMEAD (HYMENOPTERA: BRACONIDAE).....	42
RESUMO	43
ABSTRACT	44
INTRODUÇÃO	45

MATERIAL E MÉTODOS	47
RESULTADOS.....	48
DISCUSSÃO.....	50
AGRADECIMENTOS.....	55
LITERATURA CITADA.....	55

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L, Malvaceae) constitui uma das principais atividades agrícolas do Nordeste visto sua importância na geração de empregos e produção de fibras para a indústria têxtil. Estudos realizados indicam um crescimento da produção e demanda mundial de algodão a uma taxa anual de 1,5%, e estimativas para a safra de 2015/2016 indicam que a área colhida deverá alcançar 37.453 milhões de hectares, com uma produção de 28.774 milhões de toneladas (Soares & Bussoli 2000, Alves & Serikawa 2006). No entanto, um dos grandes entraves na cotonicultura continua sendo o ataque de pragas que, quando não controladas, podem reduzir drasticamente a produção (Bastos & Torres 2006, Torres 2008, Miranda 2010, Fonseca *et al.* 2011).

O bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae), é considerado a principal praga do algodoeiro nas Américas. No Semiárido de Pernambuco e na Paraíba, o bicudo causa redução na produtividade do algodão herbáceo que varia entre 54 a 87%; tanto na fase adulta quanto na fase larval, este inseto causa injúrias à planta através de perfurações nos botões florais e nas maçãs, bem como destruindo, internamente, as fibras e sementes de modo que esta praga é citada como a principal limitação para a cotonicultura em qualquer região onde há sua ocorrência (Gallo *et al.* 2002, Ramalho & Dias 2003, Santos *et al.* 2003, Busoli *et al.* 2004, Torres 2008, Neves 2010, Grigolli *et al.* 2013).

No Brasil, cerca de 20% dos custos totais na produção do algodão são destinados a defensivos agrícolas visto que em sua maioria o controle do bicudo-do-algodoeiro é realizado com inseticidas sintéticos a base de piretróides de alta toxicidade (níveis toxicológicos I e II), largo

espectro e baixa seletividade. Dentre as 96 marcas comerciais de inseticidas e acaricidas registradas para uso no controle de pragas do algodoeiro, nenhuma das recomendadas para o controle do bicudo é caracterizado como de baixo impacto para inimigos naturais (0 a 30% de mortalidade), fazendo necessário à busca por formas de controle que minimizem os efeitos adversos acarretados pelo uso contínuo dos inseticidas sintéticos (Morales *et al.* 2004, Alves & Serikawa 2006, Bastos & Torres 2006, Agrofit 2011).

De acordo com Ramalho & Wanderley (1996), nos cultivos de regiões tropicais é muito rica a fauna de inimigos naturais (parasitoides, predadores e entomopatógenos), e as ações inadequadas na condução de cultivos, sobretudo no controle de pragas e doenças, têm causado prejuízos à ação benéfica desses organismos. Assim, a adoção de estratégias para redução de populações do bicudo, que contribuam para a preservação e incremento do seu controle biológico natural é indicada para implantação de uma cotonicultura sustentável. Para tanto, se faz necessário reconhecer previamente a praga em questão, os danos gerados por estes na cultura-alvo, assim como os seus inimigos naturais, essa filosofia proposta pelo Manejo Integrado de Pragas (MIP) proporcionou o desenvolvimento em larga escala de pesquisas com insetos entomófagos, vistos então como uma alternativa viável e vantajosa (Bellows & Fisher 1999, Parra *et al.* 2002, Hajek, 2004).

Programas de controle biológico utilizando parasitoides têm sido desenvolvidos com sucesso através de estudos biológicos, fisiológicos e comportamentais desses inimigos naturais e seus respectivos insetos hospedeiros (Omwega *et al.* 1995, Barbalho & Pentead-Dias 1997, Parra *et al.* 2002). Dentre os parasitoides, himenópteros da família Braconidae têm se destacado nos programas de controle de pragas agrícolas em agroecossistemas tropicais e subtropicais; a importância deste grupo deriva do efeito regulador que exercem sobre uma vasta gama de insetos

hospedeiros, conseguida através de adaptações fisiológicas e comportamentais (Matthews 1974, Marinho *et al.* 2009, Wang *et al.* 2010, Obonyo *et al.* 2008, Zikic *et al.* 2011).

Os Braconídeos constituem um grande e benéfico grupo de himenópteros parasitoides de alta relevância no controle biológico de pragas, com aproximadamente 40.000 espécies distribuídas por diversas regiões do mundo. A biologia desses insetos é bastante diversa, visto que esta família comporta parasitoides primários e secundários, espécies solitárias e gregárias, tanto ectoparasitoides quanto endoparasitoides; que atacam todos os estágios de vida do hospedeiro (Berta & Colomo 2000, Toscano & Carvalho 2000a, Dey & Akhtar 2007, Fujihara *et al.* 2011, Triplehorn & Johnson 2011).

Diversas Ordens de insetos, dentre elas Lepidoptera, Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Neuroptera e Psocoptera; são descritas sendo parasitadas por uma ou mais espécies de braconídeos (Matthews 1974, Foerster *et al.* 1999, Huber 2009, Marinho *et al.* 2009, Zikic *et al.* 2011).

O controle biológico do bicudo-do-algodoeiro, no Brasil, é realizado principalmente por parasitoides que atuam sobre os estágios imaturos dessa praga, ao todo 13 espécies de parasitoides são descritas atacando este curculionídeo (Ramalho & Wanderley 1996, Evangelista Júnior *et al.* 2006). Dentre elas, quatro espécies de braconídeos são encontradas parasitando as populações do bicudo: *Bracon mellitor* (Say), *Bracon* sp., *Urosigalphus rubicorpus* (Gibson) e *Bracon vulgaris* Ashmead (Pierozzi Jr 1989, Ramalho & Wanderley 1996, Ramalho *et al.* 2007); sendo este último um ectoparasitóide gregário e larval que juntamente com o *Catolaccus grandis* (Burks) (Hymenoptera: Pteromalidae) constituem os principais agentes biológicos responsáveis pela redução natural das populações de bicudo nos agroecossistemas do algodoeiro no Nordeste brasileiro (Wanderley 1998, Ramalho *et al.* 2007, Ramalho *et al.* 2009a).

As fêmeas de *B. vulgaris* paralisam as larvas de *A. grandis* enquanto realizam a oviposição. Os ovos depositados externamente ao corpo do hospedeiro medem $0,92 \pm 0,03$ mm e apresentam coloração branca translúcida. Destes, eclodem larvas que imediatamente passam a se alimentar externamente do hospedeiro, inserindo as mandíbulas através da cutícula. Ao final do quarto instar a larva do parasitoide cessa a alimentação e inicia a construção de um casulo, dentro do qual, permanece por toda a fase de pupa até a emergência dos adultos (Peydró *et al.* 1996, Wanderley 1998, Ramalho *et al.* 2009 a, b). Toscano & Carvalho (2000b) e Carvalho *et al.* (2000) relataram que populações de *B. vulgaris* foram encontradas, em condições naturais, com índices de parasitismo superiores a 70% em cultivos de algodoeiro infestados com *A. grandis* e *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae); ao ponto que Ramalho *et al.* (2009b) citaram este parasitoide como o agente de controle biológico de maior expressão no agroecossistema algodoeiro do Nordeste do Brasil.

Parasitar é uma ação complexa que envolve diversas etapas, dentre elas a localização do hábitat do hospedeiro, do hospedeiro propriamente dito e aceitação deste. Nesta interação, as condições ambientais (temperatura, umidade e fotoperíodo) e fatores inerentes ao hospedeiro (idade, tamanho, fase de desenvolvimento, ausência de parasitismo e ou patógenos, hábito e habitat, variabilidade genética e imunidade) e ao próprio parasitoide (capacidade de busca, idade, longevidade, fecundidade, competição) podem interferir tanto no comportamento de parasitismo do inimigo natural, como em seu ciclo biológico (Amalin *et al.* 2005, Gunduz & Gulel 2005, Ha *et al.* 2006, Rukmowati-Brotodjojo & Walter 2006, Gullan & Cranston 2008, Obonyo *et al.* 2008, Xiaoyi & Zhongqi 2008, Silva-Torres *et al.* 2009, Denis *et al.* 2012).

Como afirma Hohmann & Luck (2004), o fator que determina a eficiência de um parasitoide está intimamente ligada à sua capacidade de busca pelo hospedeiro, para tanto este agente de controle biológico se baseia em pistas liberadas pelo hospedeiro e pela planta que o abrigam, tais

como cores, voláteis, fezes, exúvia, dentre outras pista químicas e físicas (Quicke 1997, Schoonhoven *et al.* 2005). Nessa etapa do parasitismo os órgãos sensoriais são imprescindíveis, já que além de localizar o hospedeiro, o parasitoide precisa avaliar as condições fisiológicas deste e manipular o número de ovos a serem depositados, visto que o desenvolvimento de sua prole essencialmente depende da adequação e qualidade nutricional do hospedeiro por ela selecionada (Ceballo & Walter 2004, Klowden 2007, Silva-Torres *et al.* 2009).

Dentre as estruturas que compõem o aparelho sensorial dos parasitoides, as antenas e ovipositor se destacam na ação de parasitismo. As antenas são estruturas sensoriais responsáveis pela percepção de odores, condições ambientais e informações táteis. O ovipositor por sua vez, é um órgão multifuncional que perfura a cutícula do hospedeiro, injeta o produto de secreção das glândulas de veneno e realiza a deposição dos ovos; além disso, percebe as vibrações provenientes da alimentação e locomoção do hospedeiro, participando da seleção deste. Assim, quando a fêmea se depara com um hospedeiro, para avaliar o seu estado fisiológico, bem como selecioná-lo, ou não, como apto à oviposição, este inimigo natural recorre à atuação conjunta de suas antenas e ovipositor (Quicke 1997, Vilhelmsen 2003, Klowden 2007, Dweck *et al.* 2008, Dweck 2009, Li *et al.* 2011).

A associação de estudos fisiológicos e comportamentais tem implicações importantes para o desenvolvimento de metodologias no controle de pragas (Bueno 2009). Como afirmam Imenes *et al.* (2002), a busca de eficiência e competitividade para a solução de problemas fitossanitários gerou estudos associativos acerca do comportamento e fisiologia de insetos pragas resultando, por exemplo, nas técnicas do confundimento e de coleta massal por meio de armadilhas adesivas contendo feromônios sintéticos e, conseqüentemente, na redução dos custos da produção e dos resíduos de inseticidas.

Para o estabelecimento de programas eficazes de controle biológico utilizando parasitóides, como *B. vulgaris*, se faz necessário compreender como este se comporta mediante ao aumento no número de hospedeiro, identificar o período ao longo da fotofase no qual o inimigo natural é mais ativo e apontar a melhor idade para liberações em campo; podendo assim resultar na comercialização em larga escala desses inimigos naturais (Gunduz & Gulel 2005, Lariouis *et al.* 2007, Pereira *et al.* 2009, Ramalho *et al.* 2009b, Denis *et al.* 2012).

Embora *B. vulgaris* se apresente como o parasitoide de maior relevância na redução natural das populações de *A. grandis*, ainda são bastante escassos os dados referentes à ação de parasitismo desse inimigo natural, no que se refere aos seus mecanismos comportamentais envolvidos na interação parasitoide/hospedeiro. Deste modo, espera-se que os resultados obtidos na presente pesquisa forneçam dados que potencializem o uso do *B. vulgaris* nos programas de controle biológico do bicudo-do-algodoeiro.

Literatura Citada

- AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários) 2011.** http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em 03/ 04/ 2011.
- Alves, A.P. & R.H. Serikawa. 2006.** Controle químico de pragas do algodoeiro. Rev. Bras. Ol. Fibras. 10: 1197-1209.
- Amalin, D.M., J.E. Peña & R.E. Ducan. 2005.** Effects of host age, female parasitoid age, and host plant on parasitism of *Ceratogramma etiennei* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Fla. Entomol. 88: 77-82.
- Barbalho, S.M. & A.M. Penteado-Dias. 1997.** Análise morfológica do aparelho de veneno nos braconidae *cyclostome* (hymenoptera). Rev. Bras. Zool. 14: 65 – 71.
- Bastos, C.S. & J.B. Torres. 2006.** Controle biológico e o manejo integrado de pragas do algodoeiro. Campina Grande, Embrapa Algodão, 63p. (Circular Técnica 72).
- Bellows, T.S. & T.W. Fisher. 1999.** Handbook of Biological Control. California, Academic Press, 1046p.

- Berta, D.C & M.V. Colomo. 2000.** Dos especies nuevas de *Bracon* F. y primera cita para la Argentina de *Bracon lucileae* Marsh (Hymenoptera: Braconidae), parasitoides de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae). *Insect Mund.* 14: 211- 219.
- Bueno, V.H.P. 2009.** Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade. Lavras, UFLA editora, 429p.
- Busoli, A.C., F.F. Pereira, V.A.G. Lopéz, J.J soares, R.S. Melo & C.A. Almeida. 2004.** Preferência alimentar do bicudo-do-algodoeiro por frutos de diferentes cultivares e idades. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 39: 101-104.
- Carvalho, S.L., W.D. Fernandes, P.N. Patel & M.E.M. Habib. 2000.** Respostas comparativas de *Bracon vulgaris* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae) a diferentes macerados de plantas de algodão, em dois modos de exposição. *Rev. Agric.* 75: 41-53.
- Ceballo, F.A. & G.H. Walter. 2004.** Life history parameters and biocontrol potential of the mealybug parasitoid *Coccidoxenoides peregrinus* (Timberlake) (Hymenoptera: Encyrtidae): asexuality, fecundity and ovipositional patterns. *Biol. Control* 29: 235-244.
- Denis, D., J.S. Pierre, J.V. Baaren & J.J.M. van Alphen. 2012.** Physiological adaptations to climate change in pro-ovigenic parasitoids. *J. Theor. Biol.* 309: 67-77.
- Dey, D. & M.S. Akhtar. 2007.** Diversity of natural enemies of aphids bBelonging to Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae) in India. *J. Asia-Pacific Entomol.* 10: 281-296.
- Dweck, H.K.M. 2009.** Antennal sensory receptors of *Pteromalus puparum* female (Hymenoptera:Pteromalidae), a gregarious pupal endoparasitoid of *Pieris rapae*. *Micron* 40: 769–774.
- Dweck, H.K.M., N.S. Gadallah & E. Darwish. 2008.** Structure and sensory equipment of the ovipositor of *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae). *Micron* 39: 1255–1261.
- Evangelista Júnior, W.S., J.S. Zanuncio Júnior & J.C. Zanuncio. 2006.** Controle biológico de artrópodes pragas do algodoeiro com predadores e parasitóides. *Rev. Bras. Ol. Fibras.* 10: 1147-1165.
- Foerster, L.A., A.K. Doetzer & M.R.F. Avanci. 1999.** Capacidade reprodutiva e longevidade de *Glyptapanteles muesebecki* (Blanchard) (Hymenoptera: Braconidae) parasitando lagartas de *Pseudaletia sequax* Franclemont (Lepidoptera: Noctuidae). *An. Soc. Entomol. Brasil* 28: 485 - 490.
- Fonseca, P.R.B., I.S. Lima Júnior, M.F. Soria, C. Kodama & P.E. Degrande. 2011.** Inseticidas neonicotinóides no controle do bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* (Boheman, 1843) (Coleoptera: Curculionidae) e a falha de controle do endossulfan. *Arq. Inst. Biol.* 78: 545-551.

- Fujihara, R.T., L.C. Forti, M.C. Almeida & E.L.L. Baldin. 2011.** Insetos de importância econômica: guia ilustrado para identificação de famílias. Botucatu, FEPAF, 391p.
- Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E. Berti Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** Entomologia Agrícola. São Paulo, FEALQ/USP, v.10, 920p.
- Grigolli, J.F.J., L.A. Souza, D.F. Fraga, M. Funichello & A.C. Busoli. 2013.** Within plant distribution of *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae) feeding and oviposition damages in cotton cultivars. Ciênc. Agrotec. 36: 78-84.
- Gullan, P.J. & P.S. Cranston. 2008.** Os insetos: um resumo de entomologia. São Paulo, Roca editora, 440p.
- Gunduz, E.A. & A. Gulel. 2005.** Investigation of fecundity and sex ratio in the parasitoid *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) in relation to parasitoid age. Turkish J. Zool. 29: 291-294.
- Ha, D., K. Song, S. Nho & K. Lee. 2006.** Host selection behaviors and progeny suitability of two parasitic wasps, *Venturia canescens* and *Bracon hebetor*, against abnormal host conditions of *Plodia interpunctella*. J. Asia Pacific Entomol. 9: 353-360.
- Hajek, A.E. 2004.** Natural enemies: An introduction to Biological Control. Cambridge, Cambridge University Press, 378p.
- Hohmann, C.L. & R.F. Luck. 2004.** Effect of host availability and egg load in *Trichogramma platneri* Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and its consequences on progeny quality. Braz. Arch. Biol. Technol. 47: 413-422.
- Huber, J.T. 2009.** Biodiversity of Hymenoptera. Cambridge, Wiley-Blackwell, 632p.
- Imenes, S.D.L., T.B. Campos, S.M. Rodrigues Netto & E.C. Bergmann. 2002.** Avaliação da atratividade de feromônio sexual sintético da traça das crucíferas, *Plutella Xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), em cultivo orgânico de repolho. Arq. Inst. Biol. 69: 81-84.
- Klowden, M.J. 2007.** Physiological Systems in Insects. 2nd ed. London, Elsevier, 688p.
- Larious, G.L.B., K. Ohno & F. Fukuhara. 2007.** Effects of photoperiod and temperature on preimaginal development and summer diapause of *Chrysocharis pubicornis* (Zetterstedt) (Hymenoptera: Eulophidae), a pupal parasitoid of leafminers (Diptera: Agromyzidae). Appl. Entomol. Zool. 42: 189-197.
- Li, X., D. Lu, X. Liu, Q. Zhang. & X. Zhou. 2011.** Ultrastructural characterization of olfactory sensilla and immunolocalization of odorant binding and chemosensory proteins from an ectoparasitoid *Scleroderma guani* (Hymenoptera: Bethylinidae). Int. J. Biol. Sci. 7: 848-868.
- Matthews, R.W. 1974.** Biology of Braconidae. Annu. Rev. Entomol. 19: 15-32.

