

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

INFLUÊNCIA DE SEMIOQUÍMICOS DE *Grapholita molesta* (BUSCK)
(LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) NA QUIMIOTAXIA, NO PARASITISMO E
NO APRENDIZADO DE *Trichogramma pretiosum* (RILEY) (HYMENOPTERA:
TRICHOGRAMMATIDAE)

Paloma Guazzelli Della Giustina
Engenheira Agrônoma/UCS

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

Porto Alegre (RS), Brasil
Fevereiro de 2019

CIP - Catalogação na Publicação

Della Giustina, Paloma G.
INFLUÊNCIA DE SEMIOQUÍMICOS DE *Grapholita molesta*
(BUSCK) (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) NA QUIMIOTAXIA, NO
PARASITISMO E NO APRENDIZADO DE *Trichogramma pretiosum*
(RILEY) (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) / Paloma G.
Della Giustina. -- 2019.
71 f.
Orientador: Luiza R. Redaelli.

Coorientador: 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. Feromônio . 2. Mariposa-oriental. 3. Cairomônio.
4. Parasitóide de ovos. 5. Comportamento de busca. I.
Redaelli, Luiza R., orient. II. Sant'Ana, Josué,
coorient. III. Título.

PALOMA GUAZZELLI DELLA GIUSTINA
Bacharela em Agronomia - UCS

DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRE EM FITOTECNIA

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

Aprovado em: 25.02.2019
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 16.04.2019
Por

LUIZA RODRIGUES REDAELLI
Orientadora - PPG Fitotecnia
UFRGS

CLAUDIMAR SIDNEI FIOR
Coordenador Substituto do
Programa de Pós-Graduação em
Fitotecnia

JOSUÉ SANT'ANA
Coorientador - PPG Fitotecnia
UFRGS

SIMONE MUNDSTOCK JAHNKE
PPG Fitotecnia/UFRGS

ROBERTA TOGNON
Porto Alegre/RS

ROSANA MATOS DE MORAIS
SEAPI - SANTA MARIA/RS

CARLOS ALBERTO BISSANI
Diretor da Faculdade de
Agronomia

À memória do meu querido avô Armindo Della Giustina
Que nos ensinou que a simplicidade não significa ignorância
Meu exemplo de resiliência, audácia e eterna curiosidade

Dedico

iii

AGRADECIMENTOS

À minha família, meus pais, Jeferson e Andréa por me guiarem, pelo sólido alicerce, por todo amor, incentivo e pelo exemplo de caráter. Meu irmão Péricles pelos momentos felizes e a companhia amiga. Vocês tornam nossa casa calorosa e risonha fazendo de cada visita um acalento.

À minha orientadora Luiza Rodrigues Redaelli, pela oportunidade de trabalharmos juntas, pela dedicada orientação, por todo apoio com os imprevistos e surpresas, pelo incansável auxílio e amizade.

Ao meu coorientador Josué Sant'Ana, por me apresentar ao fascinante mundo do comportamento de insetos, pelas discussões sempre interessantes, pelo incentivo e todo apoio para realização deste trabalho.

À Dr^a Simone Jahnke, por ter aberto as portas para que todo esse caminho se iniciasse.

Aos colegas de laboratório, Augusto, Camila, Carlos, Cláudia, Dânia, Fabiane, Geluse, Joel, Jucelio, Natália, Nelson, Patrícia, Roberta, Suellen, Tacielly e Thais, pelos momentos de descontração, doces e toda a ajuda. Cada um de vocês é especial e serei eternamente grata por conhecê-los.

Aos bolsistas de IC, Samuel Trapp, Rosiane Guedes e Mariana Pereira que colaboraram tanto para a realização do meu trabalho, agradeço a dedicação, seriedade e a incansável disponibilidade.

À pesquisadora do Laboratório de Semioquímicos da Embrapa-Cenargen, Dr^a. Maria Carolina Blassioli Moraes, pela colaboração para as análises químicas do trabalho.

À laboratorista, Fernanda Borges pela amizade e pelo auxílio com a preparação das soluções químicas.

Aos meus amigos de longa data, que mesmo distantes me trouxeram alegria e descontração.

Ao meu namorado, Marcos Cezar, pela inalterável parceria, paciência e carinho. Obrigada por todos os momentos felizes que foram essenciais para a realização desse trabalho.

À UFRGS pelo ensino e capacitação.

Ao CNPq pela bolsa de estudo.

A todos aqueles que de alguma forma me auxiliaram, ajudaram e torceram para que esse trabalho se tornasse realidade.

**INFLUÊNCIA DE SEMIOQUÍMICOS DE *Grapholita molesta* (BUSCK)
(LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) NA QUIMIOTAXIA, NO
PARASITISMO E APRENDIZADO DE *Trichogramma pretiosum* (RILEY)
(HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE)¹**

Autor: Paloma Guazzelli Della Giustina
Orientador: Luiza Rodrigues Redaelli
Coorientador: Josué Sant'Ana

RESUMO

Trichogramma pretiosum (Riley) é um parasitoide de ovos de lepidópteros, amplamente utilizado no controle biológico e que se orienta principalmente por pistas químicas. Esta espécie já foi constatada parasitando ovos de *Grapholita molesta* (Busck), importante praga de rosáceas e, para qual, o feromônio sexual é empregado no monitoramento e controle. Este trabalho avaliou a influência de semioquímicos sexuais de *G. molesta* nas respostas quimiotáticas e no parasitismo por *T. pretiosum* bem como a aprendizagem aos voláteis de ovos deste herbívoro. A resposta quimiotática de machos e fêmeas copulados de *T. pretiosum* com 24, 48, 72 e 96 horas de idade foi registrada em olfatômetro, contrastando-se 10 µL da mistura feromonal sintética de *G. molesta* (0.001%) com o mesmo volume do solvente hexano (controle), também se avaliou a quimiotaxia de fêmeas de *T. pretiosum* nas mesmas idades, aos voláteis dos ovos, com e sem experiência nos mesmos. A preferência de parasitismo foi registrada em fêmeas das quatro idades expondo-as individualmente a duas cartelas de ovos de *G. molesta*, lavados ou não lavados, sendo que em uma foi adicionado 10 µL da solução feromonal (0.001%) e na outra hexano. Também se avaliou o parasitismo, em ovos lavados ou não, em fêmeas de todas as idades, com e sem experiência. Fêmeas de *T. pretiosum* com até 72 h de idade foram mais atraídas pelo feromônio de *G. molesta* enquanto os machos, independentemente da idade, não responderam a este. O percentual de fêmeas inexperientes que se direcionou para ovos lavados ou não, foi semelhante em todas as idades, porém quando experientes todas preferiram os não lavados. A presença do feromônio incrementou o parasitismo em fêmeas de 72 h. Quando sem experiência em ovos, o parasitismo só não diferiu nas de 24 h, as demais preferiram os ovos lavados. Este comportamento foi alterado após a experiência em ovos, sendo o parasitismo superior em ovos não lavados, em fêmeas de todas idades. O estudo mostrou que fêmeas de *T. pretiosum* reconhecem de forma inata o feromônio de *G. molesta* e que a idade influencia na quimiotaxia e no parasitismo. Além disso, *T. pretiosum* mostrou capacidade de aprendizagem a voláteis de ovos deste herbívoro.

¹Dissertação de mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (71f.) Fevereiro, 2019.

**INFLUENCE OF SEMIOCHEMICALS OF *Grapholita molesta* (BUSCK)
(LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) ON CHEMOTAXIS, PARASITISM
AND LEARNING OF *Trichogramma pretiosum* (RILEY) (HYMENOPTERA:
TRICHOGRAMMATIDAE) ¹**

Author: Paloma Guazzelli Della Giustina
Adviser: Luiza Rodrigues Redaelli
Co-advisor: Josué Sant'Ana

ABSTRACT

Trichogramma pretiosum (Riley) is a parasitoid of lepidopteran eggs, widely used in biological control and guided mainly by chemical clues. This species has already been observed parasitizing eggs of *Grapholita molesta* (Busck), a major pest of Rosaceae, for which the sexual pheromone is used for monitoring and control. This study evaluated the influence of sexual semiochemicals of *G. molesta* on chemotactic responses and parasitism by *T. pretiosum*, as well as the egg volatile in learning. The chemotactic response of 24-, 48-, 72- and 96-h-old *T. pretiosum* mated males and females was recorded on an olfactometer, contrasting 10 µL of the synthetic pheromone blend of *G. molesta* (0.001%) with the same volume of a hexane solvent (control). The chemotaxis of females at the same ages and volatiles of the eggs, with and without experience on them, was evaluated. The parasitism preference was recorded in females of the four ages by exposing them individually to two container pieces of *G. molesta* eggs, rinsed or unrinsed, in one of which 10 µL of the pheromonal solution (0.001%) was added, while hexane was added to the other. The parasitism rate was evaluated in rinsed and unrinsed eggs in females of all ages, both with and without experience. Females of *T. pretiosum* up to 72-h-old were more attracted to the *G. molesta* pheromone while males, regardless of age, did not respond to it. The percentage of inexperienced females that were directed to rinsed or unrinsed eggs was similar at all ages, but when experienced, all preferred the unrinsed ones. The presence of the pheromone increased parasitism in females at 72 h. Without egg experience, parasitism did not differ only in those of 24 h, while others preferred the rinsed eggs. This behavior was altered after the experience on eggs, with superior parasitism being noted in unrinsed eggs, in females of all ages. The study showed that females of *T. pretiosum* innately recognize the pheromone of *G. molesta* and that age influences chemotaxis and parasitism. Additionally *T. pretiosum* evidenced to be able to learn the egg volatiles of this herbivore.

¹Master Dissertation in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (71p.) February, 2019.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 <i>Grapholita molesta</i> – origem, distribuição, hospedeiros e aspectos biológicos.....	3
2.2 <i>Grapholita molesta</i> – danos, manejo e controle	6
2.3 Parasitoides do gênero <i>Trichogramma</i>	9
2.3.1 Comunicação química interespecífica	12
2.3.2 Aprendizagem.....	16
2.4 Referências	18
3 ARTIGO 1 - Influence of <i>Grapholita molesta</i> (Lepidoptera: Tortricidae) semiochemicals on chemotaxis, parasitism and learning ability by <i>Trichogramma pretiosum</i> (Hymenoptera: Trichogrammatidae)	30
Abstract.....	32
Introduction.....	33
Material and methods	35
Insects	35
Pheromone	36
Chemotactic response of <i>T. pretiosum</i> (inexperienced) to <i>G. molesta</i> sex pheromone.....	37
Chemotactic response of <i>T. pretiosum</i> (inexperienced and experienced) to volatiles of <i>G. molesta</i> eggs	37
Parasitism of <i>T. pretiosum</i> (inexperienced) on <i>G. molesta</i> eggs in the presence of pheromone	38
Parasitism of <i>T. pretiosum</i> (inexperienced and experienced) in <i>G. molesta</i> eggs.....	38
Statistical analysis.....	39
Results.....	39
Chemotactic response of <i>T. pretiosum</i> (inexperienced) to <i>G. molesta</i> sex pheromone.....	39
Chemotactic response of <i>T. pretiosum</i> (inexperienced and experienced) to volatiles of <i>G. molesta</i> eggs	40

	Página
Parasitism of <i>T. pretiosum</i> (inexperienced) on <i>G. molesta</i> eggs in the presence of pheromone	40
Parasitism of <i>T. pretiosum</i> (inexperienced and experienced) in <i>G.</i> <i>molesta</i> eggs.....	41
Discussion.....	41
Acknowledgments	47
References.....	48
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
4.1 Referências	60

RELAÇÃO DE FIGURAS

Página

ARTIGO 1

1. Percentages of chemotactic responses of *Trichogramma pretiosum* mated males, at different ages, tested in the dual-choice olfactometer, with the synthetic pheromone blend of *Grapholita molesta* and hexane (control). Numbers in the bars represent the number of responsive insects. NR = nonresponsive. ns = not significant statistically (χ^2 ; $P > 0.05$). 53
2. Percentages of chemotactic responses of *Trichogramma pretiosum* mated females, at different ages, tested in the dual-choice olfactometer, with the synthetic pheromone blend of *Grapholita molesta* and hexane (control). Numbers in the bars represent the number of responsive insects. Values followed by an asterisk are significantly different (χ^2 ; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$). NR = nonresponsive. 54
3. Percentages of chemotactic responses of *Trichogramma pretiosum* mated females without experience in *Grapholita molesta* eggs at different ages, tested in the dual-choice olfactometer on rinsed and unrinsed eggs of this species. Numbers in the bars represent the number of responsive insects. Values followed by an asterisk are significantly different (χ^2 ; * $P < 0.05$). NR = nonresponsive. ns = not significant statistically. 55
4. Percentages of chemotactic responses of *Trichogramma pretiosum* mated females with experience in *Grapholita molesta* eggs, at different ages, tested in the dual-choice olfactometer on rinsed and unrinsed eggs of this species. Numbers in the bars represent the number of responsive insects. Values followed by an asterisk are significantly different (χ^2 ; * $P < 0.05$). NR = nonresponsive. ns = not significant statistically. 56
5. Mean number of rinsed and unrinsed eggs of *Grapholita molesta* (\pm SE) parasitized by *Trichogramma pretiosum* mated females, at different ages, exposed with pheromone and hexane (control). Values followed by an asterisk are significantly different compared within treatments for each age by Mann-Whitney test at 5% significance level (* $P < 0.05$). 57

6. Mean number of eggs of *Grapholita molesta* (\pm SE) parasitized by *Trichogramma pretiosum* mated females, at different ages, with and without experience on eggs of this host, exposed to rinsed and unrinsed eggs of *G. molesta*. Values followed by an asterisk are significantly diferente compared within treatments for each age by Mann-Whitney test at 5% significance level (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$). W/OE = without experience. WE = with experience.....58

1 INTRODUÇÃO

Com o crescimento do comércio e do trânsito internacional de frutos brasileiros, há uma maior pressão do mercado por produtos de qualidade e produzidos de forma menos prejudicial ao ambiente e aos consumidores. Nesse contexto, o controle biológico se mostra uma alternativa eficiente de supressão de pragas, garantindo a produtividade e qualidade dos frutos, além de poder ser realizado em conjunto a outras técnicas de controle.

Dentre os organismos utilizados no controle biológico se destacam os parasitoides do gênero *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae), os quais são utilizados mundialmente por apresentarem facilidade de criação, serem aptos a liberações em diferentes sistemas de cultivo e apresentarem grande variedade de hospedeiros, principalmente da ordem Lepidoptera. Além disso, por serem exclusivamente parasitoides de ovos, interrompem o desenvolvimento da praga antes que esta atinja a fase na qual pode causar dano as culturas.

O sucesso desses parasitoides está diretamente ligado ao eficiente comportamento de busca e reconhecimento de hospedeiros, mediados, principalmente, pelas pistas químicas. Estas podem ser voláteis produzidos por plantas sob ataque de herbívoros, feromônios do próprio hospedeiro ou odores liberados por ovos, que atuam como cairomônios.

