

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

PLASTICIDADE DA APRENDIZAGEM DE *Diachasmimorpha longicaudata*  
(HYMENOPTERA: BRACONIDAE) ASSOCIADA A VOLÁTEIS DE FRUTOS E  
ÓLEOS ESSENCIAIS

Willian Campeol Zadra

Biólogo/UCS

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

Porto Alegre (RS), Brasil

Junho de 2017

WILLIAN CAMPEOL ZADRA  
Bacharel em Ciências Biológicas - 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: 27.06.2017  
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 05.09.2017  
Por

JOSUÉ SANT'ANA  
Orientador - PPG Fitotecnia

CHRISTIAN BREDEMEIER  
Coordenador do Programa de  
Pós-Graduação em Fitotecnia

LUIZA RODRIGUES REDAELLI  
Coorientadora - PPG Fitotecnia

ANA PAULA OTT  
PPG Fitotecnia/UFRGS

MARCOS BOTTON  
EMBRAPA Centro Nacional de  
Pesquisa de Uva e Vinho

RAFAEL DA SILVA GONÇALVES  
EMBRAPA Clima Temperado

CARLOS ALBERTO BISSANI  
Diretor da Faculdade de  
Agronomia

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus orientadores Dr. Josué Sant'Ana e Dra. Luiza Rodrigues Redaelli, pelos ensinamentos, incentivo, amizade e oportunidade de realizar este trabalho.

A todos os colegas do Bioecolab e Leeqi, especialmente a Cláudia Ourique, Camila Vargas e Roberta Rohr pela amizade, aprendizagem e momentos de alegria e descontração em laboratório.

As bolsistas Juliana Lima, Caroline Almeida e Thais Souza juntamente com a Dra. Roberta Tognon pelo auxílio na execução dos bioensaios.

Às professoras Dra. Ana Paula Ott e Dra. Simone Mundstock Jahnke pelo auxílio durante o curso.

Ao CNPq pela bolsa de estudos concedida.

A minha namorada Francielli por todo companheirismo, amor e incentivo.

Aos meus pais Neura e Vladimir por todo carinho, amor e confiança.

A todos que de alguma forma estiveram envolvidos com este trabalho permitindo sua conclusão.

**PLASTICIDADE DA APRENDIZAGEM DE *Diachasmimorpha longicaudata*  
(HYMENOPTERA: BRACONIDAE) ASSOCIADA A VOLÁTEIS DE FRUTOS  
E ÓLEOS ESSENCIAIS<sup>1</sup>**

Autor: Willian Campeol Zadra  
Orientador: Josué Sant'Ana  
Coorientadora: Luiza Rodrigues Redaelli

**RESUMO**

*Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) é um dos parasitoides mais utilizados em programas de controle biológico de tefritídeos no mundo. Contudo pouco se sabe sobre a capacidade de aprendizagem e memória deste braconídeo na busca pelo hospedeiro *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). Neste estudo, avaliou-se o tempo de residência (TR) e o parasitismo de fêmeas de *D. longicaudata* oriundas de larvas de *A. fraterculus* criadas em dieta artificial, goiaba ou manga e posteriormente, expostas aos odores destes frutos. Foi observada a aprendizagem de fêmeas de *D. longicaudata* condicionadas na fase adulta aos voláteis de óleo essencial de baunilha (OEB) e de laranja (OEL) e avaliadas, com os mesmos, em testes de quimiotaxia. Também registrou-se a memória deste parasitoide exposto ao OEB. Os insetos utilizados nos experimentos foram mantidos em câmaras climatizadas ( $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  UR) na fotofase de 14 horas (adultos) e na escotofase (imaturos). As respostas quimiotáticas foram registradas com olfatômetro tipo “Y” e o parasitismo (condicionamento na fase imatura), em larvas mantidas em unidades com polpa de goiaba, manga ou sem polpa (controle). Fêmeas do parasitoide criadas em larvas mantidas em dieta artificial foram expostas a OEL ou OEB por 4 horas e a aprendizagem e memória (OEB) avaliadas em olfatômetro, a cada 24 h e por até 72 h. Fêmeas inexperientes de *D. longicaudata* foram mais atraídas para os voláteis de manga e goiaba em relação ao controle. No entanto, as experientes apresentaram TR maior para os odores dos frutos nos quais se desenvolveram. Contudo, quando os odores destes frutos foram oferecidos simultaneamente, o TR foi maior para os voláteis de manga. O percentual de parasitismo de vespas inexperientes foi maior na presença das polpas e, das experientes, nas larvas que continham os odores aos quais haviam sido condicionadas. O TR de fêmeas inexperientes foi significativamente maior para a acetona do que para os odores dos óleos. Fêmeas experientes em OEB responderam mais a este odor em relação ao controle, entretanto, não houve diferença para os experientes em OEL. A memória ao odor de OEB foi mantida por até 48 h. Concluímos que fêmeas experientes reconhecem odores aos quais se desenvolvem e aos óleos aos quais receberam experiência, resultando em preferência a estes quanto ao tempo de residência. Entretanto, reconhecer fatores que interferem na comunicação entre hospedeiro-parasitoide pode possibilitar maior adequação e confiabilidade na utilização de *D. longicaudata* em programas de controle biológico.

---

<sup>1</sup> Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (46 f.) Junho, 2017.

**LEARNING PLASTICITY OF *Diachasmimorpha longicaudata*  
(HYMENOPTERA: BRACONIDAE) ASSOCIATED WITH FRUIT AND  
ESSENTIAL OIL VOLATILES<sup>1</sup>**

Author: Willian Campeol Zadra  
Advisor: Josué Sant'Ana  
Co-advisor: Luiza Rodrigues Redaelli

**ABSTRACT**

*Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) is one of the most used parasitoids in biological control programs of tephritids worldwide. Nevertheless, the knowledge about search strategies related to its learning and memory ability for finding its host [*Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)] is still limited. We observed residence time (RT) and parasitism of *D. longicaudata* females from *A. fraterculus* larvae reared on artificial diet, guava or mango and later exposed to these fruits odors. We registered the learning behavior of female parasitoids conditioned with vanilla essential oil (VEO) and orange essential oil (OEO) and evaluated with the same volatiles in chemotaxis' bioassays. We also recorded the memory of this parasitoid exposed to VEO. Insects were kept under controlled chambers ( $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  RH) with 14-hour photophase (adults) or in the scotophase (immature). The chemotactic responses were recorded with a "Y" olfactometer and the parasitism (immature stage conditioning), in larvae kept in fractions with guava pulp, mango or without pulp (control). Parasitoids females reared on larvae maintained on artificial diet were exposed to VEO or OEO for 4 hours and learning and memory (VEO) evaluated in olfactometer, every 24 until 72 h. Inexperienced females of *D. longicaudata* were more attracted to volatiles of mango and guava when contrasted with control. Nevertheless, the experienced ones presented higher RT to the odors from fruits that they developed. However, when the odors of these fruits were offered simultaneously, the RT was higher for mango volatiles. The percentage of parasitism of inexperienced wasps was higher on the presence of pulps and, to experienced, in the larvae with odors which it had been conditioned. RT of inexperienced females was significantly higher for acetone than for odors of oils. Female with previous contact with VEO responded more to this odor than to control, however, no differences were found in chemotactic responses of females pre-exposed to OEO. VEO odor memory was maintained at least 48 hours. We conclude that experienced females recognized odors to which they developed and the oils to which they have been given experience, resulting in preference as to residence time, resulting in preference to them as to the residence time. However, recognizing interference factors in host-parasitoid communication may allow greater adequacy and reliability to use *D. longicaudata* in biological control programs.

---

<sup>1</sup> Master's dissertation in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (46 p.) June, 2017.

## SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1 Importância, danos e controle de Tephritidae.....	3
2.2 Liberação e bioecologia de <i>D. longicaudata</i> .....	5
2.3 Comunicação química, aprendizagem e seleção de hospedeiros em Braconidae... 6	
2.4 Referências bibliográficas.....	8
3 ARTIGO - Plasticidade da aprendizagem de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> (Hymenoptera: Braconidae) associada a voláteis de frutos e óleos essenciais <sup>a</sup> .....	16
4 CONCLUSÕES .....	39

## RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Tempo de residência (%) de fêmeas de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> oriundas de larvas de <i>Anastrepha fraterculus</i> criadas em dieta artificial (inexperientes) submetidas ao ar (controle) e aos odores de goiaba e manga. Tempo de observação: 5 min. Número de insetos não responsivos entre parênteses. * Diferença significativa pelo teste de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ).....	35
2. Tempo de residência (%) de fêmeas de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> oriundas de larvas de <i>Anastrepha fraterculus</i> criadas em goiaba (experientes em goiaba) (A) ou em manga (experientes em manga) (B), aos contrastes de: ar (controle), odores de pedaços de frutos <i>in natura</i> de goiaba ou manga. Tempo de observação: 5 min. Número de insetos não responsivos entre parênteses. * Diferença significativa pelo teste de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ).....	36
3. Tempo de residência (%) de fêmeas de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> oriundas de larvas de <i>Anastrepha fraterculus</i> criadas em dieta artificial exposta ao ar (inexperientes) (A); experientes ao óleo essencial de baunilha (OEB) (B) ou ao óleo essencial de laranja (OEL) (C), submetidas ao contraste entre ar e os óleos. Tempo de observação: 5 min. Número de insetos não responsivos entre parênteses. * Diferença significativa pelo teste de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ).....	37
4. Tempo de residência (%) de fêmeas de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> que estiveram em contato com óleo essencial de baunilha (OEB) (experientes em baunilha), submetidas aos contrastes de acetona (controle) e odor de baunilha. Tempo decorrido após experiência com OEB: 0, 24, 48 e 72 horas. Tempo de observação: 5 min. Número de insetos não responsivos entre parênteses. *Diferença significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ )	38

## 1 INTRODUÇÃO

A demanda social por ambiente e alimentos livres de agrotóxicos tem imposto à ciência um novo paradigma de exploração dos recursos naturais a disposição da agricultura. O controle de insetos com o uso de inimigos naturais é uma alternativa à utilização dos agroquímicos nocivos à saúde e ao ambiente. Parasitoides de larvas são importantes agentes de controle natural de mosca-das-frutas (Tephritidae), as quais estão dentre as principais pragas da fruticultura mundial. O controle biológico através do uso destes organismos é uma das técnicas que vem assumindo grande importância em programas de Manejo Integrado de Pragas, principalmente em um momento de ascensão da Produção Integrada de Frutos e da Produção Orgânica no Brasil, objetivando uma agricultura mais sustentável.

O uso de micro-himenópteros braconídeos tem sido priorizado no controle de moscas-das-frutas, sendo *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera, Braconidae) o agente mais significativo em programas de liberação na América Latina. Contudo, apesar da utilização deste no controle de tefritídeos, poucos estudos têm sido realizados com o objetivo de avaliar a influência do hospedeiro de origem, da aprendizagem e da memória deste parasitoide sobre o comportamento de busca e parasitismo. O conhecimento dos aspectos que interferem nas relações entre *D. longicaudata*, *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera, Tephritidae) e frutos

hospedeiros podem potencializar o uso destes agentes em programas de controle biológico.

Sendo assim, o trabalho teve como objetivo avaliar o tempo de residência (TR) e o parasitismo de fêmeas de *D. longicaudata* oriundas de larvas de *A. fraterculus* criadas em dieta artificial, goiaba ou manga e posteriormente expostas aos odores destes frutos. Além disso, foi observada a aprendizagem de fêmeas de *D. longicaudata* condicionadas na fase adulta aos voláteis de óleo essencial de baunilha (OEB) e de laranja (OEL) e avaliadas com os mesmos em testes de quimiotaxia. Também se registrou a memória deste parasitoide exposto ao OEB.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Importância, danos e controle de Tephritidae

As moscas-das-frutas (Tephritidae) são insetos de extrema relevância na economia mundial dentro da produção de frutas, prejudicando sua qualidade e comercialização (White & Elson-Harris, 1994; Badii *et al.*, 2015; Ekesi *et al.*, 2016). Estas representam um obstáculo ao livre trânsito no comércio internacional de frutas, ocupando posição de destaque entre as pragas da fruticultura brasileira (Duarte & Malavasi 2000; Malavasi *et al.*, 2000; Bomfim *et al.*, 2007; Fachinello *et al.*, 2008).

No Brasil os gêneros de Tephritidae que apresentam importância econômica pertencem a Trypetinae e os principais são: *Anastrepha* Schiner, *Bactrocera* Macquart e *Ceratitis* Macleay (Zucchi, 2000). No Rio Grande do Sul, duas espécies são as principais causadoras de danos ao cultivo de frutíferas, uma delas é a chamada mosca-das-frutas sul-americana, *A. fraterculus*, a qual é nativa e de maior destaque e a mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Wiedemann), exótica e menos frequente (Kovaleski *et al.*, 2000).