- Marinho, C.F., M.F. Souza-Filho, A. Raga & R.A. Zucchi. 2009.** Parasitóides (Hymenoptera: Braconidae) de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) no Estado de São Paulo: plantas associadas e parasitismo. *Neotrop. Entomol.* 38:321-326.
- Miranda, J.E. 2010.** Manejo integrado de pragas do algodoeiro no cerrado brasileiro. Campina Grande, Embrapa Algodão, 37p. (Circular Técnica 131).
- Morales, J., F. Budia & E. Vinuela. 2004.** Efectos secundários de cinco insecticidas sobre los diferentes estádios de desarrollo del parasitóide *Hyposoter didymator* (Thunberg) (Hymenoptera:Ichneumonidae). *Bol. San.Veg. Plagas* 30: 773-782.
- Neves, R.C.S. 2010.** Adequação de práticas culturais no manejo de pragas do algodoeiro. Dissertação de Mestrado, UFRPE, Recife, 63p.
- Obonyo, M., F. Schulthess, J. Gerald, O. Wanyama, B. Le Ru & P.A. Calatayud. 2008.** Location, acceptance and suitability of lepidopteran stemborers feeding on a cultivated and wild host-plant to the endoparasitoid *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae). *Biol. Control* 45: 36–47.
- Omweaga, C.O., S.W. Kimani, W.A. Overholt & C.K. P. O. Ogol. 1995.** Evidence of the establishment of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) in continental Africa. *Bull. Entomol. Res.* 85: 525-530.
- Parra, J.R.P., P.S.M. Botelho, B.S. Côrrea-Ferreira & D.J.M. Bento. 2002.** Controle Biológico no Brasil: Parasitóides e Predadores. São Paulo, Manole, 609p.
- Pereira, F.P., J.C. Zanuncio, J.E. Serrão, H.O. Oliveira, K. Fávero & E.L.V. Grance. 2009.** Progenie de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando pupas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera:Bombycidae) de diferentes idades. *Neotrop. Entomol.* 38: 660-664.
- Peydró, R.J., J.V.F Garí, C.G. Martos & J.M. Marí. 1996.** Comparative morphology of the venom apparatus in some subfamilies of braconid wasps (Hymenoptera: Braconidae). *Boln. Asoc. Esp. Entomol.* 20: 149-159.
- Pierozzi Jr, I. 1989.** Análise e aplicabilidade do complexo ecológico de *Anthonomus grandis* Boheman, 1943 (Coleoptera: Curculionidae) na região de Campinas, SP. Tese de Doutorado, UNICAMP, Campinas, 191p.
- Quicke, D.L.J. 1997.** Parasitic Wasps. Cambridge, Chapman & Hall, 470.
- Ramalho, F.S., A.M.C Silva, J.C. Zanuncio & J.E. Serrão. 2007.** Competition between *Catolaccus grandis* (Hymenoptera:Pteromalidae) and *Bracon vulgaris* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoids of the boll weevil. *Braz. Arch. Bio.Tec.* 50: 371 – 378.

- Ramalho, F.S. & J.M. Dias. 2003.** Efeitos de hospedeiros alternativos na biologia de *Catolaccus grandis* (Burks) (Hymenoptera: Pteromalidae), parasitóide de *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae). Neotrop. Entomol. 32: 305-310.
- Ramalho, F.S. & P.A. Wanderley. 1996.** Ecology and management of cotton boll weevil in south America cotton. Am. Entomol. 42: 41- 47.
- Ramalho, F.S., Wanderley, P.A., Malaquias, J.B., Rodrigues, K.C.V., Souza, J.V. S. & Zanuncio, J.C. 2009 a.** Temperature-dependent development rates of *Bracon vulgaris*, a parasitoid of boll weevil. Phytoparasitica 37: 17-25.
- Ramalho, F.S., P.A. Wanderley, J.B. Malaquias, J.V.S. Souza, K.C.V. Rodrigues & J.C. Zanuncio. 2009b.** Effect of temperature on the reproduction of *Bracon vulgaris* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of the cotton boll weevil. Entomol. News 120: 476-487.
- Rukmowati-Brotodjojo, R.R. & G.H. Walter. 2006.** Oviposition and reproductive performance of a generalist parasitoid (*Trichogramma pretiosum*) exposed to host species that differ in their physical characteristics. Biol. Control 39: 300-312.
- Santos, R.C., L.H. Marcellino, R.G. Monnerat & E.S. Gander. 2003.** Mechanical damage in cotton buds caused by the boll weevil. Pesqu. Agropecu. Bras. 38: 1351-1356.
- Schoonhoven, L.M., J.J.A. Van Loon & M. Dicke. 2005.** Insect Plant Biology. 2nd ed. Oxford University Press, 421p.
- Silva-Torres, C.S.A., R. Barros & J.B. Torres. 2009.** Efeito da idade, fotoperíodo e disponibilidade de hospedeiro no comportamento de parasitismo de *Oomyzus sokolowskii* Kurdjumov (Hymenoptera: Eulophidae). Neotrop. Entomol. 38: 512-519.
- Soares, J.J. & A.C. Busoli. 2000.** Efeito de inseticidas em insetos predadores em culturas de algodão. Pesq. Agropec. Bras. 35: 1889-1894.
- Torres, J.B. 2008.** Controle de pragas do algodoeiro: expectativas de mudanças. Ciênc. Agríc. 8: 37-49.
- Toscano, L.C. & S.L. Carvalho. 2000a.** Parasitismo em *Pectinophora gossypiella* Saunders (Lepidoptera: Gelechiidae) e *Anagasta kuhniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) por *Bracon vulgaris* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae). Braz. J. Ecol. 12: 23-28.
- Toscano, L.C. & S.L. Carvalho. 2000b.** Parasitismo em *Anthonomus grandis* Boheman, 1843 por *Bracon vulgaris*, Ashmead em cultura de algodão sem medidas de controle na região de Ilha Solteira - SP. Braz. J. Ecol. 12: 123 -127.
- Triplehorn, C. A. & N. F. Johnson. 2011.** Estudo dos Insetos. São Paulo, Cengage Learning, 809p.

- Vilhelmsen, L. 2003.** Flexible ovipositor sheaths in parasitoid Hymenoptera (Insecta). *Arthrop. Struct. Develop.* 32: 277-287.
- Xiaoyi, W. & Y. Zhongqi. 2008.** Behavioral mechanisms of parasitic wasps for searching concealed insect hosts. *Acta Ecol. Sin.* 28: 1257–1269.
- Zikic, V., C.V. Achterberg, S.S. Stankovic & M. Ilic. 2011.** The male genitalia in the subfamily Agathidinae (Hymenoptera: Braconidae): morphological information above species on generic level. *Zoo. Anzeig.* 250: 246 - 257.
- Wanderley, P.A. 1998.** Biologia e exigências térmicas de *Bracon vulgaris* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae), parasitóide do bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae). Dissertação de mestrado, UFRPE, Recife, 107 p.
- Wang, X., Z. Yang & J.R. Gould. 2010.** Sensilla on the antennae, legs and ovipositor of *Spathius agrili* Yang (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of the emerald ash borer *Agrilus planipennis* Fairmaire (Coleoptera: Buprestidae). *Micros. Res. Technol.* 73, 560-571.

CAPÍTULO 2

ESTUDOS COMPORTAMENTAIS DO PARASITOIDE *Bracon vulgaris* ASHMEAD

(HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

THIAGO J.S. ALVES¹, CHRISTIAN S.A. SILVA-TORRES¹, VALÉRIA WANDERLEY-TEIXEIRA², ÁLVARO A.C. TEIXEIRA²,
JORGE B. TORRES¹, TARDELLY A. LIMA³ E FRANCISCO S. RAMALHO³

¹Departamento de Agronomia-Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua
Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, Brasil

²Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, Brasil

³Embrapa Algodão, Rua Oswaldo Cruz nº 1143, 58428-095, Campina Grande-PB, Brasil.

¹ Alves, T.J.S., C.S.A. Silva-Torres, V. Wanderley-Teixeira, A.A.C. Teixeira, J.B. Torres, T.A. Lima & F.S. Ramalho. Estudos comportamentais do parasitoide *Bracon vulgaris* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae). A ser submetido ao Biological Control.

RESUMO - *Bracon vulgaris* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae) é um ectoparasitoide larval do bicudo, *Anthonomus grandis* (Boh.) (Coleoptera: Curculionidae), que exerce importante parasitismo natural desta praga. Apesar dessa importância são escassos os dados referentes ao parasitismo desta espécie. Assim, fêmeas de *B. vulgaris* foram estudadas com cinco e 10 dias de idade e expostas a três, seis, 12 e 24 larvas do bicudo por fêmea. Também, o período de maior atividade de parasitismo foi avaliado ao longo da fotofase. Fêmeas de *B. vulgaris* com cinco dias de idade foram submetidas à luz artificial nos intervalos de uma, três, seis, oito e 10 h de luz após a escotofase. Fêmeas com cinco dias de idade apresentaram maior taxa de parasitismo, respondendo positivamente ao aumento da densidade do bicudo até 12 larvas, parasitando em média (\pm EP) 1,3 (\pm 0,12), 3,4 (\pm 0,35) e 4,4 (\pm 0,45) larvas respectivamente, nas densidades de três, seis e 12 larvas do bicudo. Os parasitoides mostraram-se mais ativos após 8h de exposição à luz obtendo menor tempo para a localização do hospedeiro. Quanto ao repertório comportamental de parasitismo, *B. vulgaris* apresentou os seguintes eventos comportamentais em sequência: busca, parada, autolimpeza, aceite, oviposição e repouso. Os resultados apontam que fêmeas necessitam passar por um período de maturação sexual e que após esse período, em torno de cinco dias, elas ficam ávidas a oviposição, e que este comportamento é estereotipado.

PALAVRAS-CHAVE: Ectoparasitoide, comportamento de parasitismo, bicudo-do-algodoeiro, controle biológico

BEHAVIORAL STUDIES OF THE PARASITOID *Bracon vulgaris* ASHMEAD

(HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

ABSTRACT - *Bracon vulgaris* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) is a larval ectoparasitoid of *Anthonomus grandis* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae), which plays an important parasitism of the pest. Even though it has a major importance, there is no much data referring the parasitism behavior of this braconid wasp. Thus, to investigate the influence of those factors, *B. vulgaris* females were divided into two groups with 5 and 10 days after emergence. Parasitoids were exposed to *A. grandis* in the densities of three, six, 12 and 24 larvae per female, aiming to investigate the parasitism behavior of *B. vulgaris* with increasing host density. Next, the period of most parasitism activity during the photophase was determined. Thus, *B. vulgaris* females 5 days old were submitted to artificial light in climatic chamber, being different interval durations of light exposure after darkness (1, 3, 6, 8 and 10 h of light). Five days old females showed higher parasitism rate, with a positive increase in parasitism rate up to 12 larvae, parasitizing an average (\pm SE) of 1.3 (\pm 0.12), 3.4 (\pm 0.35) and 4.4 (\pm 0.45) larvae in the densities of 3, 6 and 12 larvae, respectively. Regarding the influence of photoperiod in the parasitism by *B. vulgaris*, the shortest time to host location occurred 8h after light exposure, when parasitoids were most active searching for the host. In relation to the behavioral repertoire of parasitism, *B. vulgaris* showed the sequence of following behaviors: host search, static, grooming, host acceptance, oviposition and resting. Results show that females go through a sexual maturation period, for about five days, and after that they are ready to oviposition, and this behavior is stereotyped.

KEY WORDS: Ectoparasitoid, parasitism behavior, boll weevil, biological control

Introdução

O controle de pragas agrícolas é um dos fatores que mais onera os custos de produção, visto o desenvolvimento de resistência por muitas das pragas e a grande diversidade de espécies encontradas nos agroecossistemas. Por exemplo, o algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L, Malvaceae), hospeda entre 300 e 600 espécies de herbívoros, das quais, cerca de 32 podem ocasionar redução significativa na produção do algodão cultivado no Brasil, onde aproximadamente 20% dos custos totais da produção são destinados a defensivos agrícolas (Alves & Serikawa 2006, Torres 2008, Fonseca *et al.* 2011).

Dentre as pragas que afetam a cotonicultura no Brasil, o bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae), se destaca como a de maior importância, de modo que esta praga é citada como a principal limitação para o cultivo do algodoeiro em qualquer região onde há sua ocorrência. Este curculionídeo causa injúrias à planta através de perfurações nos botões florais e nas maçãs, o que pode levar a queda prematura dos mesmos, ou pelo desenvolvimento interno das larvas quando ocorre a destruição das fibras e sementes (Gallo *et al.* 2002, Ramalho & Dias 2003, Santos *et al.* 2003, Busoli *et al.* 2004, Grigolli *et al.* 2013).

O controle natural do bicudo-do-algodoeiro, no Brasil, é realizado principalmente por parasitoides que atuam sobre os estágios imaturos dessa praga. Ao todo 13 espécies de parasitoides são descritas parasitando o bicudo (Araújo *et al.* 2000, Ramalho & Wanderley 2006, Evangelista Júnior *et al.* 2006) dos quais, *Bracon vulgaris* (Ashmead) juntamente, com o pteromalídeo *Catolaccus grandis* (Burks) constituem os principais agentes biológicos responsáveis pela redução natural das populações de bicudo no agroecossistema do algodoeiro do Nordeste brasileiro (Ramalho *et al.* 2007, Ramalho *et al.* 2009b).

Carvalho *et al.* (2000) verificaram que *B. vulgaris* pode contribuir para a supressão de populações de *A. grandis* com elevados índices de parasitismo natural, principalmente, nas fases

finais do ciclo do algodão, parasitismo este em torno de 70%. No entanto, é necessário se conhecer como é possível o favorecimento deste alto índice de parasitismo no início da colonização da lavoura pelo bicudo, a fim de evitar perdas significativas na produção de algodão. As fêmeas deste parasitoide paralisam as larvas do bicudo enquanto realizam a oviposição pela deposição de veneno. Dos ovos, os quais são depositados externamente ao corpo do hospedeiro, eclodem larvas que imediatamente passam a se alimentar através da inserção das mandíbulas na cutícula do hospedeiro, ao final do quarto instar, cessam a alimentação iniciando à construção de um casulo, dentro do qual, permanece por toda a fase de pupa até a emergência dos adultos (Toscano & Carvalho 2000, Ramalho *et al.* 2009 a, b).

Mesmo em um habitat adequado, os recursos alimentares não estão distribuídos de maneira uniforme, logo, o parasitoide precisa ser eficaz na sua busca pelo hospedeiro já que este pode estar em níveis muito baixo ou inexistente, previamente parasitados ou em idade inadequada. Além disso, no forrageamento ocorre gasto energético e de tempo, exposição a predadores e aos fatores ambientais. Nessas condições, o estado fisiológico do parasitoide tem implicações importantes para garantir o sucesso do parasitismo. O aumento na idade de parasitoides, por exemplo, pode afetar sua capacidade de aprendizado e, conseqüentemente, a localização do hospedeiro, bem como reduzir seu potencial e taxa de parasitismo, produção de descendentes totais e afetar a razão sexual da prole (Honda & Kainoh 1998, Harbinson *et al.* 2001, Cooperband *et al.* 2003, Persad & Hoy 2003, Hohmann & Luck 2004, Amalin *et al.* 2005, Gunduz & Gulel 2005, Pereira *et al.* 2009).

Para tanto, se faz necessário conhecer previamente a influência dos fatores abióticos (fotoperíodo, temperatura, umidade, sazonalidade) e bióticos (idade do parasitoide, densidade e estágio de desenvolvimento do hospedeiro) no comportamento de parasitismo, de modo que se forneçam as condições adequadas que promova a ação do inimigo natural em detrimento da praga.