Grapholita molesta (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) é uma importante praga de rosáceas, com destaque para as culturas do pessegueiro e da macieira. O controle deste inseto, sem o uso de inseticidas químicos, pode ocorrer tanto pela ação de inimigos naturais, tais como *Trichogramma pretiosum* (Riley) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), como pelo controle comportamental (disrupção sexual) através do uso do feromônio sexual sintético da mariposa-oriental. Contudo, não existem estudos que tenham avaliado se o feromônio liberado nestes pomares poderia ou não influenciar o comportamento de busca de *T. pretiosum*, tampouco, qual a capacidade de aprendizagem deste inseto em relação aos ovos de *G. molesta*, ou seja, se é possível manipular seu comportamento de busca através da aprendizagem. Conhecer e compreender o comportamento deste parasitoide em relação à *G. molesta* é o primeiro passo para possibilitar o uso racional de diferentes métodos no combate a esta praga.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi: a) avaliar, em laboratório, a influência do feromônio sexual sintético de *G. molesta* nas respostas quimiotáticas e parasitismo de *T. pretiosum*; b) verificar a influência dos fatores endógenos (idade e sexo) do parasitoide na resposta ao feromônio; c) averiguar os efeitos da aprendizagem de *T. pretiosum* aos voláteis de ovos deste herbívoro.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Grapholita molesta* – origem, distribuição, hospedeiros e aspectos biológicos

Grapholita molesta (Busck) (Lepidoptera; Tortricidae), cujos adultos são popularmente conhecidos como mariposa-oriental e a fase larval, como broca-dos-ponteiros, é originária do extremo Oriente, sendo o seu centro de origem discutível entre o Japão e o Norte da China onde foi descrita como praga de rosáceas (Gonzalez, 1986). Em 1913, foi registrada nos Estados Unidos da América (EUA) (Rice *et al.*, 1982) e, em 1925, foi constatada no Canadá (Phillips & Proctor, 1969). No continente europeu foi introduzida pela região do Mediterrâneo, onde foi constatada pela primeira vez em 1920 (Besson & Joly, 1976). Segundo Kirk *et al.* (2013), *G. molesta* é distribuída por todas as regiões temperadas da Ásia, Europa, Américas, África e Austrália.

O primeiro relato da América do Sul foi no Brasil em 1929, no Rio Grande do Sul, a partir de onde se disseminou para os outros estados e também para o Uruguai, Chile e Argentina (Silva *et al.*, 1962; Gonzalez, 1989). No Brasil, a praga ocorre nas regiões Sul e Sudeste, nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Salles, 1998).

O pessegueiro, *Prunus persica* (L.) Batschvar (Rosaceae), é considerado seu principal hospedeiro (Molinari, Mazzoni & Cravedi, 2004; Arioli *et al.*, 2005), entretanto, ataca também outras espécies desta família como, cerejeira, *Prunus avium*

L., marmeleiro, *Cydonia vulgaris* Pers., damasqueiro, *Prunus armeniaca*, pereira, *Pyrus communis* L. (I'ichev & Flett, 1999), ameixeira, *Prunus salicina* Lindl. (Andreev & Kutinkova, 2004; Dickler, Theinert & Roulder, 2004) e macieira, *Malus domestica* L. (Waldstein & Gut, 2004; Myers, Hull & Krawczyk, 2007; Wei *et al.*, 2015).

Os adultos de *G. molesta* têm hábitos crepusculares, concentrando o acasalamento, migração e alimentação entre 17 e 22 horas (Salles, 1984). A longevidade depende da alimentação no estágio larval, variando entre 15 e 23 dias, durante os quais as fêmeas podem ovipositar de 30 a 230 ovos (Enekidze, 1981; Salles, 1984; Silva *et al.*, 2010).

As mariposas medem de 12 a 15 mm de envergadura e as asas têm de 6 a 7 mm de largura, em geral, as fêmeas são maiores do que os machos (Salles, 1991), são de coloração pardo-escuro-acinzentada, com estrias de cor branca (Hickel, Ribeiro & Santos, 2007). A liberação do feromônio sexual pelas fêmeas de *G. molesta* desencadeia o comportamento de corte e acasalamento (Baker & Cardé, 1979a) e pode ser afetada por fatores endógenos, fotoperíodo e temperatura (Baker & Cardé, 1979b). Os machos respondem ao feromônio vibrando as asas, curvando o abdome para cima e para baixo e dando curtos saltos ou voos (Dustan, 1964). Segundo este autor, a maioria das cópulas ocorrem entre a metade da tarde e o início da escotofase. Em laboratório, Morais, Redaelli & Sant'Ana (2012) observaram que a primeira cópula foi a de menor duração ($34,8 \pm 2,6$ min) e nesta é que foi transferido o maior espermatóforo.

Os ovos apresentam formato de discos, ligeiramente convexos e esbranquiçados postos isoladamente na face inferior de folhas novas, brotações e

frutos (Hickel *et al.*, 2007), possuem aproximadamente 0,7 mm de diâmetro (Botton *et al.*, 2011), sendo de difícil visualização nas folhas (Nava, Botton & Arioli, 2015). O período de incubação varia de 2 a 6 dias, ao longo do qual adquirem coloração escura, devido à formação da cápsula cefálica das lagartas (Nava *et al.*, 2015).

As lagartas logo após a eclosão têm coloração branco acinzentada com cápsula cefálica preta, quando completamente desenvolvidas, apresentam coloração branco-rosada com cápsula cefálica marrom e atingem de 12 a 14 mm de comprimento (Hickel *et al.*, 2007). Essa fase dura de 11 a 21 dias (Grellmann *et al.*, 1991).

As pupas ficam envoltas em casulos de seda e, geralmente, permanecem em pequenos espaços como fendas das cascas, dos troncos e ramos, no pedúnculo dos frutos ou em detritos do solo, sob a copa da planta, apresentam coloração amarelo-acastanhada e medem aproximadamente 6 mm de comprimento (Salles, 2001; Hickel *et al.*, 2007). A fase pupal dura de 7 a 12 dias (Grellmann *et al.*, 1991).

Dickson (1949) observou que larvas completamente desenvolvidas de *G. molesta* entraram em diapausa quando haviam sido expostas no início desta fase a fotofases curtas e baixas temperaturas. Sausen *et al.* (2011) observaram que ovos e larvas neonatas expostas a fotofases entre 10 e 14 horas entraram em diapausa na fase de pré-pupa.

As temperaturas basais inferiores estabelecidas por Grellmann *et al.* (1992) para as fases de ovo, larva e pupa foram, respectivamente, de 6,47 °C, 9,04 °C e 6,61 °C. Para o ciclo biológico, os autores calcularam 8,99 °C e, com base nas temperaturas médias registradas para o município de Pelotas, apontaram a possibilidade de ocorrerem seis gerações durante a safra de pessegueiro. Já em Bento

Gonçalves, Rio Grande do Sul (RS), Arioli *et al.* (2005) verificaram quatro gerações de *G. molesta* nesta mesma cultura.

Além da temperatura, o hospedeiro pode afetar o tempo de desenvolvimento, Myers, Hull & Krawzyk (2006) observaram que as lagartas de *G. molesta* se desenvolveram mais rápido em pêssegos do que em maçãs. Este fato também foi constatado por Silva *et al.* (2010) alimentando lagartas com ramos e frutos de pessegueiro da cultivar Vanguarda em comparação com as que receberam frutos de macieira variedade Gala ou Fuji.

2.2 *Grapholita molesta* – danos, manejo e controle

A mariposa-oriental é considerada importante praga de macieiras, pessegueiros e outras rosáceas de caroço em diferentes continentes como, América do Sul e do Norte, Europa, Austrália e África (Kirk , Dorn & Mozzi, 2013).

Os danos são causados exclusivamente pelas lagartas que broqueiam brotos e ramos não lignificados procurando novos à medida que os consomem (Salles, 2001; Botton, Arioli & Colleta, 2011; Barros-Parada *et al.*, 2018). As galerias nos brotos são construídas no sentido descendente e podem variar de 1,5 a 10 cm de comprimento (Salles, 2001). Em viveiros e pomares em período de formação, o ataque na fase vegetativa da cultura é mais importante, pois pode comprometer a boa formação da copa e influenciar em mais de um ciclo de cultivo (Botton *et al.*, 2001; Barros-Parada *et al.*, 2018).

Quando os ramos se tornam lignificados, as lagartas procuram os frutos recém-formados, onde penetram, preferencialmente, junto ao pedúnculo e alimentam-se da polpa próxima à região carpelar ou do caroço, podendo-se observar

no local de penetração, a presença de goma exsudada junto a excrementos do tipo serragem (Botton *et al.*, 2001; Barros-Parada *et al.*, 2018). As galerias formadas, conforme os autores, tornam os frutos impróprios para comercialização. O maior ataque ocorre no período entre o endurecimento do caroço e a pré-maturação, ou seja, de cinco a seis semanas após a plena floração, até 15 a 20 dias antes da colheita, podendo ocorrer queda prematura de frutos se o ataque se dá no início do desenvolvimento, principalmente em ameixeira (Hickel & Ducroquet, 1998).

Em Pelotas, Rio Grande do Sul (RS), Afonso *et al.* (2002) registraram na safra 1999/2000, um ataque nos ramos de 60%, em plantas conduzidas no sistema de produção convencional e de 55% naquelas de sistema integrado. Entretanto, na safra seguinte (2000/2001), os autores, verificaram valores inferiores, 14,9% de ataque no convencional e 9,7% no sistema integrado. Esta variação entre as safras, segundo os autores, foi atribuída às baixas temperaturas, na primavera de 2000, que afetou atividade de voo dos adultos. Na região da Depressão Central, RS, Guerra *et al.* (2007) encontraram 27,2% e 18,3% de danos em frutos de pessegueiro, cultivar Marli, no sistema de produção integrada e no convencional, respectivamente.

No Brasil, para o monitoramento de adultos de *G. molesta* no campo é recomendado o uso de armadilha iscada com feromônio sexual sintético, composto de acetato de Z-8-dodecenila (Roelofs, Comeau & Selle, 1969), acetato de E-8-dodecenila (Beroza *et al.*, 1973) e Z-8-dodecenol (Cardé, Baker & Roelofs, 1975) disposta a uma altura de 1,7 m do solo, do início da brotação até a colheita, sendo que em pomares de até 3 ha é indicada a instalação de duas armadilhas por pomar e nos maiores, uma armadilha a cada 3-5 ha (Botton *et al.*, 2011). O nível de controle é de 20 mariposas/armadilha/semana ou quando, cumulativamente, são capturadas 30

mariposas entre duas leituras consecutivas (Arioli *et al.*, 2017). Para o controle químico, hoje são registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento 17 produtos comerciais provenientes de oito ingredientes ativos para a cultura do pessegueiro e, para a da macieira, 46 produtos comerciais e 12 ingredientes ativos (Brasil, 2019).

Outro método de controle é através da disrupção sexual que consiste na liberação de uma grande quantidade de feromônio sexual sintético (entre 130 e 250 g/ha), distribuído em quatro a onze mil pontos por hectare (Arioli *et al.*, 2013). Isto gera uma saturação do ar, dificultando os machos de encontrarem a trilha do feromônio emitido pelas fêmeas, evitando que ocorra a cópula e conseqüentemente, diminuindo a população das gerações futuras (Pastori *et al.*, 2008; Arioli *et al.*, 2013).

Além da utilização do feromônio sexual sintético de *G. molesta* para confusão, na cultura da macieira, ele pode ser empregado através da técnica atrai-mata e, neste caso, é utilizada uma formulação que além do feromônio sexual contém um inseticida piretroide registrado para a cultura (Nava *et al.*, 2015).

Dentre as espécies que realizam o controle biológico da mariposa-oriental, Nava *et al.* (2015) destacaram o parasitoide de lagarta, *Macrocentrus ancylivorus* (Rohwer) (Hymenoptera: Braconidae), introduzido no Brasil em 1944, o qual frequentemente é encontrado nos meses de abril e maio com índices de parasitismo superiores a 80%. Vespas do gênero *Trichogramma* que parasitam ovos, também são citadas como inimigos naturais, não havendo, entretanto, registros do índice de ovos parasitados (Afonso, 2001; Melo, 2010).

2.3 Parasitoides do gênero *Trichogramma*

O gênero *Trichogramma* é o maior da família Trichogrammatidae, com aproximadamente 210 espécies descritas (Pinto, 2006). São exclusivamente parasitoides de ovos, com ampla distribuição geográfica e inúmeros hospedeiros, principalmente de Lepidoptera (Pinto, 1998), entretanto, podem parasitar ovos de insetos de outras ordens (Zucchi & Monteiro, 1997). Parasitoides desse grupo são importantes inimigos naturais com potencial para o controle biológico, já que eliminam a praga antes que qualquer dano seja causado à cultura (Bleicher & Parra, 1989; Botelho *et al.*, 1995; Witting *et al.*, 2007).

As espécies de *Trichogramma* têm tamanho de aproximadamente 0,6 mm (Nagarkatti & Nagaraja 1977; Smith & Hubbes 1986) e apresentam desenvolvimento holometabólico (De la Torre, 1993). São endoparasitoides primários de ovos de insetos, nos quais a prole se alimenta da massa vitelina ou do próprio embrião hospedeiro (Parra & Zucchi, 1986). Entre os adultos há dimorfismo sexual, as antenas das fêmeas são clavadas e as dos machos plumosas (Pinto, 1997). A taxonomia das espécies de *Trichogramma* é feita com base na descrição da genitália masculina, caráter efetivo para o reconhecimento específico (Querino & Zucchi, 2012).

Parasitoides deste gênero colocam um número variável de ovos em cada postura, em função do volume do ovo do hospedeiro, informação esta que fornece uma medida aproximada da quantidade de nutrientes disponível (Vinson, 1997; Colazza *et al.*, 2010). O tamanho do ovo hospedeiro é assim um fator importante na seleção hospedeira (Gomes, 1997).

O modo de reprodução mais comum em tricogramatídeos é a arrenotoquia, ou seja, ovos fertilizados produzem fêmeas diploides e ovos não fertilizados produzem machos haploides, assim o acasalamento não é obrigatório (Stouthamer *et al.*, 1990). Ainda segundo os autores, em espécies deste gênero pode ocorrer duas formas de telitoquia: a reversível (associada a infecções microbianas) e a não reversível. Em várias espécies de *Trichogramma*, a telitoquia é causada por bactérias do gênero *Wolbachia* (α -proteobactéria, Rickettsia) (Stouthamer, Luck & Hemilton, 1993). O ginandromorfismo, isto é, a presença de genitália de fêmea e antenas características de macho, foi registrado em um exemplar de *Trichogramma pretiosum* (Riley) coletado em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. F. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em lavoura de milho, em Piracicaba, SP (Beserra, Querino & Parra, 2003).

Em relação à fase larval, Goodenough, Hartstack & King (1983) observaram que *T. pretiosum* passa por três instares. Próximo da emergência, os ovos do hospedeiro se tornam escurecidos e o ciclo biológico se completa em cerca de 10 dias, a temperatura de 25 °C (Parra & Zucchi, 1986). A longevidade média é de 7 a 10 dias, no entanto esses valores podem mudar em função da temperatura, espécie e qualidade do hospedeiro (Vinson, 1997), a temperatura também influencia a taxa de parasitismo da espécie, sendo a ideal entre 18 e 32 °C.