*Anastrepha fraterculus* destaca-se no grupo por ser carpófaga generalista e com ampla dispersão nas Américas (Kovaleski *et al.*, 1999; Kovaleski *et al.*, 2000; Fachinello *et al.*, 2008). Sua importância varia conforme o local de ocorrência, sendo considerada praga primária na Argentina, Uruguai e nos estados do Sul e Sudeste do Brasil (Malavasi *et al.*, 2000, Menezes-Netto *et al.*, 2016).

O ataque destes insetos ocorre em todas as fases de maturação dos frutos, porém torna-se mais frequente no amadurecimento. Os ovos são depositados no interior destes e as larvas alimentam-se da polpa (Vieira Neto, 2002). Fêmeas também podem provocar danos mesmo sem depositar ovos, facilitando a entrada de fungos, como o da podridão parda [*Monilinia fructicola* (Wint) Honey], pelos orifícios feitos com o ovipositor e causando deformação destes, o que acarreta a diminuição do valor comercial (Malavasi, 2001; Aguiar-Menezes *et al.*, 2004; Santos *et al.*, 2015; Ekesi *et al.*, 2016).

Como métodos de controle são utilizadas pulverizações de inseticidas, iscas tóxicas e fumigações pós-colheita (Brito *et al.*, 2009). Inseticidas fosforados são utilizados com frequência, porém possuem elevada toxicidade e carência (Agrofit, 2017). Além de não serem seletivos aos inimigos naturais (Kovaleski & Ribeiro, 2003), deixam resíduos nos frutos e causam desequilíbrio e contaminação ambiental (Carvalho, 2006). Em contraponto, países importadores têm exigido a diminuição dos níveis de resíduos de agrotóxicos nos frutos (Kovaleski & Ribeiro, 2003; Anvisa, 2017), aumentando gradativamente o consumo de frutos oriundos da produção orgânica e integrada (Andrigueto & Kososki, 2005).

O uso de parasitoides como agente natural para o controle de moscas-das-frutas iniciou no Havaí, logo após a introdução de *C. capitata*, através da criação de um programa de pesquisa durante os anos de 1947 e 1951, onde foram liberados inimigos naturais desta e de outras espécies de tefritídeos, como *Dacus cucurbitae* Coquillet e *Dacus dorsalis* Hendel (Funasaki *et al.*, 1988; Carvalho *et al.*, 2000). Durante este mesmo programa, *D. longicaudata* teve desenvolvimento satisfatório sobre os hospedeiros, apresentando taxas de parasitismo próximas a 32% após as liberações (Funasaki *et al.*, 1988).

Braconídeos são considerados os mais eficazes inimigos naturais das moscas-das-frutas (Silva *et al.*, 2007). Endoparasitoides e coinobiontes, ovipositam em ovos ou larvas do hospedeiro e emergem do pupário (Wharton, 1989). Em muitas regiões do mundo, espécies de *Diachasmimorpha* foram utilizadas para o controle biológico de moscas-das-frutas (Wong *et al.*, 1984; Wharton, 1989). Os principais gêneros de braconídeos associados à tefritídeos são *Diachasmimorpha* Viereck, *Psytalia* Walker, *Utetes* Föster e *Opius* Wesmael (Wharton & Yoder, 2007).

## 2.2 Liberação e bioecologia de *D. longicaudata*

*Diachasmimorpha longicaudata* é o agente mais significativo em programas de liberação na América Latina (González *et al.*, 2007), é de origem Indo-Australiano e parasita pelo menos 14 espécies de moscas do gênero *Bactrocera* (Wharton & Gilstrap, 1983). Este parasitoide oviposita no último ínstar larval de tefritídeos e completa seu desenvolvimento no estágio pupal do hospedeiro (Carvalho & Nascimento, 2002).

Após a sua introdução em diversos países, *D. longicaudata* teve registros de parasitismo em *Anastrepha* spp., *C. capitata* e *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Wharton *et al.*, 1981; Wong *et al.*, 1984; Jirón & Mexzon, 1989; Aluja *et al.*, 1990; Eskafi, 1990; Baranowsky *et al.*, 1993; López *et al.*, 1999) apresentando, porcentagem de parasitismo maiores em relação a outros parasitoides (López *et al.*, 1999). Por esta razão, aliado a facilidade de criação, multiplicação e pouca especificidade com o hospedeiro, tem sido utilizado em programas de controle de várias espécies de *Anastrepha* e *C. capitata* (Carvalho & Nascimento, 2002; Vargas *et al.*, 2016; van Lenteren *et al.*, 2017).

Nas Américas, *D. longicaudata* foi liberada na Costa Rica, Nicarágua, Panamá, Argentina, Guatemala, Peru, Trinidad e Tobago e Haváí (Ovruski *et al.*, 2000; Vargas *et al.*, 2016). No Brasil, foi importada dos EUA através da Embrapa Mandioca e

Fruticultura Tropical, no ano de 1994 (Carvalho & Nascimento, 2002). Liberações de *D. longicaudata* foram feitas na Bahia, na região do Submédio do Rio São Francisco (Pernambuco/Bahia), no norte de Minas Gerais, em São Paulo e no Rio Grande do Sul, nas quais foi confirmada a adaptação deste organismo em diferentes frutos hospedeiros e ambientes, sem comprometimento das espécies nativas (Matrangolo *et al.*, 1998; Carvalho & Nascimento, 2002; Alvarenga *et al.*, 2005; Carvalho, 2005, Meirelles *et al.*, 2016).

### **2.3 Comunicação química, aprendizagem e seleção de hospedeiros em Braconidae**

O processo de busca dos parasitoides compreende uma série de estímulos associados ao hospedeiro e seu habitat, envolvendo pistas táteis, visuais e olfativas (Vinson, 1976; Greany *et al.*, 1977; Siqueira & Farias, 2003; Bleeker *et al.*, 2006; Segura *et al.*, 2007, 2016; Benelli & Canale, 2012; Benelli *et al.*, 2014).

A comunicação química é, sem dúvida, a principal ferramenta utilizada por parasitoides na localização de hospedeiros, sítios de oviposição, alimentação e acasalamento (Vet & Dicke 1992; Godfray, 1994; Stuhl *et al.*, 2011; Stuhl *et al.*, 2012; Segura *et al.*, 2012). Dentre os voláteis envolvidos na comunicação interespecífica, destacam-se os cairomônios e sinomônios definidos, respectivamente, como substâncias que quando liberadas por um organismo beneficiam somente o receptor ou tanto o emissor como o receptor do sinal químico (Nordlund & Lewis, 1976).

Os sinomônios constituem-se nos mecanismos de defesa química indireta das plantas e são ativados após a colonização ou dano de um herbívoro, sendo denominados de “HIPVs” (*Herbivore-Induced Plant Volatiles*) (Khan *et al.*, 2008). A herbivoria ativa genes responsáveis pela produção de compostos do metabolismo secundário como

terpenoides, voláteis de folhas verdes, álcoois, aldeídos e compostos aromáticos (Dicke, 2009). Em sistemas tritróficos, voláteis provenientes de plantas atraem parasitoides (Turlings & Ton, 2006; Wyckhuys & Heimpel, 2007; Belda & Riudavets, 2010; Segura *et al.*, 2012, 2016). Os braconídeos também são responsivos a *HIPVs* e utilizam estas pistas na localização de hospedeiros (Turlings *et al.*, 1990, 1991a, 1991b; Mattiacci *et al.*, 1995; Blassioli Moraes *et al.*, 2005; Fatouros *et al.*, 2005; Tentelier *et al.*, 2005; Segura *et al.*, 2012).

No que se refere a *D. longicaudata*, Duan & Messing (2000) e Stuhl *et al.* (2011) registraram que fêmeas detectam *HIPVs* de frutos infestados por tefritídeos. Os últimos autores também observaram a presença de compostos exalados apenas por larvas de Tephritidae que orienta os parasitoides nessa busca. Carrasco *et al.* (2005) e Silva *et al.* (2007) constataram que indivíduos de *D. longicaudata* são atraídos por extratos metanólicos e hexânicos exalados por frutos infestados, sugerindo que a presença da larva no interior do fruto orienta as fêmeas a curtas distâncias. Resultados similares foram encontrados quando voláteis de diferentes variedades de frutos, sadios e com certo grau de apodrecimento, foram comparados (Greany *et al.*, 1977; Cheng *et al.*, 1992; Eben *et al.*, 2000; Carrasco *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2007; Segura *et al.*, 2012). Além disso, foi constatado que mesmo na ausência de larvas hospedeiras, substratos em decomposição (Silva *et al.*, 2007; Segura *et al.*, 2012) e o mofo (Greany *et al.*, 1977) são atrativos ao parasitoide.

Através da aprendizagem, pode-se aumentar a eficiência e proporcionar uma vantagem adaptativa, reduzindo o tempo sobre decisões inatas (Stephens, 1993; Dukas, 2008; Canale *et al.*, 2014). Saleh & Chittka (2006) e Benelli *et al.* (2014) realizaram estudos com braconídeos e constataram mudanças de comportamento através de aprendizagem olfativa. *Biosteres arisanus* (Sonan) (Dukas & Duan, 2000), *D.*

*longicaudata* (Segura *et al.*, 2007) e *Psytalia concolor* (Szépligeti) (Canale *et al.*, 2014) são exemplos das poucas espécies que apresentaram evidências de aprendizagem dentro dessa família.

Pesquisas comportamentais em parasitoides e interpretação das decisões durante o forrageamento podem aumentar sua aplicação no biocontrole e melhorar sua eficácia no campo (Canale *et al.*, 2014).

## 2.4 Referências bibliográficas

AGUIAR-MENEZES, E.L. et al. Moscas-das-frutas. In: CASSINO P.C.R.; RODRIGUES W.C. (Ed.) **Citricultura Fluminense: principais pragas e seus inimigos naturais**. Rio de Janeiro: Seropédica, p. 67-84, 2004.

AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Consulta de praga/doença. Disponível em: <[http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 12 nov. 2016.

ALUJA, M. et al. Fruit infesting tephritids (Diptera: Tephritidae) and associated parasitoids in Chiapas, México. **Entomophaga**, Paris, v.35, n.1, p. 39-48, 1990.

ALVARENGA, C.D. et al. Introdução e recuperação do parasitoide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) em pomares comerciais de goiaba no norte de Minas Gerais. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.34, n.1, p. 133-136, 2005.

ANDRIGUETO, J.R.; KOSOSKI, A.R. **Desenvolvimento e Conquistas da Produção Integrada de Frutas no Brasil**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 10p., 2005.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/alimentos>>. Acesso em: 20 fev. 2017.

BADII, K.B. et al. Review of the pest status, economic impact and management of fruit-infesting flies (Diptera: Tephritidae) in Africa. **African Journal of Agricultural Research**, Tamale, v. 10, p. 1488-1498, 2015.

BARANOWSKY, R. M. et al. Biological control of the Caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 76, p. 245-250, 1993.

BELDA, C.; RIUDAVETS, J. Attraction of the parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Howard) (Hymenoptera: Pteromalidae) to odors from grain and stored product pests in a Y-tube olfactometer. **Biological Control**, Orlando, v. 54, p. 29-34, 2010.

BENELLI G.; CANALE, A. Impact of mass-rearing on the host seeking behaviour and parasitism by the fruit fly parasitoid *Psytalia concolor* (Szépligeti) (Hymenoptera: Braconidae). **Journal of Pest Science**, Itália, v.85, p. 65-74, 2012.

BENELLI, G. et al. Associative learning for danger avoidance nullifies innate positive chemotaxis to host olfactory stimuli in a parasitic wasp. **Naturwissenschaften**, Itália, v.101, p. 753-757, 2014.

BLASSIOLI MORAES, M.C. et al. Induced volatiles in soybean and pigeon pea plants artificially infested with the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros*, and their effect on the egg parasitoid, *Telenomus podisi*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Brasília, v.115, p. 227-237, 2005.

BLEEKER, M.A.K., et al. Differences in memory dynamics between two closely related parasitoid wasp species. **Animal Behaviour**, Wageningen, v.71, p. 1343-1350, 2006.

BOMFIM, D.A., et al. Biodiversidade de moscas-das-frutas (Diptera, Tephritoidea) em matas nativas e pomares domésticos de dois municípios do Estado do Tocantins, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, Dourados, v.51, n.2, p. 217-223, 2007.