O parasitismo é um processo complexo com sequência estereotipada de eventos que envolve a busca, localização, aceitação e manipulação do hospedeiro; logo, conhecer como os parasitoides são influenciados pelas variações ambientais tais como o fotoperíodo, e como respondem às variações na distribuição e na densidade do hospedeiro é essencial para que se determine a sua eficiência como agente de controle biológico (Flin & Hagstrum 2002, Gullan & Cranston 2008, Silva-Torres *et al.* 2009, Denis *et al.* 2012).

Embora *B. vulgaris* possua importância no agroecossistema algodoeiro no Brasil e especificamente na região Nordeste, são escassos os dados básicos referentes à ação deste parasitóide sobre o bicudo, tais como a influência da idade do parasitóide, a disponibilidade de hospedeiro e os eventos comportamentais envolvidos nesta interação parasitóide-hospedeiro. Deste modo, o presente trabalho objetivou fornecer dados que potencializem o uso do parasitóide *B. vulgaris* para o controle biológico do bicudo-do-algodoeiro, preenchendo lacunas ainda existentes no que se refere à localização, manipulação e aceitação do hospedeiro por este inimigo natural. Assim, buscou-se determinar a idade ideal, o ritmo diário de atividade de busca, o efeito da disponibilidade de hospedeiro na capacidade de parasitismo, e o comportamento de parasitismo de *B. vulgaris* sobre larvas do bicudo-do-algodoeiro.

Nesse contexto, foram testadas as seguintes hipóteses: i) a taxa de parasitismo de *B. vulgaris* é dependente da idade do parasitóide, ii) o ritmo de parasitismo é influenciado pela fotofase, de modo que exista um horário cujo parasitóide atinja seu pico de atividade, iii) o comportamento de parasitismo de *B. vulgaris* segue uma sequência inata de eventos comportamentais. Assim, espera-se que *B. vulgaris* aumente sua taxa de parasitismo quando submetido a uma maior quantidade de hospedeiro e que este parasitóide apresente uma diferença no tempo de busca e manipulação do hospedeiro ao longo da fotofase.

Material e Métodos

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Comportamento de Insetos do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e na Unidade de Controle Biológico da Embrapa Algodão – Campina Grande, PB.

Obtenção dos Insetos Hospedeiros. Larvas de *A. grandis*, terceiro instar, foram obtidas mediante a coleta de botões florais atacados pelo bicudo-do-algodoeiro e caídos ao solo. Os botões foram oriundos de plantas de algodoeiro BRS 7H de 45 dias de idade cultivadas em casa telada, no campus da UFRPE – Recife, PE, em vasos de 5L e previamente expostas ao bicudo-do-algodoeiro. Em seguida, os botões coletados foram conduzidos ao laboratório, onde foram examinados, por meio de estereomicroscópio (OLYMPUS SZ-40) para confirmação da presença da larva do bicudo, seu estágio de desenvolvimento e ausência de parasitismo e ou patogenicidade no hospedeiro.

Capacidade de Parasitismo de *Bracon vulgaris* de acordo com a Idade do Parasitoide e Densidade de Hospedeiro

Obtenção e manutenção dos parasitoides. Para obtenção dos parasitoides, estruturas reprodutivas, botões florais e maçãs do algodoeiro, foram coletadas no campo experimental da Embrapa, localizado no município de Barbalha, CE. Posteriormente o material coletado foi transportado ao Laboratório de Comportamento de Insetos-UFRPE e acondicionado em bandejas plásticas forradas com papel filtro e inserido em gaiolas de acrílico transparentes de 44 x 35 x 45 cm (altura x largura x comprimento) até a emergência dos parasitoides. Após a emergência, os parasitoides foram sexados e coletados com o auxílio de um sugador, em seguida foram formados os casais. Os casais dos parasitoides foram transferidos para potes plásticos de polipropileno transparente de 500 mL de volume (Prafesta®, Mairiporã, SP) com tela de náilon (2mm) na tampa para ventilação, sendo um casal por pote. Cada pote recebeu além dos parasitoides, recipientes

plásticos de 10 mL contendo algodão embebido em água para fornecer umidade, e como alimento, mel de abelha foi fornecido em filetes feitos com alfinete entomológico nº1 na parede interna do pote. Os potes foram acondicionados em câmara do tipo BOD regulada a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12h e $70 \pm 10\%$ de umidade relativa. Os insetos permaneceram nestas condições até sua utilização nos experimentos, sendo os machos removidos dos potes 24 horas após a montagem dos casais.

Capacidade de parasitismo de Bracon vulgaris. Botões florais coletados de plantas de algodoeiro BRS 7H com aproximadamente 45 dias de idade e infestadas com larvas de bicudo-do-algodoeiro, foram expostas ao parasitismo por *B. vulgaris* em laboratório. Com o intuito de acompanhar a resposta de parasitismo de *B. vulgaris* mediante o aumento da densidade do hospedeiro, larvas de *A. grandis* no terceiro instar de desenvolvimento foram ofertadas a cada fêmea do parasitoide. Assim, foram formados dois grupos do parasitoide, fêmeas com 5 e 10 dias após emergência, sendo que todas as fêmeas estavam previamente acasaladas e sem experiência de parasitismo. As fêmeas de *B. vulgaris* foram acondicionadas individualmente em potes plásticos de polipropileno transparente de 250 mL de volume (Prafesta[®], Mairiporã, SP) com abertura telada na tampa, fechada com náilon (malha de 2 mm) para ventilação. Recipientes plásticos de 10 mL contendo algodão embebido em água foram adicionados dentro dos potes para fornecer umidade aos parasitoides, e como alimento, mel de abelha foi fornecido em filetes na parede do pote. Para cada grupo de idade das fêmeas, foram testadas quatro densidades de hospedeiro sendo estas: 3,6, 12 e 24 larvas por pote, com 10 repetições por densidade, respectivamente. Potes contendo larvas e fêmeas do parasitoide permaneceram por um período de 48h em uma câmara do tipo BOD regulada a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12h e $70 \pm 10\%$ de umidade relativa. Para a determinação do número de larvas parasitadas, as larvas foram coletadas dos potes, acondicionadas individualmente em placas de Petri (35 mm x 10 mm) e mantidas na câmara BOD até emergência

dos adultos. Para determinação da capacidade de parasitismo do parasitoide, foi observado o número de larvas parasitadas, assim como contabilizado o número total de ovos depositados por hospedeiro, através de observação das larvas de bicudo em estereomicroscópio (OLYMPUS SZ-40) logo após o parasitismo. Por fim, foram examinadas as larvas eclodidas, pupação e emergência de adultos do parasitoide ou do bicudo. Dados foram submetidos à análise de variância utilizando o PROC ANOVA do SAS com subseqüentes teste de Tukey para a comparação das médias a 5% de probabilidade (SAS Institute 2000).

Comportamento de Parasitismo de *Bracon vulgaris* em Função da Fotofase. Devido ao término da safra de algodão e não disponibilidade de parasitoides oriundos do campo, fêmeas de *B. vulgaris* foram obtidas da criação estoque da Unidade de Controle Biológico da Embrapa Algodão- Campina Grande, PB. Nesta colônia, os parasitóides são mantidos em sala climatizada a $28 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12h, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e criados em larvas de *A. grandis* (3º instar). Posteriormente os insetos foram acondicionados em gaiolas de acrílico transparentes de 44 x 35 x 45 cm (altura x largura x comprimento), contendo recipientes plásticos de 10 mL com algodão embebido em água para fornecer umidade, e como alimento, foi fornecido mel de abelha em filetes na parede interna das gaiolas feitos com alfinete entomológico.

Inicialmente foi determinada a idade e o horário do dia de maior atividade de busca do hospedeiro pelo parasitóide ao longo da fotofase. Para tanto, fêmeas de *B. vulgaris* com cinco dias de idade previamente alimentadas, acasaladas e sem experiência de parasitismo foram submetidas à luz artificial nos diferentes intervalos de duração de fotofase após a escotofase em BOD, regulada a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12h e $70 \pm 10\%$ de umidade relativa. A exposição do parasitoide a diferentes intervalos de luz foi obtida logo após a escotofase, com a exposição das fêmeas a 1, 3, 6, 8 e 10h de luz, respectivamente. Após a exposição do regime específico de luz, 30 fêmeas do parasitoide foram individualizadas em recipientes de vidro de fundo chato (10 cm

de altura x 2 cm de diâmetro) contendo um botão floral infestado com uma larva de 3º instar do bicudo. As fêmeas dos diferentes grupos (regime de luz) foram observadas até a ocorrência da localização do hospedeiro, inserção do ovipositor e o parasitismo efetivo, o qual foi determinado através da avaliação da larva por meio de estereomicroscópio (OLYMPUS SZ-40), sendo esta classificada como parasitada quando contendo ovos do parasitoides. Os dados referentes ao número de larvas parasitadas foram submetidos ao PROC FREQ do SAS para comparação entre os diferentes grupos de fêmeas para determinar qual o período do dia de maior atividade de parasitismo mediante teste de χ^2 (SAS Institute 2000).

Etograma de *Bracon vulgaris* para Localização e Parasitismo de Larvas de *Anthonomus grandis*. Para elaboração e descrição do repertório comportamental de *B. vulgaris* ao encontrar e parasitar o hospedeiro, foi utilizado o método de todas as ocorrências, “*ad libitum*” (Yamamoto & Volpato 2007). Assim, fêmeas com idade com cinco dias, sendo estas alimentadas, acasaladas e sem experiência de parasitismo, foram obtidas da criação estoque da Unidade de Controle Biológico da Embrapa Algodão – Campina Grande, PB, e empregadas nas observações. Com base nos resultados do experimento anterior, e no horário da fotofase com maior atividade de parasitismo, as fêmeas do parasitóide foram individualizadas em tubos de vidro de fundo chato (10 cm de altura x 2 cm de diâmetro) contendo um botão floral infestado com uma larva de bicudo de terceiro instar, um chumaço de algodão embebido em água para manter a umidade do ambiente, e como alimento, um filete de mel na parede interna do tubo de vidro. Os tubos foram fechados com chumaço de algodão de modo a se permitir a ventilação no recipiente. Então, as fêmeas do parasitóide foram monitoradas por um período contínuo desde a sua liberação até a localização, parasitismo e abandono do hospedeiro. Para tanto, 30 fêmeas do parasitoide foram acompanhadas individualmente para a definição das principais categorias e atos comportamentais de *B. vulgaris* sobre o hospedeiro. Posteriormente, também foi observado os eventos

comportamentais, referente ao parasitismo por *B. vulgaris*, nos demais intervalos de exposição à luz avaliados anteriormente, para verificar se houve diferença significativa na sequência e ou número de eventos envolvidos no comportamento de parasitismo de *B.vulgaris* sobre larvas do bicudo-do-algodoeiro. Desta forma, 30 fêmeas foram utilizadas em cada fotoperíodo avaliado e observações procederam de forma contínua e semelhante às observações iniciais deste experimento.

Resultados

Capacidade de Parasitismo de *Bracon vulgaris* de acordo com a Idade do Parasitoide e Densidade de Hospedeiro. O número de larvas parasitadas foi significativamente diferente em função da idade do parasitoide ($F_{1, 82} = 29,12$; $P < 0,0001$), sendo que fêmeas com cinco dias de idade apresentaram maior taxa de parasitismo quando comparadas às de 10 dias da densidade (média 5d= $2,53 \pm 0,23$ larvas; 10d= $1,44 \pm 0,09$ larvas). Além disso, houve diferença no parasitismo em função da densidade de larvas ($F_{3, 82} = 19,01$; $P < 0,0001$) e da interação destes fatores ($F_{3, 82}=10,03$, $P < 0,0001$).

Fêmeas com cinco dias de idade parasitaram significativamente mais nas densidade de seis e 12 larvas ($F_{3, 41} = 21,55$; $P < 0,0001$), em comparação as densidades de três e 24 larvas ofertadas (Tabela 1). No entanto não houve efeito da densidade do hospedeiro para fêmeas de 10 dias de idade ($F_{3, 41} = 2,23$; $P = 0,0995$), onde a oferta de larvas em diferentes densidades não resultou em variação significativa do parasitismo (Tabela 1), já que estas não foram capazes de responder ao aumento no número de hospedeiro ofertado.

Quando comparamos o número de larvas parasitadas em função da idade do parasitoide dentro de cada densidade ofertada, observamos que não houve efeito da idade no parasitismo nas densidades de três e 24 larvas ($P > 0.05$). No entanto, houve efeito da idade do parasitoide para as

densidades de seis larvas ($F_{1, 18} = 16,44$; $P = 0,0007$) e 12 larvas ($F_{1, 18} = 42,39$; $P < 0,0001$), sendo que fêmeas de cinco dias de idade parasitaram significativamente mais larvas em comparação às fêmeas de 10 dias de idade (Tabela 1).

O número de ovos depositados se manteve equivalente ao número de larvas parasitadas. Assim, o número de ovos depositados foi significativamente diferente em função da idade do parasitoide ($F_{1, 82} = 9,53$; $P = 0,0028$), sendo que fêmeas com cinco dias de idade depositaram mais ovos quando comparadas às de 10 dias da densidade (média \pm EP; 5d = $4,8 \pm 0,54$ ovos; 10d = $3,02 \pm 0,25$ ovos). Além disso, houve diferença no número de ovos em função da densidade de larvas ($F_{3, 82} = 13,30$; $P < 0,0001$) e da interação destes fatores ($F_{3, 82} = 4,04$; $P < 0,0098$).

De forma semelhante ao parasitismo, fêmeas com cinco dias de idade depositaram significativamente mais ovos nas densidades de seis e 12 larvas ($F_{3, 41} = 13,25$, $P < 0,0001$), em comparação as densidades de três e 24 larvas ofertadas (Tabela 1). No entanto não houve efeito da densidade do hospedeiro no número de ovos depositados por fêmeas de 10 dias de idade ($F_{3, 41} = 2,26$; $P = 0,0956$).

Comparando-se o número de ovos em função da idade do parasitoide dentro de cada densidade ofertada, observamos que não houve efeito da idade no número de ovos depositados nas densidades de três larvas ($P = 0,9844$) e 24 larvas ($P = 0,9967$). No entanto, houve efeito da idade do parasitoide no número de ovos depositados para as densidades de seis larvas ($F_{1, 18} = 8,32$, $P = 0,0099$) e 12 larvas ($F_{1, 18} = 16,98$; $P < 0,0006$), sendo que fêmeas de cinco dias de idade depositaram significativamente mais ovos em comparação às fêmeas de 10 dias de idade (Tabela 1).

Em relação às pupas, houve diferença significativa comparando-se as densidades do hospedeiro, quando foram parasitados por fêmeas de cinco dias de idade ($F_{3, 41} = 14,08$; $P < 0,0001$) e fêmeas de 10 dias de idade ($F_{3, 41} = 4,78$; $P = 0,006$) (Tabela 1). Além disso, quando

comparamos as idades de cinco e 10 dias, não houve diferença no número de pupas para as densidades extremas (3L: $F_{1, 28} = 0,08$; $P = 0,782$; 24L: $F_{1, 18} = 0,91$; $P = 0,35$). No entanto, observou-se uma diferença significativa entre o número de pupas viáveis entre as idades para as densidades intermediárias do hospedeiro (6L: $F_{1, 18} = 6,83$; $P = 0,0176$; 12L: $F_{1, 18} = 15,65$; $P = 0,0009$). Assim, o número de pupas viáveis nas densidades intermediárias de seis e 12 larvas foi aproximadamente o dobro para parasitoides com cinco dias de idade.

Para adultos emergidos, houve maior taxa de emergência nas densidades de seis ($F_{1, 18} = 2,72$; $P < 0,1167$) e 12 ($F_{1, 18} = 4,37$; $P < 0,0510$) larvas, tanto para fêmeas com cinco ($F_{3, 41} = 6,74$; $P < 0,0008$), quanto para às de 10 dias de idade ($F_{3, 41} = 6,57$; $P < 0,0010$).

Comportamento de Parasitismo de *Bracon vulgaris* em Função da Fotofase. O tempo após exposição à luz afetou a atividade de parasitismo de *B. vulgaris*, havendo diferença significativa no tempo para localização do hospedeiro ao longo da fotofase ($\chi^2_4 = 120,6$; $P < 0,0001$). O menor tempo para localização do hospedeiro se deu após 8h de exposição à luz onde os parasitoides se mostraram mais ativos em busca do hospedeiro (Tabela 2). Após esse intervalo de tempo a ação de parasitismo decresceu proporcionalmente ao aumento de horas. Em contrapartida, não houve diferença no tempo de parasitismo propriamente dito ($\chi^2_4 = 4,77$; $P = 0,311$), ou seja, inserção do ovipositor e deposição de ovos, após a localização do hospedeiro, demonstrando que mesmo demorando mais para encontrá-lo, ao fazê-lo, o parasitoide ainda é capaz de ovipositar normalmente.

Etograma de *Bracon vulgaris* para Localização e Parasitismo de Larvas *Anthonomus grandis*. Foram observados os eventos comportamentais referentes à exploração do hospedeiro e oviposição. Ao todo, foram descritos seis categorias comportamentais envolvidas no comportamento de parasitismo de *B. vulgaris* sobre larvas do bicudo-do-algodoeiro (Fig.1):

Estática/parada: permanece imóvel (inativa) ao ser liberada (Fig. 1A).