A aplicação e criação de espécies de *Trichogramma* foram iniciadas quando a viabilidade da utilização de ovos de *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae), como hospedeiro alternativo para multiplicação do parasitoide, foi demonstrada facilitando a sua produção em larga escala (Flanders, 1930). Posteriormente, a superioridade de *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) como hospedeiro de criação foi observada (Lewis *et al.*, 1976).

Segundo Querino & Zucchi (2012) no Brasil são registradas as seguintes espécies do gênero *Trichogramma*, *T. acacioi* (Brun, Moraes e Soares), *T. acuminatum* (Querino & Zucchi), *T. alloeovirilia* (Querino & Zucchi), *T. atopovirila* (Oatman & Platner), *T. atropos* (Pinto), *T. bertii* (Zuchi), *T. bruni* (Nagaraja), *T. demoraesi* (Nagaraja), *T. dissimilis* (Zucchi), *T. Distinctum* (Zucchi), *T. esalqueanum* (Querino e Zucchi), *T. exiguum* (Pinto & Platner), *T. galloi* (Zucchi), *T. iracildae* (Querino & Zucchi), *T. jalmirezi* (Zucchi), *T. lasallei* (Pinto), *T. manicobai* (Brun, Moraes e Soares), *T. marandobai* (Brun, Moraes e Soares), *T. maxacalii* (Voegelé & Pointel), *T. parrai* (Querino & Zucchi), *T. pratissolii* (Querino & Zucchi), *T. pretiosum*, *T. pusillus* (Querino & Zucchi), *T. tupiense* (Querino & Zucchi) e *T. zucchii* (Querino).

A espécie mais abundante (Cônsoi, Parra & Zucchi, 2010) e amplamente distribuída no Brasil é *T. pretiosum*, com registros em todas as regiões (Querino, 2012). No País, *T. pretiosum* está associado a diversos hospedeiros e destaca-se como a espécie de maior frequência (Almeida, Lenteren & Stouthamer, 2010), já tendo sido encontrada parasitando ovos dos noctuídeos, *Heliothis virescens* (Fabr.) (Zucchi *et al.*, 1989), *Alabama argillacea* (Hübner) em algodoeiro (Almeida, 2000), *S. frugiperda* (Beserra & Parra, 2003; Dequech *et al.*, 2013, Vargas, Morais & Redaelli, 2017) e *Helicoverpa zea* (Boddie) em milho [*Zea mays* (L.)] (Vargas, Morais & Redaelli., 2017a). Foi também registrado em ovos de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em repolho [*Brassica oleracea* (L.)] (Pereira, Barros & Pratissoli, 2004) e *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro [*Solanum lycopersicum* (L.)] (Pratissoli *et al.*, 2005).

Dentre exemplos de aplicação eficiente de tricogramatídeos no Brasil, destacam-se o controle com a utilização de *T. pretiosum* da traça-do-tomateiro, *T. absoluta* na região do semiárido nordestino, município de Petrolina, PE (Haji, 2002) e dos noctuídeos, *Helicoverpa armigera* (Hübner) e *Chrysodeixis includens* (Walker) em mais de 250.000 ha de lavoura de soja [*Glycine max* (L. Merrill)] ao longo do território nacional (Parra *et al.*, 2015) e de *Trichogramma galloi* (Zucchi) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) (Parra, 2010). Recentemente Figueiredo *et al.* (2015) avaliaram o impacto de liberações de *T. pretiosum* em lavouras de milho orgânico e observaram uma taxa de parasitismo de 79,2 %, essa eficiência resultou em um ganho de produtividade de 19,4% por hectare em relação ao controle, demonstrando a eficácia da espécie no controle de pragas. Dentre os insetos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para aplicação no controle biológico se encontram dois tricogramatídeos, o *T. galloi*, para *D. saccharalis* e o *T. pretiosum* para os noctuídeos *H. zea*, *Anticarsia gemmatalis* (Hübner), *Pseudoplusia includens* (Walker) e *T. absoluta* (Brasil, 2019), ambos já sendo comercializados (Koppert Biological Systems, 2019).

2.3.1 Comunicação química interespecífica

A comunicação entre insetos é mediada por compostos químicos, denominados semioquímicos, que quando liberados por um determinado organismo no ambiente, provocam uma resposta fisiológica e/ou comportamental em outro indivíduo (Nordlund & Lewis, 1976; Vet & Dicke, 1992; Vilella & Della-Lúcia,

2001). Estes podem mediar as interações intraespecíficas (feromônios) ou interespecíficas (aleloquímicos) (Vilella & Della-Lúcia, 2001).

Parasitoides são conhecidos por seu comportamento de busca que inclui várias etapas desde a localização do habitat do hospedeiro, do próprio hospedeiro e a aceitação do mesmo, culminando com a oviposição (Vinson, 1976). As estratégias empregadas na busca e o sucesso do parasitismo são modulados por diversos estímulos, dentre os quais, os químicos desempenham papel principal (Vinson, 1998).

Nos parasitoides o sucesso reprodutivo é diretamente influenciado pelo hábito de forrageamento, deste modo estes organismos são forçados a otimizar seu comportamento de seleção (Alphen & Vet, 1986; Vet *et al.*, 1991; Hatano *et al.*, 2008; Fatouros *et al.*, 2008), utilizando pistas não necessariamente originadas pelos hospedeiros na fase em que estes são vulneráveis (Vinson, 1991; 1998; Godfray, 1994). Para parasitoides de ovos estes sinais podem ser oriundos de plantas infestadas (sinomônios) (Vet & Dicke 1992, Schweiger *et al.*, 2014) ou do próprio herbívoro (caiomônios) (Xu *et al.*, 2014).

Através dos sinais dos hospedeiros, parasitoides de ovos rastreiam e se aproximam de sítios de oviposição (Noldus & Lenteren, 1985) e cópula (Bruni *et al.*, 2000, Fatouros *et al.*, 2007). Devido ao pequeno tamanho (± 1 mm) e pouca capacidade de dispersão podem se aproximar de adultos do hospedeiro para também se utilizar do comportamento forético para localização dos ovos (Southwood, 1962; Clausen, 1976; Fatouros *et al.*, 2007, Huigens *et al.*, 2010). A foresia é um fenômeno no qual um indivíduo é transportado passivamente por outro maior de outra espécie, estabelecendo uma relação que beneficia o “carregado” e não afeta

diretamente o “carregador”, embora a progênie possa ser desfavorecida (Clausen, 1976; Gullan & Cranston, 2012).

Em Guayaquil, no Equador, Malo (1961) observou até 250 fêmeas de *Xenufens* sp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) aderidas a uma fêmea de *Caligo eurilochus* (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae). Huigens *et al.* (2010) registraram a ocorrência de comportamento forético inato em *Trichogramma brassicae* (Bezdenko) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) nas fêmeas copuladas do hospedeiro *Pieris rapae* (L.) (Lepidoptera: Pieridae). A localização dos organismos que atuam no transporte passivo, normalmente, é através de pistas feromonais emitidas pelos hospedeiros (Arakaki, Nakamura & Yassuda., 1996; Bruni *et al.*, 2000). Os sinais recebidos pelo inseto durante a busca pelo hospedeiro modificam seus padrões de movimentação gerando respostas de orientação e/ou deslocamento (Vinson 1985). Lewis *et al.* (1982) em estudos com *T. pretiosum* foram os primeiros a constatar que voláteis abdominais de fêmeas de *H. zea*, assim como as substâncias sintéticas identificadas em seu feromônio sexual, aumentaram as taxas de parasitismo nesta espécie. Bioensaios posteriores verificaram que o parasitoide respondia ao chamado das fêmeas de *H. zea* (Noldus, 1988).

A atratividade por feromônios de hospedeiros por fêmeas de diferentes espécies de *Trichogramma* já foi relatada por Boo & Young (2000), os quais observaram a atratividade de *Trichogramma chilonis* (Ishii) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) pelo composto Z11- acetato de hexadecenila e ao E12- acetato de tetradecenila, componentes dos feromônios sexuais dos hospedeiros *Helicoverpa assulta* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Ostrinia furnacalis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae), respectivamente. Resposta similar já foi constatada para

Trichogramma evanescens (Westwood) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *T. pretiosum* em relação ao feromônio dos noctuídeos, *H. zea* e *Mamestra brassicae* (L.) (Noldus, Lenteren & Lewis., 1991). O mesmo foi verificado para *T. chilonis* em relação ao feromônio de *P. xylostella* (Reddy, Holopainen & Guerrero, 2002) e para *T. pretiosum* em *Heliothis virescens* (Fabricius) (Lepidoptera, Noctuidae) (Xu *et al.*, 2014).

Fatouros *et al.* (2008) sugeriram que além da prática da foresia, as respostas ao feromônio de hospedeiros se devem a um sinergismo entre plantas hospedeiras e este cairomônio atuando como uma “ponte no tempo” para a espionagem química. Noldus, Potting & Barendregt (1991) demonstraram que o feromônio sexual de *M. brassicae* é adsorvido na superfície de folhas de couve-de-bruxelas (*Brassica oleracea* L.) elicitando respostas tanto do macho coespecífico quanto de fêmeas de *T. evanescens*, podendo gerar atratividade até 24 h após a ocorrência do chamamento. Segundo Fatouros *et al.* (2008) este pode ser um fenômeno comum, uma vez que existem vários parasitoides diurnos que demonstram atratividade pelo feromônio sexual de hospedeiros de hábito noturno e que a estrutura química dos componentes de feromônios são derivadas de ácidos-graxos de cadeia longa com propriedades químicas similares que poderiam facilmente ser adsorvidos à superfície das plantas.

O conhecimento acerca do comportamento de busca de um parasitoide pode ser importante para o aumento da eficiência do seu uso em programas de controle biológico (Fatouros & Huigens, 2012).

2.3.2 Aprendizagem

A busca por hospedeiros dos parasitoides é um comportamento inato (Papaj & Lewis, 1993), porém este pode ser modificado através de experiências, podendo resultar numa aprendizagem, associada a informações e estímulos vantajosos para seu desenvolvimento (Meiners & Peri, 2013). Esse aprendizado pode ser adquirido durante o desenvolvimento e/ou durante a fase adulta (Vet & Groenewold, 1990). As informações adquiridas na fase imatura podem ser transmitidas ao adulto porque segundo o mesmo autor, os compostos químicos presentes no ambiente de desenvolvimento larval estariam presentes na hemolinfa dos insetos ou na camada externa do hospedeiro e influenciariam na resposta quimiosensorial do adulto, o que é descrito na Hipótese do Legado Químico de Corbet (1985).

Segundo Colazza *et al.* (2010), as respostas dos adultos de parasitoides de ovos podem ser incrementadas através de experiências positivas, como por exemplo, a de oviposição. Nurindah, Cribb & Gorgh (1999) observaram que a perfuração de prova no córion dos ovos de *H. armigera* por *Trichogramma australicum* (Girault) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) já foi suficiente para gerar um incremento da atividade de oviposição deste parasitoide. Em *T. evanescens* (Westwood) Schöller & Prozell (2002) constataram que após uma experiência de oviposição bem-sucedida na presença de (Z,E)-9,12-acetato de tetradecenila, componente do feromônio sexual dos piralídeos hospedeiros, como *Ephestia* spp. e *Plodia interpunctella* (Hübner), as fêmeas passavam a ser atraídas à esse feromônio. Segundo os mesmos autores, isso demonstrou que os parasitoides aprenderam a associar o feromônio liberado pelos adultos às posturas destes. Para *Trichogramma maidis* (Pintureau & Voegelé) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), a oviposição na presença de um complexo de

odores associados ao hospedeiro *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) (odor dos ovos, o feromônio sexual sintético do hospedeiro e voláteis de extrato de milho) gerou o aprendizado, mas quando os componentes eram isolados não havia resposta (Kaiser *et al.*, 1989). A aprendizagem na fase adulta também foi avaliada em *Trichogramma atopovirilia* (Oatman & Platner) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), após exposições sucessivas do mesmo indivíduo a ovos de *S. frugiperda* (Beserra & Parra, 2003). Os autores observaram uma redução no tempo de reconhecimento e aceite do hospedeiro em relação às primeiras vezes que este tinha o contato e, após a terceira experiência de oviposição, houve uma estabilização do tempo de reconhecimento.

A aprendizagem também pode ser obtida a partir do hospedeiro de origem através do legado químico, Rodrigues *et al.* (2011) verificaram que após passar sucessivas gerações em ovos de *G. molesta*, *T. pretiosum* incrementou, ao longo destas, o parasitismo neste hospedeiro. Para esta mesma espécie o contato com os ovos de hospedeiros, durante a fase adulta, gerou um aumento de parasitismo em ovos dos noctuídeos, *A. gemmatalis*, *P. includens*, *S. frugiperda* e em *D. saccharalis* (Siqueira *et al.*, 2012). Quando oriundo de *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae), *T. pretiosum* preferiu o hospedeiro de origem a posturas de *S. frugiperda*, porém, após contato com os ovos e extratos desta, deixava de diferenciar entre as espécies (Vargas *et al.*, 2017).

Segundo Colazza *et al.* (2010), o aprendizado é o mecanismo através do qual as fêmeas de parasitoides de ovos podem ajustar sua resposta à gama de pistas disponíveis. Portanto, a experiência pode maximizar a resposta comportamental da fêmea e a sua eficiência no controle da praga, sendo de fundamental importância a

utilização desses conhecimentos em programas de controle biológico (Beserra & Parra, 2003).

2.4 Referências

- AFONSO, A. P. S. **Controle da *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) no sistema de produção integrada de pêssegos**. 2001. 75 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade/ Entomologia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2001.
- AFONSO, A. P. S. *et al.* Flutuação populacional e danos de *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) em sistemas de produção convencional e integrada da cultura do pessegueiro na localidade de Pelotas/RS. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 8, n. 3, p. 225-229, set./dez. 2002.
- ALMEIDA, R. P. Distribution of parasitism by *Trichogramma pretiosum* on the cotton leafworm. **Proceedings of Experimental and Applied Entomology**, Amsterdam, v. 11, p. 27-31, 2000.
- ALMEIDA, R. P.; VAN LENTEREN, J. C.; STOUTHAMER, R. Does *Wolbachia* infection affect *Trichogramma atopovirilia* behaviour? **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 70, n. 2, p. 435-442, 2010.
- ALPHEN, J. J. M.; VET, L. E. M. An evolutionary approach to host finding and selection. In: WAAGE, J.; GREATHEAD, D. (ed.). **Insect parasitoids**. London: Academic Press, 1986. p. 23-54.
- ANDREEV, R.; KUTINKOVA, H. Plum pests in Middle-Southern Bulgaria and their control. **Progress in Plant Protection**, Poznan, v. 44, n. 2, p. 577-579, 2004.
- ARAKAKI, N.; WAKAMURA, S.; YASUDA, T. Phoretic egg parasitoid, *Telenomus euproctidis* (Hymenoptera: Scelionidae), uses sex pheromone of tussock moth *Euproctis taiwana* (Lepidoptera: Lymantriidae) as a kairomone. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 22, p. 1079–1085, 1996.
- ARIOLI, C. J.; CARVALHO, G. A.; BOTTON, M. Flutuação populacional de *Grapholita molesta* (Busck) com armadilhas de feromônio sexual na cultura do pessegueiro em Bento Gonçalves, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 1, p. 1-5, 2005.
- ARIOLI, C. J. *et al.* **Feromônios sexuais no manejo de insetos-praga na fruticultura de clima temperado**. Florianópolis: Epagri, 2013. (Boletim Técnico, 159).