BRITO, C.H. de et al. Uso do tratamento térmico no controle de mosca-das-frutas (*Ceratitidis capitata*). **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.3, n.1, p. 29-36, 2009.

CANALE, A., GERI, S., BENELLI, G. Associative learning for host-induced fruit volatiles in *Psytalia concolor* (Hymenoptera: Braconidae), a koinobiont parasitoid of tephritid flies. **Bulletin Entomology Research**, Itália, v.104, p. 774-780, 2014.

CARRASCO, M. et al. Response of the fruit fly parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) to mango fruit volatiles. **Environmental Entomology**, College Park, v.34, p. 576-583, 2005.

CARVALHO, R. da S. Avaliação das liberações inoculativas do parasitoide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) em pomar diversificado em Conceição do Almeida, BA. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.34, n.5, p. 799-805, 2005.

CARVALHO, R. da S. **Circular Técnica 83 - Biocontrole de moscas-das-frutas: histórico, conceitos e estratégias.** Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 5p., 2006.

CARVALHO, R.S. et al. Controle biológico. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado.** Ribeirão Preto: Editora Holos, p. 113-117, 2000.

CARVALHO, R. da S.; NASCIMENTO, A.S. Criação e utilização de *Diachasmimorpha longicaudata* para controle biológico de moscas-das-frutas. In: PARRA, J.R.P. (Ed.) **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores.** São Paulo: Manole, p. 65-179, 2002.

CHENG, C.C. et al. Olfactory responses of *Diachasmimorpha longicaudata* and *Opius incisi* to animal plant host related volatile sources. **Bulletin of the Institute of Zoology, Academia Sinica**, Berlim, v.31, p. 131-135, 1992.

DUAN, J.J.; MESSING, R.H. Effects of host substrate and vibration cues on ovipositor-probing behavior in two larval parasitoids of tephritid fruit flies. **Journal of Insect Behavior**, Kauai, Hawaii, v.13, p. 175-186, 2000.

DUARTE, A.L.; MALAVASI, A. **Tratamentos quarentenários.** In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica do Brasil: Conhecimento básico e aplicado.** Ribeirão Preto: FAPESP-Holos, p.187-192, 2000.

DUKAS, R. Evolutionary biology of insect learning. **Annual Review of Entomology**, Hamilton, Canada, v.53, p. 145-160, 2008.

DUKAS, R.; DUAN, J.J. Potential fitness consequences of associative learning in a parasitoid wasp. **Behavioral Ecology**, Burnaby, Canada, v.11, p. 536-543, 2000.

EBEN, A. et al. Host species and host plant effects on performance of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). **Environmental Entomology**, Orlando, v.29, p. 87-94, 2000.

EKESI, S. et al. Taxonomy, ecology and management of native and exotic fruit fly species in Africa. **Annual Review of Entomology**, Nairobi, Kenya, v.61, p. 219-238, 2016.

ESKAFI, F.M. Parasitism of fruit flies *Ceratitis capitata* and *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) in Guatemala. **Entomophaga**, Paris, v.35, p.355-362, 1990.

FACHINELLO, J.C.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E. **Fruticultura: fundamentos e práticas.** Pelotas, 183p, 2008.

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

FUNASAKI, G.Y. et al. A Review of biological control introductions in Hawaii: 1890 to 1985. **Proceedings of The Hawaiian Entomological Society**, Honolulu, v.28, 56p. 1988.

GODFRAY, H.C.G. **Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology**. New Jersey: Princeton University Press, 461p., 1994.

GONZÁLEZ, P.I. et al. Superparasitism in mass reared *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of fruit flies (Diptera: Tephritidae). **Biological Control**, Orlando, v.40, p. 320-326, 2007.

GREANY, P.D. et al. Chemically mediated host finding by *Biosteres (Opus) longicaudatus*, a parasitoid of tephritid fruit fly larvae. **Journal of Chemical Ecology**, Paris, v.3, p. 189-195, 1977.

JIRÓN, L.F.; MEXZON, R.G. Parasitoid hymenopterans of Costa Rica: Geographical distribution of the species associated with fruit flies (Diptera: Tephritidae). **Entomophaga**, Paris, v.34, p. 53-60, 1989.

KHAN, S.A. et al. *Sabiceae* and *Virectarieae* (Rubiaceae): one or two tribes? New tribal and generic circumscriptions of *Sabiceae* and biogeography of *Sabicea* s.l. **Taxon**, Bayreuth, Germany, v.57, n.1, p. 7-23, 2008.

KOVALESKI, A. et al. Rio Grande do Sul. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.) **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, p.285-290, 2000.

KOVALESKI, A. et al. Movement of *Anastrepha fraterculus* from native breeding sites into apple orchards in Southern Brazil. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v.91, p. 457-463, 1999.

KOVALESKI, A.; RIBEIRO, L. G. Manejo de pragas na produção integrada de maçãs. In: PROTAS, J.F.S.; SANHUEZA, R.M.V. (Eds.) **Circular Técnica 34 - Produção integrada de frutas: o caso da maçã no Brasil**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p.61-76, 2003.

LÓPEZ, M., ALUJA, M. & SIVINSKI, J. Hymenopterous larvalpupal and pupal parasitoids of *Anastrepha* flies (Diptera: Tephritidae) in Mexico. **Biological Control**, Orlando, v.15, n.2, p. 119-129, 1999.

MALAVASI, A. Mosca-da-carambola, *Bactrocera carambolae* (Diptera: Tephritidae). In: VILELA, E.F.; ZUCCHI, R.A.; CANTOR, F. (Eds.) **Histórico e impacto de pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, p. 39-41, 2001.

MALAVASI, A. et al. Biogeografia. In: MALAVASI, A; ZUCCHI, R.A. (Ed.) **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, p. 93-98, 2000.

MATRANGOLO, W.J.R. et al. Parasitoides de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) associados a fruteiras tropicais. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.27, p. 593-603, 1998.

MATTIACCI, L.; DICKE, M.; POSTHUMUS, M.A.  $\beta$ -Glucosidase: an elicitor of herbivore induced plant odor that attracts host-searching parasitic wasps. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Wageningen, v.92, p. 2036-2040, 1995.

MEIRELLES, R.N.; REDAELLI, L.R.; JAHNKE, S.M.; OURIQUE, C.B.; OZORIO, D.V.B. Parasitism of fruit flies (Tephritidae) in field, after the releases of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) in Rio Grande Do Sul. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v.38, n.2. p. 673-683, 2016.

MENEZES-NETTO, A.C. et al. **Combate as moscas-das-frutas em pomares domésticos**. Florianópolis: EAPAGRI (Boletim didático 133), 20p., 2016.

NORDLUND, D.A.; LEWIS, W.J. Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. **Journal of Chemical Ecology**, Tifton, Georgia, v.2, p. 211-220, 1976.

OVRUSKI, S. et al. Hymenopteran parasitoids of fruit-infesting Tephritidae (Diptera) in Latin America and the southern United States: Diversity, distribution, taxonomic status and their use in fruit fly biological control. **Integrated Pest Management.**, Dordrecht, v.5, p. 81-107, 2000.

SALEH, N.; CHITTKA, L. The importance of experience in the interpretation of conspecific chemical signals. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, Londres, v.61, p. 215-220, 2006.

SANTOS, J.P. et al. Suscetibilidade de genótipos de macieira a *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) em diferentes condições de infestação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v.37, n.1, p. 090-095, 2015.

SEGURA, D.F. et al. Innate host habitat preference in the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata*: Functional significance and modifications through learning. **PLoS ONE** Hurlingham, Argentina, v.11, n.3, p. 1-18, 2016.

SEGURA, D.F. et al. Response of the fruit fly parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* to host and host-habitat volatile cues. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Buenos Aires, v.143, p. 164-176, 2012.

SEGURA, D.F. et al. Role of visual information and learning in habitat selection by a generalist parasitoid foraging for concealed hosts. **Animal Behaviour**, Castelar, Argentina, v.74, p. 131-142, 2007.

SILVA, J.W.P.; BENTO, J.M.S.; ZUCCHI, R.A. Olfactory response of three parasitoid species (Hymenoptera: Braconidae) to volatiles of guavas infested or not with fruit fly larvae (Diptera: Tephritidae). **Biological Control**, Orlando, v.41, p.304-311, 2007.

SIQUEIRA, K.M.M., FARIAS, A.M.I. Resposta de fêmeas de *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) aos odores do hospedeiro e da planta-hospedeira em olfatômetro de quatro vias. **Bragantia**, Petrolina, v.62, p. 447-450, 2003.

STEPHENS, D.W. Learning and behavioral ecology: incomplete information and environmental predictability. In: PAPA, R.D.; LEWIS, A.C. (Ed.) **Insect Learning: ecological and evolutionary perspectives**. Chapman and Hall, New York, USA, p. 195-218, 1993.

STUHL, C. et al. A Compound produced by fruigivorous Tephritidae (Diptera)larvae promotes oviposition behavior by the biological control agent *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). **Environmental Entomology**, Gainesville, USA, v.40, p. 727-736, 2011.

STUHL, C. et al. Responses of multiple species of tephritid (Diptera) fruit fly parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Opiinae) to sympatric and exotic fruit volatiles. **Florida Entomologist**, Gainesville, USA, v.95, n.4, p. 1031-1039, 2012.

TENTELIER, C.; WAJNBERG, E.; FAUVERGUE, X. Parasitoids use herbivore-induced information to adapt patch exploitation behaviour. **Ecological Entomology**, Nice, França, v.30, p. 739-744, 2005.

TURLINGS, T.C.J. et al. Isolation and identification of allelochemicals that attract the larval parasitoid, *Cotesia marginiventris* (Cresson), to the microhabitat of one of its hosts. **Journal of Chemical Ecology**, Gainesville, USA, v.17, p. 2235-2251, 1991a.

TURLINGS, T.C.J. et al. Larval damaged plants: source of volatile synomones that guide the parasitoid *Cotesia marginiventris* to the microhabitat of its hosts. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Gainesville, USA, v.58, p. 75-82, 1991b.

TURLINGS, T.C.J.; TON, J. Exploiting scents of distress: the prospect of manipulating herbivore-induced plant odors to enhance the control of agricultural pests. **Current Opinion in Plant Biology**, Neuchâtel, Suíça, v.9, p. 421-427, 2006.

TURLINGS, T.C.J.; TUMLINSON, J.H.; LEWIS, W.J. Exploitation of herbivore-induced plant odors by host seeking parasitic wasps. **Science**, Gainesville, USA, v.250, p. 1251-1253, 1990.

van LENTEREN, J. et al. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **BioControl**, Wageningen, 2017. DOI 10.1007/s10526-017-9801-4.

VARGAS, R.I. et al. Area wild management of fruit flies (Diptera: Tephritidae) in Hawaii. In: EKESI, S.; MOHAMED, S.A.; DE MEYER, M. (Eds). **Fruit fly research and development in Africa - towards a sustainable management strategy to improve horticulture**. Switzerland, Springer, p. 673-694, 2016.

VET, L.E.M.; DICKE, M. Ecology of infochemical used by natural enemies in a tritrophic context. **Annual Review of Entomology**, Wageningen, v.37, p. 141-172, 1992.

VIEIRA NETO, R.D. **Fruteiras potenciais para os tabuleiros costeiros e baixadas litorâneas**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros/Empresa de desenvolvimento Agropecuário de Sergipe - Emdagro, 216p., 2002.

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

WHITE, I.; ELSON-HARRIS, M. **Fruit flies of economic importance: their identification and bionomics**. CAB International, Wallingford, UK. 1994.

WHARTON, R.A. Classical biological control of fruit-infesting Tephritidae. In ROBINSON, A.S.; HOOPER G. (Eds.), **Fruit Flies: Their Biology, Natural Enemies and Control**. Elsevier, Amsterdam, p. 303-314, 1989.

WHARTON, R.A.; GILSTRAP, F.E. Key to and status of opiine braconid (Hymenoptera) parasitoids used in biological control of *Ceratitis* and *Dacus* s. l. (Diptera: Tephritidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v.76, p. 721-742, 1983.

WHARTON, R. A., F.E. GILSTRAP, R.H. RHODE, M. FISCHER-M, & W.G. HART. Hymenopterous egg-pupal and larvalpupal parasitoids of *Ceratitis capitata* spp. (Dip.: Tephritidae) in Costa Rica. **Entomophaga**, Paris, v.26, p. 285-290, 1981.

WHARTON, R.A.; YODER, M.J. **Parasitoids of Fruit-Infesting Tephritidae**. 2007. Disponível em: <<http://hymenoptera.tamu.edu/>>. Acesso em: 10 maio. 2017.