Deslocamento/ busca: o parasitóide caminha, ou realiza voos curtos, e explora o local, podendo haver movimento das antenas enquanto caminha (Fig. 1B).

Autolimpeza: limpa partes do corpo (asas e antenas) usando as pernas e ou mandíbulas. As fêmeas de *B. vulgaris* se limpam executando, completa ou parcialmente, a seguinte sequência: primeiro utilizam as pernas anteriores para limpar antenas e cabeça (Fig. 1C), esfregando-as contra essas partes do corpo. Em seguida, utiliza o terceiro par de pernas contra as asas e gáster (Fig. 1C'), e por fim, o ovipositor (Fig. 1C").

Sondagem/reconhecimento: insere o ovipositor na estrutura vegetal, botão floral, dentro do qual se encontra a larva do bicudo, e examina a estrutura internamente para localização do hospedeiro através de movimentos com o ovipositor e antenas (tamborilamento). Pode ocorrer apenas uma inserção do ovipositor ou mais, até que se encontre a localização precisa do hospedeiro (Fig. 1D).

Aceite e oviposição: o parasitóide inclina o abdome para frente e insere ovipositor permanecendo imóvel enquanto realiza a deposição da toxina, utilizada na paralização do hospedeiro, e do(s) ovo(s) (Fig. 1E).

Repouso: Após realizar o parasitismo, a fêmea permanece imóvel sobre o botão floral. Este comportamento cessa quando a fêmea retorna ao caminhar/busca (Fig. 1F).

O tempo total máximo que uma fêmea levou para localizar e ovipositar a larva do bicudo foi de 120 minutos, enquanto o tempo mínimo foi de 38 minutos. No entanto, o tempo médio observado do comportamento de parasitismo (da liberação da fêmea até oviposição da larva do bicudo) foi de 41,6 minutos. Deste total de tempo observado, houve predomínio da categoria aceite e oviposição, seguido por deslocamento/ busca, sondagem/ reconhecimento, repouso, estática/parada, e auto limpeza, respectivamente (Tabela 3).

O repertório comportamental, assim como a sequência dos eventos não variou em todos os fotoperíodos avaliados, embora tenham existido diferenças significativas no tempo gasto para localizar o hospedeiro ($\chi^2_4 = 120,6$; $P < 0,0001$).

Discussão

A idade do parasitoide é um fator crucial no sucesso do parasitismo. Segundo Silva-Torres *et al.* (2009) o potencial de ação do parasitoide pode ser mais ou menos favorecido com o aumento de sua idade. Assim, a maior taxa de parasitismo obtida em nosso estudo com fêmeas com cinco dias de idade, em comparação com as de 10 dias de idade, indicam que *B. vulgaris* diminui sua capacidade de parasitismo com o aumento da idade. Presumivelmente, esse acontecimento é resultante de implicações fisiológicas do parasitoide, já que de acordo com Jervis *et al.* (2008) açúcares, lipídeos e proteínas são nutrientes fundamentais utilizados na reprodução (produção de ovos) e na realização das funções somáticas do parasitoide (manutenção e locomoção), e cuja concentração está diretamente dependente do metabolismo do parasitoide de modo que tendem a declinar em conformidade com a longevidade do inseto. Assim, se deduz que fêmeas de *B. vulgaris* com 10 dias de idade possuem uma menor quantidade desses nutrientes, sendo justificável uma menor taxa de parasitismo obtida por este grupo, visto que estas fêmeas, devido ao envelhecimento fisiológico, devem possuir, por exemplo, menor teor de açúcares. De acordo Azzouz *et al.* (2004), este recurso, que interfere no sucesso do parasitismo, é disputado entre a ação de parasitar (comportamento de busca pelo hospedeiro, produção de veneno e maturação dos ovos) e os gastos de energia necessários à manutenção e locomoção do parasitoide, já que, como afirma Wu *et al.* (2008) é energeticamente caro ao parasitoide realizar, por exemplo, o comportamento de voo.

Ainda segundo Dossi & Cónsoli (2010) em algumas espécies de parasitoides o líquido seminal, provenientes dos machos e recebido pelas fêmeas durante a cópula, atua como reserva energética para sustentação das atividades metabólicas e do desenvolvimento embrionário, como a síntese de vitelogenina e maturação dos ovários, podendo assim influenciar na taxa de parasitismo. Deste modo, como os outros recursos energéticos, a quantidade de líquido seminal nas fêmeas de 10 dias de idade também estaria em menor quantidade, visto que as fêmeas de ambos os grupos (cinco e 10 dias de idade) foram isoladas dos machos após 24 horas de exposição para acasalamento, portanto não havendo possibilidade de receber uma nova inseminação.

Como esperado, a disponibilidade de hospedeiro afetou a atividade de parasitismo do inimigo natural (Faria *et al.* 2000, Makundi & Seriah 2005, Matadha *et al.* 2005, Faria *et al.* 2008). Fêmeas de *B.vulgaris* com cinco dias de idade responderam positivamente ao número crescente de hospedeiros ofertados até a densidade de 12 larvas por parasitoide, em densidades superiores, houve redução no número de larvas parasitadas caracterizando a estabilização do parasitismo mesmo com o aumento no número de hospedeiros disponíveis. De acordo com Sampaio *et al.* (2001) parasitóides intensificam a seleção de hospedeiros quando expostos a uma maior quantidade de opções, assim podemos supor que as fêmeas de *B.vulgaris* na maior densidade testada, apresentou maior comportamento de busca e seleção dos hospedeiros aumentando o número de larvas avaliadas, no entanto, este esforço não foi convertido totalmente em parasitismo o que resultou em um maior investimento de tempo na seleção dos hospedeiros em detrimento de uma maior quantidade de hospedeiros parasitados.

Nas densidades de três e 24 hospedeiros, as fêmeas de *B. vulgaris* não diferiram estatisticamente quanto ao número de larvas parasitadas e ovos depositados, tal resultado já esperado por se tratar de parâmetros biológicos correlacionados, assim como o número de pupas

viáveis e adultos emergidos. Na menor densidade testada, possivelmente, este acontecimento é resultante de uma estratégia da fêmea para evitar o superparasitismo, visto que este poderia afetar o desenvolvimento da prole devido à competição intraespecífica pelo recurso alimentar (Hohmann & Luck 2004, Varaldi *et al.* 2005, Chen *et al.* 2006). Assim as fêmeas de *B. vulgaris*, após avaliar as condições fisiológicas da larva, depositaram o número de ovos que julgou viável a cada hospedeiro receber ($2,6 \pm 0,49$ ovos/48h), tal resultado é similar ao encontrado por Carvalho *et al.* (2002) que ao estudar o parasitismo de *B.vulgaris* sobre *A. grandis*, verificou uma média de $1,2 (\pm 0,21)$ ovos/24h.

O fotoperíodo e a temperatura são importantes fatores abióticos que afetam o desempenho dos parasitoides. Temperaturas mais elevadas e dias mais longos são conhecidos por encurtar a longevidade dos insetos, reduzir sua fecundidade e ou alterar seu comportamento em prol do favorecimento de seu metabolismo (Sagarra *et al.* 2000, Lariou *et al.* 2007, Kovac *et al.* 2009). Assim, baseados em estudos anteriores que investigaram o efeito da temperatura na reprodução de *B. vulgaris*, utilizamos a temperatura de 25°C para conduzir nossas observações, visto que nesta temperatura ocorre a melhor interação entre a velocidade de desenvolvimento do parasitoide e um maior número de descendentes produzidos (Ramalho *et al.* 2009b).

O melhor tempo de exposição, aquele em *B.vulgaris* levou menor tempo para localizar o hospedeiro, ocorreu 8h após exposição à luz, quando os parasitóides se mostraram mais ativos em busca do hospedeiro, confirmando assim, o parasitismo diurno como verificado em outros himenópteros parasitoides (Quicke 1997, Lewis & Whitfield 1999, Tunçbilek & Ayvaz 2003). Este período, naturalmente de maior luminosidade e maior temperatura que os demais devido ao calor solar, favorece a movimentação do parasitoide, pois como mencionam Kovac *et al.* (2009) essas condições ambientais, estimulam a atividade dos músculos do voo diminuindo assim, os custos energéticos com a termorregulação quando comparados com o início da manhã e fim da

tarde, onde as condições climáticas não são tão favoráveis em comparação ao início da tarde. Além disso, é possível que durante a fotofase também seja o período de maior atividade do bicudo-do-algodoeiro, o que facilitaria sua localização pelo parasitoide através da percepção de vibrações proveniente da locomoção e alimentação do hospedeiro (Dweck *et al.* 2008, Wang *et al.* 2010, Ahmed *et al.* 2013), no entanto esta informação não pôde ser verificada no nosso estudo já que se trata de um herbívoro que se desenvolve protegido no interior da estrutura vegetal.

Como afirmam Mehrnejad & Copland (2006) e Rukmowati-Brotodjojo & Walter (2006), além das informações acerca da influência dos fatores abióticos e biológicos na ação de parasitismo de inimigos naturais, as observações acerca do seu comportamento de parasitismo são extremamente importantes em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) por fornecer dados que viabilizem tanto a criação massal desses agentes de controle biológico quanto informações que maximizem a liberação inundativa desses parasitoides. Para tanto, os etogramas ou repertórios comportamentais são ferramentas básicas para melhor compreender e avaliar os eventos comportamentais, visto que retratam de forma detalhada os comportamentos observados (Del-Claro *et al.* 2002).

No comportamento de parasitismo de *B.vulgaris* sobre *A. grandis* foram observados apenas seis categorias comportamentais. Este número reduzido de eventos é justificável por se tratar especificadamente do encontro e manipulação do hospedeiro pelo parasitoide, não envolvendo, portanto, a observação e descrição dos numerosos e estereotipados comportamentos de cópula, comunicação e alimentação como identificados em outras espécies de himenópteros (Sinzato & Prezoto 2000, Zara & Balestieri 2000, Del-Claro *et al.* 2002, Torres *et al.* 2009). Mills & Kuhlmann (2004) ao estudar o comportamento de parasitismo de *Trichogramma platneri* (Nagarkatti) e *Trichogramma pretiosum* (Riley) obtiveram a mesma quantidade de eventos

comportamentais que os encontrados em nossa pesquisa sendo estes similares aos que observamos em *B.vulgaris*.

O comportamento de parasitismo de *B. vulgaris* pode ser dividido em duas etapas: a primeira consiste em localizar a estrutura reprodutiva do algodoeiro onde a larva de *A. grandis* se encontra acondicionada no interior, a segunda, na localização exata do hospedeiro para posterior parasitismo. Como afirmam Xiaoyi & Zhongqi (2008), Dweck (2009) e Li *et al.* (2011), nessas etapas são imprescindíveis as estruturas sensoriais (antenas e ovipositor), visto que esses componentes atuam de forma conjunta garantindo ao parasitoide o sucesso do parasitismo, seja captando os voláteis da planta atacada ou percebendo os sinais provindos do hospedeiro, como fezes e outras pistas odoríferas.

Dentre os eventos comportamentais observados em *B.vulgaris*, o maior tempo investido na categoria aceite e oviposição (\cong 26,83 minutos) já era esperado por se tratar de um comportamento composto por várias etapas interdependentes onde o parasitoide, através da interação entre as subunidades que compõem seu ovipositor, perfura o botão floral e o tegumento do hospedeiro, realiza a deposição do produto de secreção de seu aparato de veneno e posteriormente a deposição dos ovos (Brown & Anderson 1998, Nénon *et al.* 1997, Moreau *et al.* 2009, Shah *et al.* 2012), sendo assim um processo que demanda tempo visto a complexidade do evento (Canale & Raspi 2000, Goubault *et al.* 2011).

A avaliação dos nossos resultados, além de fornecer dados que potencializam o uso de *B.vulgaris* em programas de controle biológico, como a melhor idade e horário para liberação em campo do parasitoide, contribuiu também para consolidar a importância da associação de estudos fisiológicos e comportamentais. Parasitoides nas idades testadas foram mais afetados por fatores distintos ora fisiológicos, ora comportamentais. De modo que fêmeas de 10 dias de idade não responderam significativamente ao aumento na densidade de hospedeiros ofertados, sendo esta

uma resultante do envelhecimento fisiológico e conseqüentemente do desgaste das reservas energéticas que lhes são favoráveis ao parasitismo. Por outro lado, as fêmeas com cinco dias, foram influenciadas por comportamentos estereotipados, visto que em algumas densidades (três e 24 larvas) não ocorreu aumento na taxa de parasitismo. É provável que na menor densidade ofertada, *B. vulgaris* evitou o superparasitismo, enquanto na maior densidade ofertada, o tempo investido na seleção dos muitos hospedeiros encontrados (tempo de manipulação do hospedeiro) não foi suficiente e totalmente convertido em parasitismo. Logo, é importante conhecer as limitações comportamentais e biológicas de parasitoides para melhor adequar as estratégias de seu uso, seja pela conservação desses inimigos naturais ou utilização dos mesmos de forma aplicada.

Agradecimentos

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo ao primeiro autor, às chefias das unidades da EMBRAPA Algodão em Campina Grande-PB e Barbalha-CE pelo suporte no desenvolvimento da pesquisa e ao R.R. Costa pela elaboração da figura ao retratar o comportamento de parasitismo de *B. vulgaris*.

Literatura citada

- Ahmed, T., T. Zhang, K. He, S. Bai & Z. Wang. 2013.** Sense organs on the ovipositor of *Macrocentrus cingulum* Brischke (Hymenoptera: Braconidae); their probable role in stinging, oviposition and host selection process. *J. Asia Pacific Entomol.* 16: 343-348.
- Alves, A.P. & R.H. Serikawa. 2006.** Controle químico de pragas do algodoeiro. *Rev. Bras. Ol. Fibras.* 10: 1197-1209.
- Amalin, D.M., J.E. Peña & R.E. Ducan. 2005.** Effects of host age, female parasitoid age, and host plant on parasitism of *Ceratogramma etiennei* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Fla. Entomol.* 88: 77-82.

- Araújo, L.H.A., A.A. Guerra & E.A. Herrera. 2000.** Contenido de los nutrientes básicos en *Catolaccus grandis* Burks criados sobre larvas del picudo del algodón. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 35: 1701-1707.
- Azzouz, H., P. Giordanengo, F.L. Wackers & L. Kaiser. 2004.** Effects of feeding frequency and sugar concentration on behavior and longevity of the adult aphid parasitoid: *Aphidius ervi* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae). *Biol. Control* 31: 445–452.
- Brown, P.E. & M. Anderson. 1998.** Morphology and ultrastructure of sense organs on the ovipositor of *Trybliographa rapae*, a parasitoid of the cabbage root fly. *J. Insect Physiol.* 44: 1017–1025.
- Busoli, A.C., F.F. Pereira, V.A.G. López, J.J. soares, R.S. Melo & C.A. Almeida. 2004.** Preferência alimentar do bicudo-do-algodoeiro por frutos de diferentes cultivares e idades. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 39: 101-104.
- Canale, A. & A. Raspi. 2000.** Host location and oviposition behaviour in *Opius concolor* (Hymenoptera: Braconidae). *Entomol. Prob.* 31: 25-32.
- Carvalho, S.L., W.D. Fernandes, M.E.M. Habib & P.N. Patel. 2002.** Preferência de *Bracon vulgaris* e adequações de alguns hospedeiros em condições de laboratório. *Rev. Agric.* 77: 39 – 56.
- Carvalho, S.L., W.D. Fernandes, P.N. Patel & M.E.M. Habib. 2000.** Respostas comparativas de *Bracon vulgaris* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae) a diferentes macerados de plantas de algodão, em dois modos de exposição. *Rev. Agric.* 75: 41-53.
- Chen, W.L., R.A. Leopold & M.O. Harris. 2006.** Parasitism of the glassy-winged sharpshooter, *Homalodisca coagulata* (Homoptera: Cicadellidae): Functional response and superparasitism by *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae). *Biol. Control* 37: 119-129.
- Cooperband, M.F., R.W. Matthews & S.B. Vinson. 2003.** Factors affecting the reproductive biology of *Melittobia digitata* and failure to meet the sex ratio predictions of Hamilton's local mate competition theory. *Entomol. Exp. Appl.* 109: 1-12.
- Dweck, H.K.M. 2009.** Antennal sensory receptors of *Pteromalus puparum* female (Hymenoptera: Pteromalidae), a gregarious pupal endoparasitoid of *Pieris rapae*. *Micron* 40: 769–774.
- Dweck, H.K.M., N.S. Gadallah & E. Darwish. 2008.** Structure and sensory equipment of the ovipositor of *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae). *Micron* 39: 1255–1261.
- Dossi, F.A.C. & F.L. Cònsoli. 2010.** Desenvolvimento ovariano e influência da cópula na maturação dos ovários de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). *Neotrop. Entomol.* 39: 414-419.