BAKER, T. C.; CARDÉ, R. T. Courtship behaviour of the Oriental fruit moth (*Grapholita molesta*): experimental analysis and consideration of the role of sexual selection in the evolution of courtship pheromones in the Lepidoptera. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 72, n. 1, p. 173-188, 1979a.

BAKER, T. C.; CARDÉ, R. T. Endogenous and exogenous factors affecting periodicities of female calling and mate sex pheromone response in *Grapholita molesta* (Busck). **Journal of Insect Physiology**, London, v. 25, p. 943-950, 1979b.

BARROS-PARADA, W. *et al.* Captures of oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae), in traps baited with host-plant volatiles in Chile. **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 53, p. 193-204, 2018.

BENSON, J.; JOLY, E. La tordeuse orientale du pêcher. **Reveu de Zoologie Agricole et de Pathologie Vegetale**, Bordeaux, v. 75, p. 1-22, 1976.

BEROZA, M. *et al.* Isomer content and other factors influencing captures of oriental fruit moth by synthetic pheromone traps. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 66, n. 6, p. 1307-1311, 1973.

BESERRA, E. B.; PARRA, J. R. P. Comportamento de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em posturas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 47, p. 205-209, 2003.

BESERRA, E. B.; QUERINO, R. B.; PARRA, J. R. P. Ocorrência de Ginandromorfismo em *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 507-509, 2003.

BLEICHER, E.; PARRA, J. R. P. Espécies de *Trichogramma* parasitoides de *Alabama argillacea*, biologia de três populações. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 8, p. 929-940, ago. 1989.

BOO, K. S.; YANG, J. P. Kairomones used by *Trichogramma chilonis* to find *Helicoverpa assulta* eggs. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 26, n. 2, p. 359-375, 2000.

BOTELHO, P. S. M. *et al.* Parasitismo de ovos de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) por *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em duas variedades de cana-de-açúcar conduzidas em dois espaçamentos de plantio. **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 39, p. 591-595, 1995.

BOTTON, M.; ARIOLI, C. J.; COLLETTA, V. D. **Monitoramento da mariposa-oriental *Grapholita molesta* (Busck, 1916) na cultura do pessegueiro**. Bento Gonçalves: Embrapa CNPUV, 2001. (Comunicado Técnico, 38).

BOTTON, M. *et al.* **Biologia monitoramento e controle da mariposa-oriental na cultura do pessegueiro no Rio Grande do Sul**. Bento Gonçalves: Embrapa CNPUV, 2011. (Circular Técnica, 86).

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Sistemas de Agronegócios Fitossanitários – AGROFIT**. Brasília, 2003. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 14 jan. 2019.

BRUNI, R. *et al.* Influence of host pheromone on egg parasitism by scelionid wasps: comparison of phoretic and nonphoretic parasitoids. **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 13, n. 2, p. 165-173, 2000.

CARDÉ, R.T.; BAKER, T.C.; ROELOFS, L. Ethological function of components of a sex attractant system for Oriental fruit moth males, *Grapholitha molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 1, n. 4, p. 475-491, 1975.

CLAUSEN, C. P. Phoresy among entomophagous insects. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 21, p. 343–368, 1976.

COLAZZA, S. *et al.* Host searching by egg parasitoids: exploitation of host chemical cues. In: CONSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma***. New York: Springer, 2010. p. 97-147.

CONSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma***. New York: Springer, 2010.

CORBET, S.A. Insect chemosensory responses: a chemical legacy hypothesis. **Ecological Entomology**, London, v. 10, n. 2, p. 143– 153, May 1985.

DE LA TORRE, S. L. ***Trichogramma*: biología, sistemática y aplicación**. La Habana: Editorial Científico Técnica, 1993.

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

DICKLER, E.; THEINERT, C.; RAULEDER, H. *Cydia tenebrosana*: a new pest in plum fruits? **Bulletin OILB/SROP**, Dijon, v. 27, n. 5, p. 13-17, 2004.

DICKSON, R. C. Factors governing the induction diapause in the oriental fruit moth. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 42, p. 511-537, 1949.

DUSTAN, G. G. Mating behaviour of the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Oletreutidae). **The Canadian Entomologist**, Cambridge, v. 96, n. 8, p. 1087-1093, 1964.

ENUKIDZE, N. E. The biology of the oriental fruit moth in Abkhazia. **Zashchita Rastenii**, Moscow, n. 6, p. 38, 1981.

FATOUROS, N. E. *et al.* The Response specificity of *Trichogramma* egg parasitoids towards infochemicals during host location. **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 20, n. 1, p. 53-65, 2007.

FATOUROS, N.E. *et al.* Foraging behavior of egg parasitoids exploiting chemical information. **Behavioral Ecology**, Cary, v. 19, n. 3, p. 677–689, May/June 2008.

FATOUROS, N. E.; HUIGENS, M. E. Phoresy in the field: natural occurrence of *Trichogramma* egg parasitoids on butterflies and moths. **BioControl**, Dordrecht, v. 57, n. 4, p. 493-502, Aug. 2012.

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

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

GODFRAY, H. C. J. **Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology**. Princeton: Princeton University Press, 1994.

GOMES, S. M. **Comparação de três hospedeiros alternativos para criação e produção massal de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 e *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988**. 1997. 106 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

GONZALEZ, R. H. Fenología de la grapholita o polilia oriental del durazno. **Aconex**, Santiago, n. 12, p. 5-12, 1986.

GONZALEZ, R. H. **Insectos y ácaros de importância agrícola y cuarentenária em Chile**. Santiago, Chile: Editora Universitaria de Chile, 1989.

GOODENOUGH, J.L.; HARTSTACK, A.W.; KING, E.G. Developmental models for *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared on four

hosts. **Journal of Economic Entomology**, College Park , v. 76, n. 5, p. 1095-1102, 1983.

GRELLMANN, E.O. *et al.* Ciclo evolutivo de *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera:Oletheutidae) em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, n. 4, p. 21-26, 1991.

GRELLMANN, E. O. *et al.* Thermal requirements and estimation of number of generations of *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lep, Olethreutidae) in Pelotas, RS, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 7, p. 999-1004, 1992.

GUERRA, D. S. *et al.* Utilização de pesticidas na produção de pêssegos ‘Marli’, nos sistemas de produção integrada e convencional. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 91-95, 2007.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **Os insetos: um resumo de entomologia**. São Paulo: Roca, 2012.

HAJI, F. N. D. *et al.* *Trichogramma pretiosum* para o controle de pragas no tomateiro industrial. In: PARRA, J. R. P. *et al.* (ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. cap. 28, p. 477-494.

HATANO, E. *et al.* Chemical cues mediating aphid location by natural enemies. **European Journal of Entomology**, Branisovska, v. 105, p. 797-806, 2008.

HICKEL, E. R.; DUCROQUET, J. P. H. J. Monitoramento e controle da grafolita ou mariposa oriental no Alto Vale do Rio do Peixe. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 11, n. 2, p. 8-11, 1998.

HICKEL, E. R.; RIBEIRO, L. G.; SANTOS, J. P. **A mariposa-oriental nos pomares catarinenses: ocorrência, monitoramento e manejo integrado**. Florianópolis: Epagri, 2007. (Boletim Técnico, 139).

HUIGENS, M. E. *et al.* Chemical espionage on species-specific butterfly anti-aphrodisiacs by hitchhiking *Trichogramma* wasps. **Behavioral Ecology**, Cary, v. 21, n. 3, p. 470-478, 2010.

IL'ICHEV, A. L.; FLETT, S. P. Major pest and disease problems in stone fruit production in Northern Victoria, Australia. **Bulletin OILB/SROP**, Dijon, v. 22, n. 11, p. 131- 135, 1999.

KAISER, L. *et al.* Olfactory responses of *Trichogramma maidis* Pint. et Voeg.: effects of chemical cues and behavioral plasticity. **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 2, n. 5, p. 701-712, 1989.

KIRK, H.; DORN, S.; MAZZI, D. Worldwide population genetic structure of the oriental fruit moth (*Grapholita molesta*), a globally invasive pest. **BioMed Central**, London, v. 13, n. 12, Mar. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3637152/#>. Acesso em: 15 jan. 2019.

KOPPERT BIOLOGICAL SYSTEMS. **Produtos para controle de pragas**. Piracicaba, 2019. Disponível em: <https://www.koppert.com.br/galloibug/>. Acesso em: 5 mar. 2019.

LEWIS, W. J. *et al.* Production and performance of *Trichogramma* reared on eggs of *Heliothis zea* and other hosts. **Environmental Entomology**, College Park, v. 5, n. 3, p. 449-452, 1976.

LEWIS, W. J. *et al.* Kairomones and their use for management of entomophagous insects. XIII. Kairomonal activity for *Trichogramma* spp. of abdominal tips, excretion, and a synthetic sex pheromone blend of *Heliothis zea* (Boddie) moths. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 8, n. 10, p. 1323-1331, 1982.

MALO, F. Phoresy in *Xenofens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), A Parasite of *Caligo eurilochus* (Lepidoptera: Nymphalidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 54, n. 3, p. 465-466, 1961.

MEINERS, T.; PERI, E. Chemical ecology of insects parasitoids: essential elements for developing effective biological control programmes. *In*: WAJNBERG, E.; COLAZZA, C. (ed.). **Chemical Ecology of Insect Parasitoids**. West Sussex: John Wiley, 2013. cap 9, p. 193-224.

MELO, D. F. **Coleta, identificação e seleção de *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) visando ao manejo de *Grapholita molesta* (Busk, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae)**. 2010. 70 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES, 2010.

MYERS, C. T.; HULL, L. A.; KRAWCZYK, G. Effects of orchard host plants on the oviposition preference of the Oriental Fruit Moth (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 99, n. 4, p. 1176-1183, 2006.

MYERS, C. T.; HULL, L. A.; KRAWCZYK, G. Effects of orchard host plants (apple and peach) on development of Oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 100, p. 421-430, 2007.

MOLINARI, F.; MAZZONI, E.; CRAVEDI, P. Control trials against *Myzus persicae* and *Cydia molesta* in organic farming. **Bulletin OILB/SROP**, Dijon, v. 27, n. 5, p. 109-114, 2004.

- MORAIS, R. M.; REDAELLI, L. R.; SANT'ANA, J. Age and multiple mating effects on reproductive success of *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera, Tortricidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 56, n. 3, p. 312-324, 2012.
- NAGARKATTI, S.; NAGARAJA, H. Biosystematics of *Trichogramma* and Trichogrammatoidea species. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 22, p. 157-176, 1977.
- NAVA, D. E.; BOTTON, M.; ARIOLI, C.J. Mariposa-oriental *Grapholita molesta* (Busck). In: VILELA, E. F.; ZUCCHI, R. A. **Pragas introduzidas no Brasil: insetos e ácaros**. Piracicaba: FEALQ, 2015. cap. 13, p. 262-279.
- NOLDUS, L. P. J. J. Response of the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* to the sex pheromone of its host *Heliothis zea*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 48, p. 293-300, 1988.
- NOLDUS, L.P.J.J.; POTTING, R.P.J.; BARENDREGT, H.E. Moth sex pheromone adsorption to leaf surface: bridge in time for chemical spies. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 16, n. 3, p. 329-344, 1991.
- NOLDUS, L. P. J. J.; LENTEREN, J. C. Kairomones for the egg parasite *Trichogramma evanescens* Westwood I. Effect of volatile substances released by two of its hosts, *Pieris brassicae* L. and *Mamestra brassicae*. L. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 11, n. 6, p. 781-791, 1985.
- NOLDUS, L. P. J. J.; LENTEREN, J. C.; LEWIS, W. J. How *Trichogramma* parasitoids use moth sex pheromones as kairomones: orientation behaviour in a wind tunnel. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 16, n. 3, p. 313-327, 1991.
- NORDLUND, D.A.; LEWIS, W.J.J. Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 2, n. 2, p. 211-220, 1976.
- NURINDAH; CRIBB, W. B.; GORDH, G. Experience acquisition by *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Australian Journal of Entomology**, Canberra, v. 38, n. 2, p. 115-119, 1999.
- PAPAJ, D. R.; LEWIS, A. **Insect learning: ecological and evolutionary perspectives**. New York: Chapman & Hall, 1993.
- PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. Uso de *Trichogramma pretiosum* no controle de pragas. In: NAKANO, O. *et al.* (ed.). **Atualização sobre métodos de controle de pragas**. Piracicaba: FEALQ, 1986. p. 54-75.

PARRA, J. R. P. Mass rearing of egg parasitoids for biological control programs. *In*: CÔNSOLI, F.L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma***. Heidelberg: Springer, 2010. p. 267-292.

PARRA, J. R. P. *et al.* *Trichogramma* as a tool for IPM in Brazil. *In*: VINSON, B. *et al.* (ed.). **Augmentative biological control using *Trichogramma* spp.:** current status and perspectives. Shaanxi: Northwest A&F University Press, 2015.

PASTORI, P. L. *et al.* Avaliação da técnica de interrupção sexual utilizando emissores SPLAT visando ao controle de *Bonagota salubricola* (Meyrick) e *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) na pré-colheita de maçãs da cultivar Fuji. **BioAssay**, Piracicaba, v. 3, p. 1-8, 2008.

PEREIRA, F. F.; BARROS, R.; PRATISSOLI, D. Desempenho de *Trichogramma pretiosum* Riley e *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) submetidos a diferentes densidades de ovos de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1669-1674, 2004.

PHILLIPS, J. H. H.; PROCTAOR, J. R. Studies of fecundity and behaviour of the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). **The Canadian Entomologist**, Toronto, v.101, n. 10, p. 24 – 33, 1969.

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 o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap. 1, p. 13-39.

PINTO, J. D. **Systematics of the north american species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**. Washington, DC,: Entomological Society of Washington, 1998. (Memoirs, 22).

PINTO, J. D. A review of the new world genera of Trichogrammatidae (Hymenoptera). **Journal of Hymenoptera Research**, Washington, DC, v. 15, n. 1, p. 38-163, 2006.

PRATISSOLI, D. *et al.* Estimativa de *Trichogramma pretiosum* para o controle de *Tuta absoluta* em tomateiro estaqueado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 7, p. 715-718, 2005.

