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

RESPOSTAS DE *Trichogramma pretiosum* (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) A PLANTAS DE ARROZ (*Oryza sativa*) E MILHO (*Zea mays*) (POACEAE), SUBMETIDAS À HERBIVORIA E À OVIPOSIÇÃO POR *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Thais Cristina da Silva Sousa Engenheira Agrônoma/UFRGS

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia Área de concentração: Sanidade Vegetal

> Porto Alegre (RS), Brasil Julho de 2019

CIP - Catalogação na Publicação

Sousa, Thais Cristina da Silva
RESPOSTAS DE Trichogramma pretiosum (HYMENOPTERA:
TRICHOGRAMMATIDAE) A PLANTAS DE ARROZ (Oryza sativa) E
MILHO (Zea mays) (POACEAE), SUBMETIDAS À HERBIVORIA E
À OVIPOSIÇÃO POR Spodoptera frugiperda (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE) / Thais Cristina da Silva Sousa. -- 2019.
53 f.

Orientador: Josué Sant'Ana.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. Trichogramma pretiosum. 2. Spodopetra frugiperda. 3. Defesa de plantas. I. Sant'Ana, Josué, orient. II. Título.

DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos para obtenção do Grau de

MESTRA EM FITOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia Faculdade de Agronomia Universidade Federal do Rio Grande do Sul Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 09.07.2019 Pela Banca Examinadora

Homologado em: 15.06.2020

Por

JOSUÉ SANT'ANA Orientador - PPG Fitotecnia UFRGS

CHRISTIAN BREDEMEIER Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia

LUIZA RODRIGUES REDAELLI PPG Fitotecnia/UFRGS

NATÁLIA ALVES LEITE Bolsista Pós-doutorado Faculdade de Agronomia/UFRGS

THAIS FERNANDA STELLA DE FREITAS CARLOS ALBERTO BISSANI Integrar Gestão e Inovação Agropecuária/RS Agronomia

Diretor da Faculdade de

Aos meus amados pais Gilmar e Rosângela, e a minha irmã e melhor amiga Thaynam por todo o amor, dedicação, apoio e correções que me deram nesta caminhada
Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus pela dádiva da vida.

Ao meu orientador, grande doutor Josué Sant'Ana, professor que despertou o meu interesse pela entomologia, através das suas aulas aplicadas e descontraídas. Grata pela orientação, a paciência, a amizade e a dedicação desde a iniciação científica até o final do mestrado.

A Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela estrutura e o ensino de qualidade prestados gratuitamente.

Aos meus pais Gilmar Sousa e Rosângela Sousa por me criarem com tanto amor e dedicação, sendo sempre a minha base. A minha irmã Thaynam Sousa por ter sido a maior incentivadora da minha formação. A minha prima Thalita Sousa que mesmo a milhas e milhas de distância sempre me apoio e me passou boas energias. As minhas queridas tias, quase mães, Cecilia, Katia e Nubia por todo o amor e carinho que me deram na minha infância e adolescência. E a todos outros familiares pelo apoio e incentivo.

Aos meus amigos do BIOECOLAB e do LEEQI que tornaram essa jornada mais prazerosa e descontraída pelo companheirismo. Aos lagarteiros Jucelio e Camila pela ajuda inicial nas criações. As companheiras Paloma e Patrícias que entraram comigo, pelo enorme apoio. As bolsistas de iniciação científica Tacielly, Carol e Geluse que foram indispensáveis pra a conclusão desse trabalho. E aos demais Roberta, Claudia, Suellen, Augusto, Nelson, Joel, Fernanda, Carlos Diego, Samuel pela felicidade da convivência.

Aos professores do Departamento de Fitossanidade pelo ensino que foi passado, em especial as professoras Luiza e Simone pelas contribuições na área da entomologia e a boa convivência.

A CAPES pelo auxílio financeiro prestado durante metade do mestrado.

RESPOSTAS DE Trichogramma pretiosum (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) A PLANTAS DE ARROZ (Oryza sativa) E MILHO (Zea mays) (POACEAE), SUBMETIDAS À HERBIVORIA E À OVIPOSIÇÃO POR Spodoptera frugiperda (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)¹

Autor: Thais Cristina da Silva Sousa

Orientador: Josué Sant'Ana

RESUMO

O parasitoide de ovos Trichogramma pretiosum Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é um importante agente de controle biológico de lepidópteros, como Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), praga que danifica culturas como a do arroz (Oryza sativa L.) e a do milho (Zea mays L.). O comportamento de busca e o parasitismo de tricogramatídeos podem ser afetados por pistas químicas, como compostos voláteis emitidos por plantas sob herbivoria e/ou oviposição. Este trabalho teve como objetivos avaliar o comportamento quimiotáxico de fêmeas de *T. pretiosum* frente a plantas de milho e arroz que sofreram herbivoria ou oviposição por S. frugiperda, bem como, a influência da herbivoria nas taxas de parasitismo. Foram testamos plantas de milho Bt (Morgan 30A77), de milho crioulo (AZ30) e de arroz (Irga 424), todas em estágio vegetativo (V2-V3). Nos testes com herbivoria, as plantas foram infestadas por 24 horas, com 30 lagartas (1° ínstar). Transcorrido este período, os insetos foram retirados e as plantas avaliadas após 24, 48 e 72 horas. Também foi registrado o comportamento quimiotáxico de T. pretiosum a plantas submetidas à oviposição com e sem a presença dos ovos, sendo todas avaliadas após 24 e 48 horas. Plantas danificadas por herbivoria e oviposição foram contrastadas com as não danificadas (PNDs). As respostas quimiotáxicas de T. pretiosum foram observadas em olfatômetro de dupla escolha. No teste de parasitismo, uma planta que sofreu herbivoria após 24 horas foi colocada em gaiolas junto com uma PND, ambas com a presença de uma cartela de ovos sentinela de S. frugiperda e uma fêmea de T. pretiosum, a qual ficou exposta aos ovos por 5 horas. Foram avaliados o número médio de ovos parasitados e o sucesso de parasitismo. Fêmeas de T. pretiosum foram significativamente mais atraídas por plantas de arroz e milho avaliadas 24 horas após a herbivoria em relação às PNDs. Os parasitoides preferiram plantas de arroz com posturas e/ou previamente ovipositadas (sem posturas) após 24 e 48 horas em relação às plantas controle. As duas variedades de milho ovipositadas, com e sem a presença da postura, após 48 horas foram mais atrativas do que as PNDs. O percentual de parasitismo em ovos sentinela localizados próximos a plantas de arroz, milho Bt e milho crioulo testadas 24 horas após o dano das lagartas foi significativamente maior do que nos ovos sentinelas localizados próximo às PNDs. Os resultados comprovam que fêmeas de T. pretiosum utilizam os voláteis emitidos por plantas induzidas por herbivoria e oviposição de S. frugiperda na busca pelo hospedeiro.

¹ Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (53f.) Julho, 2019.

RESPONSES OF Trichogramma pretiosum (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) TO RICE (Oryza sativa) AND CORN (Zea mays) PLANTS (POACEAE), SUBMITTED TO Spodoptera frugiperda (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) HERBIVORY AND OVIPOSITION

Author: Thais Cristina da Silva Sousa

Advisor: Josué Sant'Ana

ABSTRACT

The parasitoid Trichogramma pretiosum (Hymenoptera: Riley egg Trichogrammatidae) is an important biological control agent of lepidopterous pests, as Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) (Noctuidae), which damages several crops, such as rice (Oryza sativa L.) and corn (Zea mays L.). Trichogramatids searching behavior can be affected by volatile compounds released by plants under herbivory and/or oviposition. This study aimed to evaluate the chemotactic behavior of T. pretiosum females in rice and corn plants submitted to S. frugiperda herbivory or oviposition, as well as, the influence of herbivory on parasitism rates. We tested Bt corn (Morgan 30A77), landrace corn (AZ30) and rice (Irga 424) plants in vegetative stage (V2-V3). In the herbivory tests, plants were infested with 30 S. frugiperda larvae (1st instar) for 24 hours. After time, the insects were removed and plants were evaluated after 24, 48 and 72 hours. Chemotactic behavior of T. pretiosum was also recorded in plants submitted to S. frugiperda oviposition, with and without eggs, after 24 and 48 hours. Plants damaged by herbivory and oviposition were contrasted with non-damaged plants (NDPs) (without S. frugiperda contact). Chemotactic responses of T. pretiosum females were observed in a dual-choice olfactometer. In the parasitism test, plants damaged by herbivory after 24 hours were placed in cages with control plants, both in the presence of a carton with sentinel S. frugiperda eggs and one T. pretiosum female which was exposed to the eggs for 5 hours. Average number of parasitized eggs and parasitism success were evaluated. Parasitoids were significantly more attracted by rice and corn plants 24 hours after herbivory in relation to NDPs. Parasitoids chose rice plants with egg masses and/or previously oviposited (without eggs) after 24 and 48 hours contrasted to control treatment. Both oviposited corn varieties, with and without egg masses, were more attractive than NDPs after 48 hours. Percentage of parasitism in sentinel eggs placed near to rice plants, Bt corn and landrace corn (24 hours after larvae damage) was significantly higher than in sentinel eggs placed close to NDPs. Results confirm that T. pretiosum females use volatiles emitted by plants induced by S. frugiperda herbivory and oviposition for host searching behavior.

¹Master Dissertation in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (53p.) July, 2019.

SUMÁRIO

		Página
1	INTRODUÇÃO GERAL	. 1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
	2.1 Trichogramma spp	. 3
	2.1.1 Aspectos Bioecológicos	. 3
	2.1.2 Controle Biológico	4
	2.2 Spodoptera frugiperda	. 5
	2.3 Trichogramma pretiosum no controle de Spodoptera frugiperda	7
	2.4 Utilização da comunicação química por parasitoides na defesa de plantas	
	2.5 Referências Bibliográficas	. 11
3	CAPÍTULO I. Respostas de <i>Trichogramma pretiosum</i> (Hymenoptera: Trichogrammatidae) a plantas de arroz (<i>Oryza sativa</i>) e milho (<i>Zea mays</i>) (Poaceae), submetidas à herbivoria e a oviposição por <i>Spodoptera</i>) 1
	frugiperda (Lepidoptera:Noctuidae)	
	3.1 Introdução	
	3.2 Material e métodos.	
	3.2.1 Local de realização dos experimentos	20
	3.2.2 Cultivo de plantas	21
	3.2.3 Criação dos insetos.	21
	3.2.3.1 Trichogramma pretiosum	21

3.2.3.2 Spodoptera frugiperda	21
3.2.4 Bioensaios.	22
3.2.4.1 Preparo das plantas	22
3.2.4.1.1 Plantas submetidas à herbivoria.	22
3.2.4.1.2 Plantas submetidas à oviposição	22
3.2.4.2 Quimiotaxia de <i>Trichogramma pretiosum</i>	23
3.2.4.2.1 Olfatometria.	23
3.2.4.3 Teste de parasitismo	24
3.2.4.4 Análise estatística	25
3.3 Resultados	25
3.3.1 Quimiotaxia de <i>Trichogramma pretiosum</i> a plantas de milho e arroz	
não danificadas	25
3.3.2 Quimiotaxia de <i>Trichogramma pretiosum</i> a plantas de milho e arroz	
submetidas à herbivoria de Spodoptera frugiperda	26
3.3.3 Quimiotaxia de <i>Trichogramma pretiosum</i> a plantas de milho e arroz	
submetidas a oviposição de <i>Spodoptera frugiperda</i>	27
3.3.4 Quimiotaxia de <i>T. pretiosum</i> a posturas de <i>S. frugiperda</i>	30
3.3.5 Parasitismo de <i>Trichogramma pretiosum</i> em ovos sentinelas	30
3.4 Discussão.	31
3.5 Referências bibliográficas.	38
CONSIDERAÇÕES FINAIS	43