- Del-Claro, K., J.C. Santos & A.D. Souza Júnior. 2002.** Etograma da formiga arborícola *Cephalotes pusillus* (Klug, 1824) (Formicidae: Myrmicinae). *Rev. Etol.* 4: 31-40.
- Denis, D., J.S. Pierre, J.V. Baaren & J.J.M. van Alphen. 2012.** Physiological adaptations to climate change in pro-ovigenic parasitoids. *J. Theor. Biol.* 309: 67-77.
- Evangelista Júnior, W.S., J.S. Zanuncio Júnior & J.C. Zanuncio. 2006.** Controle biológico de artrópodes pragas do algodoeiro com predadores e parasitóides. *Rev. Bras. Ol. Fibras.* 10: 1147-1165.
- Faria, C.A., J.B. Torres & A.M.I. Farias. 2000.** Resposta funcional de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitando ovos de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae): efeito da idade do hospedeiro. *An. Soc. Entomol. Brasil* 29: 85-93.
- Faria, C.A., J.B. Torres, A.M.V. Fernandes & A.M.I. Farias. 2008.** Parasitism of *Tuta absoluta* in tomato plants by *Trichogramma pretiosum* Riley in response to host density and plant structures. *Cienc. Rural* 38: 1504-1509.
- Flinn, P.W. & D.W. Hagstrum. 2002.** Temperature-mediated functional response of *Theocolax elegans* (Hymenoptera: Pteromalidae) parasitizing *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). *J. Stored Prod. Res.* 38: 185-190.
- Fonseca, P.R.B., I.S. Lima Júnior, M.F. Soria, C. Kodama & P.E. Degrande. 2011.** Inseticidas Neonicotinóides no controle do bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* (Boheman, 1843) (Coleoptera: Curculionidae) e a falha de controle do endossulfan. *Arq. Inst. Biol.* 78: 545-551.
- Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E. Berti Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** *Entomologia Agrícola*. São Paulo, FEALQ/USP, 920p.
- Goubault, M., A.M. Cortesero, C. Paty, J. Fourrier, S. Dourlot & A. LeRalec. 2011.** Abdominal sensory equipment involved in external host discrimination in a solitary parasitoid wasp. *Micros. Res. Tech.* 74:1145–1153.
- Grigolli, J.F.J., L.A. Souza, D.F. Fraga, M. Funichello & A.C. Busoli. 2013.** Within plant distribution of *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae) feeding and oviposition damages in cotton cultivars. *Ciênc. Agrotec.* 36: 78-84.
- Gullan, P.J. & P.S. Cranston. 2008.** *Os insetos: um resumo de entomologia*. São Paulo, Roca Editora, 440p.
- Gunduz, E.A. & A. Gulel. 2005.** Investigation of fecundity and sex ratio in the parasitoid *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) in relation to parasitoid age. *Turk. J. Zool.* 29: 291-294

- Hohmann, C.L. & R.F. Luck. 2004.** Effect of host availability and egg load in *Trichogramma platneri* Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and its consequences on progeny quality. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 47: 413-422.
- Honda, T. & Y. Kainoh. 1998.** Age-related fecundity and learning ability of the egg-larval parasitoid *Ascogaster reticulatus* Watanabe (Hymenoptera: Braconidae). *Biol. Control* 13: 177-181.
- Harbinson, J.L., J.C. Legaspi, S.L. Fabritius, R.R. Saldana, B.C. Legaspi Jr & A. Enkegaard. 2001.** Effects of age and host number on reproductive biology of *Allorhogas pyralophagus* (Hymenoptera: Braconidae) attacking the Mexican rice Borer (Lepidoptera: Pyralidae). *Environ. Entomol.* 30: 129-135.
- Jervis, M.A., J. Ellers & J.A. Harvey. 2008.** Resource acquisition, allocation, and utilization in parasitoid reproductive strategies. *Annu. Rev. Entomol.* 53: 361-85.
- Kovac, H., A. Stabentheiner & S. Schmaranzer. 2009.** Thermoregulation of water foraging wasps (*Vespula vulgaris* and *Polistes dominulus*). *J. Insect Physiol.* 55 959-966.
- Larious, G.L.B., K. Ohno & F. Fukuhara. 2007.** Effects of photoperiod and temperature on preimaginal development and summer diapause of *Chrysocharis pubicornis* (Zetterstedt) (Hymenoptera: Eulophidae), a pupal parasitoid of leafminers (Diptera: Agromyzidae). *Appl. Entomol. Zool.* 42: 189-197.
- Lewis, C.N. & J.B. Whitfield. 1999.** Braconid wasp (Hymenoptera: Braconidae) diversity in forest plots under different silvicultural methods. *Environ. Entomol.* 28: 986-997.
- Li, X., D. Lu, X. Liu, Q. Zhang. & X. Zhou. 2011.** Ultrastructural characterization of olfactory sensilla and immunolocalization of odorant binding and chemosensory proteins from an ectoparasitoid *Scleroderma guani* (Hymenoptera: Bethyridae). *Int. J. Biol. Sci.* 7: 848-868.
- Makundi, R.H. & J.E. Sariah. 2005.** A functional response of braconid parasitoids of the bean stem maggot, *Ophiomyia spencerella* (Diptera, Agromyzidae), in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in Tanzania. *J. Pl. Dis. Prot.* 112: 478-484.
- Matadha, D., G.C. Hamilton, J.H. Lashomb & J. Zhang. 2005.** Ovipositional preferences and functional response of parasitoids of euonymus scale, *Unaspis euonymi* (Comstock) and San Jose scale, *Quadraspidiotus perniciosus* (Comstock) (Homoptera: Diaspididae). *Biol. Control* 32: 337-347.
- Mehrnejad, M.R. & M.J.W. Copland. 2006.** Host-stage selection and oviposition behavior of *Psyllaephagus pistaciae*, parasitoid of the common pistachio psylla *Agonoscena pistaciae*. *Biol. Control* 36: 139-146.
- Mills, N.J. & U. Kuhlmann. 2004.** Oviposition behavior of *Trichogramma platneri* Nagarkatti and *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in patches of single and clustered host eggs. *Biol. Control* 30: 42-51.

- Moreau, S.J.M., S. Vinchon, A. Cherqui & G. Prévost. 2009.** Components of *Asobara* venoms and their effects on hosts. *Adv. Insect Physiol.* 70: 217-232.
- Ne´non, J.P., N. Kacem & J. LeLannic. 1997.** Structure, sensory equipment, and secretions of the ovipositor in a giant species of Hymenoptera: *Megarhyssa atrata* F. (Ichneumonidae: Pimplinae). *Can. Entomol.* 129:789–799.
- Pereira, F.P., J.C. Zanuncio, J.E. Serrão, H.O. Oliveira, K. Fávero & E.L.V. Grance. 2009.** Progenie de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando pupas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera:Bombycidae) de diferentes idades. *Neotrop. Entomol.* 38: 660-664.
- Persad, A.B. & M.A. Hoy. 2003.** Manipulation of female parasitoid age enhances laboratory culture of *Lysiphlebus testaceipes* (Hymenoptera: Aphidiidae) reared on *Toxoptera citricida* (homoptera: aphididae). *Fla. Entomol.* 86: 429-436.
- Quicke, D.L.J. 1997.** Parasitic Wasps. Cambridge, Chapman & Hall, 470p.
- Ramalho, F.S., A.M.C Silva, J.C. Zanuncio & J.E. Serrão. 2007.** Competition between *Catolaccus grandis* (Hymenoptera:Pteromalidae) and *Bracon vulgaris* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoids of the boll weevil. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 50: 371 – 378.
- Ramalho, F.S. & J.M. Dias. 2003.** Efeitos de hospedeiros alternativos na biologia de *Catolaccus grandis* (Burks) (Hymenoptera: Pteromalidae), parasitóide de *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae). *Neotrop. Entomol.* 32: 305-310.
- Ramalho, F.S. & P.A. Wanderley. 1996.** Ecology and management of cotton boll weevil in south America cotton. *Am. Entomol.* 42: 41- 47.
- Ramalho, F.S., Wanderley, P.A., Malaquias, J.B., Rodrigues, K.C.V., Souza, J.V. S. & Zanuncio, J.C. 2009 a.** Temperature-dependent development rates of *Bracon vulgaris*, a parasitoid of boll weevil. *Phytoparasitica* 37: 17-25.
- Ramalho, F.S., P.A. Wanderley, J.B. Malaquias, J.V.S. Souza, K.C.V. Rodrigues & J.C. Zanuncio. 2009b.** Effect of temperature on the reproduction of *Bracon vulgaris* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of the cotton boll weevil. *Entomol. News* 120: 476-487.
- Rukmowati-Brotodjojo, R.R. & G.H. Walter. 2006.** Oviposition and reproductive performance of a generalist parasitoid (*Trichogramma pretiosum*) exposed to host species that differ in their physical characteristics. *Biol. Control* 39: 300-312.
- Sagarra, L.A., C. Vicent, N.F. Peters & R.K. Stewart. 2000.** Effect of host density, temperature, and photoperiod on the fitness of *Anagyrus kamali*, a parasitoid of the hibiscus mealybug *Maconellicoccus hirsutus*. *Entomol. Exp. Appl.* 96: 141–147.

- Sampaio, M.V., V.H.P. Bueno & R. Pérez-Maluf. 2001.** Parasitismo de *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae) em diferentes densidades de *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). Neotrop. Entomol. 30: 81-87.
- Santos, R.C., L.H. Marcellino, R.G. Monnerat & E.S. Gander. 2003.** Mechanical damage in cotton buds caused by the boll weevil. Pesqu. Agropecu. Bras. 38: 1351-1356.
- SAS Institute. 2001.** SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Shah, A.Z., A. Blackwell & S.F. Hubbard. 2012.** Ultramorphology of the ovipositor of *Venturia canescens* (Gravenhorst) and possible mechanisms for oviposition. Int. J. Agric. Biol. 14: 908-914.
- Silva-Torres, C.S.A., R. Barros & J.B. Torres. 2009.** Efeito da idade, fotoperíodo e disponibilidade de hospedeiro no comportamento de parasitismo de *Oomyzus sokolowskii* Kurdjumov (Hymenoptera: Eulophidae). Neotrop. Entomol. 38: 512-519.
- Sinzato, D.M.S. & F. Prezoto. 2000.** Aspectos comportamentais de fêmeas dominantes e subordinadas de *Polistes versicolor* Olivier, 1791 (Hymenoptera: Vespidae) em colônias na fase de fundação. Rev. Etologia 2: 121-127.
- Toscano, L.C. & S.L. Carvalho. 2000.** Parasitismo em *Anthonomus grandis* Boheman, 1843 por *Bracon vulgaris*, Ashmead em cultura de algodão sem medidas de controle na região de Ilha Solteira - SP. Braz. J. Ecol. 12: 123 -127.
- Torres, J.B. 2008.** Controle de pragas do algodoeiro: expectativas de mudanças. Ciênc. Agríc. 8: 37-49.
- Torres, V.O., W.F. Antonialli-Júnior & E. Giannotti. 2009.** Divisão de trabalho em colônias da vespa social neotropical *Polistes canadensis canadensis* Linnaeus (Hymenoptera, Vespidae). Rev. Bras. Entomol. 53: 593-599.
- Tunçbilek, A.S. & A. Ayvaz. 2003.** Influences of host age, sex ratio, population density, and photoperiod on parasitism by *Trichogramma evanescens* Westw. (Hymenoptera: Trichogrammatidae). J. Pest Sci. 76: 176-180.
- Varaldi, J., P. Foillet, M. Boulétreau & F. Fleury. 2005.** Superparasitism acceptance and patch-leaving mechanisms in parasitoids: a comparison between two sympatric wasps. Anim. Behav. 69: 1227-1234.
- Xiaoyi, W. & Y. Zhongqi. 2008.** Behavioral mechanisms of parasitic wasps for searching concealed insect hosts. Acta Ecol. Sin. 28: 1257-1269.
- Zara, F.J. & J.B.P. Balestieri. 2000.** Behavioural catalogue of *Polistes versicolor* Oliver (Vespidae: Polistinae) post-emergence colonies. Naturalia 25: 301-319.

- Wang, X., Z. Yang & J.R. Gould. 2010.** Sensilla on the antennae, legs and ovipositor of *Spathius agrili* Yang (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of the emerald ash borer *Agrilus planipennis* Fairmaire (Coleoptera: Buprestidae). *Micros. Res. Tech.* 73: 560-571.
- Wu, H., L. Meng & B. Li. 2008.** Effects of feeding frequency and sugar concentrations on lifetime reproductive success of *Meteorus pulchricornis* (Hymenoptera: Braconidae). *Biol. Control* 45: 353–359.
- Yamamoto, M.E. & G.L Volpato.** *Comportamento Animal*. Natal, Editora UFRN, 298p.

Tabela 1. Características do parasitismo de larvas de *Anthonomus grandis* por fêmeas de *Bracon vulgaris* com exposição de 48h.

Idade do parasitoide	Densidade hospedeiro	n	Larvas parasitadas	Número de ovos depositados	Número de pupas viáveis	Adultos emergidos
5 dias	3	15	1,3 ± 0,16 b ¹	2,6 ± 0,49 b	2,0 ± 0,47 b	1,5 ± 0,47 b
	6	10	3,4 ± 0,20 a	7,0 ± 1,33 a	4,9 ± 0,86 a	3,6 ± 0,93 ab
	12	10	4,4 ± 0,16 a	8,1 ± 0,86 a	7,2 ± 0,90 a	5,2 ± 0,99 a
	24	10	1,6 ± 0,17 b	2,5 ± 0,67 b	1,9 ± 0,43 b	1,5 ± 0,30 b
10 dias	3	15	1,4 ± 0,12 a	2,6 ± 0,44 a	2,1 ± 0,38 ab	0,9 ± 0,38 b
	6	10	1,8 ± 0,30 a	3,3 ± 0,51 a	2,7 ± 0,45 a	1,9 ± 0,56 ab
	12	10	1,5 ± 0,45 a	4,0 ± 0,53 a	3,3 ± 0,37 a	2,8 ± 0,35 a
	24	10	1,1 ± 0,33 a	2,3 ± 0,42 a	1,3 ± 0,34 b	0,6 ± 0,26 b

¹Valores seguidos pela mesma letra minúscula, na coluna, dentro da idade específica do parasitoide não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Influência do fotoperíodo no comportamento de parasitismo de fêmeas de *Bracon vulgaris* com cinco dias de idade, inexperientes e acasaladas expostas a larvas de 3º instar de *Anthonomus grandis*.

Período de luz após escotofase (h)	Tempo primeira localização do hospedeiro (min)	Tempo para aceite e oviposição (min)	Tempo total do parasitismo (min)
1	234,13	243,47	303,16
3	127,27	135,53	192,93
6	58,43	65,5	122,36
8	23,3	26,83	64,96
10	141,75	165,37	204,5
(χ^2 , P)	($\chi^2 = 120,6$; P < 0,0001)	$\chi^2 = 128,3$; P < 0,0001)	($\chi^2 = 134$; P < 0,0001)

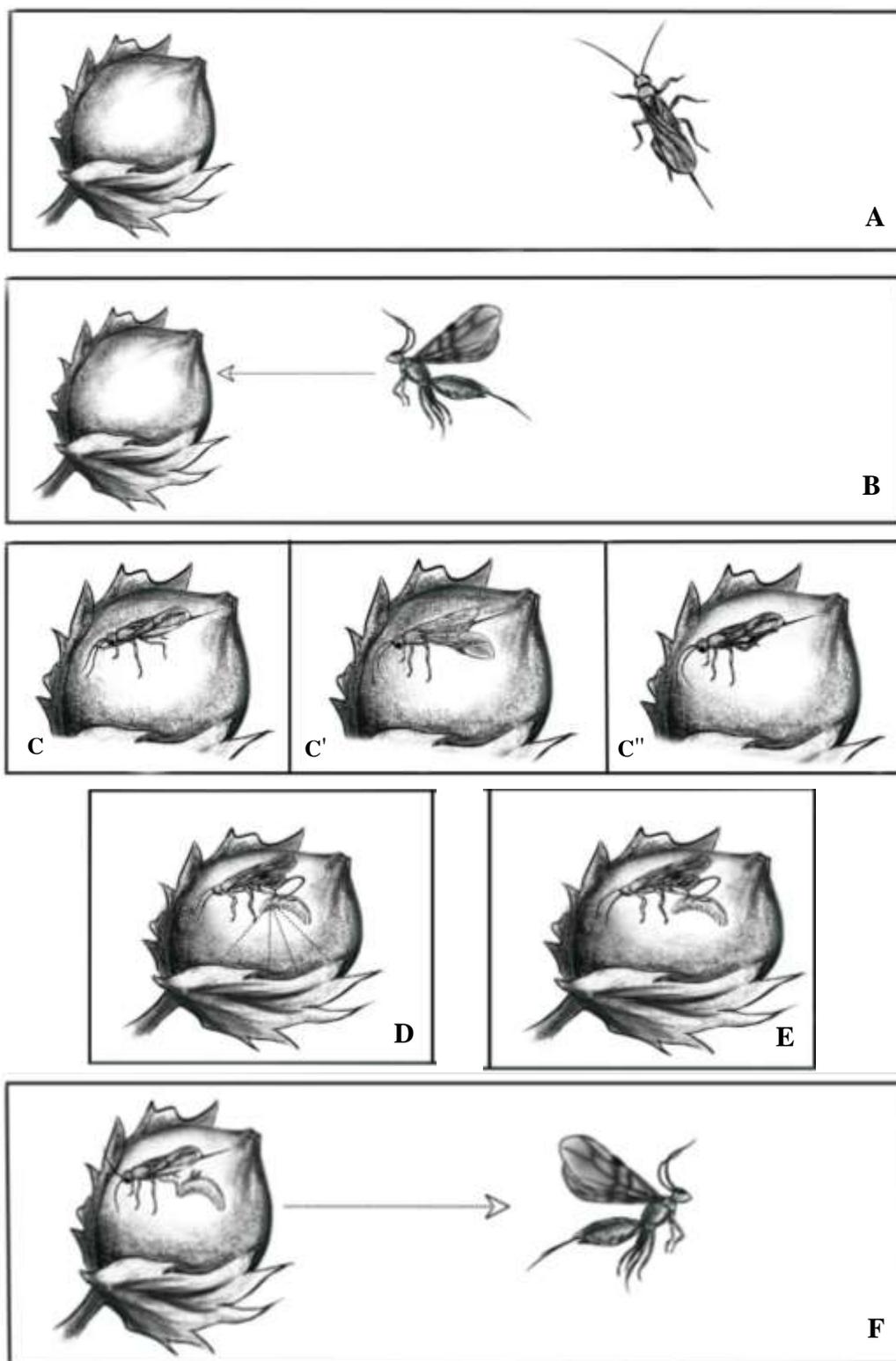


Figura 1. Sequência de eventos envolvidos no comportamento de parasitismo de *Bracon vulgaris* sobre *Anthonomus grandis*: A - ao ser liberada, a fêmea permanece imóvel (*parada/estática*), B - posteriormente se desloca em direção à estrutura vegetal em busca do hospedeiro (*deslocamento/ busca*), C - ao encontrá-la, realiza a *autolimpeza* de seu corpo. D - Por fim, avalia as condições fisiológicas e localização exata do hospedeiro (*sondagem/reconhecimento*) e E - inicia o processo de deposição dos ovos (*aceite/oviposição*). F - Após o parasitismo, a fêmea permanece inativa sobre o botão floral (*repouso*).