QUERINO, R. B. **Taxonomia do gênero *Trichogramma* (Westwood, 1833) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) na América do Sul**. 2002. 214 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

- QUERINO, R. B.; ZUCCHI, A. Z. Espécies de *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) coletadas em armadilha de sucção em Reserva Florestal. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 451-455, 2004.
- QUERINO, R. B.; ZUCCHI, A. Z. **Guia de identificação de *Trichogramma* para o Brasil**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2012.
- REDDY, G. V.; HOLOPAINEN, J. K.; GUERRERO, A. Olfactory responses of *Plutella xylostella* natural enemies to host pheromone, larval frass, and green leaf cabbage volatiles. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 28, n. 1, p. 131-143, 2002.
- RICE, R. E. *et al.* Monitoring and modeling oriental fruit moth in California. **California Agriculture**, Berkeley, v. 36, n. 1, p. 11-12, 1982.
- RODRIGUES, M. L. *et al.* Selection of *Trichogramma pretiosum* lineages for control of *Grapholita molesta* in peach. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 94, n. 3, p. 398-403, 2011.
- ROELOFS, W.L.; COMEAU, A.; SELLE, R. Sex pheromone of the oriental fruit moth. **Nature**, London, n. 224, p. 723, 1969.
- SALLES, L. A. B. **Grafolita (*Grapholita molesta*): bioecologia e controle**. Pelotas: Embrapa CNPFT, 1984. (Documentos, 20).
- SALLES, L. A. B. **Grafolita (*Grapholita molesta*): biologia e controle**. Pelotas: Embrapa CNPFT, 1991. (Documentos, 42).
- SALLES, L. A. B. Principais pragas e seu controle. *In*: BARBOSA, C. A.; RASEIRA, M. C. B. (ed.) **A cultura do pessegueiro**. Brasília: Embrapa SPI, 1998.
- SALLES, L. A. B. Mariposa-oriental, *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). *In*: VILELA, E. F.; ZUCCHI, R. A.; CANTOR, F. (ed.) **Histórico das pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, 2001.
- SAUSEN, C. D. *et al.* Diapause initiation and alteration in the life cycle of *Grapholita molesta* (Busk) (Lepidoptera: Tortricidae) as induced by photoperiodic conditions. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 40, n. 5, p. 529-532, 2011.
- SCHÖLLER, M.; PROZELL, S. Response of *Trichogramma evanescens* to the main sex pheromone component of *Ephestia* spp. and *Plodia interpunctella*, (Z,E)-9,12-tetra-decadenyl acetate (ZETA). **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 38, n. 2, p. 177-184, 2002.
- SCHWEIGER, R. *et al.* Interactions between the jasmonic and salicylic acid pathway modulate the plant metabolome and affect herbivores of different feeding types. **Plant Cell and Environmental**, Oxford, v. 37, n. 7, p. 1574-1585, 2014.

- SILVA, A. G. A. *et al.* **Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil, seus parasitas e predadores.** Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Serviço de Defesa Sanitária Vegetal, 1962. t. 1, pt. 2.
- SILVA, O. A. B. N. *et al.* Desenvolvimento e reprodução da mariposa-oriental em macieira e pessegueiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 45, n. 10, p. 1082-1088, 2010.
- SIQUEIRA, J. R. *et al.* Preferência hospedeira do parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum*. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 42, n. 1, p. 1-5, 2012.
- SMITH, S. M.; HUBBES, M. Isoenzyme patterns and biology of *Trichogramma minutum* as influenced by rearing temperature and host. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 42, n. 3, p. 249-258, 1986.
- SOUTHWOOD, T. R. E. Migration of terrestrial arthropods in relation to habitat. **Biological Reviews**, London, v. 37, n. 2, p. 171-211, 1962.
- STOUTHAMER, R.; LUCK, R. F.; HAMILTON, W. D. Antibiotics cause parthenogenetic *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) to revert to sex. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, v. 87, n. 7, p. 2424-2427, 1990.
- STOUTHAMER, R. *et al.* Molecular identification of microorganisms associated with parthenogenesis. **Nature**, London, n. 361, p. 66-68, 1993.
- VARGAS, C. C. *et al.* Influência da idade do hospedeiro e da aprendizagem no comportamento quimiotático e no parasitismo de *Trichogramma pretiosum*. **Iheringia. Série Zoologia**, Porto Alegre, RS, v. 107, [art.]e2017015, p. 1-7, 2017.
- VARGAS, C.C.; MORAIS, R.M.; REDAELLI, L.R. Infestação de milho crioulo, convencional e transgênico pela lagarta-do-cartucho e pela lagarta-da-espiga e parasitismo de ovos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 16, n. 3, p. 351-360, 2017.
- VET, L.; WACKERS, F.; DICKE, M. How to hunt for hiding hosts: the reliability-detectability problem in foraging parasitoids. **Netherlands Journal of Zoology**, Leiden, v. 41, n. 2/3, p. 202-213, 1991.
- VET, L. E. M.; DICKE, M. Ecology of info chemical use by natural enemies in a tritrophic context. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 37, p. 141-172, 1992.
- VET, L. E. M.; GROENEWOLD, A. W. Semiochemicals and learning in parasitoids. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 16, n. 11, p. 3119-3137, 1990.

VILELLA, F. E.; DELLA LUCIA, T. M. C. Introdução aos semioquímicos e terminologia. *In*: VILELLA, F. E.; DELLA LUCIA, T. M. C. (ed.). **Feromônios de insetos: biologia, química e aplicação**. 2. ed. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 9-12.

VINSON, S. B. Host selection by insect parasitoids. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 21, p. 109–133, 1976.

VINSON, S. B. The behavior of parasitoids. *In*: KERKUT, G.A.; GILBERT, L.I. (ed.). **Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology**. Oxford: Pergamon, 1985. v. 9, p. 417-469.

VINSON, S. B. Chemical signals used by parasitoids. **Redia: giornale di entomologia**, Firenze, v. 74, p. 15–42, 1991.

VINSON, S. B. Comportamento de seleção hospedeira de parasitoides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae. *In*: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap. 2, p. 24-55.

VINSON, S. B. The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological Control**, Orlando, v. 11, n. 2, p. 79–96, 1998.

WALDSTEIN, D. E.; GUT, L. J. Effects of rain and sunlight on oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae) pheromone microcapsules applied to apple foliage. **Journal of Agricultural and Urban Entomology**, Clemson, v. 21, n. 2, p. 117-128, 2004.

WEI, S. J. *et al.* Population genetic structure and approximate Bayesian computation analyses reveal the southern origin and northward dispersal of the oriental fruit moth *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) in its native range. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 24, n. 16, p. 4094-4111, 2015.

WITTING, B. E.; ORR, D. B.; LINKER, H. M. Attraction of Insect Natural Enemies to Habitat Plantings in North Carolina. **Journal of Entomological Science**, Tifton, v. 42, n. 4, p. 439-456, 2007.

XU, J. *et al.* Differential response of *Trichogramma* wasps to extreme sex pheromone types of the noctuid moth *Heliothis virescens*. **Ecological Entomology**, Oxford, v. 39, n. 5, p. 627–636, 2014.

ZUCCHI, R. A.; MONTEIRO, R. C. O gênero *Trichogramma* na América do Sul. *In*: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap. 2, p. 41-66.

ZUCCHI, O. L. A. D. *et al.* Desenvolvimento de um modelo determinístico compartimental para simular o controle de *Heliothis virescens* (Fabr. 1781) através

de *Trichogramma* spp. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 2, p. 357-365, 1989.

3 ARTIGO 1

Influence of *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) semiochemicals on chemotaxis, parasitism and learning ability by *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) *

*Artigo formatado conforme as normas do periódico Neotropical Entomology

Paloma Guazzelli Della Giustina – pgdgiustina@hotmail.com, PPG - Fitotecnia,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 7712, Porto
Alegre, Rio Grande do Sul 91540-000, Brazil

Section: Ecology, Behavior and Bionomics

Influence of *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) semiochemicals on
chemotaxis, parasitism and learning ability by *Trichogramma pretiosum*
(Hymenoptera: Trichogrammatidae)

P G Della Giustina, L R Redaelli, J Sant'Ana. PPG-Fitotecnia, Federal University of
Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

Trichogramma responses to *G. molesta* semiochemicals

ORCID number: <https://orcid.org/0000-0001-6939-0994>

ABSTRACT – This study evaluated the influence of semiochemicals of *Grapholita molesta* (Busck) on chemotactic responses and parasitism by *Trichogramma pretiosum* (Riley), as well as the learning ability to egg volatiles. Chemotaxis of 24, 48, 72 and 96-hour-old *T. pretiosum* coupled males and females was recorded using an olfactometer, contrasting the synthetic sex pheromone blend (*Z*-8-dodecenyl acetate, *E*-8-dodecenyl acetate and *Z*-8-dodecenol acetate) of *G. molesta* (10 µL at 0.001%) with the solvent hexane, and also the egg volatiles with females with or without experience. The preference for parasitism was recorded by offering container pieces containing *G. molesta* eggs, rinsed or unrinsed, one with 10 µL of the pheromonal solution and other with hexane. The parasitism preference in rinsed and unrinsed eggs was evaluated in females with and without experience. Females up to 72-h-old were more attracted to the pheromone while males, regardless of age, did not respond. Inexperienced females did not differentiate rinsed or unrinsed eggs, but when experienced, preferred unrinsed eggs. The presence of the *G. molesta* sex pheromone increased *T. pretiosum* parasitism in up to 72 h-old. With no experience in eggs, parasitism was not different only at 24-hour-old, while the others preferred the rinsed eggs. This behavior changed after the experience in eggs. The study showed that females of *T. pretiosum* innately recognize *G. molesta* pheromone and that age has influence on chemotaxis and parasitism. Additionally *T. pretiosum* evidenced to be able to learn the egg volatiles of this herbivore.

Keywords: pheromone, oriental moth, kairomone, olfactometry, egg parasitoid

Introduction

Oophagous parasitoids use a variety of strategies in the hosts search (Huigens *et al* 2010) and for trichogrammatids, the chemical trails are the most important (Nordlund 1994, Schmidt 1994). These cues, for species of this family, may be volatile organic compounds (VOC) emitted by plants (synomones) (Vet & Dicke 1992, Schweiger *et al* 2014) or from the herbivore itself (kairomones) (Xu *et al* 2014). The host sexual pheromone, usually, provides long-range cues (Fatouros *et al* 2008, Colazza *et al* 2010). *Trichogramma chilonis* (Ishii) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) showed innate attractiveness to sex pheromone of *Helicoverpa assulta* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae) and *Ostrinia furnacalis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae), its hosts (Boo & Young 2000). Similar behaviour was observed in *Trichogramma pretiosum* (Riley) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for the sex pheromone of Noctuidae species *Heliothis zea* (Boddie) and *M. brassicae* (Noldus *et al* 1992).

The host signals interception permits these parasitoids to find copula (Bruni *et al* 2000, Fatouros *et al* (2006) and oviposition sites (Noldus & Lenteren 1985), in addition it make phoresy behaviour possible (Fatouros *et al* 2008, Huigens *et al* 2010). This phenomenon allows the egg parasitoid to overcome long distances in spite of its low flying capacity, achieving fresh egg masses in the short time window for parasitism, since the wasp follow the female to oviposition sites using her body as transportation (Huigens *et al* 2010). Another strategy was showed by Noldus *et al* (1991) whose observed that the sex pheromone of the female moth *Mamestra brassicae* (L.) (Lepidoptera, Noctuidae) adsorbed onto the leaf surface of Brussels

sprouts plants attracts conspecific male moths and arresting *Trichogramma evanescens* (Westwood) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) females.

Host egg masses can act as a short-range cues detectable at small distances or by contact (Kaiser 1989, Colazza *et al* 2010). Response to volatiles of lepidopteran egg masses was already reported to the trichogrammatids *T. pretiosum* females (Gross *et al* 1981, Vet *et al* 1995, Nordlund *et al* 1987) and *Trichogramma brassicae* (Bezdenko) (Renou *et al* 1992).

Parasitoids show innate behavior when searching for hosts (Papaj & Lewis 1993), although it can be modified through experience, which may result in a learning process associated with the acquisition of information that are beneficial to its development (Meiners & Peri 2013). Immature parasitoids can learn with certain stimuli through development inside the host, it directly affects the sensitivity of the insect to host chemicals (Corbet 1985). This pre-imaginal conditioning was evaluated in *T. pretiosum* with *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) eggs, showing that the parasitoid was able to learn during its development and carried over into the adult stage (Rodrigues *et al* 2011).

Trichogramma adults can also learn to recognize compounds present on or inside the host chorion, this experience acquisition is mediated by sensilla located on the antennae and/or ovipositor (Le Rec & Wajnberg, 1990; Vinson 1998; Nurindah *et al* 1999a). It can reduce host recognition and approval time as described for *Trichogramma atopovirilia* (Oatman & Platner) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Beserra & Parra 2003) or change parasitism preferences as observed by Vargas *et al* (2017) in *T. pretiosum* females after contact with *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) eggs and egg extracts.

Trichogramma pretiosum is one of the main species of Lepidoptera egg parasitoids (Pratissoli *et al* 2005), widely distributed in the Americas (Pinto & Stouthamer 1994). One of its referred hosts is the oriental fruit moth, *G. molesta* (Tortosa *et al* 2014), considered the most important pest in Brazilian peach and apple orchards (Botton *et al* 2011).

One of the main control methods for *G. molesta* is the mating disruption that consists of releasing a large amount of synthetic sex pheromone into the field, which hinders meeting between males-females, thereby decreasing the population of future generations (Arioli *et al* 2013). The combination between behavioral (mating disruption) and biological control methods has led to questions about the effect of these semiochemicals on *T. pretiosum* search behavior and parasitism. Thus, this study evaluated, in laboratory, the influence of *G. molesta* sex pheromone on *T. pretiosum* chemotactic responses and parasitism, the effects of parasitoid endogenous features, as well as its learning ability to *G. molesta* eggs volatiles.

Material and methods

Insects

The *T. pretiosum* straight was obtained from specimens collected from eggs of *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), in a corn crop, located at the Experimental Station SEAPDR/Floresta (29°41'24" S; 53°48'42" W), in Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil. These were multiplied and maintained (generation 62) in *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) eggs, following the

methodology of Parra (1997) under controlled conditions ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ RH, 12 L: 12 D photoperiod).

The colony of *G. molesta* from the UFRGS laboratory was kept in a climate room ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; $60 \pm 5\%$ RH; 16 L: 8 D photoperiod). The adults were maintained in cages made of 2-l polyethylene terephthalate (PET) bottles, which also served as oviposition sites, and fed with a solution of honey and water (15%). Every three days the bottles with eggs were collected, cut into irregular pieces and transferred to recipients containing artificial diet for the larval phase, based on dried apple, beer yeast, corn meal, and wheat germ (Ivaldi-Sender 1974).

Pheromone

A commercial blend of *G. molesta* sintetic sexual pheromone containing the components (*Z*)-8-dodecenyl acetate, (*E*)-8-dodecenyl acetate and (*Z*)-8-dodecenol acetate in the ratio 93:6:1 (Bedoukian[®]) was used for the bioassays, in a solution of 0.001% with hexane.

Olfactometry

The olfactometry bioassays were conducted in a dual-choice glass Y-tube olfactometer with a diameter of 1 cm, initial arena of 12 cm, bifurcated into two arms of 5 cm each under fluorescent light (60 W, luminance of 290 lux). An air stream, previously filtered with active carbon, was drawn into the system with the aid of an air pump connected to a flow meter and a humidifier at a rate of 0.3 L/min. At each third repetition, the olfactometer was rotated in the horizontal direction (rotation of

180°) and at every six repetitions, replaced by another, previously washed and sterilized.