Página

4

RELAÇÃO DE FIGURAS

Página

1.	Respostas quimiotáxicas de fêmeas de <i>Trichogramma pretiosum</i> testadas em olfatômetro em Y a plantas de arroz (cv. Irga 424), de milho transgênico Power core TM (cv. Morgan 30A77) e de milho crioulo (v. AZ30) não danificadas (PND) contrastadas com o ar. Valores na barra indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos (NR). ns = não significativo (χ^2 , P > 0,05)	26
2.	Respostas quimiotáxicas de fêmeas de <i>Trichogramma pretiosum</i> testadas em olfatômetro em Y a plantas de arroz (cv. Irga 424), de milho transgênico milho transgênico Power core TM (cv. Morgan 30A77) e de milho crioulo (cv. AZ30) não danificadas (PND) (controle) contrastadas com plantas danificadas por herbivoria (PDH) de <i>Spodoptera frugiperda</i> 24, 48 e 72 horas após o dano. Valores na barra indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos (NR). Barra seguida de asterisco indica diferença significativa entre os tratamentos (χ^2 , P < 0,05)	27
3.	Respostas quimiotáxicas de fêmeas de <i>Trichogramma pretiosum</i> testadas em olfatômetro em Y a odores de plantas de arroz (cv. Irga 424) previamente ovipositadas sem (POSP) e com (POCP) a presença da postura de <i>Spodoptera frugiperda</i> 24 e 48 horas após a oviposição, em contraste com plantas não ovipositadas (PNO). Valores na barra indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos (NR). Barra seguida de asterisco indica diferença significativa em entre os tratamentos (χ^2 , P < 0,05)	28
4.	Percentual de resposta quimiotáxica de fêmeas de <i>Trichogramma</i> pretiosum a odores de plantas de milho crioulo (v. AZ30) previamente sem (POSP) e com (POCP) a presença da postura de <i>Spodoptera</i> frugiperda após 24 e 48 horas em contraste com plantas não ovipositadas (PNO). Valores na barra indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos (NR). Barra seguida de asterisco indica diferença significativa em entre os tratamentos (χ^2 , P < 0,05)	29

5.	Percentual de resposta quimiotàxica de fêmeas de <i>Trichogramma</i> pretiosum a plantas de milho transgênico Power core TM (cv. Morgan 30A77) previamente ovipositadas sem (POSP) e com (POCP) a presença de postura de <i>Spodoptera frugiperda</i> após 24 e 48 horas em contraste com plantas não ovipositadas (PNO). Valores na barra indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos (NR). Barra seguida de asterisco indica diferença significativa em entre os tratamentos (χ^2 , P < 0,05)	29
6.	Respostas quimiotáxicas de fêmeas de <i>Trichogramma pretiosum</i> testadas em olfatômetro em Y a ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i> com 24 e 48 horas de idade em contraste com o ar. Valores na barra indicam o número de insetos responsivos e, entre parêntese, os não responsivos (NR). Barra seguida de asterisco indica diferença significativa em entre os tratamentos (χ^2 , P < 0,05)	30
7.	Percentual de parasitismo de <i>Trichogramma pretiosum</i> em ovos sentinelas de <i>Spodoptera frugiperda</i> localizados junto a plantas de arroz (cv. Irga 424), de milho transgênico Power core TM (cv. Morgan 30A77) e de milho crioulo (cv. AZ30) danificadas por herbivoria (PDH) 24 horas após o dano e a plantas não danificadas (PND). Barras verticais indicam o desvio padrão. Barras seguidas de letras diferentes, em cada tipo de planta, indicam diferença significativa pelo teste e Dunn (P < 0.05)	31

1 INTRODUÇÃO GERAL

O sucesso no uso de parasitoides de ovos para o controle biológico está diretamente relacionado a uma série de estudos que avaliem os aspectos que interferem na interação hospedeiro-parasitoide. Dentre estes, os fatores que intermediam a comunicação química entre micro-himenópteros e herbívoros, bem como, a influência dos voláteis de planta no comportamento de busca e parasitismo.

A espécie *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é um importante parasitoide de ovos utilizado em programas de manejo de pragas. O emprego deste inseto se deve, principalmente, à facilidade de criação massal em hospedeiros alternativos e a alta agressividade em ovos de lepidópteros, com ênfase para *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), praga polífaga, muito importante nos cultivos de milho e de arroz. Plantas quando injuriadas pela herbivoria ou por oviposição são induzidas a emitir voláteis que atuam como defesas químicas contra fitófagos. Os compostos emitidos são produtos do metabolismo secundário, os quais podem atrair espécies de parasitoides.

O conhecimento sobre os estímulos que orientam o comportamento de *T. pretiosum* na busca e seleção do hospedeiro pode ser a base para um futuro uso de técnicas relacionadas à ecologia química, no aprimoramento dos atuais programas de controle biológico com este parasitoide. Sendo assim, o trabalho teve como objetivos avaliar o comportamento quimiotáxico de fêmeas de *T. pretiosum* frente a plantas de milho (cultivar Bt e variedade

crioula) e arroz que sofreram herbivoria ou oviposição por *S. frugiperda*, bem como, a influência nas taxas de parasitismo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Trichogramma spp.

2.1.1 Aspectos Bioecológicos

O gênero *Trichogramma* é o maior representante da família Trichogrammatidae, composto por 210 espécies presentes em seis regiões biogeográficas, sendo 60 registradas na América do Norte, 22 na Central e 41 na América do Sul (Pinto, 2006). No Brasil estão presentes 29 espécies (Querino & Zucchi, 2012; Querino *et al.*, 2017).

Os tricogramatídeos são microvespas endoparasitoides primários de ovos de insetos, medem de 0,2 - 1,5 mm, podendo ser solitários ou gregários, idiobiontes e sinovigênicos (Pinto, 1997; Querino *et al.*, 2010; Boivin, 2010). Algumas espécies possuem uma pequena gama de hospedeiros, enquanto que outras são generalistas. Estes parasitoides são amplamente reconhecidos por parasitar ovos de lepidópteros, no entanto podem atacar outras ordens como Hemiptera, Hymenoptera, Coleoptera e Neuroptera (Querino *et al.*, 2010).

O modo mais comum de reprodução de espécies de *Trichogramma* é a sexuada, onde ovos fertilizados produzem fêmeas diploides e, os não fertilizados, machos haplóides (arrenotoquia). De forma menos recorrente, pode ocorrer partenogênese telítoca (Stouthamer *et al.*, 1990).

A duração do ciclo de vida (ovo-adulto) para *T. pretiosum* é de, aproximadamente, 10 dias a temperatura de 25 °C, podendo haver uma diminuição para cerca de 7,5 dias, a 30

°C (Calvin et al., 1984; Harrison et al., 1985; Pratissoli & Parra, 2000). O número de ovos parasitados é variável e depende da espécie do parasitoide, do hospedeiro e da longevidade do adulto (Cruz & Monteiro, 2004). A alimentação, por sua vez, também apresenta forte interferência sobre a longevidade e a fecundidade de espécies de *Trichogramma* (Berti & Marcano, 1991; Mcdougal & Mills, 1997). Pratissoli et al. (2009) observaram que fêmeas de *T. pretiosum* e *Trichogramma acacioi* Brun, Moraes & Soares (Hymenoptera: Trichogrammatidae), foram mais longevas e fecundas quando alimentadas com mel em relação as não alimentadas.

O tamanho de ovo do hospedeiro é outro importante fator no desenvolvimento de espécies de tricogramatídeos. Cônsoli *et al.* (1999) observaram que adultos de *T. pretiosum* que emergiram em ovos de *S. frugiperda* (volume de 0,0036 mm³) eram maiores do que aqueles que se desenvolviam em ovos de *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) (volume de 0,0023 mm³). Resultado semelhante foi encontrado por Beserra & Parra (2004), onde fêmeas de *Trichogramma atopivirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *T. pretiosum* tiveram maior comprimento da tíbia posterior e do ovipositor, quando o hospedeiro era *S. frugiperda* em relação àquelas criadas em ovos de *A. kuehniella*.

2.1.2 Controle Biológico

A criação em massa de *Trichogramma* foi inicialmente proposta na década de 1920 na América do Norte por Flanders. Neste período, foi desenvolvido um método de criação em ovos de *Sitotroga cerealella* (Oliver) (Lepidoptera; Gelechiidae) como hospedeiro alternativo (Flanders, 1930). Contudo, foram os cientistas da antiga União Soviética e da China os primeiros a utilizar espécies de *Trichogramma* em programas de controle biológico (Li, 1982; Smith, 1996).

Com o estabelecimento de criações massais foi possível realizar liberações crescentes de espécies de *Trichogramma* a campo, como ocorreu em 2000 nos EUA, estes foram utilizados com sucesso no controle de *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Crambidae) e *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) em lavoura milho (*Zea mays* L.) (Wright *et al.*, 2002). Também existem registros de liberação de *Trichogramma dendrolimi* Matsumura, *Trichogramma chilonis* Ishii *e Trichogramma ostriniae* Pang & Chen (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em quatro milhões de hectares de milho no nordeste da China (Wang *et al.* 2014).

Espécies de *Trichogramma* são comercializadas em mais de 30 países, no combate de cerca de 20 espécies de pragas (Parra, 2010) em diversas culturas, tais como, milho, arroz (*Oryza sativa* L.), cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* L.), algodão (*Gossypium hirsutum* L.) (Hassan, 1993).

No Brasil a espécie *T. pretiosum* está associada ao parasitismo de insetos-praga como *Anticarsia gemmantalis* Hübner (Lepidoptera; Noctuidae) e *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) na soja (*Glycine max* L.) (Avanci *et al.*, 2005; Bueno *et al.*, 2012), *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) em pessegueiro (*Prunus persica* L.) (Rodrigues *et al.*, 2011), *Alabama argillacea* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae) no algodão (Bastos *et al.*, 2010) e *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera; Plutellidae) em repolho (*Brassica oleracea* L.) (Zago *et al.*, 2010). Segundo Vasconcelos (2012), *T. pretiosum* é utilizado no controle de lepidópteros em cerca de 35 mil hectares em lavouras de milho, sorgo, soja e tomate no Brasil.

2.2 Spodoptera frugiperda

Spodoptera frugiperda, comumente conhecida como lagarta-militar ou lagarta-docartucho, é uma praga cosmopolita que ataca várias culturas, dentre elas soja, sorgo, algodão, trigo (*Triticum aestivum* L.), arroz e milho, ocasionando altos índices de desfolhamento (Cruz, 1995; Busato *et al.*, 2002; Pogue, 2002).

No Brasil, *S. frugiperda* é uma das principais pragas na cultura do milho, podendo atacar tanto na fase vegetativa quanto na reprodutiva (Lima *et al.*, 2012). Lagartas de primeiro ínstar inicialmente raspam as folhas jovens e, quando mais desenvolvidas, atacam o cartucho da planta e perfuram as folhas, podendo levar à completa destruição nas mesmas (Gallo *et al.*, 2002). Estas também podem atacar o colmo e o pedúnculo, impedindo a formação dos grãos, bem como a espiga, danificando os grãos (Cruz, 2008a). A lagarta-docartucho pode causar reduções de rendimento dos grãos, variando de 17,7 a 55,4%, conforme o estádio de desenvolvimento da cultura e da cultivar (Cruz, 2008b).

Em lavoura de arroz irrigado, *S. frugiperda*, também chamada de lagarta-da-folha, é definida como uma praga de ocorrência ocasional, que em determinados anos pode atingir níveis populacionais elevados (SOSBAI, 2018). O ataque inicial se dá por ocasião da emergência das plântulas podendo se estender até o período de emissão da panícula (SOSBAI, 2018). As lagartas podem cortar colmos jovens rentes ao solo, causando prejuízo no estabelecimento inicial da lavoura (Martins, 2004). A lagarta também ataca as folhas do arroz, ocasionando danos na fase vegetativa (perfilhamento) e reprodutiva, na qual se alimenta das folhas bandeira e/ou das panículas (Ferreira, 1999). Em arroz irrigado o período de maior suscetibilidade ao ataque da praga é compreendido entre a emergência da planta e a inundação da lavoura (Martins & Afonso, 2007). Contudo, após a inundação, podem ocorrer danos pelo corte dos colmos e folhas no nível da superfície da lâmina de água (Ferreira, 1999).

Altas infestações estão associadas a temperaturas elevadas e baixos índices pluviométricos (Ferreira, 1999). De acordo com Grützmacher *et al.* (1999), 1 lagarta/m² aos 15 dias após a emergência das plantas, pode reduzir 0,6% a produtividade na cultivar precoce de arroz irrigado Embrapa 6-Chuí. Já em SOSBAI (2018) consta que a partir da emergência

das plantas e ao longo do período pré-inundação, para cada lagarta de 1 cm ou mais de comprimento por metro quadrado, ou em média uma lagarta a cada quatro pontos vistoriados (área de 0,5 x 0,5m), implica na expectativa de redução de 1% na produtividade da cultura do arroz.

2.3 Trichogramma pretiosum no controle biológico de Spodoptera frugiperda

O parasitoide de ovos *T. pretiosum*, é importante agente de controle de *S. frugiperda* (Sá & Parra, 1994; Beserra *et al.*, 2002). Conforme Sá (1991), a taxa de parasitismo de *T. pretiosum* em *S. frugiperda* pode variar de 0,06 a 98%, sendo que esses valores são influenciados pelo tipo e características dos hospedeiros, tais como o número de camadas de ovos e a presença de escamas nas posturas. Além desses fatores, a criação de *T. pretiosum* por sucessivas gerações em *S. frugiperda* pode aumentar sua eficiência no controle deste herbívoro (Beserra *et al.*, 2003).