Tabela 3. Repertório do comportamento de parasitismo e duração dos eventos comportamentais de *Bracon vulgaris* sobre larvas de *Anthonomus grandis*.

Comportamento	Duração (min \cong)
I - Estática/parade	2,11
II- Deslocamento/busca	5,18
III – Autolimpeza	1,22
IV - Sondagem/reconhecimento	3,23
V - Aceite e Oviposição	26,83
VI – Repouso	3,12
Total	41,6

CAPÍTULO 3

ULTRAESTRUTURA DOS COMPONENTES SENSORIAIS ENVOLVIDOS NO COMPORTAMENTO DE PARASITISMO DE *Bracon vulgaris* ASHMEAD (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

THIAGO J.S. ALVES¹, VALÉRIA WANDERLEY-TEIXEIRA², ÁLVARO A.C. TEIXEIRA², CHRISTIAN S.A.
SILVA-TORRES¹, FRANKLIN M. CUNHA¹, JOSÉ B. MALAQUIAS³, BRUNO F. PEREIRA⁴ E FLÁVIO H.
CAETANO⁴

¹Departamento de Agronomia-Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua
Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, Brasil

²Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, Brasil

³Embrapa Algodão, Rua Oswaldo Cruz nº 1143, 58428-095, Campina Grande-PB, Brasil.

⁴Departamento de Biologia – Universidade Estadual Paulista, Av. 24A nº 1515,13506-900, Rio
Claro - SP, Brasil

RESUMO - *Bracon vulgaris* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae) é um ectoparasitoide larval responsável pela redução natural das populações de *Anthonomus grandis* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae) e *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae), consideradas as principais pragas da cotonicultura no agroecossistema algodoeiro do Nordeste brasileiro. O presente trabalho teve por objetivo analisar as estruturas sensoriais (antenas e ovipositor) envolvidas na ação de parasitismo de *B. vulgaris*, descrevendo e associando a composição, morfologia e funções dessas estruturas na interação parasitoide-hospedeiro. Os resultados mostraram que o ovipositor de *B. vulgaris* é uma estrutura multifuncional de $2,7 \pm 0,3$ mm de comprimento composto por 3 válvulas. As válvulas 1 e 2 são alongadas, rígidas e atuam de forma conjunta para perfurar a cutícula do hospedeiro, injetar o produto de secreção das glândulas de veneno e realizar a deposição dos ovos. A terceira válvula recobre as demais conferindo lhes proteção, além de possuir anelações em toda a sua extensão, o que conferem flexibilidade ao ovipositor, e sensilas tricóides, responsáveis por captar vibrações provenientes da alimentação e locomoção do hospedeiro, participando da seleção deste. Foi observada ainda, a presença de uma microtríquia cuticular responsável pela limpeza do ovipositor mantendo-o sempre limpo e funcional entre as varias inserções ocorridas durante o parasitismo. As antenas são do tipo filiforme, medem cerca de 2 mm de comprimento e apresentaram 4 tipos de sensilas (tricóides, basicônicas, coelocônicas e placóides) que atuam como receptores olfativos e gustativos e ou expressam função tátil, termo e de higrorrecepção. A ação integrada de seus componentes sensoriais conferem ao parasitoide *B. vulgaris* o sucesso de seu parasitismo.

² Alves, T.J.S., Wanderley-Teixeira, V., Teixeira, A.A.C., Silva-Torres, C.S.A., Cunha, F.M., Malaquias, J.B., Lima, T.A. & B.F. Pereira. Ultrastructure of the sensory components involved in parasitism by *Bracon vulgaris* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae). Submetido à Micron.

PALAVRAS-CHAVE: Parasitoide, sensila, ovipositor, morfologia

ULTRASTRUCTURE OF THE SENSORY COMPONENTS INVOLVED IN BEHAVIORAL
PARASITISM BY *Bracon vulgaris* ASHMEAD (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

ABSTRACT - *Bracon vulgaris* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) is a larval ectoparasitoid responsible for natural reduction of *Anthonomus grandis* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae) and *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae), which are considered the main cotton pests in the cotton agro-ecosystem in northeastern Brazil. This study aimed to analyze the sensory structures (antennae and ovipositor) involved in parasitism by *B. vulgaris*, describing and evaluating associations between composition, morphology, and functions of these structures in the parasitoid-host interaction. Results showed that the *B. vulgaris* ovipositor is a multifunctional structure of 2.7 ± 0.3 mm in length composed of 3 valves. Valves 1 and 2 are elongated, rigid, and act jointly to pierce the host's cuticle, inject the poison glands secretion, and deposit eggs. Valve 3, in turn, covers the other valves giving them protection, presents annulations in all its extension, which gives flexibility to the ovipositor, and trichoid sensilla that capture vibrations from the host's feeding and locomotion aiding the parasite in the host selection. The presence of a cuticular microtrichia was observed as responsible for the cleaning of the ovipositor keeping it functional between the various insertions that occur during parasitism. The parasitoid's antennae are filliform like, measure about 2 mm and present four types of sensilla (trichoids, basiconical, coeloconical, and placodes) that act as olfactory and gustatory receptors and or express tactile, therm, and hygro-reception functions. The integrated action of these sensory components corroborate the parasitism success of the parasitoid *B. vulgaris*.

KEYWORDS: Parasitoid, sensilla, ovipositor, morphology

Introdução

Ao longo do curso evolutivo, visando sua sobrevivência, parasitoides desenvolveram mecanismos para driblar as defesas de seus hospedeiros. Muitos realizam o ectoparasitismo, se alimentando externamente do hospedeiro evitando assim as defesas imunológicas (humoral e celular), alguns desenvolveram um ovipositor extenso e flexível para parasitar insetos que se alojam no interior de frutos e troncos e outros, possuem antenas extensas capazes de captar com maior precisão as pistas de localização de seu hospedeiro (Bellows & Fisher 1999, Vilhelmsen 2003, Hajek 2004, Xiaoyi & Zhongqi 2008, Vilhelmsen & Turrisi 2011).

O parasitismo é um processo complexo que envolve diversas etapas, dentre elas a localização, aceitação e manipulação do hospedeiro. Para ter sucesso e garantir o desenvolvimento de sua prole, o parasitoide tem que ser capaz de perceber as pistas químicas da planta atacada e do herbívoro, ao encontrá-lo, avaliar as condições fisiológicas deste (idade, tamanho, ausência de patógenos) e caso o selecione, manipular o número de ovos a serem depositados. Para tanto, é imprescindível ao parasitoide possuir um aparato sensorial eficiente que lhe oriente na busca, localização, aceitação e manipulação de seu hospedeiro (Ceballo & Walter 2004, Ha *et al.* 2006, Rukmowati Brotodjojo & Walter 2006, Gullan & Cranston 2008, Obonyo *et al.* 2008, Xiaoyi & Zhongqi 2008, Silva-Torres *et al.* 2009).

Himenópteros parasitoides são tipicamente equipados com órgãos sensoriais especializados para favorecer suas funções biológicas. Ao longo de toda a sua extensão, as antenas desses insetos são revestidas por sensilas, estruturas sensoriais responsáveis pela percepção de odores, condições ambientais e informações táteis. As sensilas variam em forma e distribuição de acordo com a função que exercem, podendo atuar como quimiorreceptoras (receptores olfativos e gustativos) ou

mecanorreceptoras expressando função tátil, termo e de higrorrecepção (Quicke 1997, Klowden 2007, Dweck 2009, Li *et al.* 2011).

Vilhelmsen (2003), Dwech *et al.*(2008) e Xiaoyi & Zhongqi (2008) afirmam que assim como as antenas, o ovipositor de parasitoides está grandemente envolvido na ação de parasitismo, visto que além de funcionar como equipamento sensorial, devido a presença de sensilas, esta estrutura exerce função mecânica (perfurando a cutícula do hospedeiro), injeta substâncias oriundas das glândulas acessórias, participa da seleção do hospedeiro e do processo de oviposição.

Para melhor compreender a comunicação química envolvida na ação de parasitismo, a ultraestrutura dos componentes sensoriais, antenas e ovipositor, tem sido extensivamente estudadas em várias espécies de parasitoides himenópteras, utilizando técnicas de microscopia eletrônica para identificar os diferentes tipos de sensilas existentes, sua distribuição, localização e funções associadas ao sucesso do parasitismo (Norton & Vinson 1974, Amornsak *et al.* 1998, Ochieng *et al.* 2000, Gao *et al.* 2007, Onagbola & Fadamiro 2008, Dweck 2009, Li *et al.* 2011, Zhou *et al.* 2013a).

Bracon vulgaris (Ashmead) é um ectoparasitoide gregário e larval que apresentam grande importância nos programas de Manejo Integrado do algodoeiro, visto sua atuação na redução natural das populações do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* (Boheman) e da lagarta rosada, *Pectinophora gossypiella* (Saunders), consideradas as principais pragas da cotonicultura no agroecossistema algodoeiro do Nordeste brasileiro (Pierozzi & Habib 1993, Carvalho *et al.* 2000a, Carvalho *et al.* 2000b, Toscano & Carvalho 2000a).

Toscano & Carvalho (2000b) e Carvalho *et al.* (2000b) relataram que populações de *B. vulgaris* foram encontradas, em condições naturais, expressando índices de parasitismo superiores a 70% em cultivos de algodoeiro infestadas com *A. grandis* e *P. gossypiella*; ao ponto que Ramalho *et al.* (2009) citaram este parasitoide como o agente de controle biológico de maior

expressão no agroecossistema algodoeiro do Nordeste do Brasil. No entanto, embora *B. vulgaris* apresente tamanha relevância na cotonicultura, pouco se conhece acerca dos mecanismos fisiológicos e comportamentais envolvidos no sucesso de seu parasitismo.

O presente trabalho teve por objetivo analisar as estruturas sensoriais (antenas e ovipositor) envolvidas na ação de parasitismo de *B. vulgaris*, descrevendo e associando a composição, morfologia e funções dessas estruturas na interação parasitoide-hospedeiro, visto que uma melhor compreensão desses componentes sensoriais pode expandir o entendimento acerca da localização, aceitação e manipulação do hospedeiro por este agente de controle biológico, justificando o sucesso do seu parasitismo.

Material e Métodos

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e no Departamento de Microscopia Eletrônica da UNESP campus Rio Claro/SP.

Obtenção e Manutenção dos Parasitoides. Para obtenção dos parasitoides, estruturas reprodutivas, botões florais e maçãs do algodoeiro, foram coletados em propriedade particular localizada na comunidade de Furnas, município de Surubim - PE (07°53'48,9" S e 35°49'19,2" W). O material coletado foi acondicionado em gaiolas de acrílico transparentes de 44 x 35 x 45 cm (altura x largura x comprimento) até a emergência dos parasitoides. Após emergência, os parasitoides foram sexados e coletados com o auxílio de um sugador entomológico. Posteriormente para permitir o acasalamento foram transferidos aos pares para potes plásticos de polipropileno transparente de 500 mL de volume (Prafesta®, Mairiporã, SP) e telados com náilon (2 mm) para ventilação. Cada pote recebeu além dos parasitoides, recipientes plásticos de 10 mL contendo algodão embebido em água para fornecer umidade, e como alimento, mel de abelha foi

fornecido em filetes feitos com alfinete entomológico nº 1 na parede interna do pote. Os potes foram acondicionados em câmara do tipo BOD regulada a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12h e $70 \pm 10\%$ de umidade relativa. Os insetos permaneceram nestas condições até sua utilização nos experimentos.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). As antenas e ovipositor de 10 fêmeas de *B. vulgaris* (5 dias de idade) acasaladas e sem experiência de parasitismo, foram utilizados para análise em MEV. As fêmeas foram mantidas em baixa temperatura (4°C) até a morte dos insetos. Posteriormente as amostras foram secadas em estufa (50°C) por 30 minutos, montadas em suporte de alumínio com fita dupla face de carbono e metalizadas em um Sputtering Balzers SCD 050. As imagens foram obtidas em microscópio eletrônico modelo Hitachi TM3000, no Departamento de Microscopia Eletrônica da UNESP, campus Rio Claro/SP. A obtenção das medidas do comprimento das estruturas sensoriais foi realizada através do programa Image J V1.47p.

Resultados

Morfologia da Antena e Tipos de Sensilas. *Bracon vulgaris* apresentam antenas do tipo filiforme com comprimento de 2 mm, cujo flagelo é composto por 29 flagerômeros (Fig. 1A). Foram identificados 4 tipos de sensilas com base em suas características morfológicas.

Sensila tricóide (St): Presente em todos os segmentos da antena das fêmeas de *B. vulgaris*. Essas estruturas pontiagudas se apresentam de forma inclinada e com a extremidade apical levemente curvada, além de possuírem sulcos longitudinais em sua superfície (Figs. 1B, 1E e 1F). A região basal da sensila está inserida em uma estrutura flexível ligeiramente projetada acima da cutícula (Fig. 1E). O comprimento desta sensila variou de 11 a $27 \mu\text{m}$.

Sensila basicônica (Sb): Presentes nas extremidades distais dos flagerômeros (Fig. 1C) sendo visualizadas de forma mais notória na região terminal do último segmento antenal (Fig.

1F). Essas sensilas são gradualmente curvadas da base para o ápice, o qual se apresenta no formato de ponta romba. O comprimento variou de 20 a 29 μm .

Sensila coelocônica (Sc): Esse tipo de sensila apresenta forma de pino com cerca de 2 a 3 μm de comprimento, que se localiza em uma depressão anelar (Fig. 1D). Apenas no último flagerômero não foram encontradas esse tipo de sensila, nos demais, foi encontrado uma sensila por flagerômero inserida sempre na região lateral da antena.

Sensila placóide (Sp): Apresentaram-se numerosas nos segmentos mediais e distais da antena, o comprimento dessa sensila é de aproximadamente 76-87 μm . Esta sensila possui morfologia alongada e levemente elevada acima da superfície da antena sendo circundada por um espaço sulcado em toda sua extensão e coberta por uma crista cuticular (Figs. 1E e 1F).

Morfologia do Ovipositor e sua Função Motora. O ovipositor de *B. vulgaris* possui $2,7 \pm 0,3\text{mm}$, equivalente à metade do comprimento do seu corpo. Este órgão multifuncional é composto por três válvulas (V1, V2 e V3) (Figs. 2A e 2B). V1 e V2 são ligadas entre si formando um canal rígido por onde ocorre a passagem dos ovos e toxinas que são injetadas no hospedeiro (Fig. 2B). Além disso, essas válvulas atuam de forma integrada durante o parasitismo propriamente dito, onde a V2 desliza sobre a V1, que possui menor tamanho e apresenta serrilhas em sua extremidade distal, com a qual perfura e se fixa à cutícula do hospedeiro durante a oviposição (Fig. 2C).