Each insect was given 10 min to make a choice of arms in olfactometer. Parasitoids that moved at least 3 cm into one branch arm and remained there for at least 60 s, were considered responsive. If no choice was made in 10 min, the wasp was considered nonresponsive, and excluded from statistical analysis.

Chemotactic response of T. pretiosum (inexperienced) to G. molesta sex pheromone

The *T. pretiosum* males and females response, to the *G. molesta* synthetic sex pheromone, was evaluated at 24, 48, 72 and 96 h-old. At the end of one olfactometer arm, a filter paper, (80 g/m²/1 x 3 cm), folded in the shape of a bagpipe and containing 10 µL of the synthetic pheromone (0.001% concentration), was added and then constrained with the same volume of solvent hexane (control) in the other arm. At least 40 responsive replicates were made for each treatment.

Chemotactic response of T. pretiosum (inexperienced and experienced) to volatiles of G. molesta eggs

Trichogramma pretiosum females (24, 48, 72 and 96 h-old), with and without experience on *G. molesta* eggs, were evaluated. To acquire the experience, these parasitoids (± 200) were exposed to a polyethylene terephthalate irregular bottle piece with 300 *G. molesta* eggs (up to 24-h-old), for five hours. In an olfactometer were tested a bottle piece containing 50 unrinsed eggs and 50 rinsed eggs, of the same age. The rinsing eggs followed the methodology of Tognon *et al* (2018) that

consists in immersing PET's pieces in solvent hexane (99%) for five minutes. At least 40 replicates were made for each treatment.

Parasitism

Parasitism of T. pretiosum (inexperienced) on G. molesta eggs in the presence of pheromone

Two bottle's pieces with 50 *G. molesta* rinsed eggs (up to 24-h-old) each were offered for 3 hours, to one *T. pretiosum* female (24, 48, 72 and 96 h-old) in glass tubes (3 x 7 cm) sealed with Parafilm® (Bemis Flexible Packaging). In one of the pieces, 10 µL of the pheromonal solution was added at a concentration of 0.001%, while in the other, the same volume of solvent hexane. The same procedure was performed with unrinsed eggs.

Parasitism of T. pretiosum (inexperienced and experienced) in G. molesta eggs

Trichogramma pretiosum females (24, 48, 72 and 96 h-old) were evaluated with and without experience on *G. molesta* eggs. The acquisition of experience followed an equal method to the olfactometer bioassay, with *G. molesta* eggs volatiles. The parasitism was registered by offering to each female two botthe's pieces, containing 50 eggs (up to 24-h-old) each, one with rinsed eggs and other with unrinsed eggs, for 3 hours. The females were individualized in glass tubes (3 x 7 cm), sealed with Parafilm® (Bemis Flexible Packaging).

On the 13th day after the eggs exposure, in all parasitism bioassays, the numbers of parasitized eggs, hatched larvae and nonviable eggs, as well as, the

parasitism success rate were recorded. For each combination of treatments, 20 replicates were performed.

Statistical analysis

Chemotactic responses were compared by the Chi-square test for heterogeneity. The mean number of parasitized eggs was tested for normality by the Shapiro-Wilk test and then compared by the Mann-Whitney U test. The analyses were performed using the Bioestat 5.0[®] program (Ayres *et al* 2007), at 5% significance level.

Results

Chemotactic response of *T. pretiosum* (inexperienced) to *G. molesta* sex pheromone

The percentage of *T. pretiosum* mated males that directed to the pheromone blend or solvent hexane was not different in 24 h-old ($\chi^2 = 1.8$; $df = 1$; $P = 0.2636$), 48 h-old ($\chi^2 = 0.8$; $df = 1$; $P = 0.5023$), 72 h-old ($\chi^2 = 3.2$; $df = 1$; $P = 0.1175$), and 96 h-old ($\chi^2 = 3.2$; $df = 1$; $P = 0.1175$) (Fig 1).

The percentage of *T. pretiosum* mated females attracted to the synthetic pheromone blend of *G. molesta* was higher when at the ages of 24 (72%) ($\chi^2 = 16.2$; $df = 1$; $P \leq 0.001$), 48 (62.3%) ($\chi^2 = 5$; $df = 1$; $P = 0.0442$) and 72 h-old (90%) ($\chi^2 = 51.2$; $df = 1$; $P < 0.0001$) than hexane. However, at 96 h-old (67.5%) ($\chi^2 = 9.8$; $df = 1$; $P = 0.0037$), they were no longer attracted to the synthetic pheromone blend of *G. molesta* (Fig 2).

Chemotactic response of *T. pretiosum* (inexperienced and experienced) to volatiles of *G. molesta* eggs

The percentage of inexperienced *T. pretiosum* females on *G. molesta* eggs that was directed to the rinsed or unrinsed eggs was not statistically different in 24 ($\chi^2 = 4$; $df = 1$; $P = 0.0956$), 48 ($\chi^2 = 3.6$; $df = 1$; $P = 0.1138$), 72 h-old ($\chi^2 = 1.6$; $df = 1$; $P = 0.3428$), and 96 h-old ($\chi^2 = 0.095$; $df = 1$; $P = 1$). A high number of nonresponsive females was also observed in all ages ($NR > 19$) (Fig 3).

Females experienced on *G. molesta* eggs, these were more attracted to the unrinsed eggs in all ages, 24 ($\chi^2 = 6.914$; $df = 1$; $P = 0.0168$), 48 ($\chi^2 = 20.629$; $df = 1$; $P < 0.0001$), 72 ($\chi^2 = 4.909$; $df = 1$; $P = 0.0489$), and 96 h-old ($\chi^2 = 6.25$; $df = 1$; $P = 0.0244$). The experience also reduced the number of nonresponsive females (Fig 4).

Parasitism of *T. pretiosum* (inexperienced) on *G. molesta* eggs in the presence of pheromone

In bioassays with rinsed and unrinsed eggs, females up to 48-h-old preference, was not different between both treatments ($P > 0.05$). It was observed that when at 72 h-old, the wasps showed a positive response to eggs with pheromone, rinsed (77.3%) ($U = 98$; $df = 1$; $P = 0.005$) and unrinsed (66.5%) ($U = 127.5$; $df = 1$; $P = 0.0049$). After reaching 96 h-old, the females parasitized more rinsed (67%) ($U = 126$; $df = 1$; $P = 0.0453$) and unrinsed eggs (67.9%) ($U = 123$; $df = 1$; $P = 0.0373$) with hexane (control) (Fig 5).

Parasitism of *T. pretiosum* (inexperienced and experienced) in *G. molesta* eggs

The parasitism of inexperienced *T. pretiosum* at 24-h-old was not significantly different between treatments ($P > 0.05$). At 48 (66%) ($U = 118.50$; $df = 1$; $P = 0.0275$), 72 (80.5%) ($U = 59.50$; $df = 1$; $P = 0.0001$) and 96 h-old (74.7%) ($U = 107.00$; $df = 1$; $P = 0.0119$), still without experience, parasitism was higher in rinsed eggs. Nevertheless, after the egg experience, parasitism at 24 (70.9%) ($U = 97.00$; $df = 1$; $P = 0.0053$); 48 (65.5%) ($U = 116.00$; $df = 1$; $P = 0.0231$), 72 (70.9%) ($U = 97.00$; $df = 1$; $P = 0.0053$), and 96 h-old (72.1%) ($U = 115.50$; $df = 1$; $P = 0.0223$) was higher in unrinsed eggs (Fig 6).

Discussion

The attractiveness of *T. pretiosum* males to *G. molesta* pheromone was not observed. This perception lack may be related to the fact that they normally emerge before females and remain on egg masses while awaiting their emergence (Pompanon *et al* 1997, Knutson 1998), guaranteeing copulation before field dispersal (Waage & Ming 1984). Thus, there is no necessity to use host pheromone as a chemical tray to locate copulation sites. Similar behaviour have been reported by Zaki *et al* (1998) in *Bracon brevicornis* Wesmael (Hymenoptera: Braconidae), whose males did not respond to *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Crambidae) and *Sesamia cretatica* (Lederer) (Lepidoptera: Noctuidae) hosts kairomones, since they are generalists. It might be occurred with *T. pretiosum* males in our study, which do not associate these pheromones with the search for partners for copulation.

Conversely, *T. pretiosum* females, up to 72 h-old, were attracted by *G. molesta* sexual pheromone. According to Zhao *et al* (2016), the perception of males

and females wasps of the same species may differ because they show a distinct genetic pattern of antennal chemoreceptors. The attractiveness to host pheromones by females of different species of genus *Trichogramma* has been reported by other authors. Boo & Young (2000) observed that *Trichogramma chilonis* (Ishii) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) was attracted to (Z)-11-hexadecenyl acetate and (E)-12-tetradecenyl acetate, which are components of *Helicoverpa assulta* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae) and *Ostrinia furnacalis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae), sexual pheromones, respectively. A similar behaviour was observed for *Trichogramma evanescens* (Westwood) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *T. pretiosum* to pheromone of Noctuidae species *Heliothis zea* (Boddie) and *Mamestra brassicae* (L.) (Noldus *et al* 1992), for *T. chilonis* on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) (Reddy *et al* 2002) and for *T. pretiosum* on *Heliothis virescens* (Fabricius) (Lepidoptera, Noctuidae) (Xu *et al* 2014).

Trichogrammatids are generalist and they are able to recognize odors associated with several hosts. It should be noted that compounds that constitute the pheromone blend of *G. molesta* have already been identified in several species of Lepidoptera (Pherobase 2019) which, in an evolutionary process, would increase the these parasitoids recognition and perception chances of their hosts semiochemicals (Hekmat-Scafe *et al* 2002).

Trichogramma pretiosum females at 96-h-old were no longer responsive to the *G. molesta* pheromone. The absence of perception in older females is possibly related to a decrease in the biosynthesis of the proteins responsible for the volatiles perception. According to Chang (2016), the expression of genes responsible for these compounds presence in the hemolymph of the antenna is directly related to the

insects age. This semiochemical perception decrease over ages was also observed for *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae), which was more responsive to synomones from corn damaged by *S. frugiperda* (J. F. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), between two and four days old, followed by a drop after the fifth day (Loke & Ashley 1984). A perception decrease was also observed in *Cotesia glomerata* (L.) (Hymenoptera: Braconidae) females, which were more attracted to cabbage with *Pieris brassicae* (L.) (Lepidoptera: Pieridae) between 4 and 5 days old (Steinberg *et al* 1992).

It was observed in this study that the presence of the *G. molesta* pheromone on the egg mass increased the parasitism by *T. pretiosum*. Similar behaviour was recorded for *T. chilonis* on *H. assulta* eggs with its scales extracts (Boo & Young 2000) in a laboratory environment, also on *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera, Pseudococcidae) eggs near pheromone impregnated dispensers by *Anagyrus pseudococci* (Girault) (Hymenoptera: Encyrtidae) in field tests (Franco *et al* 2011).

One of the advantages of using pheromones as kairomones consists of bringing the females near oviposition sites in which their hosts are found, thereby increasing the chance of finding egg masses (Fatouros *et al* 2008). Another aspect to be considered is related to phoresy, i.e., the detection of the pheromone would allow the parasitoid to meet directly with the host females, being transported by the herbivore before oviposition, thus not only compensating the low displacement capacity observed in *Trichogramma* species, but also assisting in the encounter with newly oviposited eggs, as observed by Fatouros *et al* (2006) for *T. evanescens* and by Huigens *et al* (2010) for *Trichogramma brassicae* (Bezdenko) (Hymenoptera: Trichogrammatidae).

Another important factor observed in this study was that the parasitism of rinsed and unrinsed eggs with pheromone was only significantly higher when the females were 72-h-old, while at 96 h-old, they changed their behaviour, i.e., they preferred eggs without semiochemicals. In olfactometry bioassays, it was observed that females at 24, 48 and 72 h-old are responsive to *G. molesta* sex pheromone, although this preception did not result in greater parasitism at first two ages, perhaps because they were less selective when younger. Changes in the selectivity of females during adulthood have already been observed. Unlike the results for *T. pretiosum*, Jia & Liu (2018) found that *Aphelinus asychis* (Walker) (Hymenoptera: Aphelinidae) females showed lower selectivity for the host *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) with their aging.

The parasitism results recorded with 96-h-old females are consistent with those observed in the chemotaxic tests, which are more responsive to control treatment than to pheromone. The parasitism preference of 96 h-old females of eggs with hexane over the ones with *G. molesta* pheromone, may be associated to a reproductive system shutdown, due to its deterioration, which reflects on host search behavior and recognition.

The chemotactic responses of *T. pretiosum* females were similar for rinsed and unrinsed *G. molesta* eggs at all ages, showing that, when they are inexperienced (from *E. kuehniella*), they do not recognize the odors of the oriental fruit moth eggs. The lack of attractiveness to *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae) egg volatiles by *T. evanescens* had also been reported, Laing (1937) observed that even been raised in *S. cerealella* egg these wasps do not recognize its volatiles.

Nevertheless, in *T. pretiosum* females (Gross *et al* 1981, Vet *et al* 1995, Nordlund *et al* 1987), the response to volatiles of lepidopteran egg masses was already reported, even when the parasitoids were reared on eggs of other host. This was recorded in *T. brassicae* reared on *O. nubilalis* and *M. brassicae* (Renou *et al* 1992), in *Trichogramma closterae* (Pang and Chen) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *T. chilonis* for *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae), in *T. brassicae* for *P. brassicae* (Fatouros *et al* 2006), and in *T. ostrinae* for *O. furnacalis* (Bai *et al* 2004) and for *O. nubilalis* (Yong *et al* 2007).

It is known that oophagous parasitoids use kairomones present in eggs and in substances secreted by accessory glands in the process of host search and location (Fatouros *et al* 2008, Colazza *et al* 2010). However, in all ages evaluated in this study the females do not recognized the volatiles from *G. molesta* eggs, in addition unrinsed eggs were less parasitized in relation to rinsed ones, which suggests the presence of deterrents on the surface of unrinsed masses. When *T. pretiosum* had no opportunity of choice, parasitism was observed, with percentages lower than 15%, as the results of previously pilot test performed by us. Conversely, substances from accessory glands present on *P. brassicae* eggs can also be cause repellent, as verified for *Trichogramma buesi* (Voegelé) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Pak & Jong 1987). Surface compounds of *Halyomorpha halys* (Stål) (Hemiptera: Pentatomidae) eggs, from East Asia, prevented parasitism by *Telenomus podisi* (Ashmead) and *Trissolcus erugatus* (Johnson) (Hymenoptera: Scelionidae), both native to North America (Tognon *et al* 2017). Phylogeny and ancestral hosts were pointed out by Taekul *et al* (2014) as factors that affect the host/parasitoid interaction. *Grapholita*

molesta, whose origin center is also in East Asia (Gonzalez 1986) and *T. pretiosum*, from the Americas (Pinto & Stouthamer 1994), which, in part, justifies the results of this study.