O parasitismo natural de ovos de *S. frugiperda* por *T. pretiosum* já foi registrado em cultivos de arroz no Brasil (Querino *et al.*, 2016). No estado do Rio grande do Sul, Dequech *et al.* (2013) observaram a ocorrência de espécies de *Trichogramma* em ovos de *S. frugiperda* na cultura do milho e constataram que os percentuais de parasitismo foram de até 2,36 %, com a predominância da espécie *T. pretiosum* (80%).

Martinazzo *et al.* (2007) avaliaram as liberações de *T. pretiosum* para controle biológico de *S. frugiperda* em lavoura de milho localizada na região oeste do estado do Paraná e observaram que houve uma redução de 63% de danos de *S. frugiperda* na área que houve liberação do parasitoide quando comparada com a sem liberação. Mais recentemente, em lavoura de milho orgânico, foi constatado que, aproximadamente, 80% dos ovos deste herbívoro estavam parasitados após as liberações *T. pretiosum* (Figueiredo *et al.*, 2015). Segundo os mesmos autores, o impacto deste parasitoide resultou em um aumento de produtividade de 19,4% na cultura do milho e ganho de US \$ 96,5/ha.

2.4 Utilização da comunicação química por parasitoides na defesa de plantas

As substâncias químicas envolvidas na comunicação entre os organismos são denominadas semioquímicos, definidos como qualquer substância que, quando liberada por uma determinada espécie no ambiente, provoque uma mudança fisiológica e/ou comportamental em outra (Ferreira & Zarbin, 1998). Nos insetos, estes são os principais responsáveis pelo comportamento reprodutivo, de localização e de seleção do hospedeiro e do habitat (Ferreira & Zarbin, 1998). Estas substâncias podem ter ação intraespecífica (feromônio) ou interespecífica (aleloquímico) (Thomazini, 2009).

Os aleloquímicos são sinais mediadores de interações entre dois indivíduos de espécies diferentes, diferenciam-se de acordo com o tipo de organismo que está sendo beneficiado na comunicação (Vilella & Della Lúcia, 2001). Conforme Vilella & Della Lúcia (2001) os aleloquímicos podem ser classificados em: alomônios são sinais químicos que somente favorecem o emissor, tais como as substâncias de defesa dos artrópodes; cairomônios os quais são sinais que, quando liberados, beneficiam somente o agente receptor, sendo este utilizado por parasitoides na localização de hospedeiros; os sinomônios favorecem tanto o agente emissor como o receptor do sinal e podem atuar nas interações planta-herbívoro-inimigo natural .

As estratégias de busca e o sucesso do parasitismo envolvem uma série de etapas (localização do habitat e do hospedeiro, reconhecimento, aceite e oviposição) e dependem de estímulos que podem ser de natureza química, física e/ou morfológica (Vinson, 1984). Parasitoides de ovos utilizam, principalmente, aleloquímicos na localização hospedeira (Vinson, 1985). Dentre estes, estão às pistas químicas liberadas pelas plantas as quais são fundamentais nestas interações (Vinson, 1991; Lou *et al.*, 2005; Peñaflor *et al.*, 2011; Xavier *et al.*, 2011; Kroes *et al.*, 2017).

Diante de condições adversas, como o ataque de macro e microrganismos antagonistas, as plantas criaram e aperfeiçoaram seus mecanismos de defesa, que podem atuar de forma direta, prejudicando a orientação e/ou o desenvolvimento do herbívoro, como de foram indireta, atraindo inimigos naturais dos fitófagos (Schoonhoven *et al.*, 2006; Arimura *et al.*, 2009; War *et al.*, 2012).

De modo geral, plantas que sofreram herbivoria liberam um perfil diferenciado de voláteis secundários, denominados de VIPHs (Voláteis Induzidos por Herbivoria) formados principalmente por aldeídos, alcoóis e seus ésteres, conhecidos como voláteis de folhas verdes (VFVs) e terpenoides (Holopainen, 2004). Para indução destes compostos normalmente é necessário a presença de elicitores, os quais desencadeiam a síntese de compostos ativada por genes relacionados à defesa de plantas (Kessler & Baldwin, 2001).

Os parasitoides utilizam voláteis oriundos do metabolismo secundário de plantas, principalmente após a herbivoria, como pistas químicas no comportamento de busca pelo hospedeiro (Vinson, 1991; Steidle & Van Loon, 2003; Heil et al, 2008). A emissão destes compostos é ativada por elicitores presentes na saliva dos insetos (Jones & Dangl, 2006). Em lagartas três tipos de indutores foram encontrados, sendo estes os aminoácidos conjugados, ácidos graxos sulfatados e as enzimas líticas (Mattiacci et al., 1995; Alborn et al., 1997). Os micro-himenópteros *Trichogramma deion* Pinto & Oatman e *Trichogramma sathon* Pinto (Hymenoptera: Trichogrammatidae) responderam aos voláteis liberados por plantas de *Datura wrightii* (Solanaceae) atacada pelas lagartas *Manduca sexta* (Linnaeus) e *Manduca quinquemaculata* (Haworth) (Lepidoptera: Sphingidae) (Wilson & Woods, 2016). Xavier et al. (2011) observaram que plantas de milho atacadas por lagartas de *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller) (Lepidoptera, Noctuidae) liberaram compostos que atraem *T. pretiosum*.

Não somente a herbivoria, mas substâncias secretadas durante a postura, também podem estimular a plantas a produzir compostos de defesa (Hilker & Meiners, 2011, Fatouros *et al.*, 2012). Meiners & Hilker (2000) observaram que a oviposição do besouro da

folha de olmo *Xanthogaleruca luteola* (Muller) (Coleoptera: Chrysomelidae) induz a emissão sistêmica de voláteis de defesa de *Ulmus minor* (Umaceae), os quais atraem o parasitoide de ovos, *Oomyzus gallerucae* (Fonscolombe) (Hymenoptera: Eulophidae). De forma similar, Mumm *et al.* (2003) observaram que a oviposição de *Diprion pini* (L.) (Hymenoptera: Diprionidae) em pinheiro silvestre (*Pinus sylvestris*) induziu a planta a liberar voláteis que foram atrativos para *Chrysonotomyia ruforum* Krausse (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide de ovos deste himenóptero. Em bioensaios laboratoriais também foi constatado que fêmeas de *Trissolcus basalis* (Wollaston) (Hymenoptera: Scelionidae) foram atraídas por compostos emitidos por leguminosas com a presença de ovos de *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae) (Colazza *et al.*, 2004). Da mesma forma, Fatouros *et al.* (2005) evidenciaram que a oviposição de *Pieres brassicae* (L.) (Lepidoptera: Pieridae) induz mudanças químicas na superfície das plantas de couve-de-bruxelas e que tais substâncias, atraem fêmeas de *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae) após três dias da oviposição deste herbívoro.

2.5 Referências Bibliográficas

ALBORN, H. T. *et al.* An Elicitor of Plant Volatiles from Beet Armyworm Oral Secretion. **Science,** Washington, v. 276, p. 945-949, 1997.

ARIMURA, G. L.; MATSUI, K.; TAKABAYASHI, J. Chemical and molecular ecology of herbivore-induced plant volatiles: proximate factors and their ultimate functions. **Plant Cell Physiology**, Kyoto, v.50, p.911-923, 2009.

AVANCI, M. R. F.; FOERSTER, L. A.; CAÑETE, C. L. Natural parasitism in eggs of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera, Noctuidae) by *Trichogramma* spp. (Hymenoptera, Trichogrammatidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v.49, p.148-151, 2005.

BASTOS, C. S.; TORRES, J. B.; SUINAGA, F. A. Parasitism of cotton leafworm *Alabama* argillacea eggs by *Trichogramma pretiosum* in commercial cotton fields. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v.134, n.7, p.572-581, 2010.

- BERTI, J.; MARCANO, R. Effect of time of host absence on parasitism by *Trichogramma pretiosum* Riley (Hyminoptera; Trichogrammatidae). **Boletin de Entomologia Venezolana,** Maracay, v.6, n.1, p.5-10, 1991.
- BESERRA, E. B.; DIAS, C. T. S.; PARRA, J. R. P. Distribution and parasitism of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs different phenological stages of corn. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.85, n.4, p.588-593, 2002.
- BESERRA, E. B.; DIAS, C. T. S.; PARRA, J. R. P. Características biológicas de linhagens de *Trichogramma pretiosum* desenvolvidas em ovos de *Spodoptera frugiperda*. **Acta Scientiarum**, Maringa, v.25, p.479-483, 2003.
- BESERRA, E. B.; PARRA, J. R. P. Biology and parasitism of *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner and *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) on eggs of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v.18, n.1, p.119-126, 2004.
- BOIVIN, G. Phenotypic plasticity and fitness in egg parasitoids. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.39, n.4, p. 457-463, 2010.BUENO, R. C. O. F.; PARRA, J. R. P.; BUENO, A. F. *Trichogramma pretiosum* parasitism and dispersal capacity: A basis for developing biological control programs for soybean caterpillrs. **Bulletin of Entomological Research**, Brisbane, v. 102, p. 1-8, 2012.
- BUSATO, G. R. *et al.*Consumo e utilização de alimento por *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) originária de diferentes regiões do Rio Grande do Sul, das culturas do milho e do arroz irrigado. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.31, p. 525-529, 2002.
- CALVIN, D. D. *et al.* Impact of Environmental Factors on *Trichogramma pretiosum* Reared on Southwestern Corn Borer Eggs. **Environmental Entomology**, Oxford, v.13, n.3, p.774-780, 1984.
- COLAZZA, S. *et al.* Insect oviposition induces volatile emission in herbaceous plants that attracts egg parasitoids. **Journal of Experimental Biology**, London, v. 207, p. 47-53, 2004.
- CÔNSOLI, F. L.; KITAJIMA, E. W.; PARRA, J. R. P. Ultrastructure of the natural and factitious host eggs of *Trichogramma galloi* Zucchi and *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, Amsterdam, v.28, p.211-229, 1999.
- CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 1995, 45p.
- CRUZ, I.; MONTEIRO, A. R. Controle Biológico da lagarta do cartucho do milho, utilizando o parasitoide de ovos *Spodoptera frugiperda*, *Trichogramma pretiosum*. Sete Lagoas: Embrapa: Milho e Sorgo, 2004. 4 p.
- CRUZ, I. Manual de identificação de pragas do milho e de seus principais agentes de controle biológico. Brasília: EMBRAPA, 2008a. 192 p.

CRUZ, I. Manejo de pragas da cultura do milho. In: CRUZ, J.C.; KARAM, D.; MONTEIRO, M. A. R.; MAGALHAES, P. C. (Ed.). **A Cultura do Milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008b. cap.12, p.303-362.

DEQUECHI, S. T. B. *et al.* Population fluctuation of *Spodoptera frugiperda* eggs and natural parasitism by *Trichogramma* in maize. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 35, n. 3, p.295-300, 2013.

FATOUROS, N. E. *et al.* Oviposition-induced plant cues: do they arrest *Trichogramma* wasps during host location? **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Holanda, v.115, n.1, p.207-215, 2005.

FATOUROS, N. E. *et al.* Plant Volatiles Induced by Herbivore Egg Deposition Affect Insects of Different Trophic Levels. **Plos One,** São Francisco, v.7, n.8, p.43607-43620, 2012.

FERREIRA, E. Pragas e seu controle. In: VIEIRA, N. R. A.; SANTOS, A. B.; SANT´ANA, E. P. (Ed.). **A cultura do arroz no Brasil**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. 633 p.

FERREIRA, J. T. B.; ZARBIN, P. H. G. Amor ao Primeiro Odor – Comunicação química entre os insetos. **Química Nova na Escola**, São Paulo, v.7, p.3-6, 1998.

FIGUEIREDO, M. L. C. *et al.* Biological control with *Trichogramma pretiosum* increases organic maize productivity by 19.4%. **Agronomy for Sustainable Development,** Les Ulis/Paris, v.35, n.3, p.1175-1183, 2015.

FLANDERS, S. E. Mass production of egg parasites of genus *Trichogramma*. **Hilgardia**, Berkeley, v.4, n.16, p.465-501, 1930.

GALLO, D. et al. Entomologia Agrícola. Piracicaba: Fealq, 2002. 920 p.

GRÜTZMACHER, A. D. *et al.* Danos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e seus efeitos sobre a produção de grãos na cultivar de arroz Embrapa 6-Chuí. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 5, n. 2, p. 135-141, 1999.

HARRISON, W. W.; KING, E. G.; OUZTS, J. D. Development of *Trichogramma exiguum* and *T. pretiosum* at five temperature regimes. **Environmental Entomology,** Oxford, v.14, n.2, p.118-121, 1985.

HASSAN, S. A. The mass rearing and utilization of *Trichogramma* to control lepidopterous pests: achievements and outlook. **Pesticide Science**. Oxford, v.37, p. 387-391, 1993.