WONG, T.T.Y., N. MOCHIZUKI & J.I. NISHIMOTO. Seasonal abundance of parasitoids of the Mediterranean and Oriental fruit flies (Diptera: Tephritidae) in the Kula area of Maui, Hawaii. **Environmental Entomology**, College Park, v.13, p. 140-145, 1984.

WYCKHUYS, K.A.G.; HEIMPEL, G.E. Response of the soybean aphid parasitoid *Binodoxys communis* to olfactory cues from target and non-target host-plant complexes. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Saint Paul, USA, v.132, p. 149-158, 2007.

ZUCCHI, R.A. Taxonomia. In: MALAVASI, A; ZUCCHI, R.A. (Eds.) **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, p. 13-24, 2000.

### 3 ARTIGO

**Plasticidade da aprendizagem de *Diachasmimorpha longicaudata*  
(Hymenoptera: Braconidae) associada a voláteis de frutos e óleos essenciais<sup>a</sup>**

<sup>a</sup> Artigo elaborado segundo as normas da revista Iheringia

1           **Plasticidade da aprendizagem de *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera:**  
2                           **Braconidae) associada a voláteis de frutos e óleos essenciais**

3  
4  
5  
6  
7                   Willian C. Zadra, Josué Sant'Ana, Luiza R. Redaelli, Roberta Tognon

8  
9           Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal  
10           do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 7712, 91540-000 Porto Alegre, RS, Brasil.

11           (willian.zadra@ufrgs.br; josue.santana@ufrgs.br; luredael@ufrgs.br;  
12           roberta.tognon@ufrgs.br)

13  
14           **ABSTRACT. Learning plasticity of *Diachasmimorpha longicaudata***  
15           **(Hymenoptera: Braconidae) associated with fruit and essential oil volatiles.**  
16           *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) is one of the most  
17           used parasitoids in biological control programs of tephritids worldwide. Nevertheless, the  
18           knowledge about search strategies related to its learning and memory ability for finding its  
19           host [*Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)] is still limited. We  
20           observed residence time (RT) and parasitism of *D. longicaudata* females from *A. fraterculus*  
21           larvae reared on artificial diet, guava or mango and later exposed to these fruits odors. We  
22           registered the learning behavior of female parasitoids conditioned with vanilla essential oil  
23           (VEO) and orange essential oil (OEO) and evaluated with the same volatiles in chemotaxis'  
24           bioassays. We also recorded the memory of this parasitoid exposed to VEO. Insects were kept  
25           under controlled chambers ( $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  RH) with 14-hour photophase (adults) or in  
26           the schotophase (immature). The chemotactic responses were recorded with a "Y"  
27           olfactometer and the parasitism (immature stage conditioning), in larvae kept in fractions with  
28           guava pulp, mango or without pulp (control). Parasitoids females reared on larvae maintained  
29           on artificial diet were exposed to VEO or OEO for 4 hours and learning and memory (VEO)  
30           evaluated in olfactometer, every 24 until 72 h. Inexperienced females of *D. longicaudata* were  
31           more attracted to volatiles of mango and guava when contrasted with control. Nevertheless,  
32           the experienced ones presented higher RT to the odors from fruits that they developed.  
33           However, when the odors of these fruits were offered simultaneously, the RT was higher for  
34           mango volatiles. The percentage of parasitism of inexperienced wasps was higher on the  
35           presence of pulps and, to experienced, in the larvae with odors which it had been conditioned.  
36           RT of inexperienced females was significantly higher for acetone than for odors of oils.

37 Female with previous contact with VEO responded more to this odor than to control,  
 38 however, no differences were found in chemotactic responses of females pre-exposed to  
 39 OEO. VEO odor memory was maintained at least 48 hours. We conclude that experienced  
 40 females recognized odors to which they developed and the oils to which they have been given  
 41 experience, resulting in preference as to residence time, resulting in preference to them as to  
 42 the residence time. However, recognizing interference factors in host-parasitoid  
 43 communication may allow greater adequacy and reliability to use *D. longicaudata* in  
 44 biological control programs.

45

46 **KEYWORDS:** chemotaxy, parasitism, fruit fly, memory.

47

48 **RESUMO.** *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) é um  
 49 dos parasitoides mais utilizados em programas de controle biológico de tefritídeos no mundo.  
 50 Contudo pouco se sabe sobre a capacidade de aprendizagem e memória deste braconídeo na  
 51 busca pelo hospedeiro *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). Neste  
 52 estudo, avaliou-se o tempo de residência (TR) e o parasitismo de fêmeas de *D. longicaudata*  
 53 oriundas de larvas de *A. fraterculus* criadas em dieta artificial, goiaba ou em manga e  
 54 posteriormente, expostas aos odores destes frutos. Foi observada a aprendizagem de fêmeas  
 55 de *D. longicaudata* condicionadas na fase adulta aos voláteis de óleo essencial de baunilha  
 56 (OEB) e de laranja (OEL) e avaliadas, com os mesmos, em testes de quimiotaxia. Também  
 57 registrou-se a memória deste parasitoide exposto ao OEB. Os insetos utilizados nos  
 58 experimentos foram mantidos em câmaras climatizadas ( $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  UR) na fotofase  
 59 de 14 horas (adultos) e na escotofase (imaturos). As respostas quimiotáxicas foram registradas  
 60 com olfatômetro tipo “Y” e o parasitismo (condicionamento na fase imatura), em larvas  
 61 mantidas em unidades com polpa de goiaba, manga ou sem polpa (controle). Fêmeas do  
 62 parasitoide criadas em larvas mantidas em dieta artificial foram expostas a OEL ou OEB por 4  
 63 horas e a aprendizagem e memória (OEB) avaliadas em olfatômetro, a cada 24 h e por até 72  
 64 h. Fêmeas inexperientes de *D. longicaudata* foram mais atraídas para os voláteis de manga e  
 65 goiaba em relação ao controle. No entanto, as experientes apresentaram TR maior para os  
 66 odores dos frutos nos quais se desenvolveram. Contudo, quando os odores destes frutos foram  
 67 oferecidos simultaneamente, o TR foi maior para os voláteis de manga. O percentual de  
 68 parasitismo de vespas inexperientes foi maior na presença das polpas e, das experientes, nas  
 69 larvas que continham os odores aos quais haviam sido condicionadas. O TR de fêmeas  
 70 inexperientes foi significativamente maior para a acetona do que para os odores dos óleos.  
 71 Fêmeas experientes em OEB responderam mais a este odor em relação ao controle, entretanto,  
 72 não houve diferença para os experientes em OEL. A memória ao odor de OEB foi mantida  
 73 por até 48 h. Concluimos que fêmeas experientes reconhecem odores aos quais se  
 74 desenvolvem e aos óleos aos quais receberam experiência, resultando em preferência a estes  
 75 quanto ao tempo de residência. Entretanto, reconhecer fatores que interferem na comunicação  
 76 entre hospedeiro-parasitoide pode possibilitar maior adequação e confiabilidade na utilização  
 77 de *D. longicaudata* em programas de controle biológico.

78

79 **PALAVRAS-CHAVE:** quimiotaxia, parasitismo, mosca-das-frutas, memória

80

81           Em sistemas tritróficos, voláteis provenientes de plantas atraem parasitoides  
82 (TURLINGS & TON, 2006; WYCKHUYS & HEIMPEL, 2007; BELDA & RIUDAVETS, 2010), os  
83 quais utilizam estas pistas na localização de hospedeiros (MATTIACCI *et al.*, 1995; BLASSIOLI  
84 MORAES *et al.*, 2005; FATOUROS *et al.*, 2005; TENTELIER *et al.*, 2005). A forma como estes  
85 insetos interpretam a informação pode ser um comportamento inato (VET *et al.*, 1995;  
86 VINSON, 1998) ou modificado (experiência), podendo resultar em uma aprendizagem  
87 (MATTHEWS & MATTHEWS, 2010). A aprendizagem olfativa pode ser oriunda de pistas  
88 aprendidas no estágio imaturo (condicionamento pré-imaginal) e manifestadas no adulto  
89 (CORBET, 1985; TURLINGS *et al.*, 1993) ou mesmo obtidas durante a fase adulta (TAKASU &  
90 LEWIS, 2003). RAINS *et al.* (2006) observaram que o estímulo olfativo ao odor de 3-octanona,  
91 recebido na fase larval pode influenciar o comportamento quimiotático de adultos de  
92 *Microplitis croceipes* (Cresson, 1982) (Hymenoptera: Braconidae), aumentando a atratividade  
93 deste inseto ao referido composto. TAKASU & LEWIS (2003) também haviam previamente  
94 registrado resultados similares em adultos desta mesma espécie. Segundo os autores, fêmeas  
95 alimentadas com água e sacarose, na presença de um odor (baunilha, cariofileno ou laranja),  
96 foram mais responsivas aos voláteis aos quais haviam sido condicionadas. Esta aprendizagem  
97 pode aumentar a eficiência e proporcionar uma vantagem adaptativa, reduzindo o tempo sobre  
98 decisões inatas (STEPHENS, 1993; DUKAS, 2008; CANALE *et al.*, 2014).

99

100           *Diachasmimorpha longicaudata* tem sido o agente mais utilizado em programas de  
101 controle de moscas-das-frutas (GONZÁLEZ *et al.*, 2007; LÓPEZ *et al.*, 2009; MEIRELLES *et al.*,  
102 2016; VARGAS *et al.*, 2016). Este inseto é um endoparasitoide coinobionte que oviposita no  
103 último ínstar larval de tefritídeos e completa o desenvolvimento no estágio pupal do  
104 hospedeiro (CARVALHO & NASCIMENTO, 2002). Fêmeas de *D. longicaudata* detectam os  
voláteis de frutos infestados por tefritídeos (DUAN & MESSING, 2000; CARRASCO *et al.*, 2005;

105 SILVA *et al.*, 2007; STUHL *et al.*, 2011). Além disso, foi constatado que mesmo na ausência  
106 de larvas de moscas-das-frutas, substratos em decomposição (SILVA *et al.*, 2007; SEGURA *et*  
107 *al.*, 2012) e a presença de fungos (GREANY *et al.*, 1977) são atrativos ao parasitoide. SALEH &  
108 CHITTKA (2006) e BENELLI *et al.* (2014) realizaram estudos com braconídeos e constataram  
109 mudanças de comportamento através de aprendizagem olfativa. Dentre os braconídeos,  
110 *Biosteres arisanus* (Sonan, 1932), *Psytalia concolor* (Szépligeti, 1910) e *D. longicaudata* são  
111 algumas das espécies que apresentaram evidências de aprendizagem (DUKAS & DUAN, 2000;  
112 CANALE *et al.*, 2014; SEGURA *et al.*, 2007, 2016). Neste estudo, avaliou-se o tempo de  
113 residência (TR) e o parasitismo de fêmeas de *D. longicaudata* oriundas de larvas de *A.*  
114 *fraterculus* criadas em dieta artificial, goiaba ou manga e posteriormente expostas aos odores  
115 destes frutos. Foi observada a aprendizagem de fêmeas de *D. longicaudata* condicionadas na  
116 fase adulta aos voláteis de óleo essencial de baunilha (OEB) e de laranja (OEL) e avaliadas  
117 com os mesmos em testes de quimiotaxia. Também foi registrado a memória deste parasitoide  
118 exposto ao OEB.

119

120

121

## MATERIAL E MÉTODOS

122

123 Indivíduos de *A. fraterculus* e *D. longicaudata* foram criados no Laboratório de  
124 Biologia, Ecologia e Controle Biológico de Insetos, do Departamento de Fitossanidade da  
125 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em câmaras climatizadas ( $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$   
126 UR) em duas condições: fotofase de 14 horas (adultos) e escotofase (imaturos).