Experimental *T. pretiosum* bioassays, which had previous contact with oriental fruit moth eggs, evidenced a change in behavior (learning), both in relation to chemotaxis and parasitism, at all ages. Rodrigues *et al* (2011) had already verified the importance of the original host (pre-imaginal learning) of *T. pretiosum* by increasing parasitism on *G. molesta* eggs after four generations reared in this host. Nurindah *et al* (1999b) observed that, after exposure *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) eggs, *Trichogramma australium* (Girault) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reduced the search time for egg masses of this host. The recognition and parasitism of *T. pretiosum* grown on *E. kuehniella* eggs was also increased in the noctuids, *Anticarsia gemmatalis* (Hübner), *Pseudoplusia includens* (Walker), *S. frugiperda*, and *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) after the contact of this parasitoid, for 24 hours, with eggs of these herbivores (Siqueira *et al* 2012).

Similarly, inexperienced *T. pretiosum* females parasitized the original host (*E. kuehniella*) more than *S. frugiperda* eggs (Vargas *et al* 2017). Nevertheless, the authors verified that, after the experience of adults with eggs and extracts of this host, *T. pretiosum* did not differentiate egg masses of different host species. This learning ability is probably a strategy used by generalist parasitoids to address the great variability of chemical information present in the environment (Steidle & van Loon 2002).

This study results evidenced that *T. pretiosum* uses *G. molesta* sexual pheromone to search their host. Thus, it is assumed that this environment with pheromone attracts insects already present in adjacent areas to the orchards where their hosts and partners for copulation would be located. Nevertheless, this higher number of parasitoids may not result in an increased parasitism rate, as the females inexperienced in *G. molesta* eggs do not perceive the kairomones on egg masses. In fact, Tortosa *et al* (2014) had already observed the natural occurrence of *T. pretiosum* in eggs of this herbivore in pear orchards in Mendoza, Argentina, although with a low parasitism rate. Conversely, females of this parasitoid presented egg volatile learning capacity at different ages, being able to recognize these semiochemicals after a positive experience, increasing their chemotactic response and parasitism, which would allow their conditioning to a target host odor, in mass breeding or in capsules for field release, enhancing the success of its use in management programs.

Considering that the *T. pretiosum* artificial colonies are maintained in *E. kuehniella* eggs, the experience acquisition with target pest eggs extracts could be provided during the parasitoid development, close to emergence moment, or immediately after it. The parasitoids behaviour management could result in the liberation of wasps familiar with the target host volatiles, and consequently, make easier to recognise it in field conditions.

Acknowledgments

We would like to thank the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) of Brazil for providing the scholarship to the first author and

for the fellowships awarded to the second (CNPq 308113/2016-0) and third authors (CNPq 303758/2018-0).

References

- Arioli CJ, Botton M, Mafra-Neto A, Molinari F, Borges R, Pastori P (2013) Feromônios sexuais no manejo de insetos-praga na fruticultura de clima temperado. *Epagri* 159:307-317(Boletim técnico 159)
- Ayres M, Ayres M Jr, Ayres DL, Santos, AAS (2007) *BioEstat 5.0 Aplicações estatísticas nas áreas da ciências bio-médicas*. Sociedade Civil Mamirauá, Belém, p 364
- Bai S, Wang Z, He K, Im D (2004) Olfactory response of *Trichogramma ostrinae* (Hymenoptera:Trichogrammatidae) to volatiles emitted by mungbean plants. *Agricult Sci China* 10:560-565
- Beserra EB, Parra JPR (2003) Comportamento de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em posturas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). *Rev Bras Entomol* 47:205-209
- Boo K.S, Yang J.P (2000) Kairomones used by *Trichogramma chilonis* to find *Helicoverpa assulta* eggs. *J Chem Ecol* 26:359-375
- Botton M, Nava DE, Arioli CJ, Grutzmacher AD, Garcia MS (2011) Biologia monitoramento e controle da mariposa-oriental na cultura do pessegueiro no Rio Grande do Sul. *Embrapa CNPUV*, 2011. 86. (EMBRAPA CNPUV. Circular técnica, 86).
- Bruni R, Sant'Ana J, Aldrich R, Bin F (2000) Influence of host pheromone on egg parasitism by scelionid wasps: comparison of phoretic and nonphoretic parasitoids. *J Insect Behav* 13:165-173
- Chang CL (2016) Proteomics/qPCR Protocol to estimate physical ages of wild male oriental fruit flies, *Bactrocera dorsalis* (Hendel). *J Asia Pac Entomol* 19:347-351
- Colazza S, Peri E, Salerno G, Conti E (2010) Host searching by egg parasitoids: exploitation of host chemical cues. In: Cònsoli FL, Parra JRP, Zucchi RA (eds) *Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma*. Springer, New York, pp 97-147
- Corbet SA (1985) Insect chemosensory responses: a chemical legacy hypothesis. *Ecol. Entomol*, 10:143-153
- El-Sayed AM (2019) Semiochemicals of *Grapholita molesta*, the Oriental fruit moth. Available in: <http://www.pherobase.com/database/species/species-Grapholita-molesta.php?isvalid=yes>. Accessed in 10 Dez 2018
- Fatouros NE, Bukovinszky G, Dicke M, Hilker M (2006) The response specificity of *Trichogramma* egg parasitoids towards infochemicals during host location. *J Insect Behav* 29:53-65
- Fatouros NE, Dicke M, Mumm R, Meiners T, Hilker M (2008) Foraging behavior of egg parasitoids exploiting chemical information. *Behav Ecol* 9:677-689

- Franco JC, Silva EB, Fortuna T, Cortegano E, Branco M, Pompeo S, La Torre I, Russo A, Elyahu M, Protasov A, Levi-Zada A, Mendel Z (2011) Vine mealybug sex pheromone increases citrus mealybug parasitism by *Anagyrus* sp. near *pseudococci* (Girault). *Biol Control* 58:230-238
- Gonzalez RH (1986) Fenologia de la grapholita o polilia oriental del durazno. *Aconex* 12:5-12
- Gross HR, Lewis WJ, Nordlund DA (1981) *Trichogramma pretiosum*: Effect of prerelease parasitization experience on retention in release areas and efficiency. *Environ Entomol* 10:554-556
- Hekmat-Scafe DS, Scafe CR, Mckinney AJ, Tanouye MA (2002) Genome-wide analysis of the odorant-binding protein gene family in *Drosophila melanogaster*. *Genome Res* 9:1357-1369
- Huigens ME, Woelke JB, Pashalidou FG, Bukovinszky T, Smid HM, Fatouros, NE (2010) Chemical espionage on species-specific butterfly anti-aphrodisiacs by hitchhiking *Trichogramma* wasps. *Behav Ecol* 21:470-478
- Ivaldi-Sender C (1974) Techniques simples pour un élevage permanent de la tordeuse orientale, *Grapholita molesta* (Lepidoptera Tortricidae) sur milieu artificiel. *Ann Zool Ecol Anim* 6:337-343.
- Jia Y, Liu T (2018) Dynamic host-feeding and oviposition behavior of an aphid parasitoid *Aphelinus asychis*. *Biol Control* 63:533–542
- Kaiser L (1989) Olfactory responses of *Trichogramma maidis* Pint. et Voeg.: effects of chemical cues and behavioral plasticity. *J Insect Behav* 2:701-712
- Knutson A (1998) The *Trichogramma* manual. <http://hdl.handle.net/1969.1/160453>. Accessed in 20 Dez 2018
- Laing J (1937) Host-finding by insect parasites. 1. Observations on the finding of hosts by *Aalysia manducator*, *Mormoniella vitripennis* and *Trichogramma evanescens*. *J Anim Ecol* 6:298-317
- Le Rec A, Wajnberg E (1990) Sensory receptors of the ovipositor of *Trichogramma maidis* (Hym. Trichogrammatidae). *Entomophaga* 35:293-299.
- Loke WH, Ashley TR (1984) Behavioral and biological responses of *Cotesia marginiventris* to kairomones of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *J Chem Ecol* 10:521-529
- Meiners T, Peri E (2013) Chemical ecology of insects parasitoids: essential elements for developing effective biological control programmes. In: Wajnberg E, Colazza C (eds) *Chemical Ecology of Insect Parasitoids*. John Wiley & Sons, West Sussex, pp 193-224
- Noldus LPJJ, Van Lenteren JC (1985) Kairomones for the egg parasite *Trichogramma evanescens* Westwood I. Effect of volatile substances released by two of its hosts, *Pieris brassicae* L. and *Mamestra brassicae*. L. *J Chem Ecol* 11: 781–791
- Noldus LPJJ, Van Lenteren JC, Lewis WJ (1992) How *Trichogramma* parasitoids use moth sex pheromones as kairomones: orientation behaviour in a wind tunnel. *Physiol Entomol* 16:313–327
- Nordlund DA (1994). Habitat location by *Trichogramma*. In: Wajnberg E, Hassan AS (eds) *Biological control with egg parasitoids*. CAB Internacional, Oxon, pp 155–163

- Nordlund DA, Strand MR, Lewis WJ, Vinson SB (1987). Role of kairomones from host accessory gland secretion in host recognition by *Telenomus remus* and *Trichogramma pretiosum*, with partial characterization. *Entomol Exp Appl*. 44:37-44
- Nurindah P, Cribb WB, Gordh G (1999a) Experience acquisition by *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Aust J Entomol* 38: 115-119
- Nurindah P, Cribb BW, Gordh G (1999b) Effects of physiological condition and experience on oviposition behavior of *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on eggs of *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). *Aust J Entomol* 38:104-114
- Pak GA, Jong EJ (1987) Behavioural variations among strains of *Trichogramma* spp.: host recognition. *Neth J Zool* 37:137-166
- Papaj DR, Lewis A (1993) *Insect learning: ecological and evolutionary perspectives*. Chapman & Hall, New York, p 320
- Parra JRP (1997) Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para a produção de *Trichogramma*. In: Parra JRP, Zucchi RA (eds) *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Fealq, Piracicaba, pp 121-150
- Pinto JD, Stouthamer R (1994) Systematics of the Trichogrammatidae with emphasis in *Trichogramma*. In: Wajnberg E, Hassan SA (eds) *Biological control with egg parasitoids*. CAB International, Wallingford, pp 304
- Pompanon F, Schepper B, Mourer W, Fouillet P, Bouletreau M (1997) Evidence for a substrate-borne sex pheromone in the parasitoid wasp *Trichogramma brassicae*. *J Chem Ecol* 13:1349-1360
- Pratissoli D, Thuler RB, Andrade GS, Zanotti LCM, Silva AF (2005) Estimativa de *Trichogramma pretiosum* para controle de *Tuta absoluta* em tomateiro estaqueado. *Pesq agropec bras* 20:715-718
- Reddy GV, Holopainen JK, Guerrero A (2002) Olfactory responses of *Plutella xylostella* natural enemies to host pheromone, larval frass, and green leaf cabbage volatiles. *J Chem Ecol* 28:131-143
- Renou M, Nagnan P, Berthier A, Durier C (1992) Identification of compounds from the eggs of *Ostrinia nubilalis* and *Mamestra brassicae* having kairomone activity of *Trichogramma brassicae*. *Entomol exp Appl* 63:291-303
- Rodrigues ML, Garcia MS, Nava DE, Botton M, Parra JR, Guerreiro M (2011) Selection of *Trichogramma pretiosum* lineages for control of *Grapholita molesta* in peach. *Fla Entomol* 94:398-403
- Schmidt J.M (1994) Host recognition and acceptance by *Trichogramma*. In: Wajnberg E, Hassan SA (eds) *Biological Control with Egg Parasitoids*. CAB International, Wallingford, pp 165-200
- Schweiger R, Heise AM, Persicke M, Müller C (2014) Interactions between the jasmonic and salicylic acid pathway modulate the plant metabolome and affect herbivores of different feeding types. *Plant, Cell Environ* 37:1574-1585
- Siqueira JR, Bueno RCOF, Bueno AF, Vieira SS (2012) Preferência hospedeira do parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum*. *Cien Rural* 42:1-5

- Steidle JLM, Van Lonn JJA (2002) Chemoecology of parasitoid and predator oviposition behavior. In: Hilker M, Meiners T (Eds). Chemoecology of Insect Eggs and Eggs Deposition. Blackwell Publishing, Berlin, pp 291-317
- Steinberg S, Dicke M, Vet LEM, Wanningen R (1992) Response of the braconid parasitoid *Cotesia* (= *Apanteles*) *glomerata* to volatile infochemicals: effects of bioassay set-up, parasitoid age and experience and barometric flux. *Entomol Exp Appl* 63:163-175
- Taekul CA, Valerio AA, Austin AD, Klompen H, Johnson N (2014) Molecular phylogeny of telenomine egg parasitoids (Hymenoptera: Platygasteridae s.l.: Telenominae): evolution of host shifts and implications for classification. *Sys Entomol* 39:24-35
- Tognon R, Aldrich JR, Buffington ML, Talamas EJ, Sant'Ana J, Zalom FG (2017) *Halyomorpha halys* (Heteroptera: Pentatomidae) Egg surface chemicals inhibit North American *Telenomus* and *Trissolcus* (Hymenoptera: Scelionidae) Parasitism. *Biol Control* 114:39-44
- Tognon R, Sant'Ana J, Redaelli LR, Meyer AL (2018) Is it possible to manipulate scelionidae wasps' preference to a target host? *Neotrop Entomol* 47: 689-697
- Tortosa OE, Carmona A, Monje JC, Giardina M, Manzano P, Martinez E (2014) Relevamiento y evaluación de parasitoides de huevo para el control de *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) y *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). *Rev Soc Entomol Arg* 73:119-124
- Vargas CC, Redaelli LR, Sant'Ana J, Moraes RM, Padilha P (2017) Influência da idade do hospedeiro e da aprendizagem no comportamento quimiotáxico e no parasitismo de *Trichogramma pretiosum*. *Iheringia Ser Zool* 107:1-7
- Vet LEM, Dicke M (1992) Ecology of info chemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annu Rev Entomol* 37:141-172
- Vet LEM, Lewis WJ, Carde R (1995) Parasitoid foraging and learning. In: Carde R, Bell WJ, (eds) Chemical ecology of insects. Chapman & Hall, New York, pp 65-101
- Vinson SB (1998) The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. *Biol Control* 11:79-96
- Waage JK, Ming NGS (1984). The reproductive strategy of a parasitic wasp I. Optimal progeny and sex allocation in *Trichogramma evanescens*. *J. Anim. Ecol.* 53:401-415
- Xu J, Huigens ME, Orr D, Groot AT (2014) Differential response of *Trichogramma* wasps to extreme sex pheromone types of the noctuid moth *Heliothis virescens*. *Ecol Entomol* 39:627-636
- Yong T, Pitcher S, Gardner J, Hoffmann MP (2007) Odor specificity testing in the assessment of efficacy and non-target risk for *Trichogramma ostrinia* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biocontrol Sci Techn* 17:135-153
- Zaki FN, El-Saadany G, Gamma A, Saleh M (1998) Increasing rates of parasitism of the larval parasitoid *Bracon brevicornis* (Hym., Braconidae) by using kairomones, pheromones and a supplementary food. *J Appl Ent* 122:565-567
- Zhao Y, Wang F, Zhang X, Zhang S, Guo S, Zhu G, Liu Q, Li M (2016) Transcriptome and expression patterns of chemosensory genes in antennae of the parasitoid wasp *Chouioia cunea*. *Plos One* 11:1-25