HEIL, *M. Indirect defence via tritrophic interactions*. **New Phytologist**, Oxford, v. 178, n.1, p. 41-61, 2008.

HILKER, M.; MEINERS, T. Plants and insect eggs: How do they affect each other? **Phytochemistry**, London, v.72, n.13, p.1612-23, 2011.

HOLOPAINEN, J. K. Multiple functions of inducible plant volatiles. **Trends in Plant Science**, Oxford, v.9, p.529-533. 2004.

- JONES, J. D.; DANGL, J. L. The plant immune system. **Nature**, London, v. 444, p.323–329, 2006.
- KESSLER, A.; BALDWIN, I. T. Defensive Function of Herbivore-Induced Plant Volatile Emissions in Nature. **Science**, Washington, v. 291, n. 5511, p.2141-2144, 2001.
- KROES, A. *et al*. Terpenoid biosynthesis in *Arabidopsis* attacked by caterpillars and aphids: effects of aphid density on the attraction of a caterpillar parasitoid. **Oecologia**, Berlin, v. 185, n.4, p.699-712, 2017.
- Li, L.Y. Integrated rice insect pest control in the Guangdong Province of China. **Entomophaga**, Paris, v.27, p.81-88, 1982.
- LIMA JR. I. S. *et al.* Infestação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e seus inimigos naturais em milho nas condições de sequeiro e irrigado. **Revista Agrarian**, Dourados, v.5, p.14-19, 2012.
- LOU, Y.; MA, B.; CHENG, J. A. Attraction of the Parasitoid *Anagrus nilaparvatae* to Rice Volatiles Induced by the Rice Brown Planthopper *Nilaparvata lugens*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 30, p.2359-2374, 2005.
- MARTINS, J. F. S. Descrição e manejo integrado de insetos praga em arroz irrigado. In: GOMES, A. S.; MAGALHÃES JÚNIOR, A. M. (Ed.). **Arroz irrigado no Sul do Brasil**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. 899 p.
- MARTINAZZO, T. *et al.* Liberação de *Trichogramma pretiosum* para controle biológico de *Spodoptera frugiperda* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v. 2, p. 1657-1660, 2007.
- MARTINS, J. F. S.; AFONSO, A. P. S. Importância Econômica de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) como Praga do Arroz no Brasil. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. 31p.
- MATTIACCI, L.; DICKE, M.; POSSHUMUS, M. A. Beta-Glucosidase: an elicitor of herbivore-induced plant odor that attracts host-searching parasitic wasps. **Proceedings of the National Academy of Sciences,** New York, v. 92, p.2036-2040. 1995.
- MCDOUGAL, S. J.; MILLS, N. J. The influence of hosts, temperature and food sources on the longevity of *Trichogramma platneri*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 83, n.2, p.195-203, 1997.
- MEINERS, T.; HILKER, M. Induction of plant synomones by oviposition of a phytophagous insect. **Journal Chemical Ecology**, New York, v. 26, p. 221-232, 2000.
- MUMM, R. *et al.* Chemical analysis of volatiles emitted by *Pinus sylvestris* after induction by insect oviposition. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 29, p. 1235-252, 2003.
- PARRA, J. R. P. Mass rearing of egg parasitoids for biological control programs. In: CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). **Egg parasitoids in agrosystems with emphasis on** *Trichogramma***.** New York: Springer, 2010. p. 267-292.

- PEÑAFLOR, M. F.G.V. *et al.* Herbivore-Induced Plant Volatiles Can Serve as Host Location Cues for a Generalist and a Specialist Egg Parasitoid. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.37, p.1304-1313, 2011.
- PINTO, J. D. Taxonomia de Trichogrammatidae (Hymenoptera) com ênfase nos gêneros que parasitam Lepidoptera. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). *Trichogramma* e controle Biológico Aplicado. Piracicaba: FEALQ, 1997, p. 13-39.
- PINTO, J. D. A review of the new world genera of Trichogrammatidae (Hymenoptera). **Journal of Hymenoptera Research**, Lawrence, v.15, n.1, p.38-163, 2006.
- POGUE G. M. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). **Memoirs of the American Entomological Society**, Philadelphia, v.43, n.28, p.117-124, 2002.
- PRATISSOLI, D.; PARRA, J, R. P. Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, criado em 2 traças do tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.7, p. 1281-1288, 2000.
- PRATISSOLI, D. *et al.* Adult feeding and mating effects on the biological potential and parasitism of *Trichogramma pretiosum* and *T. acacioi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 5, p.1057-1062, 2009.
- QUERINO, R.; ZUCCHI, R. A.; PINTO, J. D. Systematics of the Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) with a focus on the genera attacking Lepidoptera. In: 51 CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). **Egg parasitoids in agrosystems with emphasis on** *Trichogramma*. New York: Springer, 2010. p. 191- 218.
- QUERINO, R. B.; ZUCCHI, R. A. **Guia de identificação de** *Trichogramma* **para o Brasil**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2012. 107 p.
- QUERINO, R. B.; SILVA, N. N. P.; ZUCCHI, R. A. Natural parasitism by *Trichogramma* spp. in agroecosystems of the Mid-North, Brazil, **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 9, p.1521-1523, 2016.
- QUERINO, R. B. *et al.* New species, notes and new records of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Brazil. **Zootaxa**, Auckland, v.4232, n.1, p. 137–143, 2017.
- RODRIGUES, M. L. *et al.* Selection of *Trichogramma pretiosum* lineages for 27 control of *Grapholita molesta* in Peach. **Florida Entomologist**, Gainesville v.94, p.398-403, 2011.
- SÁ, L. A. M. Bioecologia de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 visando avaliar o eu potencial para o controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) em milho. 1991. Tese (Doutorado) Programa de pós-Graduação em Entomologia, Escola Superior de agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1991.
- SÁ, L. A.; PARRA, J. R. P. Natural Parasitism of *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) Eggs in Corn by *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Florida Entomologist**, Gainesville v.77, n.1, p.185-188, 1994.

- SCHOONHOVEN, L. M.; VAN LOON, J. J.; DICKE, M. **Insect- Plant Biology**. 2.ed. Oxford: Oxford University Press: 2006. 412 p.
- SMITH, S. M. Biological control with Trichogramma: Advances, Successes, and Potential of Their Use. **Annual Review of Entomology,** Palo Alto, California, v. 41, p. 375-406, 1996.
- STEIDLE, J. L. M.; VAN LOON, J. J. A. Dietary specialization and infochemical use in carnivorous arthopods: testing a concept. **Entomologia experimentalis et applicata,** Holanda, v.108, p. 133-148, 2003.
- SOSBAI SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. **Arroz irrigado: Recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Farroupilha RS: SOSBAI, 2018. 209 p. Reunião Técnica da Cultura do Arroz Irrigado, 29.
- STOUTHAMER, R.; LUCK, R. F.; HAMILTON, W. D. Antibiotics cause parthenogenetic *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) to revert to sex. **Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA,** Washigton, v.87, p. 2424-2427, 1990.
- THOMAZINI, M. J. A comunicação química entre os insetos: obtenção e utilização de feromônios no manejo de pragas. In: GONCALVES, R. C.; OLIVEIRA, L. C. de (Ed.). **Embrapa Acre: ciência e tecnologia para o desenvolvimento sustentável do Sudoeste da Amazônia**. Rio Branco, AC: Embrapa Acre, 2009. p. 338-354.
- VASCONCELOS, Y. Inseto contra inseto. **Pesquisa FAPESP**, São Paulo, n. 194, p. 68-73, 2012.
- VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. Introdução aos semioquímicos e terminologia. In: VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. (Ed.). **Feromônios de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas**. 2. ed. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 9-12.
- VINSON, S. B. Parasitoid-host relationships. In: CARDÉ, R. T.; BELL, W. J. (Ed.). **Chemical Ecology of Insects**. New York: Chapman & Hall, 1984. p.205-233.
- VINSON, S. B. The behaviour of parasitoids. In: KERKUT, G.A.; GILBERT, L.I. (Eds) **Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology**. New York: Pergamon Press, 1985. p.417-469.
- VINSON, S. B. Chemical signals used by parasitoids. **Redia**, Firenze (Italia), v.74, p.15-42, 1991.
- WANG, Z. Y. *et al.* Mass rearing and release of *Trichogramma* for biological control of insect pests of corn in China. **Biological Control**, Orlando, v.68, p.136-144, 2014.
- WAR, A. R. *et al.* Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant Signaling & Behavior**, New York, v. 7, n.10, p.1306-1320, 2012.
- WILSON, J. K.; WOODS, H. A. Innate and Learned Olfactory Responses in a Wild Population of the Egg Parasitoid *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Insect Science**, Annapolis, v.16, p. 110-118, 2016.

WRIGHT, M. G. *et al.* Effect of inoculative releases of *Trichogramma ostriniae* on populations of *Ostrinia nubilalis* and damage to sweet corn and field corn. **Biological Control**, Orlando, v.23, p.149–155, 2002.

XAVIER, L. M. S. *et al. Trichogramma pretiosum* attraction due to the *Elasmopalpus lignosellus* damage in maize. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasilía, v. 46, p. 578-585, 2011.

ZAGO, H. B. *et al.* Egg distribution of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) and the parasitism by *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology,** Londrina, v.39, n.2, p. 241-247, 2010.

3 CAPÍTULO I.

RESPOSTAS DE Trichogramma pretiosum (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) A PLANTAS DE ARROZ (Oryza sativa) E MILHO, (Zea mays) (POACEAE), SUBMETIDAS À HERBIVORIA E A OVIPOSIÇÃO POR Spodoptera frugiperda (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

3.1 Introdução

Diante de condições adversas, como o ataque de macro e microrganismos antagonistas, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa, que podem atuar de forma direta, prejudicando a orientação e/ou o desenvolvimento do herbívoro, como indireta, atraindo inimigos naturais (Arimura et al., 2005; Schoonhoven et al., 2006; War et al., 2012). Estas defesas podem ser ativadas por indutores específicos, como as substâncias presentes nas glândulas salivares dos fitófagos e/ou produzidas durante a deposição de ovos (Tumlinson et al., 1993). Esses sinais ativam uma série de rotas químicas que fazem parte do seu metabolismo secundário de plantas, levando a produção de compostos que estão relacionados, principalmente, as interações bi e tritróficas (Tumlinson et al., 1993; Karban et al., 1997).

Parasitoides utilizam voláteis oriundos do metabolismo secundário como pistas químicas no comportamento de busca pelo hospedeiro (Vinson, 1991; Rutledge, 1996; Steidle & Van Loon, 2003; Heil *et al*, 2008). Yuan *et al*., (2008) registraram que fêmeas de *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae) foram mais atraídas por plantas de arroz consumidas por *S. frugiperda* (24 horas depois do dano) do que as intactas. De forma semelhante Peñaflor *et al*. (2011) constataram que *T. pretiosum* foi mais atraído por voláteis de plantas de milho consumidas por *S. frugiperda* até 3 horas após o dano, do que por plantas com danos mais antigos (6-7 e 11-12 horas). De acordo com os autores, estes resultados evidenciaram que existem variações no perfil de voláteis liberados ao longo do tempo e que estes podem impactar de forma diferente *T. pretiosum*. A herbivoria de *E. lignosellus* também provocou uma mudança no perfil químico em plantas de milho, tornando as atrativas ao parasitoide de ovos *T. pretiosum* (Xavier *et al.*, 2011). Em um trabalho mais recente, Wilson & Woods (2016), registraram uma maior atração dos micro-himenópteros

T. deion e T. sathon, para Datura wrightii atacadas pelas lagartas M. sexta e M. quinquemaculata em relação as plantas não injuriadas.

Não somente a herbivoria, mas substâncias secretadas durante a postura podem estimular plantas a produzir compostos de defesa (Hilker & Meiners, 2010, Fatouros *et al.*, 2012; Geiselhardt *et al.*, 2013). Bioensaios laboratoriais evidenciaram que fêmeas de *T. basalis* foram atraídas por compostos emitidos por leguminosas com a presença de ovos de *N. viridula* (Colazza *et al.*, 2004). Da mesma forma, a deposição de ovos *P. brassicae* induziu mudanças químicas em plantas de couve-de-bruxelas, as quais atraíram fêmeas de *T. brassicae* três dias após a oviposição deste herbívoro (Fatouros *et al.*, 2005). Em outra interação tritrófica Bruce *et al.* (2010) constataram que a espécie forrageira, *Brachiaria brizantha* L. (Poaceae), quando exposta a oviposição de *Chilo partellus* Swinhoe (Lepidoptera: Crambidae), teve a uma redução acentuada na emissão de um dos seus voláteis principais (*Z*3-acetato de hexenila), enquanto que para outros, foi observado o oposto. Segundo os autores, esta mudança de perfil químico da planta atraiu fêmeas de *Cotesia sesamiae* Cameron (Hymenoptera: Braconidae), parasitoide deste herbívoro.