A V3, comumente denominada bainha, apresenta superfície com anelações de espessuras variadas por toda sua extensão (Fig. 2D), o que lhe confere flexibilidade, permitindo ao parasitóide apoiar adequadamente o ovipositor na estrutura vegetal durante a oviposição. Essa válvula termina em uma ponta de formato lanceolada (Fig. 2E) e quando não parasitando, recobre externamente o conjunto formado pelas válvulas 1 e 2 conferindo-lhe proteção. A região interior

da bainha é abundantemente coberta com uma densa e flexível microtríquia cuticular (agrupamento de espinhos cuticulares) que se concentra na região apical da estrutura (Fig. 2F).

Equipamento Sensorial do Ovipositor. Dois tipos de sensilas tricóides foram identificados ao longo do ovipositor de *B.vulgaris* cobrindo externamente a válvula 3. O primeiro tipo, sensila tricóide longa (49 a 52 μm) distribui-se em toda a superfície da bainha (Fig. 1D), apresentam sulcos longitudinais que gradualmente vão afinando em direção ao ápice. Já o segundo tipo, sensila tricóide curta (12 a 15 μm), foram encontradas apenas na região distal da V3 (Fig. 1E), estando localizado entre as sensilas tricóide longas.

Discussão

Os tipos de sensilas encontrados em nossa pesquisa são consistentes com estudos realizados anteriormente com outros himenópteros parasitoides (Norton & Vinson 1974, Ochieng *et al.* 2000, Gao *et al.* 2007, Li *et al.* 2011, Zhou *et al.* 2013a,b). As sensilas tricóides foram as mais abundantemente encontradas, ocorrendo em todos os flagerômeros. Gao *et al.* (2007) afirmaram que sensilas tricóides, de similar tamanho e igual morfologia à que identificamos nas antenas de *B. vulgaris*, possuem função mecanorreceptora devido ao seu encaixe na cutícula da antena, seu arranjo espacial e a ausência de poros, constatada pelos autores através de Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM). Essas sensilas respondem às correntes de ar e às vibrações geradas pelo tamborilamento das antenas do parasitóide sobre a estrutura vegetal habitada pelo hospedeiro, auxiliando o inimigo natural na localização deste (Zhou *et al.* 2013b).

Mesmo em um habitat adequado, os recursos alimentares não estão distribuídos de maneira uniforme, logo, o parasitoide precisa ser eficaz na sua busca pelo hospedeiro já que este pode estar em níveis muito baixos ou inexistente, previamente parasitado ou em idade inadequada ao parasitismo; além disso, no forrageamento ocorre gasto energético e de tempo, exposição a

predadores e aos fatores ambientais. Assim, uma localização rápida e precisa do hospedeiro tem implicações importantes para garantir o sucesso do parasitismo (Honda & Kainoh 1998, Harbinson *et al.* 2001, Amalin *et al.* 2005, Gunduz & Gulel 2005, Mehrnejad & Copland 2006, Pereira *et al.* 2009). De acordo com Zhou *et al.* (2013a) as sensilas basicônicas possuem função bimodal, atuando como químio e mecanorreceptoras na localização de hospedeiros assim como evitando, através da interpretação de pistas químicas, seus inimigos naturais. As sensilas coelocônicas também participam da localização e seleção do hospedeiro, segundo Butterfield & Anderson (1994) e Onagbola & Fadamiro (2008) esse tipo de sensila, encontrados em menor quantidade nas antenas dos parasitoides, presumivelmente desempenha função de termo e higró percepção resultando no parasitóide uma resposta comportamental.

Segundo Dweck & Gadallah (2008) as sensilas placóides apresentam morfologia alongada e são amplamente distribuídas nas antenas de parasitoides. Sensilas desse tipo, morfologicamente idênticas as que encontramos em *B. vulgaris*, foram descrita por Ochieng *et al.* (2000) ao estudar o também braconídeo *Microplitis croceipes* (Cresson), os autores descrevem que estas sensilas alongadas possuem receptores olfativos (múltiplos poros cuticulares) respondendo à voláteis de plantas, de modo que fêmeas parasitoides, nos estágios iniciais do parasitismo, se baseiam nessas pistas químicas para discriminar o inseto hospedeiro e posteriormente realizar a oviposição.

Li *et al.* (2011) afirma que a diversidade de tipos de sensilas nas antenas de parasitoides é uma adaptação que está intimamente relacionada com o grau de especialização na busca pelo hospedeiro, de modo que, parasitoides generalistas apresentam maior quantidade de tipos de sensilas em suas antenas, enquanto parasitoides monófagos (especialistas) as possui em menor número. Sendo assim, é justificável a baixa quantidade de tipos de sensilas encontrados nas antenas de *B. vulgaris* visto que este ectoparasitóide só foi encontrado parasitando naturalmente larvas de *A. grandis*, o bicudo-do-algodoeiro (Toscano & carvalho 2000b) e *P. gossypiella*, a

lagarta rosada (Toscano & Carvalho 2000a). Além do mais, de acordo com Zhou *et al.* (2013b), machos de espécies parasitoides, usualmente, apresentam maior quantidade de sensilas que fêmeas, já que as antenas destes são adaptadas para captar os feromônios sexuais liberados por suas fêmeas enquanto elas, as utilizam na captação dos voláteis de plantas atacadas pelo herbívoro hospedeiro; como o objetivo do nosso trabalho foi descrever os componentes sensoriais de *B.vulgaris* e associá-los com o sucesso do seu parasitismo, apenas as antenas de fêmeas foram analisadas, visto que somente estas realizam a ação de parasitismo.

Segundo Le Ralec *et al.* (1996) e Dweck *et al.* (2008) parasitoides, em sua maioria, são dotados de especificidade quanto ao hospedeiro atacado, tanto em quantidade de espécie quanto à fase de desenvolvimento em que este se encontra. Para tanto precisam apresentar modificações estruturais que lhes favoreçam o parasitismo, deste modo, as características morfológicas e funcionais do ovipositor do inimigo natural são diretamente proporcionais às características do hospedeiro, como o seu hábito e hábitat. Fêmeas de *B. vulgaris* apresentam um ovipositor longo cujo tamanho é proporcional à metade do comprimento de seu corpo para conseguir alcançar seu hospedeiro que se desenvolvem no interior da estrutura reprodutiva do algodoeiro, sendo esta estrutura rígida e com uma espessura variada de acordo com a fenologia da planta, o que poderia dificultar a localização precisa do hospedeiro.

As subunidades que compõem o ovipositor de *B. vulgaris* apontam uma correlação entre sua morfologia e função exercida. As válvulas 1 e 2 são rígidas, alongadas e sobrepostas formando um lúmen o qual permite a passagem dos ovos e do produto de secreção das glândulas de veneno através de movimentos gerados pelo deslizamento da segunda válvula sobre a primeira (Brown & Anderson 1998). O deslocamento do hospedeiro poderia acarretar desperdício de tempo e energia que são investidos no parasitismo e, sendo este um processo complexo, é essencial ao parasitóide ser preciso na sua investida contra o hospedeiro. Assim, como observado em outras espécies

parasitoides, a válvula 1 de *B. vulgaris* apresenta adaptações em forma de serrilhas na sua região terminal, tanto para perfurar o tegumento do hospedeiro quanto para mantê-lo fixado em posição adequada à oviposição (Ne´non *et al.*1997, Shah *et al.* 2012).

O ovipositor de himenópteras parasitoides não possui musculatura interna, mesmo assim, esses insetos conseguem dobrar o ovipositor dando direcionamento à estrutura (Quicke 1997). Como afirma Vilhelmsen (2003) essa flexibilidade é conferida devido à presença de anelações em toda a extensão da válvula 3. Essa adaptação morfológica, encontrada em alguns parasitoides, como o que foi estudado nessa pesquisa, permite ao parasitoide adequar o posicionamento do seu corpo para alcançar o hospedeiro, que geralmente, estão bastante protegidos pela morfologia da estrutura vegetal que habitam, se isolando em locais de difícil localização e manipulação pelo inimigo natural.

Assim como em *B. vulgaris*, sensilas tricóides de diferentes tamanhos foram encontradas ao longo da válvula 3 em várias outras espécies de braconídeos, dentre eles *Macrocentrus cingulum* (Ahmed *et. al.* 2013), *Spathius agrili* Yang (Wang *et al.* 2010a) e *Habrobracon hebetor* Say (Dweck *et al.* 2008). Essas estruturas não porosas e mecanorreceptoras detectam correntes de ar e vibrações provenientes da alimentação e locomoção do hospedeiro sendo imprescindíveis na seleção deste já que parasitóides precisam distinguir entre hospedeiros parasitados e não parasitados, evitando assim o superparasitismo e, conseqüentemente, a competição larval do parasitoide, já que está reduz a chance de sobrevivência da prole (Shah 2012). Daí a importância em captar, precisamente, as vibrações provenientes do hospedeiro visto que a injeção de toxinas durante o parasitismo ocasiona paralisia motora deste, assim, nesta etapa do parasitismo, os sinais químicos aparentam ter pouca ou nenhuma importância o que justificaria a ausência de sensilas porosas no ovipositor (Li *et al.* 2007, Wang *et al.* 2010b, Goubault *et al.* 2011).

Carvalho *et al.* (2002) através da avaliação do índice de parasitismo e do número de ovos depositados por *B. vulgaris* quando submetido a diferentes hospedeiros, verificaram que este parasitoide apresentou alta capacidade de distinguir entre as espécies ofertadas, apresentando preferência por algumas destas. Essa seleção de hospedeiros mostrou que as espécies de menor mobilidade foram preferidas pelo parasitoide, presumivelmente essa discriminação ocorreu através da percepção das vibrações provenientes do hospedeiro realizada pelos centros sensoriais presentes na extremidade do ovipositor. O maior percentual de parasitismo (53,6%) ocorreu nas larvas de *A. grandis*, seu hospedeiro natural. Segundo os autores esse resultado era esperado por se tratar de um fenômeno de co-evolução entre duas espécies que se desenvolveu naturalmente na cultura do algodão.

Após o parasitismo se faz necessário ao inimigo natural realizar a limpeza do seu ovipositor para mantê-lo sempre funcional, logo é preciso remover os resíduos do tegumento do hospedeiro, da estrutura vegetal e até mesmo do produto de secreção das glândulas de veneno utilizado para paralisar o hospedeiro (Peydró *et al.* 1996, Arrekul *et al.* 2004, Moreau *et al.* 2009). Segundo Dweck *et al.* (2008) cabe a microtríquia cuticular, observada no interior da válvula 3, realizar a limpeza do ovipositor entre as várias inserções ocorridas durante a ação de parasitismo. Assim como observado em *B. vulgaris*, essa estrutura concentra-se na ponta da bainha do ovipositor de modo que Ahmed *et al.* (2013) sugere que esta localização e funcionalidade é uma característica comum desse grupo de himenópteros parasitóides.

De acordo com Le Ralec *et al.* (1996) a morfologia do ovipositor está diretamente relacionada com características do hospedeiro e o estudo desta estrutura pode fornecer dados sobre a evolução do comportamento de busca, aceitação e manipulação do hospedeiro ao nível de espécie, fase desenvolvimento e localização do habitat. Além do mais, é possível avaliar como esses himenópteros parasitóides compartilham características funcionais importantes, por

exemplo, o diâmetro do ovipositor, conseguindo assim perfurar o fino tegumento de um hospedeiro vivo sem causar saída de hemolinfa ou grandes feridas, o que poderia acarretar a entrada de entomopatógenos e detrimento do desenvolvimento da prole.

Através da avaliação associativa da morfologia de suas estruturas sensoriais e de estudos comportamentais (dados não publicados), foi possível compreender o mecanismo de parasitismo de *B. vulgaris*. De um modo geral, assim como citado por Canale & Raspi (2000) e Goubault *et al.* (2011), podemos concluir que no primeiro momento do parasitismo, *B. vulgaris* utiliza as antenas para captar os estímulos externos, não provindos do hospedeiro (voláteis da planta atacada), localizando assim a estrutura vegetal onde este habita, posteriormente, o ovipositor percebe os sinais internos como vibrações, localização exata e estágio de desenvolvimento do hospedeiro, por fim, perfura o tegumento, injeta veneno e realiza a deposição dos ovos. Essa ação integrada dos componentes sensoriais justifica a eficácia deste parasitoide, cujos índices de parasitismo nos estudos já realizados foram iguais e ou superiores a 70% (Carvalho *et al.* 2000 a, b ; Toscano & Carvalho 2000 a,b).

Agradecimentos

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo ao primeiro autor, à EMBRAPA Algodão/Campina Grande-PB pelo suporte no desenvolvimento da pesquisa e ao Dr. Jorge Braz Torres pelas sugestões e apoio na obtenção dos parasitoides possibilitando a realização desta pesquisa.

Literatura citada

Ahmed, T., T. Zhang, K. He, S. Bai & Z. Wang. 2013. Sense organs on the ovipositor of *Macrocentrus cingulum* Brischke (Hymenoptera: Braconidae); their probable role in stinging, oviposition and host selection process. J.Asia Pacif. Entomol. 16: 343-348.

- Amalin, D.M., J.E. Peña & R.E. Ducan. 2005.** Effects of host age, female parasitoid age, and host plant on parasitism of *Ceratogramma etiennei* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Fla. Entomol. 88:77-82.
- Amornsak, W., B. Cribb & G. Gordh. 1998.** External morphology of antennal sensilla of *Trichogramma Australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Int. J. Insect Morphol. Embryol. 27: 67-82.
- Arrekul, B., A. Zaldivar-Riverón & D.L.J. Quicke. 2004.** Venom gland and reservoir morphology of the genus *Pseudoyelicones* van Achterberg, Penteado-Dias & Quicke (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) and implications for relationships. Zool. Med. Leiden 78: 119-122.
- Bellows, T.S. & T.W. Fisher. 1999.** Handbook of biological control. California, Academic Press, 1046p.
- Brown, P.E. & M. Anderson. 1998.** Morphology and ultrastructure of sense organs on the ovipositor of *Trybliographa rapae*, a parasitoid of the cabbage root fly. J. Insect Physiol. 44: 1017–1025.
- Butterfield, A. & M. Anderson. 1994.** Morphology and ultrastructure of antennal sensilla of the parasitoid, *Trybliographa rapae* (Westw.) (Hymenoptera : Cynipidae). Int. J. Insect Morphol. Embryol. 23: 11-20.
- Canale, A. & A. Raspi. 2000.** Host location and oviposition behaviour in *Opius concolor* (Hymenoptera: Braconidae). Entomol. Prob. 31, 25-32.
- Carvalho, S.L., W.D. Fernandes, P.N. Patel & M.E.M. Habib. 2000a.** Desenvolvimento de *Bracon vulgaris* Ashmead private, ectoparasitóide de *Pectinophora gossypiella* Saunders, em laboratório. Braz. J. Ecol. 12: 18-22.
- Carvalho, S.L., W.D. Fernandes, P.N. Patel & M.E.M. Habib. 2000b.** Respostas comparativas de *Bracon vulgaris* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae) a diferentes macerados de plantas de algodão, em dois modos de exposição. Rev. Agric. 75: 41-53.
- Carvalho, S.L., W.D. Fernandes, M.E.M. Habib & P.N. Patel. 2002.** Preferência de *Bracon vulgaris* e adequações de alguns hospedeiros em condições de laboratório. Rev. Agric. 77: 39-56.
- Ceballo, F.A. & G.H. Walter. 2004.** Life history parameters and biocontrol potential of the mealybug parasitoid *Coccidoxenoides peregrinus* (Timberlake) (Hymenoptera: Encyrtidae): asexuality, fecundity and ovipositional patterns. Biol. Control 29: 235-244.
- Dweck, H.K.M. 2009.** Antennal sensory receptors of *Pteromalus puparum* female (Hymenoptera:Pteromalidae), a gregarious pupal endoparasitoid of *Pieris rapae*. Micron 40: 769–774.