- Fig 1 Percentages of chemotactic responses of *Trichogramma pretiosum* mated males, at different ages, tested in the dual-choice olfactometer, with the synthetic pheromone blend of *Grapholita molesta* and hexane (control). Numbers in the bars represent the number of responsive insects. NR = nonresponsive. ns = not significant statistically (χ^2 ; $P > 0.05$).
- Fig 2 Percentages of chemotactic responses of *Trichogramma pretiosum* mated females, at different ages, tested in the dual-choice olfactometer, with the synthetic pheromone blend of *Grapholita molesta* and hexane (control). Numbers in bars represent the number of responsive insects. Values followed by an asterisk asterisk are significantly different (χ^2 ; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$). NR = nonresponsive.
- Fig 3 Percentages of chemotactic responses of *Trichogramma pretiosum* mated females without experience in *Grapholita molesta* eggs at different ages, tested in the dual-choice olfactometer on rinsed and unrinsed eggs of this species. Numbers in the bars represent the number of responsive insects. Values followed by an asterisk are significantly different (χ^2 ; * $P < 0.05$). NR = nonresponsive. ns = not significant statistically.
- Fig 4 Percentages of chemotactic responses of *Trichogramma pretiosum* mated females with experience in *Grapholita molesta* eggs, at different ages, tested in the dual-choice olfactometer on rinsed and unrinsed eggs of this species. Numbers in the bars represent the number of responsive insects. Values followed by an asterisk are significantly different (χ^2 ; * $P < 0.05$). NR = nonresponsive. ns = not significant statistically.
- Fig 5 Mean number of rinsed and unrinsed eggs of *Grapholita molesta* (\pm SE) parasitized by *Trichogramma pretiosum* mated females, at different ages, exposed with pheromone and hexane (control). Values followed by an asterisk are significantly different, compared within treatments for each age by Mann-Whitney test at 5% significance level (* $P < 0.05$).
- Fig 6 Mean number of eggs of *Grapholita molesta* (\pm SE) parasitized by *Trichogramma pretiosum* mated females, at different ages, with and without experience on eggs of this host, exposed to rinsed and unrinsed eggs of *G. molesta*. Values followed by an asterisk are significantly different, compared within treatments for each age by Mann-Whitney test at 5% significance level (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$). W/OE = without experience. WE = with experience

Fig 1

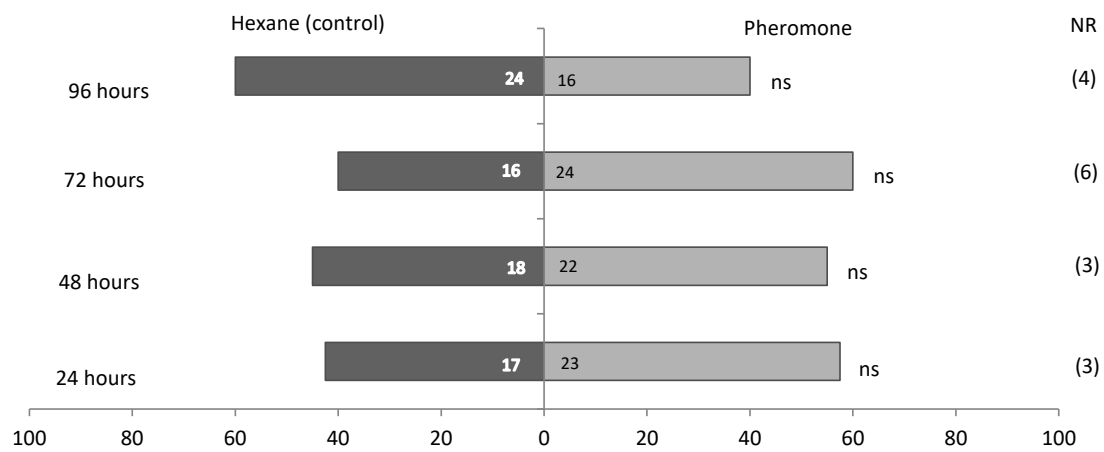


Fig 2

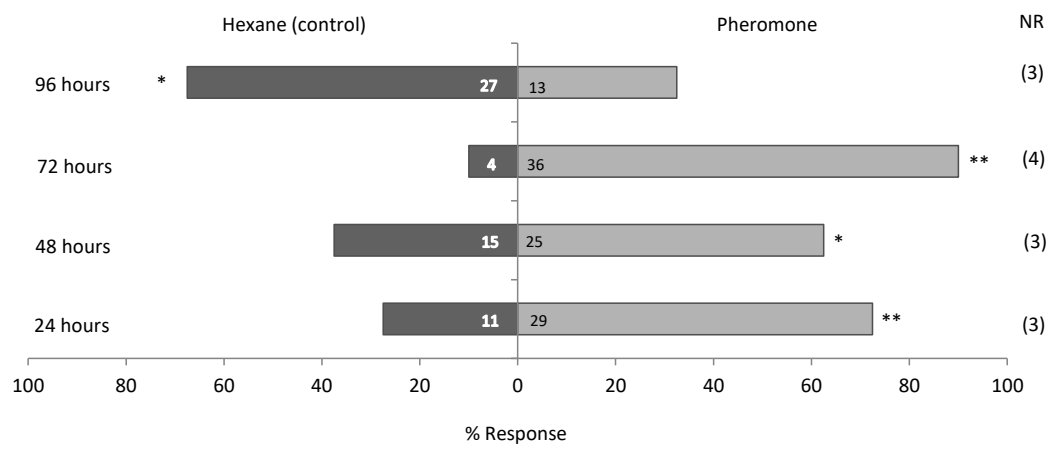


Fig 3

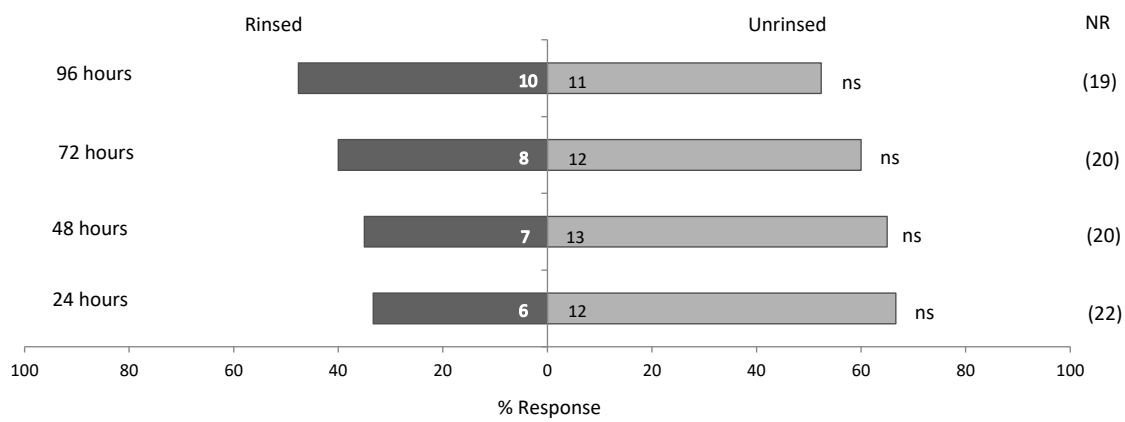


Fig 4

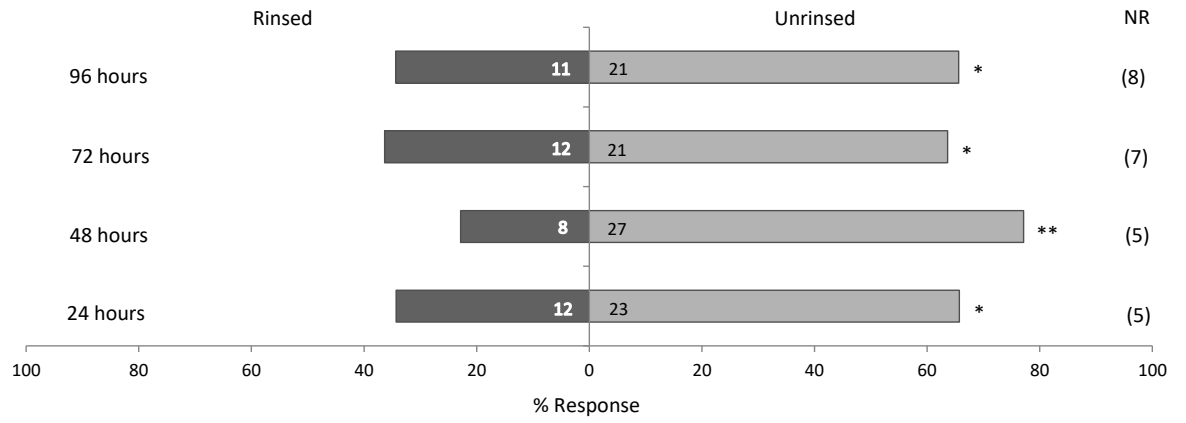


Fig 5

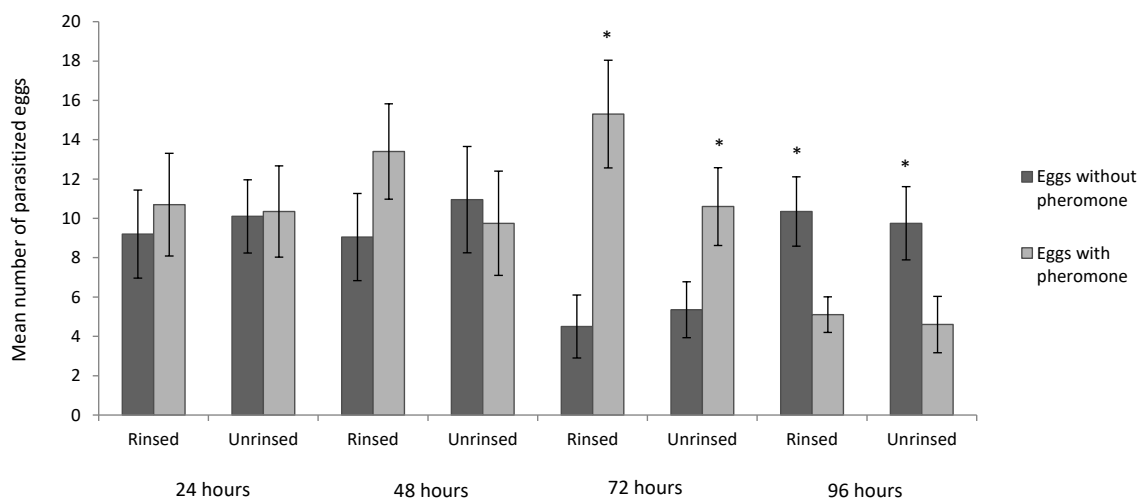
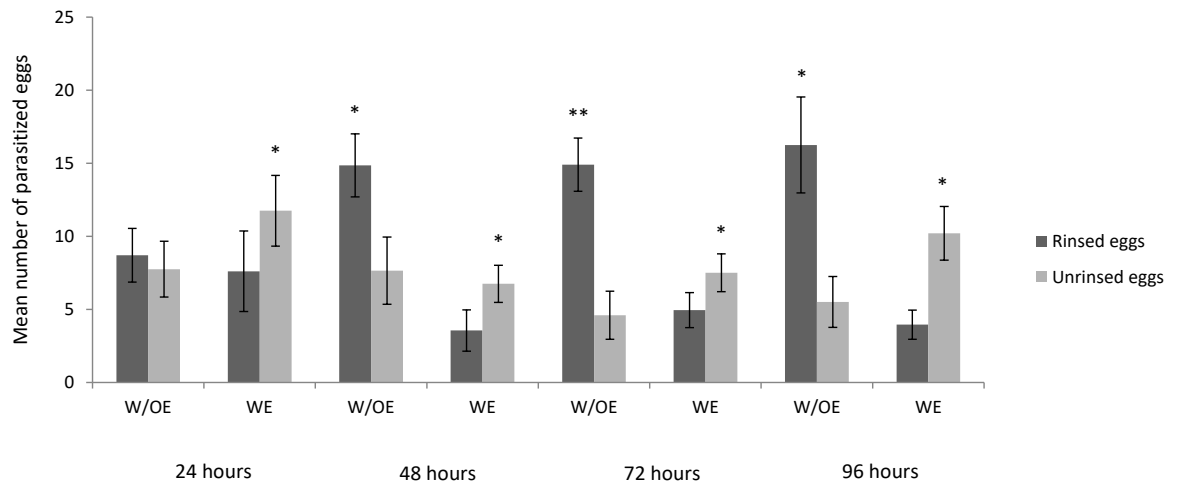


Fig 6



4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste trabalho demonstraram que fêmeas de *T. pretiosum* reconhecem o feromônio sexual sintético do hospedeiro *G. molesta* e que este tem influência no parasitismo de ovos deste herbívoro.

Tendo em vista que esse feromônio é largamente empregado no monitoramento e controle da mariposa-oriental em pomares, através da técnica de disrupção sexual, pode-se supor que este atuaria como um atrativo, aumentando o número de indivíduos na área. Entretanto, esse efeito benéfico não se converteria diretamente em um aumento da taxa de parasitismo, uma vez que foi observado que as fêmeas, quando inexperientes, não reconheceram os voláteis oriundos dos ovos de *G. molesta* e assim, não utilizariam as pistas de curto alcance para detectar e reconhecer as posturas. Esse comportamento pode ser uma das razões para as baixas taxas de parasitismo natural encontradas para *T. pretiosum* em ovos de *G. molesta*, como registrado por Tortosa *et al.* (2014).

Porém, assim como já descrito para outras espécies de tricogramatídeos, fêmeas de *T. pretiosum*, após passarem por uma experiência com este hospedeiro, mostraram capacidade de aprendizagem, passando a reconhecer os odores dos ovos de *G. molesta*, evidenciando uma mudança de comportamento, tanto em relação à quimiotaxia, quanto ao parasitismo. Tendo em vista que as criações massais de *T. pretiosum* utilizam *E. kuehniella* como hospedeiro, a experiência com extratos de ovos da praga-alvo, poderia ocorrer durante o desenvolvimento do parasitoide,

próximo à emergência, ou imediatamente após esta. A manipulação do comportamento dos parasitoides resultaria na liberação de indivíduos familiarizados com voláteis do hospedeiro-alvo e, conseqüentemente, com mais facilidade de buscá-los e reconhece-los em condições de campo.

Este resultado suscita a realização de novos estudos, utilizando ao invés do contato direto com o hospedeiro, extratos de ovos deste. Além disso, poderia ser avaliada não só a aprendizagem na fase adulta, mas especialmente, durante a imatura. Trabalhos desta natureza ainda são escassos e poderiam fornecer importantes e promissoras ferramentas às biofábricas.

4.1 Referências

TORTOSA O. E. *et al.* Relevamiento y evaluación de parasitoides de huevo para el control de *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) y *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, Buenos Aires, v. 73, n. 3-4, p. 119-124, 2014.