A indução das defesas indiretas da planta pode ser alterada não somente pela herbivoria/oviposição e tipo de herbívoro envolvido, mas também pela variedade da planta (Hoballah *et al.*, 2002). Tamiru *et al.* (2011) relataram que voláteis emitidos por variedades crioulas de milho (C-2101, B-3016 e H-2034), submetidas à oviposição de *C. partellus*, atraíram mais o parasitoide de ovos *Trichogramma bournier* Pintureau (Hymenoptera: Trichogrammatidae) do que os híbridos (WS505 e PH4), nas mesmas condições.

O parasitoide, *T. pretiosum* é um importante agente controlador de *S. frugiperda* (Sá & Parra, 1994; Beserra *et al.*, 2002), uma praga cosmopolita que ataca várias plantas da família Poaceae, como o milho, arroz e trigo, ocasionando altos índices de desfolhamento (Cruz, 1995; Busato *et al.*, 2002; SOSBAI, 2018). O parasitismo natural de ovos *S.*

frugiperda por *T. pretiosum* já foi registrado em cultivos de arroz (Querino *et al.*, 2016) e milho (Dequech *et al.*, 2013). Este parasitoide é utilizado também no controle biológico aplicado, sua liberação em milharal orgânico (cultivar "BR 106") resultou em cerca de 80% de parasitismo em ovos de *S. frugiperda*, refletindo em um aumento de produtividade de 19,4 %. (Figueredo *et al.*, 2015).

Estudos sobre defesa indireta de espécies e/ou variedades de uma mesma planta envolvendo *S. frugiperda* e *T. pretiosum*, são inexistentes. Estas interações, se melhor estudadas, podem auxiliar na compreensão não somente dos processos de busca deste parasitoide em plantas impactadas pelo mesmo herbívoro, como também averiguar se genótipos de uma mesma planta (milho Bt e não-Bt) podem afetar a quimiotaxia e o parasitismo de *T. pretiosum*, sendo esta última uma importante informação no que tange à tecnologia relacionada às áreas de refúgio. Sendo assim, o trabalho teve como objetivos avaliar a indução de defesas indiretas através das respostas quimiotáxicas e parasitismo de *T. pretiosum* a plantas de arroz e milho (variedade crioula e cultivar Bt) danificadas por herbivoria e oviposição de *S. frugiperda*.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Local de realização dos experimentos

Os trabalhos foram conduzidos no Laboratório de Etologia, Ecologia e Química de Insetos (LEEQI) e no Laboratório de Biologia, Ecologia e Controle Biológico de Insetos (BIOECOLAB), ambos localizados na Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. As criações e os experimentos foram realizados em condições controladas (25 ± 2 °C; $60 \pm 10\%$ UR); (fotofase de 14 horas).

3.2.2 Cultivo das plantas

Foram cultivadas plantas de arroz (cv. Irga 424), de milho transgênico (cv. Morgan 30A77, Power Core TM eventos Mon89034 x Tc1507 x Nk603, o qual expressa as proteínas Cry1F, Cry1A.105 e Cry2Ab2) e de milho crioulo (variedade AZ30). A semeadura foi realizada em copos plásticos de 200 mL (arroz) e 500 mL (milho) contendo substrato composto por terra preta e vermiculita (3:1), mantidas na casa de vegetação. O plantio foi realizado semanalmente e o substrato permaneceu úmido, sendo irrigado sempre que necessário. Nos bioensaios foram utilizadas plantas no estágio vegetativo (V2-V3).

3.2.3 Criação dos Insetos

3.2.3.1 Trichogramma pretiosum

O parasitoide foi obtido da criação já estabelecida no BIOECOLAB por, aproximadamente, 40 gerações. Estes foram multiplicados em ovos da traça-da-farinha, *E. kuehniella*. A traça era criada em dieta a base de farinha de trigo e levedura de cerveja, segundo a metodologia de Parra (1997). Os ovos do hospedeiro eram fixados em retângulos de cartolina azul celeste (6 x 4 cm), usando goma arábica 10% (Asuper radex®) e expostos a luz ultravioleta por período de uma hora, com a finalidade de inviabilizá-los. As cartelas eram colocadas para parasitismo em frascos de vidro de 250 mL (9 x 8 cm) com adultos de *T. pretiosum*, os quais eram alimentados com gotículas de mel puro.

3.2.3.2 Spodoptera frugiperda

Para o estabelecimento da criação, foram obtidas pupas da empresa Promip Manejo Integrado de Pragas Ltda. As pupas eram sexadas sob estereomicroscópio, conforme metodologia proposta por Butt & Cantu (1962) e transferidas para gaiolas confeccionadas em tubo de PVC (20 Ø x 20 cm) forradas com papel sulfite, o qual servia de substrato para

a oviposição. Em cada gaiola eram acondicionados dez casais de mariposas, alimentadas com solução de mel a 10%.

As posturas eram retiradas diariamente e acondicionadas em tubos de vidro $(2,0 \oslash x 6,5 \text{ cm})$, fechados na parte superior com filme plástico. As lagartas recém-eclodidas eram separadas de dez em dez e colocadas em copos plásticos (50 mL) contendo 10 gramas de dieta artificial, adaptada de Bowling (1967), onde permaneciam por sete dias. Após este período, estas eram individualizadas em potes plásticos (50 mL) contendo 10 g de dieta, onde eram mantidas por 15 dias, até a fase de pupa.

3.2.4 Bioensaios

3.2.4.1 Preparo das plantas

3.2.4.1.1 Plantas submetidas à herbivoria

As plantas de milho e arroz foram infestadas com 30 lagartas/planta de *S. frugiperda* de primeiro instar (PDH), as quais permaneceram sobre elas por 24 horas. Após este período, as lagartas foram removidas das plantas com auxílio de um pincel e testadas 24, 48 e 72 horas após a injuria, o qual consistia na raspagem das folhas e pequenas perfurações. Foram consideradas como controle, plantas que não tiveram contato com *S. frugiperda* ou qualquer outro herbívoro.

3.2.4.1.2 Plantas submetidas à oviposição

As plantas foram colocadas em uma gaiola (70 cm largura x 50 cm altura x 40 de profundidade) com 10 casais de *S. frugiperda*, em idade reprodutiva (3-5 dias), por um período de 24 horas. Posterirormente, plantas que apresentavam posturas foram separadas e avaliadas após 24 e 48 horas. Após a realização dos bioensaios, as posturas eram retiradas das plantas com o auxílio de um pincel umedecido e pesadas, sendo somente contabilizada

a resposta das plantas que continham uma postura com um peso pré-estabelecido (0,013 g \pm 0,003 g).

Foram utilizadas tanto plantas que continham postura (POCP), como as que foram previamente ovipositadas (POSP) (período de 24 e 48 horas), mas que uma hora antes da realização dos testes a postura foi retirada, junto com uma parte da folha onde esta estava depositada. Neste caso, foi retirada uma área foliar semelhante nas plantas controle (sem postura).

3.2.4.2 Quimiotaxia de T. pretiosum

3.2.4.2.1 Olfatometria

A quimiotaxia de fêmeas de *T. pretiosum* copuladas com até 24 horas de idade, foi avaliada em olfatômetro "Y" de vidro, de dupla escolha, com diâmetro de 2 cm, bifurcado em dois "braços" de 8 cm cada e arena inicial de 10 cm, sob luz fluorescente (60 W luminância, 260 lux). Um fluxo de ar, previamente filtrado com carvão ativo, foi conduzido para dentro do sistema com auxílio de uma bomba a vácuo conectada a um fluxímetro e um umidificador, a uma taxa de 0,6 L/min. Foi adaptado um recipiente de vidro de 3L (12,5 cm Ø x 29,5 cm) na extremidade de cada um dos braços do olfatômetro, onde foram alocados os vasos com as plantas, os quais foram forrados com papel-alumínio (Life Clean), cobrindo o substrato.

O olfatômetro era invertido horizontalmente (rotação de 180°), a cada três repetições e a cada seis, lavado com água, sabão neutro, álcool 70% e seco em estufa de esterilização a 150 °C. Após este procedimento, as plantas testadas eram renovadas. As respostas foram consideradas positivas quando os parasitoides alcançaram a fonte de odor e percorrerem, pelo menos, 4 cm dentro dos braços permanecendo nesta área por, no mínimo, um minuto.

Os insetos que não se movimentaram nos primeiros cinco minutos ou que não alcançaram os braços do olfatômetro no mesmo período, foram considerados não responsivos.

Foram testadas as seguintes combinações com os três cultivares: a) plantas controle (sem danos) vs. ar; b) plantas danificadas por herbivoria (PDH) vs. plantas controle (PND); c) plantas com postura (POCP) vs. plantas controle; d) plantas previamente ovipositadas sem postura (POSP) vs. plantas controle e e) postura vs. Ar, posturas isoladas de *S. frugiperda* oriundas da criação, com um e dois dias de idade e peso de 0,013 g ± 0,003 g, também foram avaliadas em contraste com o ar. Foram realizados, no mínimo, 40 repetições por tratamento.

3.2.4.3 Teste de parasitismo

No teste de parasitismo, foram utilizadas plantas de milho (crioula e bt) e arroz com 24 horas após herbivoria de *S. frugiperda* (conforme a metodologia descrita no item 3.2.4.1.1). Cada repetição consistia em uma gaiolas (70 cm largura x 50 cm altura x 40 de profundidade) onde fora colocada em um dos lados uma planta controle (PND) e do lado oposto uma PDH, ambas as plantas continham a presença de uma cartela com 20 ovos sentinelas de *S. frugiperda* com 24 horas de idade. Estes foram separados da postura com um auxílio de um pincel (n° 0) e água destilada e fixados em cartolina azul celeste (2 x 4 cm) sendo, posteriormente, inviabilizados (- 20 °C) por 24 horas. A cartela com os ovos sentinela foi colocada sobre um retângulo de papelão (4 x 6 cm) e a este, aderido a um palito de madeira (30 cm) o qual foi posicionado dentro do vaso, junto à planta (aproximadamente 2 cm).

Uma fêmea de *T. pretiosum* foi liberada no centro da gaiola e permaneceu exposta aos ovos e as plantas por 5 horas. Transcorrido este período, essa era retirada da gaiola e as cartelas com ovos de cada tratamento, colocadas individualmente em tubos de vidro (2 cm \emptyset x 6,5 cm). Os ovos foram mantidos em sala climatizada e inspecionados diariamente até

a emergência dos parasitoides ou eclosão das lagartas. Foram avaliados o número médio de ovos parasitados e o sucesso de parasitismo (n = 13).

3.2.4.4 Análise estatística

Os percentuais de respostas quimiotáxicas foram comparados pelo teste de Quiquadrado. O número médio de ovos parasitados foi testado quanto à normalidade por Shapiro-Wilks. Por não apresentarem distribuição normal, os dados foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis, e posteriormente as médias comparadas das pelo teste de Dunn. As análises foram efetuadas utilizando-se o programa Bioestat 5.0®, ao nível de significância de 5%.

3.3 Resultados

3.3.1 Quimiotaxia de T. pretiosum a plantas de milho e arroz não danificadas

Quando fêmeas de T. pretiosum foram expostas a plantas não danificadas de arroz e de milho em contraste com o ar, não houve diferença entre respostas quimiotáxicas do parasitoide (P > 0.05) (Figura 1).

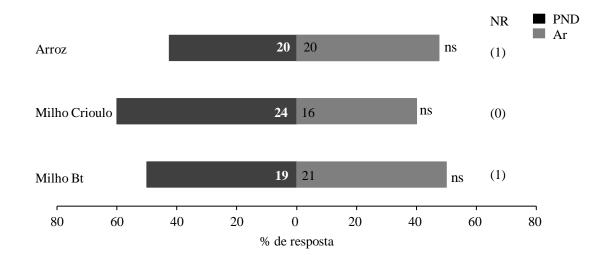


FIGURA 1. Respostas quimiotáxicas de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* testadas em olfatômetro em Y a plantas de arroz (cv. Irga 424), de milho transgênico Power core TM (cv. Morgan 30A77) e de milho crioulo (v. AZ30) não danificadas (PND) contrastadas com o ar. Valores na barra indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos (NR). ns = não significativo (χ², P > 0,05).

3.3.2 Quimiotaxia de *T. pretiosum* a plantas de milho e arroz submetidas à herbivoria de *S. frugiperda*

A primeira escolha de fêmeas de *T. pretiosum* foi significativamente maior para plantas de arroz ($\chi^2 = 9.8$; gl = 1; P = 0,0017), milho Bt ($\chi^2 = 7.2$; gl = 1; P = 0,0073) milho crioulo ($\chi^2 = 9.8$; gl = 1; P = 0,0017) que sofreram herbivoria de *S. frugiperda* avaliadas 24 horas após o dano, quando contrastadas com as plantas não danificadas (controle) (Figura 2). Insetos contrastados com os odores de plantas danificadas após 48 e 72 horas, não responderam de forma diferencial em relação às plantas não danificadas (P > 0,05).