127

128

129

**Criação de *A. fraterculus* em dieta artificial** - Adultos foram acondicionados em  
gaiolas de madeira (45 × 30 × 30 cm), com abertura frontal tipo manga e laterais  
confeccionadas de tecido voile, onde recebiam água destilada e alimento, constituído de

130 açúcar cristal, levedo de cerveja, gérmen de trigo, extrato de soja (3:1:1:1) e complexo  
131 vitamínico (Centrum Select®), na proporção de um comprimido macerado para cada 250 g de  
132 dieta. Os ingredientes foram misturados e a dieta disponibilizada em placas de Petri, trocadas  
133 uma vez por semana. Após oito dias de idade, adultos de *A. fraterculus* recebiam substratos de  
134 oviposição que ficavam sobre as gaiolas conforme descrito por MEIRELLES *et al.* (2016).  
135 Diariamente os ovos eram retirados e colocados sobre voile azul (3 cm<sup>2</sup>), em placas de Petri  
136 (9 × 2 cm), contendo papel filtro umedecido no fundo, acondicionadas durante 48 horas em  
137 câmara climatizada. Após este período, colocava-se o papel filtro e o tecido com ovos,  
138 voltados para cima, sobre a dieta de larvas, composta de cenoura crua descascada (125 g),  
139 cenoura cozida descascada (125 g), açúcar cristal (125 g), levedo de cerveja (25 g), água (175  
140 mL), nipagin (1,1 g), ácido cítrico (3,6 g), benzoato de sódio (1,1 g) e sulfato de  
141 estreptomicina (0,5 g). A dieta era acondicionada em bandejas de poliestireno expandido (18  
142 × 24 cm), tampadas, enroladas com jornal e mantidas por sete dias. No sétimo dia, os pacotes  
143 eram abertos e as bandejas colocadas em recipientes plásticos (45 × 30 cm), sobre uma  
144 camada de 1 cm de areia esterilizada, cobertas com voile, onde permaneciam por sete dias.  
145 Decorrido este período, descartava-se a areia e a dieta. Os pupários obtidos eram colocados  
146 em potes plásticos (100 mL) com abertura na tampa (2 × 2 cm) protegida com voile, contendo  
147 areia esterilizada no fundo, permanecendo por cerca de 10 dias.

148 **Criação de *A. fraterculus* em frutos** - Os substratos utilizados para o desenvolvimento  
149 das larvas foram frutos de goiaba vermelha [*Psidium guajava* L. (Myrtales: Mirtaceae)], var.  
150 Paluma e manga [*Mangifera indica* L. (Sapindales: Anacardiaceae)], var. Tommy. Estes  
151 frutos eram higienizados com água (400 mL) e hipoclorito de sódio (2%) por  
152 aproximadamente 30 minutos, e expostos a adultos de *A. fraterculus*, em idade reprodutiva,  
153 por dois dias, em gaiolas de criação. Após, os frutos eram acondicionados em potes plásticos  
154 (500 mL), cobertos com tecido voile, contendo areia esterilizada no fundo, onde permaneciam

155 por aproximadamente 10 dias, tempo necessário para que as larvas atingissem o 3° ínstar.  
156 Estas foram retiradas dos frutos e expostas ao parasitismo.

157 **Criação de *D. longicaudata*** - Adultos foram mantidos em gaiolas de madeira (45 × 60  
158 × 20 cm), coberta com voile nas laterais, recebendo água disponibilizada em potes plásticos  
159 (100 mL) com tampa perfurada, contendo tiras de tecido Spontex Resist® e dieta, de  
160 consistência gelatinosa, disposta em placas de Petri, trocada semanalmente. A dieta era  
161 composta por água (120 mL), mel (120 mL), ágar (0,8 g), ácido ascórbico (0,05 g) e nipagin  
162 (0,005 g). Larvas de terceiro ínstar de *A. fraterculus* (aproximadamente dez dias de idade),  
163 oriundas de dieta artificial, goiaba ou manga, eram expostas por 90 minutos, em unidade de  
164 parasitismo, confeccionada com tampa de caixa Gerbox (11 × 11 × 3,5 cm), com recorte  
165 central circular de aproximadamente 10 cm de diâmetro, coberto com tecido voile. As larvas  
166 eram colocadas sobre este tecido, pela parte de dentro da tampa e o fundo da caixa Gerbox  
167 colocado sobre as larvas, servindo como base. A tampa e a caixa eram fixadas uma à outra  
168 com o auxílio de atílios de borracha. Após esse período, as larvas eram colocadas em Gerbox  
169 com areia, contendo na tampa uma abertura (9 × 9 cm), protegida com voile, onde  
170 permaneciam até a emergência dos parasitoides.

171 **Olfatometria** - Os bioensaios foram conduzidos em sala climatizada durante a fotofase,  
172 sob luz fluorescente (60W, 980 lux). Um fluxo de ar, previamente filtrado com carvão ativo,  
173 foi conduzido para dentro do olfatômetro com o auxílio de uma bomba de ar conectada a um  
174 fluxímetro e um umidificador, a uma taxa de 0,9 L/min. Este foi invertido no sentido  
175 horizontal (rotação de 180°) a cada cinco repetições e, a cada dez, foi lavado com sabão  
176 neutro, álcool etílico e água destilada, sendo posteriormente seco em estufa de esterilização a  
177 150 °C. Após este procedimento os tratamentos foram renovados. Antes do início dos  
178 experimentos as fêmeas foram individualizadas, aclimatadas por 30 minutos na sala de testes  
179 e inseridas individualmente na arena. Foi registrado o tempo de residência (TR), em

180 segundos, dos parasitoides em cada braço, por até 5 min. Foram considerados não responsivos  
181 os insetos que não se movimentaram ou que não alcançaram nenhum dos dois braços do  
182 olfatômetro durante os 5 min. Realizaram-se 30 repetições **por contraste**. Os tempos de  
183 residência, em todos os bioensaios de olfatometria, foram testados quanto à normalidade e  
184 submetidos à Kruskal-Wallis, com 95% de confiabilidade, utilizando o software Bioestat  
185 5.3<sup>®</sup>.

186 **Olfatometria de insetos condicionados na fase imatura** - Os testes foram realizados  
187 em olfatômetro tipo “Y” de vidro, com 6,5 cm de diâmetro, 21 cm de arena inicial e 10 cm em  
188 cada braço, onde foi acoplada uma câmara de vidro (29,5 cm altura e 12,5 cm diâmetro), na  
189 qual foi colocado um pedaço de fruto sadio (35 g) de goiaba ou manga. Foi avaliada a  
190 quimiotaxia de fêmeas de *D. longicaudata* com cinco dias de idade, oriundas de larvas  
191 provenientes de dieta artificial, goiaba ou manga. Foram contrastados os odores dos frutos  
192 com ar e entre eles.

193 **Olfatometria de insetos condicionados na fase adulta** - Os testes foram realizados em  
194 olfatômetro tipo “Y” de vidro (6,5 cm de diâmetro, 21 cm de arena inicial e 10 cm em cada  
195 braço). Fêmeas criadas em larvas mantidas em dieta artificial foram acondicionadas em potes  
196 plásticos (100 mL) contendo um papel filtro (4 × 4 cm) (Whatman, 80 g/m<sup>2</sup>) impregnado com  
197 40 µL de óleo essencial de laranja (OEL) Bioessência<sup>®</sup> ou óleo essencial de baunilha (OEB)  
198 Dr. Oetker<sup>®</sup>, nas concentrações de 1 mL/L (1%) e 30 mL/L (30%) em solvente (acetona),  
199 respectivamente, durante 4 horas. Estes indivíduos foram considerados experientes em OEL  
200 ou OEB e utilizados nos bioensaios logo após o condicionamento. Nos testes de memória  
201 utilizaram-se somente os insetos expostos ao OEB os quais foram submetidos a este odor após  
202 0, 24, 48 e 72 horas da exposição. Adultos considerados inexperientes foram acondicionados  
203 na presença de um papel previamente impregnado com 40 µL de acetona pelo mesmo período  
204 de tempo. As respostas quimiotáxicas ao condicionamento com os óleos foram avaliadas

205 inserindo na extremidade de um dos braços do olfatômetro um papel filtro (4 × 15 cm)  
206 (Whatman, 80 g/m<sup>2</sup>), dobrado em forma de gaita, contendo 10 µL de cada extrato (OEL ou  
207 OEB) e, na outra, o mesmo volume do solvente acetona. Todos os papeis filtro foram  
208 mantidos em câmara de fluxo por 5 min, para evaporação da acetona, antes do uso. Foram  
209 contrastados os odores dos óleos com o solvente e entre eles.

210 **Parasitismo** - Quatro fêmeas e dois machos de *D. longicaudata* (5 a 10 dias de idade),  
211 oriundos de larvas mantidas em dieta artificial, goiaba ou manga foram expostos, em gaiolas  
212 de madeira (45 × 30 × 30 cm), a escolha entre duas unidades de parasitismo, cada uma com  
213 20 larvas de *A. fraterculus* de 3º ínstar, oriundas de dieta artificial. Foram contrastadas  
214 unidades pinceladas, sobre o tecido voile, com polpa *in natura* de manga ou goiaba (2 g),  
215 entre elas, bem como, com unidades sem polpa. O período de exposição foi de 90 minutos,  
216 após as larvas foram isoladas em caixas Gerbox® com areia e mantidas em câmara  
217 climatizada até a emergência dos parasitoides ou das moscas. Os pupários nos quais não foi  
218 observada a emergência, foram dissecados e contabilizados. Realizaram-se 10  
219 repetições/tratamento. O percentual de larvas parasitadas e de parasitoides emergidos foi  
220 analisado por Qui-quadrado, com 95% de confiabilidade, utilizando o software Bioestat 5.3®.

221

222

## RESULTADOS

223

224 **Olfatometria de insetos condicionados na fase imatura** - O tempo de residência (TR)  
225 de fêmeas inexperientes (criadas em dieta artificial) de *D. longicaudata* foi significativamente  
226 maior tanto para os odores de goiaba (H = 6,33; gl = 1; P = 0,0119) quanto para os de manga  
227 (H = 7,6; gl = 1; P = 0,0058) em relação ao controle (ar). Quando os insetos foram submetidos  
228 ao contraste entre os voláteis de ambos os frutos, o TR das fêmeas foi maior para os voláteis  
229 de manga (H = 10,54; gl = 1; P = 0,0012) (Figura 1). Fêmeas oriundas de larvas que se

230 desenvolveram em goiaba e manga apresentaram tempos de residência maiores para insetos  
231 provenientes de cada um destes frutos, quando comparados ao controle ( $H = 15,68$ ;  $gl = 1$ ;  $P$   
232  $< 0,0001$  e  $H = 28,81$ ;  $gl = 1$ ;  $P < 0,0001$ , respectivamente). No entanto, independentemente  
233 da origem dos parasitoides, não foram observadas diferenças significativas quando os mesmos  
234 foram submetidos ao contraste entre os odores dos dois frutos (Figura 2).

235 (Figura 1)

236 (Figura 2)

237 **Olfatometria de insetos condicionados na fase adulta** - O TR de fêmeas  
238 inexperientes de *D. longicaudata* foi significativamente maior para a acetona do que para os  
239 odores dos óleos de laranja (OEL) ( $H = 9,98$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0,0016$ ) e baunilha (OEB) ( $H = 6,65$ ;  
240  $gl = 1$ ;  $P = 0,0099$ ) (Figura 3A). Fêmeas experientes em OEB responderam mais ao odor deste  
241 em relação ao controle ( $H = 7,16$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0,0074$ ) (Figura 3B), no entanto não houve  
242 diferença para os experientes em OEL ( $P > 0,05$ ) (Figura 3C). Fêmeas de *D. longicaudata*  
243 expostas ao OEB mantiveram memória a este odor por até 48 horas. O comportamento inato  
244 foi novamente evidenciado em 72 horas ( $H = 10,69$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0,0045$ ) (Figura 4).

245 (Figura 3)

246 (Figura 4)

247 **Parasitismo** - Fêmeas de *D. longicaudata* provenientes de larvas de *A. fraterculus*  
248 criadas em dieta artificial (inexperientes) parasitaram um percentual maior de larvas na  
249 presença da polpa de goiaba (34%) ( $\chi^2 = 4,94$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0,0364$ ) e manga (25%) ( $\chi^2 = 8,1$ ;  $gl$   
250  $= 1$ ;  $P = 0,0072$ ), quando ambos os tratamentos foram contrastados com o controle (larvas  
251 sem polpa). Larvas com a presença da polpa de goiaba foram mais parasitadas (21%) em  
252 relação as que continham manga (13%) ( $\chi^2 = 7,52$ ;  $gl = 1$ ;  $P = 0,0101$ ), em exposição  
253 simultânea. O sucesso de parasitismo diferiu apenas na presença de polpa de goiaba (23%) em  
254 contraste com controle (8,5%) ( $\chi^2 = 26,69$ ;  $gl = 1$ ;  $P < 0,0001$ ). Parasitoides provenientes de

255 larvas criadas em goiaba (experientes em goiaba) parasitaram mais larvas na presença deste  
256 odor (49%) ( $\chi^2 = 36,38$ ; gl = 1;  $P < 0,0001$ ), além disso, o sucesso de parasitismo também foi  
257 maior neste tratamento (28%), em comparação com o controle (14,5%) ( $\chi^2 = 17,15$ ; gl = 1;  $P <$   
258  $0,0001$ ). Não foram observadas diferenças no sucesso de parasitismo ( $\chi^2 = 0,33$ ; gl = 1;  $P >$   
259  $0,7728$ ). De forma semelhante, fêmeas oriundas de larvas criadas em manga (experientes em  
260 manga) parasitaram mais insetos na presença da polpa deste fruto (32%), diferindo do  
261 controle (15%) ( $\chi^2 = 12,29$ ; gl = 1;  $P < 0,001$ ), entretanto não houve diferença no sucesso de  
262 parasitismo ( $\chi^2 = 3,12$ ; gl = 1;  $P = 0,1116$ ). Quando foram contrastadas as respostas frente aos  
263 odores de manga e goiaba, o parasitismo (38,5%) e o sucesso (33%) foram superiores em  
264 manga ( $\chi^2 = 31,5$ ; gl = 1;  $P < 0,0001$ ;  $\chi^2 = 46,55$ ; gl = 1;  $P < 0,0001$  respectivamente).

