

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

PARASITISMO DE *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (HYMENOPTERA:  
BRACONIDAE) EM *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) E *Ceratitis capitata*  
(Wiedemann) (DIPTERA: TEPHRITIDAE): RESPOSTA FUNCIONAL,  
SUPERPARASITISMO E PREFERÊNCIA

Deisi Luizelli Altafini  
Bióloga/PUCRS

Tese apresentada como um dos requisitos  
à obtenção do Grau de Doutora em Fitotecnia  
Ênfase Entomologia

Porto Alegre (RS), Brasil  
Julho de 2012

**(Página de homologação e ficha cartográfica: a serem inseridos)**

À memória do meu pai querido, Rinaldo,  
referência maior  
em minha vida,  
com amor,  
dedico.

## **Agradecimentos**

Ao Dr. Antônio Nascimento, da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, pela doação dos primeiros parasitoides para estabelecimento da criação no Laboratório de Biologia, Ecologia e Controle Biológico de Insetos da UFRGS.

Ao professor Dr. Celso Roberto Canto Silva, do Instituto Federal do Rio Grande do Sul (IFRS), pela imprescindível contribuição nas análises de resposta funcional.

Ao professor Dr. Josué Sant'Ana, da UFRGS, pela sua disponibilidade em ajudar, especialmente na compreensão dos dados de comportamento.

Às professoras Dra. Luiza Rodrigues Redaelli e Dra. Simone Mundstock Jahnke, pela valiosa orientação, dedicação, ensinamentos e pela amizade.

Aos meus pais, Rinaldo Camaratta Altafini e Naia Regina Luizelli Altafini, pelo amor, educação e, sobretudo, pelos exemplos de honestidade, caráter e generosidade que sempre me deram.

Ao meu esposo, Dr. Caio Fábio Stoffel Efrom, pelas inúmeras contribuições ao meu trabalho e, principalmente, pela paciência, incentivo e todo o amor e companheirismo.

Aos meus sogros, Dante Vanderlei Efrom e Belkis Mari Stoffel Efrom, pelo acolhimento, carinho e preocupação com meu bem-estar neste período.

Aos meus irmãos Naira, Daniel, Luciana e Leonardo, pela amizade, carinho e estímulo à realização desta etapa.

Às minhas sobrinhas amadas Laura, Maliê e Betina, que chegaram à minha vida durante o meu doutorado, por me trazerem muita felicidade.

Aos colegas que dividiram comigo as tarefas e preocupações das criações de moscas e parasitoide, Cláudia Ourique, Dânia Ozório, Gabriela Chesim, Milena Zanella, Naihana Schäffer, Patrícia Pires e, em especial, Rafael Meirelles, pela amizade, momentos de descontração e pela preciosa ajuda na execução das pesquisas.

Aos demais amigos que me acompanharam durante estes felizes anos no laboratório, Daiane Moreira, Diogo Pereira-Rêgo, Gisele da Silva, Janaína dos Santos, Joana Klein, Maria Letícia Ferreira, Marla Hassemer, Patrícia Menegaz, Ricardo Bisotto, Rita Machado, Roberta Tognon e Rosana Morais, pela amizade e pelos auxílios no decorrer do desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu amigo e companheiro Zoel, filho de quatro patas, pelo amor incondicional e carinho encorajador que me deu a todo momento nestes últimos dois anos.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq) pela oportunidade e pela concessão da bolsa de doutorado.

A todos aqueles que, de alguma forma, somaram esforços, contribuindo positivamente na minha vida e na realização deste trabalho.

PARASITISMO DE *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) EM *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) E *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (DIPTERA: TEPHRITIDAE): RESPOSTA FUNCIONAL, SUPERPARASITISMO E PREFERÊNCIA<sup>1</sup>