- Dweck, H.K.M., N.S. Gadallah & E. Darwish. 2008.** Structure and sensory equipment of the ovipositor of *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae). *Micron* 39: 1255–1261.
- Gao, Y., L. Luo & A. Hammond. 2007.** Antennal morphology, structure and sensilla distribution in *Microplitis pallidipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Micron* 38: 684-693.
- Goubault, M., A.M. Cortesero, C. Paty, J. Fourrier, S. Dourlot & A. LeRalec. 2011.** Abdominal sensory equipment involved in external host discrimination in a solitary parasitoid wasp. *Micros. Res. Technol.* 74:1145–1153.
- Gullan, P.J. & P.S. Cranston. 2008.** Os insetos: um resumo de entomologia. São Paulo, Roca editora, 440p.
- Gunduz, E.A. & A. Gulel. 2005.** Investigation of fecundity and sex ratio in the parasitoid *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) in relation to parasitoid age. *Turkish J. Zool.* 29: 291-294
- Ha, D., K. Song, S. Nho & K. Lee. 2006.** Host selection behaviors and progeny suitability of two parasitic wasps, *Venturia canescens* and *Bracon hebetor*, against abnormal host conditions of *Plodia interpunctella*. *J. Asia Pacific Entomol.* 9: 353-360.
- Hajek, A.E. 2004.** Natural enemies: an introduction to biological control. Cambridge, Cambridge University Press, 378p.
- Honda, T. & Y. Kainoh. 1998.** Age-related fecundity and learning ability of the egg-larval parasitoid *Ascogaster reticulatus* Watanabe (Hymenoptera: Braconidae). *Biol. Control* 13: 177–181.
- Harbinson, J.L., J.C. Legaspi, S.L. Fabritius, R.R. Saldana, B.C. Legaspi Jr & A. Enkegaard. 2001.** Effects of age and host number on reproductive biology of *Allorhogas pyralophagus* (Hymenoptera: Braconidae) attacking the Mexican rice borer (Lepidoptera: Pyralidae). *Environ. Entomol.* 30: 129-135.
- Klowden, M.J. 2007.** Physiological systems in insects. 2nd ed. London, Elsevier, 688p.
- Le Ralec, A., J.M. Rabasse & E. Wajnberg. 1996.** Comparative morphology of the ovipositor of some parasitic Hymenoptera in relation to characteristics of their hosts. *Can. Entomol.* 128: 413-433.
- Li, X., D. Lu, X. Liu, Q. Zhang. & X. Zhou. 2011.** Ultrastructural characterization of olfactory sensilla and immunolocalization of odorant binding and chemosensory proteins from an ectoparasitoid *Scleroderma guani* (Hymenoptera: Bethyilidae). *Int. J. Biol. Sci.* 7: 848-868.
- Li, Y., J. Lu, X. Ke & W. Fu. 2007.** Morphology and structure of the ovipositor in *Macrocentrus cingulum* (Hymenoptera: Braconidae), a polyembryonic parasitoid. *J. Life Sci.* 1: 34-39.

- Mehrnejad, M.R. & M.J.W. Copland. 2006.** Host-stage selection and oviposition behavior of *Psyllaephagus pistaciae*, parasitoid of the common pistachio psylla *Agonoscena pistaciae*. Biol. Control 36: 139-146.
- Moreau, S.J.M., S. Vinchon, A. Cherqui & G. Prévost. 2009.** Components of *Asobara* venoms and their effects on hosts. Adv. Insect Physiol. 70: 217-232.
- Ne'non, J.P., N. Kacem & J. LeLannic. 1997.** Structure, sensory equipment, and secretions of the ovipositor in a giant species of Hymenoptera: *Megarhyssa atrata* F. (Ichneumonidae: Pimplinae). Can. Entomol. 129:789–799.
- Norton, W.N. & S.B. Vinson.1974.** Antennal sensilla of three parasitic hymenoptera. Int. J. Insect Morphol. Embryol. 3: 305-316.
- Obonyo, M., F. Schulthess, J. Gerald, O. Wanyama, B. Le Ru & P.A. Calatayud. 2008.** Location, acceptance and suitability of lepidopteran stemborers feeding on a cultivated and wild host-plant to the endoparasitoid *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae). Biol. Control 45: 36–47.
- Ochieng, S.A, K.C. Park, J.W. Zhu & T.C. Baker. 2000.** Functional morphology of antennal chemoreceptors of the parasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). Arthrop. Struct. Develop. 29: 231-240.
- Onagbola, E.O. & H.Y. Fadamiro. 2008.** Scanning electron microscopy studies of antennal sensilla of *Pteromalus cerealellae* (Hymenoptera: Pteromalidae). Micron 39: 526–535.
- Pereira, F.P., J.C. Zanuncio, J.E. Serrão, H.O. Oliveira, K. Fávero & E.L.V. Grance. 2009.** Progenie de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando pupas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera:Bombycidae) de diferentes idades. Neotrop. Entomol. 38: 660-664.
- Peydró, R.J., J.V.F Garí, C.G. Martos & J.M. Marí. 1996.** Comparative morphology of the venom apparatus in some subfamilies of braconid wasps (Hymenoptera: Braconidae). Boln. Asoc. Esp. Entomol. 20: 149-159.
- Pierozzi Jr, I & M.E.M. Habib. 1993.** Aspectos biológicos e de comportamento dos principais parasitóides de *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae), em Campinas, SP. An. Soc. Entomol. Brasil 22: 317-323.
- Quicke, D.L.J. 1997.** Parasitic Wasps. Cambridge, Chapman & Hall, 470p.
- Ramalho, F.S., P.A. Wanderley, J.B. Malaquias, J.V.S. Souza, K.C.V. Rodrigues & J.C. Zanuncio. 2009.** Effect of temperature on the reproduction of *Bracon vulgaris* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of the cotton boll weevil. Entomol. News 120: 476-487.

- Rukmowati-Brotodjojo, R.R. & G.H. Walter. 2006.** Oviposition and reproductive performance of a generalist parasitoid (*Trichogramma pretiosum*) exposed to host species that differ in their physical characteristics. *Biol. Control* 39: 300-312.
- Shah, A.Z. 2012.** Morphology, ultrastructure, and probable functions of the sense organs on the ovipositor stylets of the hymenopteran parasitoid, *Venturia canescens* (Gravenhorst). *Micros. Res. Technol.* 75: 876-883.
- Shah, A.Z., A. Blackwell & S.F. Hubbard. 2012.** Ultramorphology of the ovipositor of *Venturia canescens* (Gravenhorst) and possible mechanisms for oviposition. *Int. J. Agric. Biol.* 14: 908-914.
- Silva-Torres, C.S.A., R. Barros & J.B. Torres. 2009.** Efeito da idade, fotoperíodo e disponibilidade de hospedeiro no comportamento de parasitismo de *Oomyzus sokolowskii* Kurdjumov (Hymenoptera: Eulophidae). *Neotrop. Entomol.* 38: 512-519.
- Toscano, L.C. & S.L. Carvalho. 2000a.** Parasitismo em *Pectinophora gossypiella* Saunders (Lepidoptera: Gelechiidae) e *Anagasta kuhniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) por *Bracon vulgaris* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae). *Braz. J. Ecol.* 12: 23-28.
- Toscano, L.C. & S.L. Carvalho. 2000b.** Parasitismo em *Anthonomus grandis* Boheman, 1843 por *Bracon vulgaris*, Ashmead em cultura de algodão sem medidas de controle na região de Ilha Solteira - SP. *Braz. J. Ecol.* 12: 123 -127.
- Vilhelmsen, L. 2003.** Flexible ovipositor sheaths in parasitoid Hymenoptera (Insecta). *Arthrop. Struct. Develop.* 32: 277-287.
- Vilhelmsen, L. & G.F. Turrisi. 2011.** Per arborem ad astra: Morphological adaptations exploiting the woody habitat in the early evolution of Hymenoptera. *Arthrop. Struct. Develop.* 40: 2-20.
- Xiaoyi, W. & Y. Zhongqi. 2008.** Behavioral mechanisms of parasitic wasps for searching concealed insect hosts. *Acta Ecol. Sin.* 28: 1257–1269.
- Zhou, H., W.J. Wu, L.M. Niu & Y.G. Fu. 2013a.** Antennal sensilla of female *Encarsia guadeloupae* Viggiani (Hymenoptera: Aphelinidae), a nymphal parasitoid of the spiraling whitefly *Aleurodicus disperses* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Micron* 44: 365–372.
- Zhou, H., W.J. Wu, F.P. Zhang & Y.G. Fu. 2013b.** Scanning electron microscopy studies of the antennal sensilla of *Metaphycus parasaissetiae* Zhang & Huang (Hymenoptera: Encyrtidae). *Neotrop. Entomol.* 42: 278–287.
- Wang, X., Z. Yang & J.R. Gould. 2010a.** Sensilla on the antennae, legs and ovipositor of *Spathius agrili* Yang (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of the emerald ash borer *Agrilus planipennis* Fairmaire (Coleoptera: Buprestidae). *Micros. Res. Technol.* 73: 560-571.

Wang, X., Z. Yang, J.R. Gould, H. Wu & J. Ma. 2010b. Host-seeking behavior and parasitism by *Spathius agrili* Yang (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of the emerald ash borer. Biol. Control 52: 24–29.

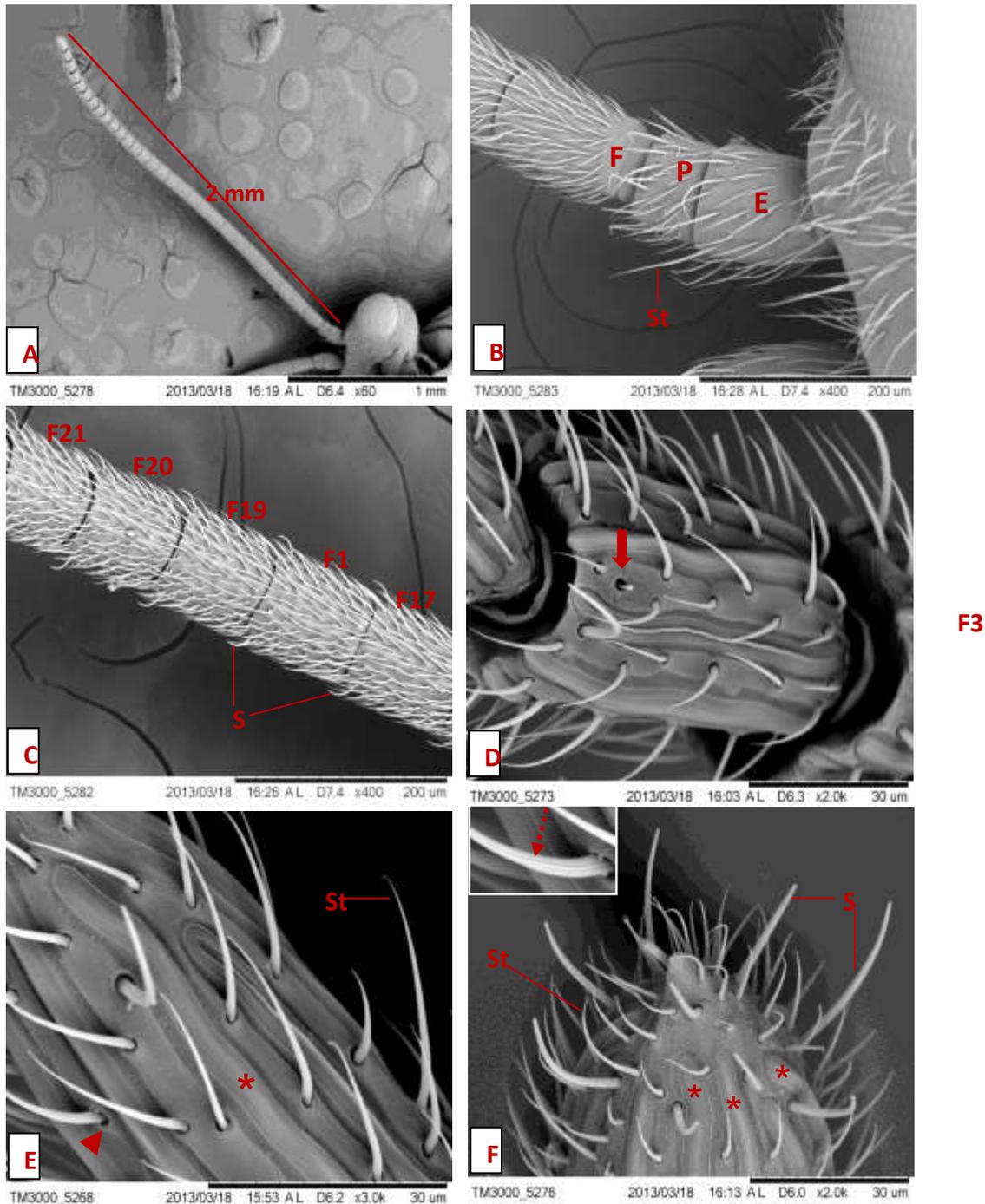


Figura 1. Eletromicrografia de varredura da antena de fêmeas de *B. vulgaris*. A – Aspecto geral, B – Detalhe dos segmentos antenais: escapo, pedicelo e flagerômetros, C- Observar predominância de sensilas tricóides e a disposição das sensilas basicônicas distribuídas distalmente nos flagerômetros. D – Terceiro flagerômetro destacando a presença de sensila coelocônica e sua localização lateral, E – Sensilas Tricóides e Placóides. Observar a morfologia e extensão das sensilas placóides bem como o sulco que a circunda e a crista cuticular que a reveste. F – Região terminal do último flagerômetro, observar a diversidade e disposição das sensilas na estrutura. F – flagelômetro, E - escapo, P - pedicelo, Sb – sensila basicônica, St - sensila tricóide, asterisco - sensila placóide, seta - sensila coelocônica, ponta de seta – inserção basal da sensila tricóide em projeção flexível, seta tracejada – detalhe dos sulcos longitudinais na sensila tricóide.

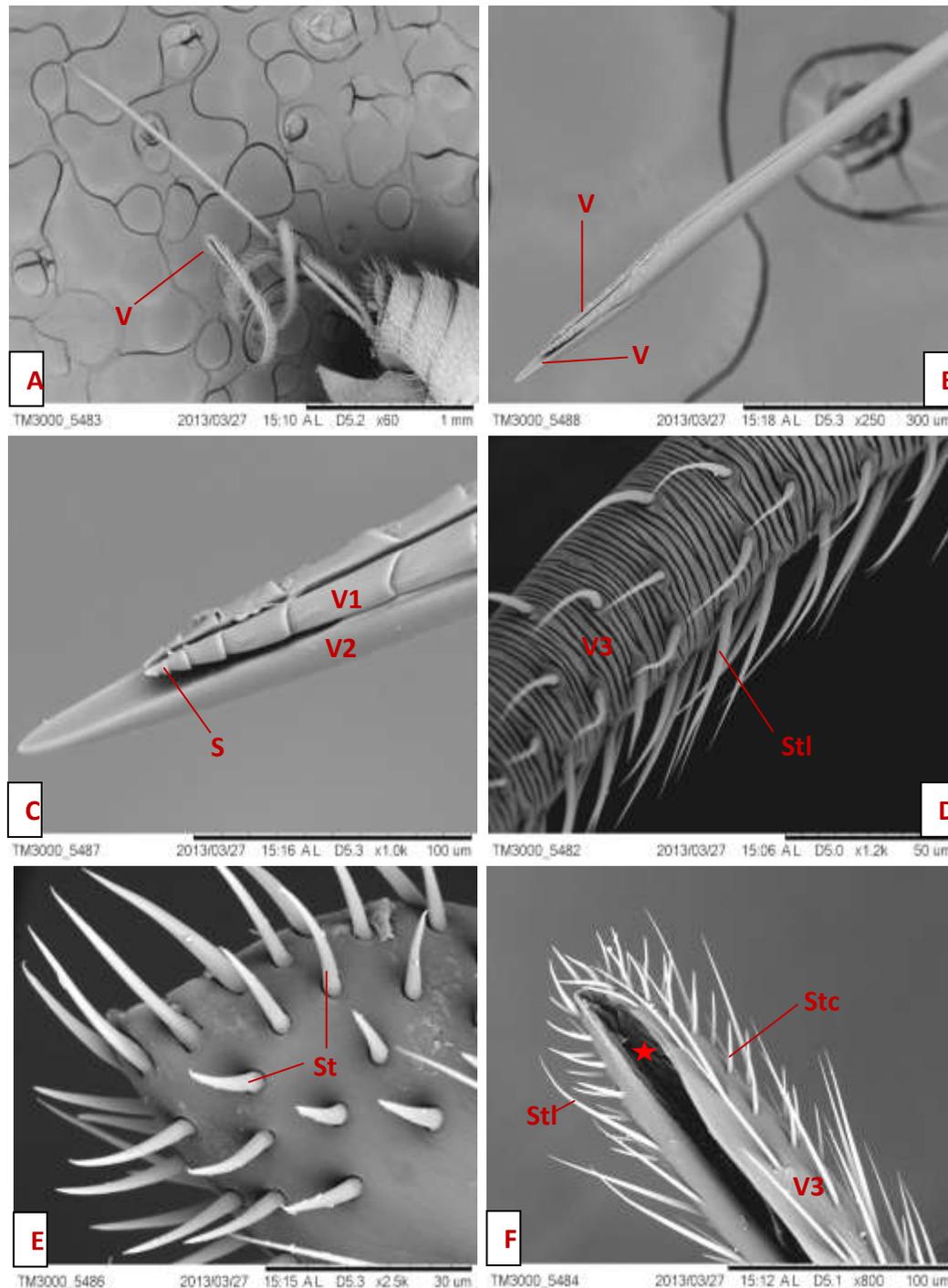


Figura 2. Eletromicrografia do ovipositor de *B.vulgaris*. A – Aspecto geral do ovipositor, em detalhe a terceira válvula (V3) ou bainha, B – Primeira e segunda válvulas (V1 e V2), C – Detalhe da região terminal das Válvulas 1 e 2, observar a justaposição dessas estruturas e a divergência morfológica e de tamanho, D - Região dorsal da V3, observar as subdivisões desiguais que conferem flexibilidade à estrutura, E – Sensilas tricóides presentes na região terminal de V3 e F – Região ventral da bainha, observar numerosos microtríquia no ápice da estrutura. Estrela – microtríquia, S – serrilhas, Stc – sensila tricóide curta, Stl – sensila tricóide longa.