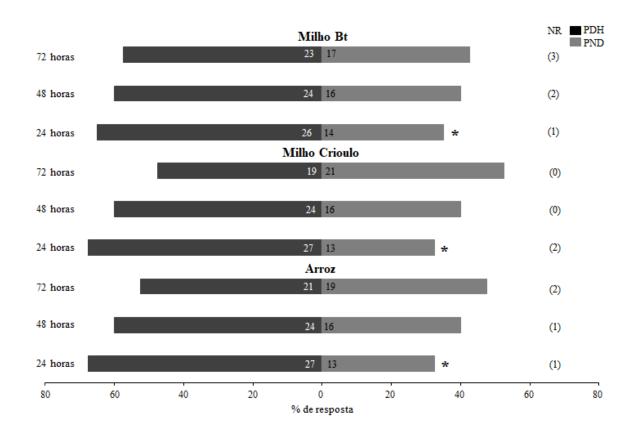


FIGURA 2. Respostas quimiotáxicas de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* testadas em olfatômetro em Y a plantas de arroz (cv. Irga 424), de milho transgênico milho transgênico Power core TM (cv. Morgan 30A77) e de milho crioulo (cv. AZ30) não danificadas (PND) (controle) contrastadas com plantas danificadas por herbivoria (PDH) de *Spodoptera frugiperda* 24, 48 e 72 horas após o dano. Valores na barra indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos (NR). Barra seguida de asterisco indica diferença significativa entre os tratamentos (χ², P < 0,05).

3.3.3 Quimiotaxia de *T. pretiosum* a plantas de milho e arroz submetidas à oviposição de *S. frugiperda*

As fêmeas de *T. pretiosum* foram significativamente mais atraídas por plantas de arroz ovipositadas com (24 horas: $\chi^2 = 16.2$; gl = 1; P = 0,0001 e 48 horas: $\chi^2 = 16.2$; gl = 1; P = 0,0001) e sem (24 horas: $\chi^2 = 12.8$; gl = 1; P = 0,0003; 48 horas: $\chi^2 = 9.8$; gl = 1; P = 0,0017) a presença da postura, em relação às plantas controle em ambos os tempos de avaliação (Figura 3).

Os parasitoides foram significativamente mais responsivos a plantas de milho crioulo ovipositadas com a presença da postura em ambos os tempos de avaliação (24 horas: χ^2 = 9,8; gl = 1; P = 0,0017; 48 horas: χ^2 = 16,2; gl = 1; P = 0,0001) e sem a presença da postura apenas após 48 horas (χ^2 = 9,8; gl = 1; P = 0,0017) (Figura 4). Somente foi observada quimiotaxia positiva do parasitoide a plantas de milho Bt ovipositadas quando avaliadas após 48 horas com (χ^2 = 9,8; gl = 1; P = 0,0017) e sem (χ^2 = 7,2; gl = 1; P = 0,0073) a presença da postura, em relação às plantas controle (Figura 5).

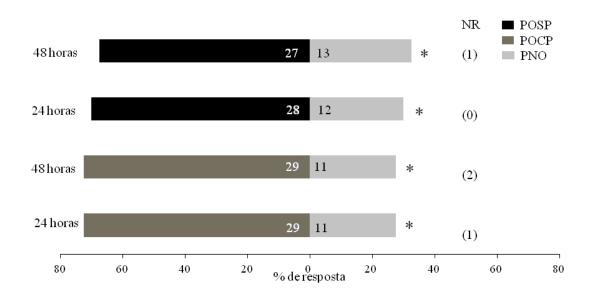


FIGURA 3. Respostas quimiotáxicas de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* testadas em olfatômetro em Y a odores de plantas de arroz (cv. Irga 424) previamente ovipositadas sem (POSP) e com (POCP) a presença da postura de *Spodoptera frugiperda* 24 e 48 horas após a oviposição, em contraste com plantas não ovipositadas (PNO). Valores na barra indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos (NR). Barra seguida de asterisco indica diferença significativa em entre os tratamentos (χ², P < 0,05).

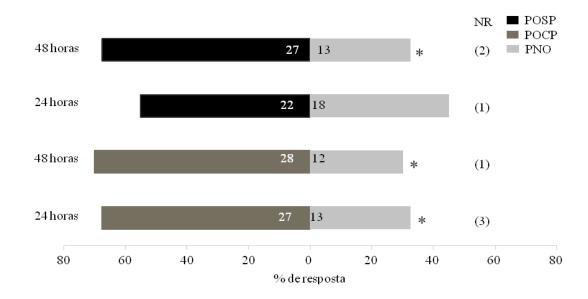


FIGURA 4. Percentual de resposta quimiotáxica de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* a odores de plantas de milho crioulo (v. AZ30) previamente sem (POSP) e com (POCP) a presença da postura de *Spodoptera frugiperda* após 24 e 48 horas em contraste com plantas não ovipositadas (PNO). Valores na barra indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos (NR). Barra seguida de asterisco indica diferença significativa em entre os tratamentos (χ², P < 0,05).

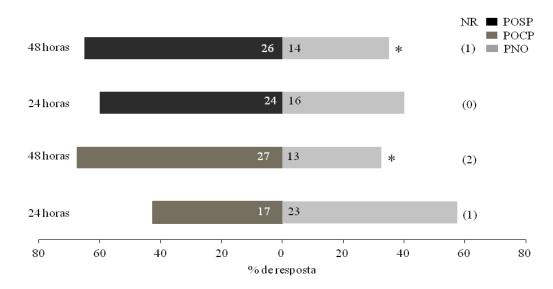


FIGURA 5. Percentual de resposta quimiotáxica de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* a plantas de milho transgênico Power core TM (cv. Morgan 30A77) previamente ovipositadas sem (POSP) e com (POCP) a presença de postura de *Spodoptera frugiperda* após 24 e 48 horas em contraste com plantas não ovipositadas (PNO). Valores na barra indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos (NR). Barra seguida de asterisco indica diferença significativa em entre os tratamentos (χ², P < 0,05).

3.3.4 Quimiotaxia de T. pretiosum a posturas de S. frugiperda

Os insetos foram significativamente mais responsivos a posturas isoladas de *S.* frugiperda com 24 ($\chi^2 = 24,2$; gl = 1; P ≤ 0,0001) e 48 ($\chi^2 = 12,8$; gl = 1; P = 0,0003) horas de idade do que ao ar (Figura 6).

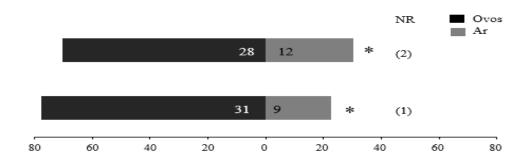


FIGURA 6. Respostas quimiotáxicas de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* testadas em olfatômetro em Y a ovos de *Spodoptera frugiperda* com 24 e 48 horas de idade em contraste com o ar. Valores na barra indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos (NR). Barra seguida de asterisco indica diferença significativa em entre os tratamentos (χ², P < 0,05).

3.3.5 Parasitismo de Trichogramma pretiosum em ovos sentinelas

O percentual de parasitismo em ovos sentinelas localizados junto a plantas de arroz (H = 4.5589; gl = 1; P = 0,0327) de milho Bt (H =17.9101; gl = 1; P = < 0,0001) e milho crioulo (H = 11.9186; gl = 1; P = 0,0006) danificadas por herbivoria após 24 horas a ocorrência do dano, foi significativamente maior do que os próximos a plantas não danificadas por herbivoria (Figura 7). O sucesso de parasitismos foi de 100% para todos os tratamentos.

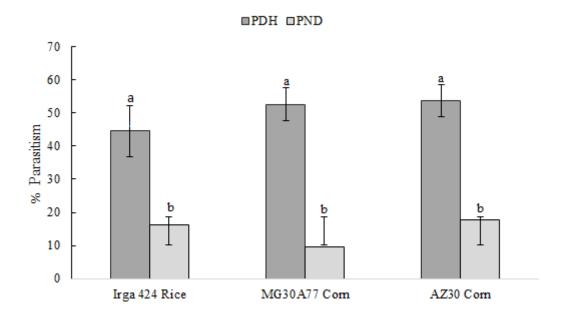


FIGURA 7. Percentual de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* em ovos sentinelas de *Spodoptera frugiperda* localizados junto a plantas de arroz (cv. Irga 424), de milho transgênico Power core TM (cv. Morgan 30A77) e de milho crioulo (cv. AZ30) danificadas por herbivoria (PDH) 24 horas após o dano e a plantas não danificadas (PND). Barras verticais indicam o desvio padrão. Barras seguidas de letras diferentes, em cada tipo de planta, indicam diferença significativa pelo teste de Dunn (P < 0,05).

3.4 Discussão

Plantas de milho e arroz sem contato com *S. frugiperda* não foram atrativas para fêmeas de *T. pretiosum*. Durante o processo de busca os parasitoides de ovos se orientam por pistas confiáveis e associadas à presença de seu hospedeiro, como cairomônios e sinomônios (Noldus, 1989; Vet & Dicke, 1992; Dicke, 1994; Xu *et al.*, 2014). Desta forma, a percepção de voláteis de plantas que não foram danificadas pelo herbívoro acarretaria em uma desvantagem para estes insetos pois, provavelmente, implicaria em um gasto energético desnecessário e ineficiente na busca pelo hospedeiro. Nosso resultado corrobora o observado por Peñaflor *et al.* (2011) com fêmeas de *T. pretiosum* e *T. remus* e por n *et al.* (2011), com *T. pretiosum*. Em ambos os estudos os autores também não constataram respostas quimiotáxicas destes micro-himenópteros a plantas de milho não expostas ao herbívoro. De forma similar, Lou *et al.* (2005) já haviam constatado que o parasitoide de ovos *Anagrus*

nilaparvatae Pang & Wang (Hymenoptera: Mymaridae) não distinguiu voláteis liberados por plantas intactas de arroz.

Por outro lado, foi constatado neste estudo que fêmeas de *T. pretiosum* foram significativamente mais atraídas por plantas de milho e de arroz danificadas por lagartas de *S. frugiperda* 24 horas após a herbivoria, não havendo diferenças nas avaliações seguintes (48 e 72 horas). Yuan *et al.* (2008) registraram para *C. marginiventris* o mesmo observado por nós para *T. pretiosum*, ou seja, fêmeas foram mais atraídas por plantas de arroz consumidas por *S. frugiperda* 24 horas depois do dano, em relação às intactas. Resultado semelhante foi observado para o parasitoide de ovos *T. remus* o qual preferiu duas cultivares de milho (Sintético Spodoptera e BRS 4103) induzidas por herbivoria de *S. frugiperda*, após 24 horas da injuria, quando este foram expostas simultaneamente com plantas não danificadas (Michereff, *et al.*, 2018).

A atração do parasitoide por plantas injuriadas por herbivoria está associada à defesa indireta destas, definida por Dicke & Baldwin (2010) como o conjunto de características das plantas que aumentam a atratividade de inimigos naturais. O dano ativa o metabolismo secundário das plantas, as quais emitem voláteis que podem sinalizar para o parasitoide a presença do herbívoro, aumentando a probabilidade de encontro e, consequentemente, o parasitismo (Yuan *et al.*, 2008; Danner *et al.*, 2011; War *et al.*, 2012; Kollner *et al.*, 2013; Kroes *et al.*, 2017).

Durante a alimentação o herbívoro libera elicitores, presentes na secreção oral, que entram em contato com a seiva das plantas. Essas substâncias ativam uma série de rotas químicas que fazem parte do metabolismo secundário (transdução), levando a um aumento quali e/ou quantitativo de compostos relacionados, principalmente, as interações bi e tritróficas (Mattiacci *et al.*, 1995; Turlings *et al.*, 2000). Peñaflor *et al.* (2011) demonstraram que o regurgito de *S. frugiperda* (simulação de herbivoria) sobre plantas de milho até 3 horas

após a ocorrência do dano atraiu *T. pretiosum*, corroborando com a hipótese de que compostos presentes na saliva da lagarta atuam na defesa indireta de plantas. Recentemente, foi descoberto na saliva de *S. frugiperda* a presença de ácido benzoico e dos fitohormonios ácido jasmônico, ácido salicílico e ácido abscísico, os quais podem estar associados a resposta de defesa a herbivoria em plantas de arroz, milho e tomate (Acevedo *et al.*, 2019).