265

266

## DISCUSSÃO

267

268 Os resultados obtidos a partir dos testes de olfatométria e parasitismo mostraram que  
269 as fêmeas inexperientes de *D. longicaudata* são atraídas por voláteis oriundos de manga e  
270 goiaba, corroborando o observado por EBEN *et al.* (2000), os quais constataram que  
271 compostos liberados por frutos sadios e infestados de plantas hospedeiras atuam nos  
272 mecanismos de localização e busca deste parasitoide. Ainda em relação à atratividade,  
273 CARRASCO *et al.* (2005) verificaram que *D. longicaudata* foi mais responsiva a odores de  
274 manga infestada por *Anastrepha* spp. ou com danos mecânicos do que aos de frutos sadios.

275

276

277

278

279

As respostas positivas de fêmeas inexperientes aos odores de manga e goiaba estão provavelmente associadas à plasticidade deste parasitoide em relação à percepção de voláteis de diferentes frutos, sendo esta uma estratégia evolutiva para atraí-los a habitats onde encontram-se os sítios de oviposição. Este comportamento provavelmente não está relacionado à presença de *A. fraterculus*, pois no centro de origem e nas regiões onde foi

280 introduzida, *D. longicaudata* foi capaz de parasitar espécies de moscas de diferentes gêneros e  
281 hospedeiros (MONTROYA *et al.*, 2000).

282 Além de perceber voláteis oriundos de diferentes frutos *D. longicaudata* foi capaz de  
283 discriminá-los em exposições simultâneas, tanto em testes de parasitismo como nos de  
284 quimiotaxia. LEYVA *et al.* (1991) já haviam observado que fêmeas de *D. longicaudata* foram  
285 significativamente mais atraídas a voláteis de citros em comparação com os de pêssego e  
286 manga. Um padrão hierárquico de preferência aos voláteis dos frutos figo, pêssego, laranja e  
287 maçã, respectivamente, foi constatado por SEGURA *et al.* (2016) em fêmeas desta espécie. No  
288 nosso estudo observou-se também um padrão no comportamento quimiotáxico com fêmeas  
289 inexperientes preferindo odores de manga. No entanto, o padrão pode variar em função dos  
290 tipos de receptores envolvidos, olfativos (antenas) e gustativos (aparelho bucal e ovipositor)  
291 (ATKINS, 1980), uma vez que no parasitismo a maior preferência observada no nosso estudo  
292 foi para goiaba.

293 Apesar dos adultos apresentarem um comportamento inato em relação aos odores de  
294 frutos, verificou-se que é possível manipular o mesmo, ou seja, parasitoides que se  
295 desenvolveram em larvas oriundas de manga e/ou goiaba modificaram seu direcionamento  
296 quimiotáxico e os percentuais de parasitismo em comparação as inexperientes, evidenciando  
297 um processo de aprendizagem. A experiência desempenha um papel importante na biologia  
298 dos insetos, uma vez que a aquisição de aprendizagem na fase larval pode permitir que, na  
299 idade adulta, os indivíduos consigam localizar seus hospedeiros com maior facilidade. De  
300 acordo com CORBET (1985), as informações obtidas na fase imatura podem ser transmitidas  
301 ao adulto através da Hipótese do Legado Químico, o qual prediz que compostos químicos  
302 presentes no ambiente de desenvolvimento larval estariam presentes na hemolinfa ou na  
303 camada externa do hospedeiro. Esta hipótese foi posteriormente confirmada por estudos  
304 realizados com parasitoides (STORECK *et al.*, 2000). Os resultados do nosso trabalho

305 evidenciaram que houve modificação na percepção química de *D. longicaudata*,  
306 provavelmente, relacionada a este legado. De forma semelhante, SMITH & CORNEL (1979)  
307 observaram que houve mudança no comportamento de busca e, conseqüentemente,  
308 aprendizado aos odores do hospedeiro, potencializando o encontro das fêmeas de *Nasonia*  
309 *vitripennis* (Walker, 1836) (Hym., Pteromalidae), assim como o observado em *D.*  
310 *longicaudata*. VILLAGRA *et al.* (2007) já haviam relatado que experiências adquiridas em  
311 fases larvais afetam as respostas em adultos de *Aphidius ervi* Haliday, 1834 (Hym.,  
312 Braconidae) para o encontro de seu hospedeiro. As modificações na percepção após a  
313 experiência podem estar associadas à síntese de proteínas a qual é mediada por “Odor binding  
314 proteins” (*OBPs*), proteínas presentes nas antenas que desempenham papel importante na  
315 percepção e discriminação de diferentes odores (ZHOU, 2010; ZHANG *et al.*, 2011). Quando o  
316 inseto se desenvolve em dieta não há contato com odores de frutos, no entanto, quando criado  
317 nestes, pode haver formação de *OBPs* capazes de detectar diferentes voláteis. A ausência de  
318 diferenças nas respostas quimiotáticas de fêmeas experientes em ambos os frutos, está  
319 possivelmente relacionada ao fato de que manga e goiaba compartilham vários compostos  
320 (PINO *et al.*, 2005; CHEN *et al.*, 2006), sendo assim o inseto passou a identificá-los e não mais  
321 distingui-los, quando expostos de forma conjunta.

322 A aprendizagem em *D. longicaudata* também pode ocorrer na fase adulta. Este fato  
323 está relacionado ao princípio de Hopkins, o qual enfatiza a importância da experiência na fase  
324 adulta na escolha do hospedeiro (BARRON, 2001). Em nossos resultados foi possível observar  
325 que a exposição de fêmeas de *D. longicaudata* a odores não relacionados à história de vida  
326 deste inseto, como os óleos essenciais de baunilha e laranja, induziu uma resposta positiva de  
327 busca ao OEB e indiferente (não significativa) ao OEL, mesmo sendo este último repelente  
328 para muitos insetos (REGNAULT-ROGER *et al.*, 2012). Desta forma, o parasitoide  
329 provavelmente passou a relacionar estes odores à presença do hospedeiro. TAKASU & LEWIS

330 (1996) observaram que fêmeas de *M. croceipes* que permaneceram por 30 segundos na  
331 presença de um odor (baunilha ou laranja) com alimento, responderam mais a estes odores, do  
332 que as sem condicionamento. De forma semelhante VARGAS *et al.* (2017) verificaram que  
333 fêmeas de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hym., Trichogrammatidae) experientes ao  
334 extrato de ovos de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lep., Noctuidae) foram mais  
335 atraídas a este odor do que ao hexano, enquanto as inexperientes responderam de forma igual  
336 aos dois tratamentos. Outras formas de aprendizado, como a visual, foram observadas por  
337 SEGURA *et al* (2007), onde fêmeas de *D. longicaudata* treinadas em unidades de oviposição de  
338 cores diferentes (amarelo, vermelho e verde), contendo larvas do hospedeiro, visitaram e  
339 permaneceram por mais tempo nas unidades de cores em que haviam sido condicionadas.  
340 Com esta mesma espécie, em ensaios de olfatosmetria, foi observado que a resposta de fêmeas  
341 foi maior aos voláteis dos frutos aos quais tiveram experiência (SEGURA *et al.*, 2016).

342 Nós constatamos que fêmeas de *D. longicaudata* foram capazes de reter o aprendizado  
343 ao odor de OEB por até 48 horas. A persistência da aprendizagem, ou seja, a memória em  
344 insetos parasitoides já foi descrita em outras espécies. WARDLE & BORDEN (1985) também  
345 observaram a memória em adultos de *Exeristes roborator* (Fabricius, 1793) (Hym.,  
346 Ichneumonidae) condicionados na presença do hospedeiro [*Galleria mellonella* (L., 1758)  
347 (Lep., Pyralidae)]. Os autores constataram que logo após a emergência, os parasitoides  
348 apresentaram maior capacidade de oviposição em comparação com adultos condicionados  
349 após o segundo até 10 dias da emergência.

350 A experiência pode ser uma importante ferramenta para aprimorar a performance de  
351 parasitoides a serem liberados em programas de controle biológico. GIUNTI *et al.* (2015)  
352 ressaltaram que incluir treinamento associativo com estímulos visuais e olfativos em  
353 protocolos de criação em massa pode aumentar a eficiência de parasitoides. Os resultados  
354 obtidos indicam que é possível fazer com que *D. longicaudata* aprenda a reconhecer e

355 memorizar voláteis durante as fases imatura e adulta. Identificar fatores que interferem na  
 356 comunicação entre hospedeiro-parasitoide pode possibilitar maior adequação e confiabilidade  
 357 na utilização de *D. longicaudata* em programas de controle biológico.

358

359 **Agradecimentos.** Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico  
 360 (CNPq) pelo apoio financeiro (449738/2014-0) e bolsas concedidas ao segundo  
 361 (306474/2015-8) e terceiro (308113/2016-0) autores.

362

363

364

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

365

366 ATKINS, M.D. 1980. **Introduction to insect behavior**. New York, Macmillan. 237p.

367

368 BARRON, A.B. 2001. The Life and Death of Hopkins' Host-Selection Principle. **Journal of**  
 369 **Insect Behavior** **14**(6):725-737.

370

371 BELDA, C.; RIUDAVETS, J. 2010. Attraction of the parasitoid *Anisopteromalus calandrae*  
 372 (Howard) (Hymenoptera: Pteromalidae) to odors from grain and stored product pests in a Y-  
 373 tube olfactometer. **Biological Control** **54**:29-34.

374

375 BENELLI, G.; STEFANINI, C.; GIUNTI, G.; GERI, S.; MESSING, R.H.; CANALE, A. 2014.  
 376 Associative learning for danger avoidance nullifies innate positive chemotaxis to host  
 377 olfactory stimuli in a parasitic wasp. **Naturwissenschaften** **101**:753-757.

378

379 BLASSIOLI MORAES, M.C.; LAUMANN, R.; SUJII, E.R.; PIRES, C.; BORGES, M. 2005. Induced  
 380 volatiles in soybean and pigeon pea plants artificially infested with the neotropical brown  
 381 stink bug, *Euschistus heros*, and their effect on the egg parasitoid, *Telenomus podisi*.  
 382 **Entomologia Experimentalis et Applicata** **115**: 227-237.

383

384 CANALE, A.; GERI, S.; BENELLI, G. 2014. Associative learning for host-induced fruit volatiles  
 385 in *Psytalia concolor* (Hymenoptera: Braconidae), a koinobiont parasitoid of tephritid flies.  
 386 **Bulletin of Entomological Research** **104**:774-780.