Autor: Deisi Luizelli Altafini

Orientadora: Luiza Rodrigues Redaelli

Coorientadora: Simone Mundstock Jahnke

## RESUMO

*Anastrepha fraterculus* (Wied.) e *Ceratitis capitata* (Wied.) estão entre as principais pragas da fruticultura no Brasil. O controle biológico é uma alternativa ao químico e *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) é o braconídeo mais utilizado em programas de controle biológico clássico de moscas-das-frutas no mundo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o parasitismo de *D. longicaudata* em *A. fraterculus* e *C. capitata*, envolvendo a resposta funcional, o superparasitismo e a preferência por hospedeiro. Os insetos utilizados foram oriundos de criações mantidas em câmara climatizada ( $25 \pm 2$  °C,  $65 \pm 10\%$  UR e 14 h de fotofase). Nos bioensaios de resposta funcional, foram oferecidas a uma fêmea do parasitoide 1, 3, 5, 10, 25, 35 ou 55 larvas hospedeiras. De modo geral, o número médio de larvas parasitadas aumentou, enquanto as taxas de parasitismo decresceram, conforme as densidades de ambos os hospedeiros se elevavam. A maior porcentagem de larvas parasitadas ocorreu na densidade de três larvas tanto em *C. capitata* (23,3%) quanto em *A. fraterculus* (55%). O teste de ajuste dos resultados ao modelo randômico evidenciou resposta funcional tipo III. No experimento de superparasitismo, foram avaliados o número de marcas de oviposição e o de larvas do parasitoide no interior de pupários das duas espécies hospedeiras, nas razões 4:1, 2:1, 1:1, 1:2 e 1:4 de parasitoide/hospedeiro. Para ambas as espécies de tefritídeos houve maior número de larvas nos pupários nas razões 4:1 e 2:1, onde havia menor densidade de larvas por fêmea de parasitoide ( $P < 0,0001$ ). A preferência foi avaliada oferecendo-se dez larvas de terceiro instar de cada espécie hospedeira, em conjunto, a uma fêmea do parasitoide, com origem em *C. capitata* ou *A. fraterculus*. A proporção de parasitoides emergidos de larvas de *A. fraterculus*, parasitadas por fêmeas com origem neste mesmo hospedeiro foi maior que nos demais grupos ( $P = 0,0086$ ). Os resultados fornecem subsídios importantes para a condução de criações com vistas à liberação de *D. longicaudata*.

---

<sup>1</sup>Tese de Doutorado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (85p.) Julho, 2012.

PARASITISM OF *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) IN *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) AND *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (DIPTERA: TEPHRITIDAE): FUNCTIONAL RESPONSE, SUPERPARASITISM AND PREFERENCE<sup>1</sup>

Author: Deisi Luizelli Altafini  
Adviser: Luiza Rodrigues Redaelli  
Co-adviser: Simone Mundstock Jahnke

**ABSTRACT**

*Anastrepha fraterculus* (Wied.) and *Ceratitis capitata* (Wied.) are major pests of fruit trees in Brazil. Biological control is an alternative to the chemical control and *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) is the most used braconid in classical biological control of fruit flies in the world. We aimed to compare parasitism of *D. longicaudata* in *A. fraterculus* and *C. capitata*, analyzing aspects as functional response, superparasitism and host preference. The insects were reared at  $25 \pm 2$  °C,  $65 \pm 10\%$  RH and 14 h photophase. Functional response was evaluated by offering to a female parasitoid 1, 3, 5, 10, 25, 35 or 55 third instar host larvae. Generally, the mean number of parasitized larvae increased and the rates of parasitism decreased as the densities increased in both hosts. The highest percentage of parasitized larvae was obtained with a density of three larvae in both *C. capitata* (23.3%) and *A. fraterculus* (55%). The functional response fitted a type III model. With regard to superparasitism, we assessed the number of oviposition scars and parasitoid larvae inside pupae of both hosts, in the ratios 4:1, 2:1, 1:1, 1:2 and 1:4 of parasitoid/host. In both tephritids, more larvae were obtained in the ratios 4:1 and 2:1, which had lower density of larvae per female parasitoid ( $P < 0.0001$ ). The preference was evaluated by offering together ten third instar larvae of each host species, to parasitoids reared in *C. capitata* and *A. fraterculus*. The highest proportion of parasitoids emerged from larvae of *A. fraterculus* parasitized by females from this same host ( $P = 0.0086$ ). The results provide important support for rearings and releases of *D. longicaudata*.

---

<sup>1</sup> Doctoral Thesis in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (85p.) July, 2012.

## SUMÁRIO

|  | Página |
|--|--------|
| 1 INTRODUÇÃO .....   | 1      |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....   | 3      |
| 2.1 Mosca-das-frutas - importância econômica, danos e controle.....  | 3      |
| 2.2 Controle biológico de mosca-das-frutas com <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> .....   | 6      |
| 2.3 Características bioecológicas de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> .....   | 10     |
| 2.4 Interações parasitóide-hospedeiro .....  | 13     |
| 2.4.1 Comportamento de localização e seleção do hospedeiro.....  | 14     |
| 2.4.2 Resposta funcional.....  | 15     |
| 2.4.3 Superparasitismo .....   | 18     |
| 2.4.4 Preferência por espécie hospedeira .....   | 21     |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS.....  | 24     |
| 3.1 Criação de <i>Ceratitis capitata</i> .....   | 24     |
| 3.2 Criação de <i>Anastrepha fraterculus</i> .....   | 26     |
| 3.3 Criação de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> .....   | 28     |
| 3.4 Resposta funcional de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> .....  | 30     |
| 3.4.1 Estimativa de parâmetros e análise numérica da resposta funcional.....   | 32     |
| 3.5 Comportamento de fêmeas de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> sobre unidades contendo larvas de <i>Ceratitis capitata</i> ..... | 35     |
| 3.6 Superparasitismo de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> em <i>Ceratitis capitata</i> e <i>Anastrepha fraterculus</i> .....       | 36     |
| 3.7 Avaliação da preferência de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> por Hospedeiro .....   | 38     |