Moreira (2010) já havia observado que a herbivoria de lagartas de *S. frugiperda* em milho aumentou significativamente a expressão de genes responsáveis pela síntese de terpenos em relação a plantas não danificadas. De forma similar, Xavier *et al.*, (2011) registraram que os voláteis *Z*-3-acetato de hexenila, β-pineno, β-mirceno, *E*-4,8 dimetilnona, 1,3,7 trieno e benzotiazol foram liberados em quantidades significativamente maiores por plantas de milho danificadas por herbivoria de *E. lignosellus*. Os autores relacionaram estas variações a maior atratividade de fêmeas de *T. pretiosum*, as quais foram mais atraídas pelos voláteis emitidos por plantas danificadas pela lagarta do que por aqueles liberados pelas não injuriadas tanto 24, como 72 horas após o dano.

Nossos resultados sugerem que o perfil químico das plantas de arroz e milho muda no decorrer do tempo após a herbivoria, uma vez que foi observada uma mudança de respostas de *T. pretiosum* em relação a estas. Alguns voláteis como os terpenos, indol e salicilato de metila são, normalmente, emitidos algumas horas após o dano do herbívoro. Entretanto voláteis de folhas verdes, como aldeídos de seis carbonos, alcoóis e ésteres são liberados quase que imediatamente após a injúria (Dudareva *et al.*, 2006). Estas variações na emissão de voláteis liberados ao longo do tempo podem ter influência na atratividade de parasitoides, como constatado por Hoballah & Turling (2005) para fêmeas de *C. marginiventris*. De acordo com os autores, estes himenópteros foram mais atraídos por voláteis de folhas de milho com danos recentes (constituído principalmente de voláteis de

folhas verdes) do que para folhas com danos antigos (nas quais estavam presentes, principalmente, terpenoides).

Nos bioensaios conduzidos neste estudo a herbivoria foi realizada por larvas de *S. frugiperda* neonatas das quais a que se alimentam por raspagem da folha (Cruz, 1995). Sabese que a forma e o tipo de injúria do herbívoro influenciam no perfil de voláteis da planta (Fatouros *et al*, 2005). Este fato fica evidente quando comparamos o nosso resultado com os obtidos por Lopes & Sant'Ana (2018), os quais não registraram respostas quimiotáxicas de *T. pretiosum* por plantas de arroz que foram injuriadas por lagartas de terceiro ínstar de *S. frugiperda*. Desta maneira, possivelmente, este parasitoide parece conseguir distinguir voláteis oriundos de danos de lagartas de diferentes ínstares e associa aqueles emitidos por neonatas à presença de posturas. Sendo assim, acredita-se que os compostos liberados pela planta quando consumida por lagartas de primeiro ínstar sinalizam para *T. pretiosum* a possível presença de posturas. Peñaflor, (2010) verificou que mariposas de *S. frugiperda* não evitam plantas de milho infestadas com coespecificas para oviposição, o que dá suporte a hipótese de que o dano de lagartas neonatas pode sinalizar para o parasitoide a presença de posturas.

Outro fato relevante observado no presente estudo foi que plantas de arroz ovipositadas com e sem a presença de posturas de *S. frugiperda*, nos dois períodos de avaliação (24 e 48 horas), foram atrativas às fêmeas de *T. pretiosum*. Este resultado evidencia que as posturas deste herbívoro também ativam os mecanismos de defesa das plantas os quais podem persistir, de forma sistêmica, por até 48 horas, mesmo na ausência dos ovos. O que pode estar associado à ação de substâncias excretadas pelo oviduto de *S. frugiperda* as quais atuariam na adesão dos ovos na superfície das plantas, desencadeando os mecanismos de defesa. Fatouros *et al.* (2009) constataram que fêmeas acasaladas de *Pieris brassicae* (L.) (Lepidoptera: Pieridae) secretam substâncias, oriundas das glândulas acessórias, que contém

traços do composto anti-afrodiasíaco (cianeto de benzila), os quais ficam no entorno das posturas e agem como elicitores, induzindo plantas de couve-de-bruxela (*Brassica oleracea* var. Gemmifera) a produzirem voláteis que atraem as vespas de *T. brassicae*. Extratos etanólicos presentes em secreção isolada dos ovos de *C. partellus* responsáveis por uni-los às folhas de milho, também desempenham papel de eliciadores induzindo a emissão de voláteis de defesa nesta planta (Tamiru *et al.*, 2011).

Além de substâncias excretadas junto com as posturas, já foi constatada a presença de fitormônios no cório de ovos de nove insetos de ordens diferentes, como o ácido jasmônico e o ácido salicílico (Tooker & De Moraes, 2005, 2006). Tais substâncias são responsáveis por desencadear os mecanismos de defesa indireta de plantas, atuando nas rotas bioquímicas e na transcrição de genes envolvidos no metabolismo secundário (Walling, 2000). Sendo assim, os resultados obtidos neste trabalho também podem estar associados a este fator, uma vez que Tooker & De Moraes (2005) relataram a presença de ácido jasmônico em ovos de nove espécies de lepidópteros, incluindo os de *S. frugiperda*.

Os voláteis emitidos por plantas ovipositadas pode levar a um mecanismo de defesa na qual a planta torna-se preparada para um futuro ataque, denominado de *priming*, fornecendo ao parasitoide um alerta antecipado de plantas colonizadas por seu hospedeiro, aumentando a sua eficácia na defesa indireta (Colazza *et al.*, 2004; Hilker & Meiners 2006; Bruce *et al.*, 2010). Plantas capazes de produzir tais compostos em resposta a deposição de ovos tem a vantagem de evitar o dano, atraindo inimigos naturais antes mesmo da eclosão (Hilker & Meiners, 2002; Beyert *et al.*, 2012). A oviposição também pode aumentar a resistência subsequente a herbívoros, Bandoly & Steppuhn (2016) observaram que plantas de tabaco *Nicotiana attenuata* (Solanaceae) que tiveram oviposição de *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) foram menos consumidas por lagartas coespecificas

quando comparadas com aquelas sem posturas. Resultado similar foi constatado para *S. exigua* em *Solanum dulcamara* (Solanaceae) (Geuss *et al.*, 2018).

No milho Bt, T. pretiosum não distinguiu entre plantas ovipositadas com ou sem a presença de posturas após 24 horas em relação às que não tiveram contato com S. frugiperda, contudo, foram responsivas após 48 horas a plantas nestas mesmas condições. Na variedade crioula também não foi observada quimiotaxia positiva de fêmeas depois de 24 horas, no entanto, ao contrário do verificado no milho Bt, este comportamento somente foi verificado em plantas que não continham ovos. Estes resultados indicam que a defesa indireta do milho ocorre mais tardiamente em relação ao arroz. Estas variações observadas nas espécies e variedades se devem, provavelmente, às diferencas nas características genotípicas que se refletem na expressão das defesas indiretas destas plantas. Hoballah et al. (2002) constataram mudanças quali e quantitativas entre voláteis liberados por oito diferentes variedades e cultivares de milho após a simulação de herbivoria de Spodoptera littoralis (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae). Tamiru et al., (2011) observaram que a deposição de ovos da traça C. partellus interferiu no perfil químico do milho, aumentando a emissão de voláteis secundários. No entanto, somente as variedades crioulas (C-2101, B-3016 e H-2034) atraíram as fêmeas de T. bournieri e C. sesamiae, sendo que a liberação induzida por oviposição da traça não foi atraente aos parasitoides em cultivares comerciais de milho híbrido.

Vários trabalhos têm constatado, com outras espécies, a atração de parasitoides a plantas que sofreram ataque de herbívoros e/ou que foram ovipositadas por estes. No entanto, nenhum avaliou a interferência dos voláteis de defesa indireta de plantas nas taxas de parasitismo de *T. pretiosum*. Nossos resultados comprovaram que a herbivoria de *S. frugiperda* tanto em plantas de arroz, como nas duas variedades de milho, incrementa o parasitismo desta espécie. Resultados semelhantes foram registrados em outros sistemas

como o constatado por Klemola *et al.* (2012) onde as taxas de parasitismo em larvas de *Epirrita autumnata* (Borkhausen) (Lepidoptera: Geometridae) e *Operophtera brumata* L. (Lepidoptera: Geometridae), expostas em árvores desfolhadas (*Pinus sylvestris* L. e *Betula pubescens* Ehrh), foram maiores em relação aquelas sem danos.

Trabalhos inovadores nesta área foram conduzidos por Gurr & Kvedaras (2010), os o quais demonstraram na Austrália (a campo) que espécies de Trichogramma foram mais atraídas para áreas de videiras e a brássicas na presença de dispersores contendo os VPIHs (antranilato de metila e benzaldeído). Uefune et al. (2012), por sua vez, constataram que lagartas de Plutella xylostella (Lepidoptera: Plutellidae) sobre couve-japonesa (Brassica rapa var. perviridis) foram mais parasitadas por Cotesia vestalis (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae) na presença de um dispersor contendo n-heptanal, sabineno, α-pineno e Z3acetato de hexenila, do que na ausência deste. O trabalho destes autores evidencia que o conhecimento acerca das características químicas que intermediam interações tritróficas são de grande valor para elaboração de novas ferramentas de manejo de pragas. No nosso estudo ficou evidente que o parasitoide de ovos T. pretiosum utiliza pistas químicas de plantas de arroz e milho, danificadas por herbivoria e oviposição, como uma estratégia de busca pelo hospedeiro. Este conhecimento é relevante na elaboração de novas ferramentas de manejo, dentro deste sistema, as quais venham a aumentar a abundância e a atividade de inimigos naturais em áreas cultivadas promovendo um incremento nas taxas de parasitismo e uma maior viabilização de programas de controle biológico com *T. pretiosum*.

3.5 Referências Bibliográficas

- ACEVEDO, F. E.; SMITH, P.; PEIFFER, M.; HELMS, A.; TOOKER, J.; FELTON, G. W. Phytohormones in Fall Armyworm Saliva Modulate Defense Responses in Plants. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.45, 2019.
- ARIMURA, G.-I.; KOST, C.; BOLAND, W. Herbivore-induced, indirect plant defences. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdan, v.1734, p.91-111, 2005.
- BANDOLY, M. & STEPPUHN, A. A push-button: *Spodoptera exigua* oviposition on *Nicotiana attenuata* dose-independently primes the feeding-induced plant defense. **Plant Signaling & Behavior**, Austin, v. 11, n. 1, p.1-4, 2016.
- BESERRA, E. B.; DIAS, C. T. S.; PARRA, J. R. P. Distribution and parasitism of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs different phenological stages of corn. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.85, n.4, p.588-593, 2002.
- BEYERT, I.; KOEPKE, D.; STILLER, J.; HAMMERBACHER, A.; YONEYA, K., et al. Can insect egg deposition 'warn' a plant of future feeding damage by herbivorous larvae? **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, London, v. 279, p.101–108, 2012.
- BOWLING, C. C. Rearing of two lepdopterous pests of rice on common artificial diet. **Anals Entomological Society of America**. College Park, v. 60, n. 6, p. 1215-1216, 1967.
- BRUCE, T. J.; MIDEGA. C. A.; BIRKETT, M. A.; PICKETT, J. A.; KHAN, Z. R. Is quality more important than quantity? Insect behavioural responses to changes in a volatile blend after stemborer oviposition on an African grass. **Biology Letters**, London, v.6, p. 314–317, 2010.
- BUSATO, G. R.; GRUTZMACHER, A. D.; GARCIA, M. S.; GIOLO, F. P. MARTINS, A. F. Consumo e utilização de alimento por *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) originária de diferentes regiões do Rio Grande do Sul, das culturas do milho e do arroz irrigado. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.31, p. 525-529, 2002.
- BUTT, B. A. & CANTU, E. **Sex determination of lepidopterous pupae**. Washington, USDA, 1962. 7p.
- COLAZZA, S; FUCARINO, A.; PERI, E.; SALERMO, G.; CONTI, E.; BIN, F. Insect oviposition induces volatile emission in herbaceous plants that attracts egg parasitoids. **Journal of Experimental Biology,** London, v. 207, p. 47–53, 2004.
- CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lago: Embrapa Milho e Sorgo, 1995. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 21), 1995.
- DANNER, H.; BOECKLER, G. A.; IRMISCH, S.; YUAN, J. S.; CHEN, F.; GERSHENZON, J.; UNISICKER, S. B.; KOLLNER, T. G. Four terpene synthases produce major compounds of the gypsy moth feeding-induced volatile blend of *Populus trichocarpa*. **Phytochemistry**, Oxford, v.72, p. 897-908, 2011.