387

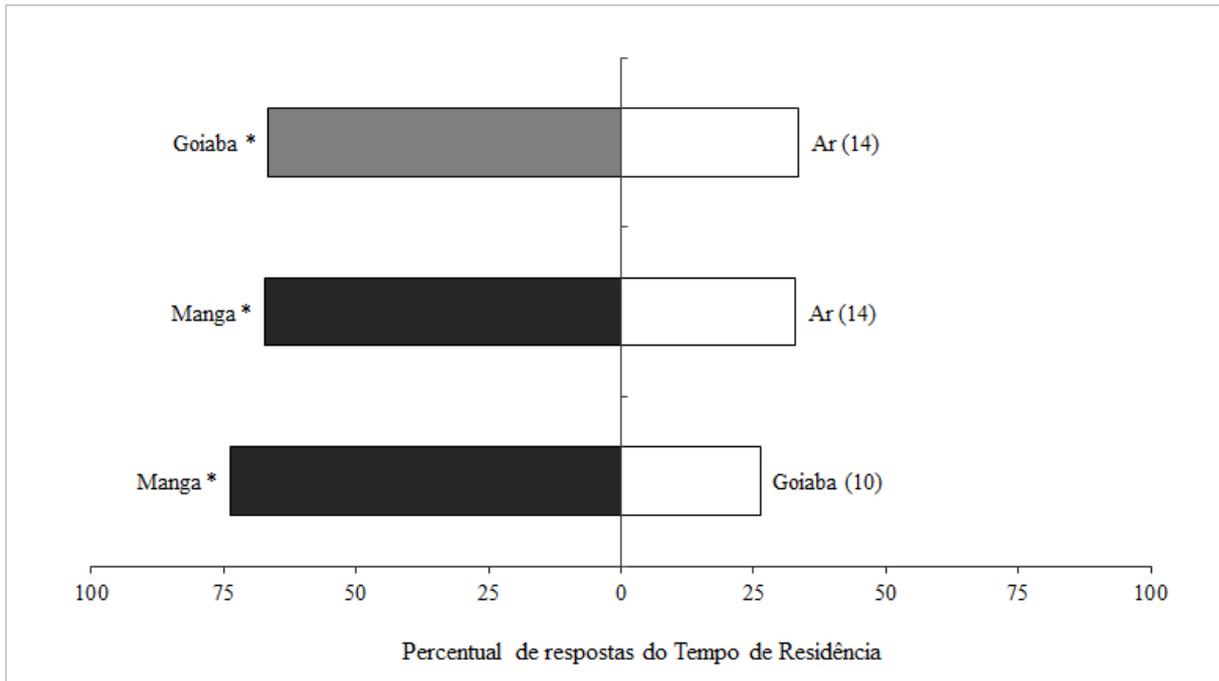
388 CARRASCO, M.; MONTOYA, P.; CRUZ-LÓPEZ, L.; ROJAS, J.C. 2005. Response of the fruit fly  
 389 parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) to mango fruit  
 390 volatiles. **Environmental Entomology**, College Park, **34**:576-583.

- 391  
392 CARVALHO, R.D.S. & NASCIMENTO, A.S. 2002. Criação e utilização de *Diachasmimorpha*  
393 *longicaudata* para controle biológico de moscas-das-frutas. In: PARRA, J.R.P. eds. **Controle**  
394 **biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, p.65-179.  
395
- 396 CHEN, H.C.; SHEU, M.J.; WU, C.M. 2006. Characterization of volatiles in Guava (*Psidium*  
397 *guajava* L. cv. Chung-Shan-Yueh-Pa) fruit from Taiwan. **Journal of Food and Drug**  
398 **Analysis** **14**:398-402.  
399
- 400 CORBET, S.A. 1985. Insect chemosensory responses: A chemical legacy hypothesis.  
401 **Ecological Entomology** **10**:143-153.  
402
- 403 DUAN, J.J. & MESSING, R.H. 2000. Effects of host substrate and vibration cues on ovipositor-  
404 probing behavior in two larval parasitoids of tephritid fruit flies. **Journal of Insect Behavior**  
405 **13**:175-186.  
406
- 407 DUKAS, R. 2008. Evolutionary biology of insect learning. **Annual Review of Entomology**  
408 **53**:145-160.  
409
- 410 DUKAS, R. & DUAN, J.J. 2000. Potential fitness consequences of associative learning in a  
411 parasitoid wasp. **Behavioral Ecology** **11**:536-543.  
412
- 413 EBEN, A.; BENREY, B.; SIVINSKI, J.; ALUJA, M. 2000. Host species and host plant effects on  
414 performance of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). **Environmental**  
415 **Entomology** **29**:87-94.  
416
- 417 FATOUROS, N.E.; BUKOVINSZKINE'KISS, G.; KALKERS, L.A.; GAMBORENA, R.S.; DICKE, M.;  
418 HILKER, M. 2005. Oviposition-induced plant cues: do they arrest *Trichogramma* wasps during  
419 host location? **Entomologia Experimentalis et Applicata** **115**:207-215.  
420
- 421 GIUNTI, G.; CANALLE, A.; MESSING, R.H.; DONATI, E.; STEFANINI, C.; MICHAUD, J.P.;  
422 BENELLI, G. 2015. Parasitoid learning: Current knowledge and implications for Biological  
423 Control. **Biological Control** **90**:208-219.  
424
- 425 GONZÁLEZ, P.I.; MONTOYA, P.; PÉREZ-LACHAUD, G.; CANCINO, J.; LIEDO, P. 2007.  
426 Superparasitism in mass reared *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera:  
427 Braconidae), a parasitoid of fruit flies (Diptera: Tephritidae). **Biological Control** **40**:320-326.  
428
- 429 GREANY, P.D.; TUMLINSON, J.H.; CHAMBERS, D.L.; BOUSH, G.M. 1977. Chemically mediated  
430 host finding by *Biosteres (Opus) longicaudatus*, a parasitoid of tephritid fruit fly larvae.  
431 **Journal of Chemical Ecology** **3**:189-195.  
432  
433

- 434 LEYVA, J.L.; BROWNING, H.W.; GILSTRAP, F.E. 1991. Effect of Host Fruit Species, Size, and  
435 Color on Parasitization of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) by *Diachasmimorpha*  
436 *longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). **Environmental Entomology** **20**:1469-1474.  
437
- 438 LÓPEZ, O.P.; HÉNAULT, Y.; CANCINO, J.; LAMBIN, M.; CRUZ-LÓPEZ, L.; ROJAS, J.C. 2009. Is  
439 host size an indicator of quality in the mass-reared parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata*  
440 (Hymenoptera: Braconidae)? **Florida Entomologist** **92**:441-449.  
441
- 442 MATTHEWS, R.W. & MATTHEWS, J.R. 2010. **Insect Behavior**. New York, John Wiley & Sons.  
443 514p.  
444
- 445 MATTIACCI, L.; DICKE, M.; POSTHUMUS, M.A. 1995.  $\beta$ -Glucosidase: an elicitor of herbivore  
446 induced plant odor that attracts host-searching parasitic wasps. **Proceedings of the National**  
447 **Academy of Sciences, USA**, **92**:2036-2040.  
448
- 449 MEIRELLES, R.N.; REDAELLI, L.R.; JAHNKE, S.M.; OURIQUE, C.B.; OZORIO, D.V.B. Parasitism  
450 of fruit flies (Tephritidae) in field, after the releases of *Diachasmimorpha longicaudata*  
451 (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) in Rio Grande Do Sul. **Revista Brasileira de**  
452 **Fruticultura**, 38(2):673-683.  
453
- 454 MONTOYA, P.; LIEDO, P.; BENREY, B.; CANCINO, J.; BARRERA, J.F.; SIVINSKI, J.; ALUJA, M.  
455 2000. Biological Control of *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) in Mango Orchards  
456 through Augmentative Releases of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead)  
457 (Hymenoptera: Braconidae). **Biological Control** **18**:216-224.  
458
- 459 PINO, J.A.; MESA, J.; MUNHOZ, Y.; MARTÍ, M.P.; MARBOT, R. 2005. Volatile components from  
460 Mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,  
461 **53**:2213-2223.  
462
- 463 RAINS, G.C.; UTLEY, S.L.; LEWIS, W.J. 2006. Behavioral monitoring of trained insects for  
464 chemical detection. **Biotechnology Progress** **22**(1):2-8.  
465
- 466 REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, J.T. 2012. Essential Oils in Insect Control:  
467 Low-Risk Products in a High-Stakes World. **Annual Review of Entomology** **57**:405-424.  
468
- 469 SALEH, N. & CHITTKA, L. 2006. The importance of experience in the interpretation of  
470 conspecific chemical signals. **Behavioral Ecology and Sociobiology** **61**:215-220.  
471
- 472 SEGURA, D.F.; NUSSENBAUM, A.L.; VISCARRET, M.M.; DEVESCOVI, F.; BACHMANN, G.E.;  
473 CORLEY, J.C.; OVRUSKI, S.M.; CLADERA, J.L. 2016. Innate host habitat preference in the  
474 parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata*: Functional significance and modifications  
475 through learning. **PLoS ONE** **11**(3):1-18.  
476

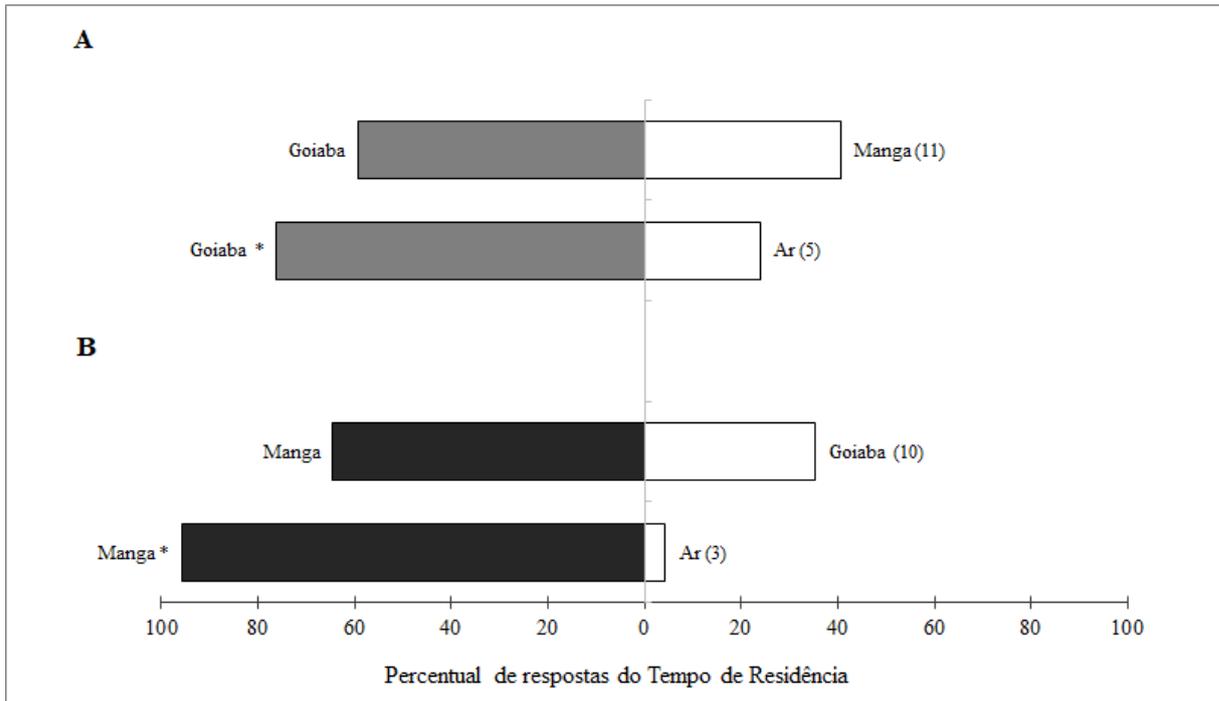
- 477 SEGURA, D.F.; VISCARRET, M.M.; OVRUSKI, S.M.; CLADERA, J.L. 2012. Response of the fruit  
478 fly parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* to host and host-habitat volatile cues.  
479 **Entomologia Experimentalis et Applicata** **143**:164-176.  
480
- 481 SEGURA, D.F.; VISCARRET, M.M.; PALADINO, L.Z.C.; OVRUSKI, S.M.; CLADERA, J.L. 2007.  
482 Role of visual information and learning in habitat selection by a generalist parasitoid foraging  
483 for concealed hosts. **Animal Behaviour** **74**:131-142.  
484
- 485 SILVA, J.W.P.; BENTO, J.M.S.; ZUCCHI, R.A. 2007. Olfactory response of three parasitoid  
486 species (Hymenoptera: Braconidae) to volatiles of guavas infested or not with fruit fly larvae  
487 (Diptera: Tephritidae). **Biological Control** **41**:304-311.  
488
- 489 SMITH, M.A. & CORNELL, H.V. 1979. Hopkins host-selection in *Nasonia vitripennis* and its  
490 implications for sympatric speciation. **Animal Behavior** **27**(2):365-370.  
491
- 492 STEPHENS, D.W. 1993. Learning and behavioral ecology: incomplete information and  
493 environmental predictability. In: PAPA, R.D. & LEWIS, A.C. eds. **Insect Learning: ecological  
494 and evolutionary perspectives**. Chapman and Hall, New York, USA, p.195-218.  
495
- 496 STORECK, A.; POPPY, G.M.; VAN EMDEN, H.F.; POWELL, W. 2000. The role of plant chemical  
497 cues in determining host preference in the generalist aphid parasitoid *Aphidius colemani*.  
498 **Entomologia Experimentalis et Applicata** **97**:41-46.  
499
- 500 STUHL, C.; SIVINSKI, J.; TEAL, P.; PARANHOS, B.; ALUJA, M. 2011. Larvae promotes  
501 oviposition behavior by the biological control agent *Diachasmimorpha longicaudata*  
502 (Hymenoptera: Braconidae). **Environmental Entomology** **40**:727-736.  
503
- 504 TAKASU, K. & LEWIS, W.J. 2003. Learning of host searching cues by the larval parasitoid  
505 *Microplitis croceipes*. **Entomologia Experimentalis et Applicata** **108**:77-86.  
506
- 507 TAKASU, K. & LEWIS, W.J. 1996. The role of learning in adult food location by the larval  
508 parasitoid, *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). **Journal of Insect Behavior**  
509 **9**(2):265-281.  
510
- 511 TENTELIER, C.; WAJNBERG, E.; FAUVERGUE, X. 2005. Parasitoids use herbivore-induced  
512 information to adapt patch exploitation behaviour. **Ecological Entomology** **30**:739-744.  
513
- 514 TURLINGS, T.C.J. & TON, J. 2006. Exploiting scents of distress: the prospect of manipulating  
515 herbivore-induced plant odors to enhance the control of agricultural pests. **Current Opinion  
516 in Plant Biology** **9**:421-427.  
517
- 518 TURLINGS, T.C.J.; WACKERS, F.L.; VET, L.E.M.; LEWIS, W.J.; TUMLINSON, J.H. 1993.  
519 Learning of host-finding cues by Hymenopterous parasitoids. In: PAPA, D.R. & LEWIS, A.C.