- DEQUECH, S. T. B.; CAMERA, C.; STURZA, V. S.; RIBERO, L. P.; QUERINO, B. R.; PONCIO, S. Population fluctuation of *Spodoptera frugiperda* eggs and natural parasitism by *Trichogramma* in maize. **Acta Scientiarum**, Maringa, v. 35, n. 3, p.295-300, 2013.
- DICKE, M. Local and systemic production of volatile herbivore-induced terpenoids their role in plant-carnivore mutualism. **Journal of Plant Physiology**, Brasília, v. 143, p. 465-472, 1994.
- DICKE, M. & BALDWIN, I. T. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: Beyond the 'cry for help. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 15, n. 3. p.167-175, 2010.
- DUDAREVA, N.; NEGRE, F.; NAGEGOWDA, D. A.; ORLOVA, I. Plant Volatiles: Recent Advances and Future Perspectives. **Critical Reviews in Plant Sciences**, London, v. 25, p.417-240, 2006.
- FATOUROS, N.; PACHALIDOU, F. G.; CORDERO, W. V. A.; VAN LOON, A.; MUNN, R.; DICKE, M.; HILKER, M.; HUIGENS, M. E. Anti-aphrodisiac Compounds of Male Butterflies Increase the Risk of Egg Parasitoid Attack by Inducing Plant Synomone Production. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.35, p. 1373-1381, 2009.
- FATOUROS, N. E.; LUCAS-BARBOSA, D.; WELDEGERGIS, B. T.; PASHALIDOU, F. G.; VAN LOON, J. J. A.; DICKE, M.; HARVEY, J. A.; GOLS, R.; HUIGENS, M. E. Plant volatiles induced by herbivore egg deposition affect insects of different trophic levels. **PLOS ONE**, São Francisco, v. 7, p.:e 43607, 2012.
- FIGUEIREDO, M. L. C.; CRUZ, I.; SILVA, R. B.; FOSTER, J. E. Biological control with *Trichogramma pretiosum* increases organic maize productivity by 19.4%. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v.35, n.3, p.1175-1183, 2015.
- GEISELHARDT, S.; YONEYA. K.; BLENN, B.; DRECHSLERN; GERSHENZON, J.; KUNZE, R.; HILKE, M. Egg laying of Cabbage White Butterfly (*Pieris brassicae*) on *Arabidopsis thaliana* affects subsequent performance of the larvae. **PLOS ONE**, São Francisco, v. 8, p. e59661, 2013.
- GEUSS, D.; LORTZING, T.; SCHWACHTJE, J.; KOPKA, J.; STEPPUHN, A. Oviposition by *Spodoptera exigua* on *Solanum dulcamara* Alters the Plant's Response to Herbivory and Impairs Larval Performance. **International Journal of Molecular Sciences**, Besel, v. 19, p. 4008-4035, 2018.
- GURR, G. M.; KVEDARAS, O. L. Synergizing biological control: scope for sterile insect technique, induced plant defences and cultural techniques to enhance natural enemy impact. **Biological Control**, v. 52, n. 3, p. 198-207, 2010.
- HEIL, M. Indirect defence via tritrophic interactions. **New Phytologist**, Lancaster, v. 178, n.1, p. 41-61, 2008.
- HILKER, M. & MEINERS, T. Induction of plant responses towards oviposition and feeding of herbivorous arthropods: a comparison. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Holanda, v.104, p. 181–192, 2002.

- HILKER, M. & MEINERS, T. Early Herbivore Alert: Insect Eggs Induce Plant Defense. **Journal of Chemical Ecology,** New York, v.32, p. 1379–1397, 2006.
- HILKER, M. & MEINERS, T. How do plants "notice" attack by herbivorous arthropods? **Biological Reviews**, Cambridge, v.85, p. 267-280, 2010.
- HOBALLAH, M. E. F. H.; TAMO, C.; TURLINGS, T, C. J. Differential attractiveness of induced odors emitted by eight maize varieties for the parasitoid *Cotesia marginiventris*: is quality or quantity important? **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.28, n.5, p. 951-968, 2002.
- HOBALLAH, M. E & TURLINGS, T. C. J. The role of fresh versus old leaf damage in the attraction of parasitic wasps to herbivore-induced maize volatiles. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 31, n. 9, p. 2003-2018, 2005.
- KARBAN, R.; BALDWIN, I. T. **Induced responses to herbivory.** Chicago. University of Chicago Press, 1997. 319 p.
- KLEMOLA, T.; AMMUNÉT, T.; ANDERSSON, T.; KLEMOLA, N.; RUOHOMAKI, K. Larval parasitism rate increases in herbivore-damaged trees: a field experiment with cyclic birch feeding moths. **Oikos**, Lund, v.121, p.1525–1531, 2012.
- KOLLNER, T. G.; LENK, C.; SCHNEE, C.; KOPKE, S.; LINDEMANN, P.; GERSHENZON, J.; DEGENHARD, J. Localization of sesquiterpene formation and emission in maize leaves after herbivore damage. **BCM Plant Biology**, London, v.13, p.15, 2013.
- KROES, A.; WELDEGERGIS, B. T.; CAPPAI, F.; DICKE, M.; VAN LOON, J. J. A. Terpenoid biosynthesis in *Arabidopsis* attacked by caterpillars and aphids: effects of aphid density on the attraction of a caterpillar parasitoid. **Oecologia**, Berlin, v. 185, n.4, p.699-712, 2017.
- LOPES, F, B. & SANT'ANA, J. Responses of *Spodoptera frugiperda* and *Trichogramma pretiosum* to Rice Plants Exposed to Herbivory and Phytohormones. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 1, p. 1-10, 2018.
- LOU, Y.; MA, B.; CHENG, J. A. Attraction of the Parasitoid *Anagrus nilaparvatae* to Rice Volatiles Induced by the Rice Brown Planthopper *Nilaparvata lugens*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 30, p.2359-2374, 2005.
- MATTIACCI, L.; DICKE, M.; POSTHUMUS, M. A. Beta-glucosidase an elicitor of herbivore-induced plant odor that attracts host-searching parasitic wasps. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, New York, v. 92, p. 2036-2040, 1995.
- MICHEREFF, M. F.; MAGALHÃES, D.M.; HASSEMER, M. J.; LAUMANN, R. A.; ZHOU, J.; RIBEIRO, P. E. A.; VIANA, P. A.; GUIMARÃES, P. E. O.; SCHIMMEL, P. H. C.; BORGES, M.; PICKETTS, J. A.; BIRKETT, M. A.; MORAES, M. C. B. Variability in herbivore-induced defence signalling across different maize genotypes impacts significantly on natural enemy foraging behaviour. **Journal of Pest Science**, Innsbruck, v. 92, p.723–736, 2018.

- MOREIRA, L. S. D. Expressão gênica e voláteis induzidos pela herbivoria de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho, *Zea mays* L. (Poaceae). 2010. Dissertação (Mestrado em Entomologia) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiros", Piracicaba.
- NOLDUS, L. P. J. J. Semiochemicals, foraging behaviour and quality of entomophagous insects for biological control. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v.108, p. 425-451, 1989.
- PARRA, J. R. P. **Técnicas de criação de** *Anagasta kuehniella*, **hospedeiro alternativo para a produção de** *Trichogramma*. *In*: Parra, J. R. P. & Zucchi, R. A. eds. *Trichogramma* e o controle biológico aplicado. Piracicaba, FEALQ, p.121-150,1997.
- PEÑAFLOR, M. F.G.V; ERB, M.; MIRANDA, L. A.; WERNEBURG, A. L.; BENTO, J. M.S. Herbivore-Induced Plant Volatiles Can Serve as Host Location Cues for a Generalist and a Specialist Egg Parasitoid. **Journal of Chemical Ecology,** New York, v.37, p.1304-1313, 2011.
- PEÑAFLOR, M. F. G. V. Interações planta-herbívoro-parasitóides de ovos mediadas por voláteis de milho (*Zea mays L.*) e odores da *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). 2010. Tese (Doutorado em Entomologia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- RUTLEDGE, C. E. A survey of kairomones and synomones used by insect parasitoids to locate and accept their host. **Chemoecology**, v.7, p.121-131, 1996.
- SÁ, L. A. & PARRA, J. R. P. Natural Parasitism of *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) Eggs in Corn by *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v.77, n.1, p.185-188, 1994.
- SCHOONHOVEN, L. M.; VAN LOON, J. J.; DICKE, M. **Insect-Plant Biology**. 2°Ed., Oxford University Press: Oxford, 2006, 412 p.
- SOSBAI, SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. **Arroz irrigado: Recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. 32. Farroupilha. Reunião Técnica da Cultura do Arroz Irrigado, RS: SOSBAI, 2018. 209p.
- STEIDLE, J. L. M. & VAN LOON, J. J. A. Dietary specialization and infochemical use in carnivorous arthopods: testing a concept. **Entomologia experimentalis et applicata,** Holanda, v.108, p. 133-148, 2003.
- TAMIRU, A.; BRUCE, T. J. A.; WOODCOCK, C. M.; CAULFIELD, J. C.; MIDEGAL, C. A. O.; OGOL, C. K, P. O.; MAYON, P.; BIRKETT, M. A.; PICKETT, J. A.; KHAN, Z. R. Maize landraces recruit egg and larval parasitoids in response to egg deposition by a herbivore. **Ecology Letters**, Oxford v.14, p. 1075–1083, 2011.
- TOOKER, J. F. & DEMORAES, C. M. Jasmonate in lepidopteran eggs and neonates. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.31, p. 2753–2759, 2005.

- TOOKER, J. F. & DE MORAES, C. M. Jasmonate, Salicylate, and Benzoate in Insect Eggs. **Journal of Chemical Ecology,** New York, v.33, p. 331-343, 2006.
- TUMLINSON, J. H., TURLINGS T. C. J., LEWIS W. J. Semiochemically mediated foraging behavior in beneficial parasitic insects. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, New York, v. 22, n. 3-4, p. 385-391, 1993.
- TURLINGS, T. C.; ALBORN, H. T.; LOUGHRIN, J. H.; TUMLISON, J. H. Volicitin, an elicitor of maize volatiles in oral secretion of *Spodoptera exigua*: isolation and bioactivity. **Journal of Chemical Ecology,** New York, v.26, p.1573-1561, 2000.
- UEFUNE, M.; CHOH, T.; ABE, J.; SHIOJIRI, K.; SANO, K.; TAKABAYASHI, J. Application of synthetic herbivore-induced plant volatiles causes increased parasitism of herbivores in the field. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v.136, p.561-567, 2012.
- VET, L. E. M. & DICKE, M. Ecology of infochemicals used by natural enemies in a tritrophic context. **Annual Review of Entomology**, College Park, v. 37, p. 141–172, 1992.
- VINSON, S.B. Chemical signals used by parasitoids. **Redia**, Florença, v.74, p.15-42, 1991.
- WALLING, L. L.The Myriad Plant Responses to Herbivores. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v.19, n.2, p.195-216, 2000.
- WAR, A. R.; PAULRAJ, M. G.; BUHROO, A. A.; HUSSAIN, B.; IGNACIMUTHU, S.; SHARMA, H. C. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant Signaling & Behavior**, Austin, v. 7, n.10, p. 1306-1320, 2012.
- XAVIER, L. M. S.; LAUMANN, R. A.; BORGES, M.; MAGALHÃES, D. M.; VILELA, E. F.; MORAES, M. C. B. *Trichogramma pretiosum* attraction due to the *Elasmopalpus lignosellus* damage in maize. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, p.578-585, 2011.
- XU, J.; HUIGENS, M. E.; ORR, D.; GROOT, A, T. Differential response of Trichogramma wasps to extreme sex pheromone types of the noctuid moth *Heliothis virescens*. **Ecological Entomology**, Saint Albans, v.39, n.5, p.627-636, 2014.
- YUAN, J. S.; KOLLNER, T. G.; WIGGINS, G.; GRANT, J.; DEGENHARDT, J.; CHEN, F. Molecular and genomic basis of volatile-mediated indirect defense against insects in rice. **The Plant Journal**, Hoboken, v. 55, p. 491–503, 2008.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste estudo sugerem que fêmeas de *T. pretiosum* utilizam os sinomônios liberados por plantas de milho e arroz danificadas por oviposição e herbivoria de *Spodoptera frugiperda*, como pistas na localização do seu hospedeiro. Nossos resultados também comprovaram que a herbivoria de *S. frugiperda* em plantas de arroz e de milho incrementa o parasitismo de *T. pretiosum*.

Novos conhecimentos a respeito dos estímulos que norteiam o comportamento de *T. pretiosum* no processo de localização e seleção do hospedeiro podem ser a base para o aprimoramento do uso de técnicas relacionadas à ecologia química nos atuais programas de controle biológico com este parasitoide.

É relevante salientar que este foi o primeiro trabalho a investigar a influência dessas interações tritróficas (arroz/milho- *S. frugiperda - T. pretiosum*). Por ter um caráter inovador, muitas questões ainda precisam ser avaliadas para validar sua implementação no manejo de pragas, como quais voláteis que estão sendo liberados e em que quantidade, e quais exercem influência sobre a quimiotaxia do parasitoide, para posteriormente realização de bioensaios a campo.