- 520 eds. **Insect Learning: Ecological and Evolutionary Perspectives**. Chapman and Hall, New  
 521 York, p.51-78.
- 522
- 523 VARGAS, C.C.; REDAELLI, L.R.; SANT'ANA, J.; MORAIS, R.M.; PADILHA, P. 2017. Influência  
 524 da idade do hospedeiro e da aprendizagem no comportamento quimiotáxico e no parasitismo  
 525 de *Trichogramma pretiosum*. **Iheringia**, Série Zoologia, **107**:1-7.
- 526
- 527 VARGAS, R.I.; PIÑERO, J.C.; LEBLANC, L.; MANOUKIS, N.C.; MAU, R.F.L. Area wild  
 528 management of fruit flies (Diptera: Tephritidae) in Hawaii. In: EKESI, S.; MOHAMED, S.A.;  
 529 DE MEYER, M. (Eds). **Fruit fly research and development in Africa - towards a  
 530 sustainable management strategy to improve horticulture**. Switzerland, Springer, p.  
 531 673-694, 2016.
- 532
- 533 VET, L.E.M.; LEWIS, W.J.; CARDÈ, R.T. 1995. Parasitoid foraging and learning. In: CARDÈ,  
 534 R.T. & BELL, W.J. eds. **Chemical Ecology of Insects**. London, Chapman and Hall, p.65-101.
- 535
- 536 VILLAGRA, C.A.; PENNACCHIO, F.; NIEMEYER, H.M. 2007. The effect of larval and early adult  
 537 experience on behavioural plasticity of the aphid parasitoid *Aphidius ervi* (Hymenoptera,  
 538 Braconidae, Aphidiinae). **Naturwissenschaften** **94**:903-910.
- 539
- 540 VINSON, S.B. 1998. The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a  
 541 comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological  
 542 Control** **11**:79-96.
- 543
- 544 WARDLE, A.R. & BORDEN, J.H. 1985. Age-dependent associative learning by *Exeristes*  
 545 *roborator* (F.) (Hymenoptera: Ichneumonidae). **The Canadian Entomologist** **117**:605-616.
- 546
- 547 WYCKHUYS, K.A.G. & HEIMPEL, G.E. 2007. Response of the soybean aphid parasitoid  
 548 *Binodoxys communis* to olfactory cues from target and non-target host-plant complexes.  
 549 **Entomologia Experimentalis et Applicata** **132**:149-158.
- 550
- 551 ZHANG, S.; CHEN, L.Z.; GU, S.H.; CUI, J.J.; GAO, X.W.; ZHANG, Y.J.; GUO, Y.Y. 2011.  
 552 Binding Characterization of Recombinant Odorant-binding Proteins from the Parasitic Wasp,  
 553 *Microplitis mediator* (Hymenoptera: Braconidae). **Journal of Chemical Ecology** **37**:189-194.
- 554
- 555 ZHOU, J.J. 2010. Odorant-Binding Proteins in Insects. In: LITWACK, G. eds. **Vitamins and  
 556 Hormones**. Burlington: Academic Press. p.241-272.
- 557



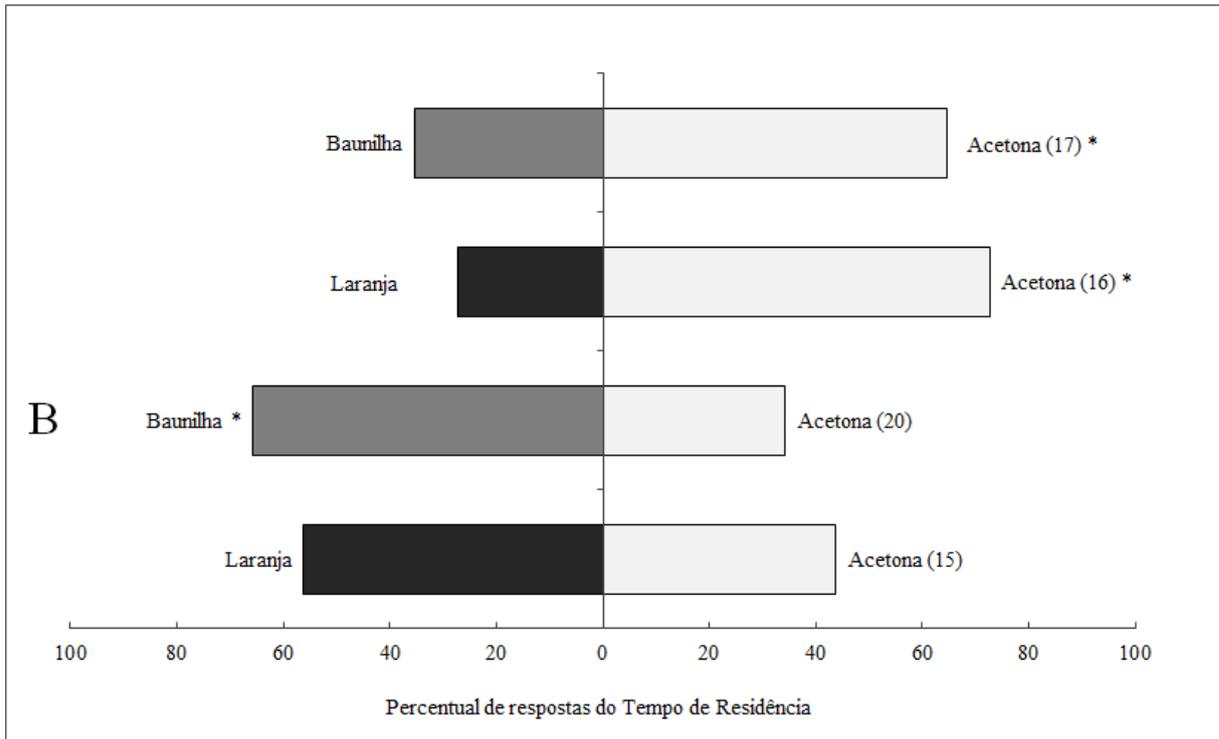
558  
559  
560  
561  
562  
563

Fig 1. Tempo de residência (%) de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* oriundas de larvas de *Anastrepha fraterculus* criadas em dieta artificial (inexperientes) submetidas ao ar (controle) e aos odores de goiaba e manga. Tempo de observação: 5 min. Número de insetos não responsivos entre parênteses. \* Diferença significativa pelo teste de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ).



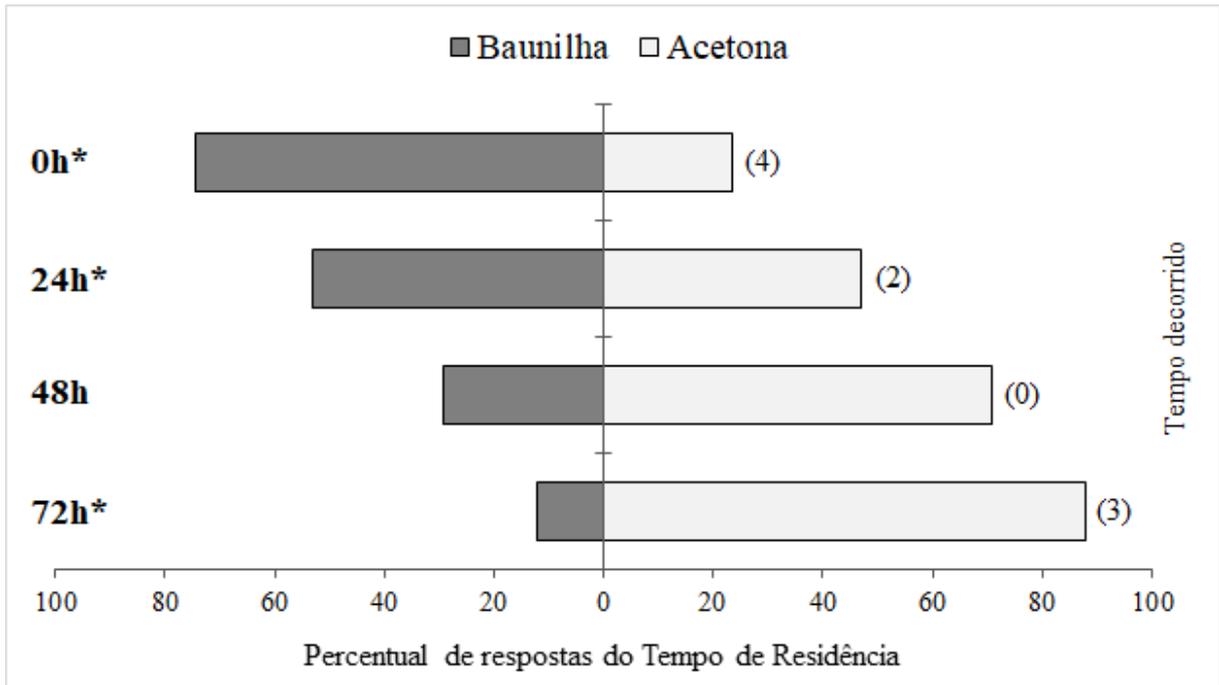
564  
565  
566  
567  
568  
569  
570

Fig 2. Tempo de residência (%) de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* oriundas de larvas de *Anastrepha fraterculus* criadas em goiaba (experientes em goiaba) (A) ou em manga (experientes em manga) (B), aos contrastes de: ar (controle), odores de pedaços de frutos *in natura* de goiaba ou manga. Tempo de observação: 5 min. Número de insetos não responsivos entre parênteses. \* Diferença significativa pelo teste de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ).



571  
572  
573  
574  
575  
576  
577  
578

Fig 3. Tempo de residência (%) de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* oriundas de larvas de *Anastrepha fraterculus* criadas em dieta artificial exposta à acetona (inexperientes) (A); experientes ao óleo essencial de baunilha (OEB) (B) ou ao óleo essencial de laranja (OEL) (C), submetidas ao contraste entre ar e os óleos. Tempo de observação: 5 min. Número de insetos não responsivos entre parênteses. \*Diferença significativa pelo teste de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ).



579  
580  
581  
582  
583  
584

Fig 4. Tempo de residência (%) de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* que estiveram em contato com óleo essencial de baunilha (OEB) (experientes em baunilha), submetidas aos contrastes de acetona (controle) e odor de baunilha. Tempo decorrido após experiência com OEB: 0, 24, 48 e 72 horas. Tempo de observação: 5 min. Número de insetos não responsivos entre parênteses. \*Diferença significativa pelo teste de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ).

#### 4 CONCLUSÕES

- fêmeas inexperientes de *D. longicaudata* são mais atraídas para os voláteis de manga e goiaba em relação ao controle e parasitam um percentual maior de larvas na presença da polpa destes frutos em contraste às sem polpa;
- fêmeas de *D. longicaudata* experientes apresentam tempo de residência e parasitismo maiores para os odores dos frutos aos quais se desenvolvem;
- o tempo de residência de fêmeas de *D. longicaudata* inexperientes é maior para a acetona do que para os odores dos óleos essenciais de baunilha (OEB) e laranja.
- fêmeas experientes em OEB respondem mais a este odor em relação ao controle;
- a memória de fêmeas de *D. longicaudata* ao odor de OEB é mantida por até 48 horas.