|  | Página |
|--|--------|
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....  | 40     |
| 4.1 Comportamento de fêmeas de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> expostas<br>a larvas de <i>Ceratitis capitata</i> .....               | 40     |
| 4.2 Resposta funcional de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> .....  | 46     |
| 4.3 Superparasitismo de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> em <i>Ceratitis</i><br><i>capitata</i> e <i>Anastrepha fraterculus</i> ..... | 56     |
| 4.4 Avaliação de preferência de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> por<br>Hospedeiro.....   | 64     |
| 5 CONCLUSÕES.....  | 70     |
| 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....  | 72     |
| 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....  | 74     |

## RELAÇÃO DE TABELAS

|  | Página |
|--|--------|
| 1. Duração total média (em segundos) ( $\pm$ EP) da execução de cada categoria de comportamento de fêmeas de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> quando expostas a diferentes densidades de larvas de <i>Ceratitis capitata</i> , por um período de exposição de uma hora. Valores entre parênteses indicam o número de repetições realizadas.....   | 45     |
| 2. Número médio observado (valores brutos e transformados por $\sqrt{x+1}$ ) e estimado de larvas de <i>Ceratitis capitata</i> parasitadas por fêmeas de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> ( $N_p$ ), expostas a diferentes densidades do hospedeiro ( $N$ ), porcentagem de larvas parasitadas e valores estimados de taxa de ataque ( $a'$ ), eficiência de busca ( $E$ ), tempo de manuseio total ( $Tm_{total}$ ) e tempo de busca ( $Tb$ ), a partir do modelo randômico da equação dos discos de Holling. Os dados referem-se a um tempo total de exposição de três horas. Valores entre parênteses indicam o número de repetições realizadas..... | 47     |
| 3. Número médio observado (valores brutos e transformados por $\sqrt{x+1}$ ) e estimado de larvas de <i>Anastrepha fraterculus</i> parasitadas por fêmeas de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> ( $N_p$ ), expostas a diferentes densidades do hospedeiro ( $N$ ), porcentagem de larvas parasitadas e valores estimados de taxa de ataque ( $a'$ ), eficiência de busca ( $E$ ), tempo de manuseio total ( $Tm_{total}$ ) e tempo de busca ( $Tb$ ), a partir do modelo randômico da equação dos discos de Holling. Os dados referem-se a um tempo de exposição de três horas. Valores entre parênteses indicam o número de repetições realizadas.....   | 49     |
| 4. Número médio ( $\pm$ EP) de marcas de oviposição por pupário hospedeiro e de larvas de primeiro instar de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> , nas diferentes razões de fêmeas de parasitoides e larvas de <i>Ceratitis capitata</i> (valores entre parênteses indicam o   |        |

|  |    |
|--|----|
| número de larvas hospedeiras expostas).....  | 57 |
| 5. Número médio ( $\pm$ EP) de marcas de oviposição por pupário hospedeiro e de larvas de primeiro instar de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> , nas diferentes razões de fêmeas do parasitoides e larvas de <i>Anastrepha fraterculus</i> (valores entre parênteses indicam o número de larvas hospedeiras expostas)..... | 58 |
| 6. Porcentagem média ( $\pm$ EP) de parasitismo e de emergência de fêmeas de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> de diferentes origens sobre <i>Ceratitis capitata</i> (n = 20) e <i>Anastrepha fraterculus</i> (n = 20), em experimento de preferência por hospedeiro.....  | 65 |
| 7. Porcentagem média ( $\pm$ EP) de emergência e mortalidade de <i>Ceratitis capitata</i> (n = 20) e <i>Anastrepha fraterculus</i> (n = 20) expostas à <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> de diferentes origens, em experimento de preferência por hospedeiro.....  | 68 |

## RELAÇÃO DE FIGURAS

|  | Página |
|--|--------|
| 1. Metodologia de criação de <i>Ceratitis capitata</i> ou <i>Anastrepha fraterculus</i> : gaiola de adultos (A), tubo plástico utilizado como substrato de oviposição de <i>C. capitata</i> (B), dieta artificial para larvas de moscas-das-frutas (C) e substrato artificial para oviposição de <i>A. fraterculus</i> (ovos indicados pela seta)(D).....  | 27     |
| 2. Criação de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> : fêmea adulta do parasitoide (A), gaiola de criação de adultos de <i>D. longicaudata</i> com unidade de parasitismo (1), potes de água (2) e placa de alimento (3) (B), placa com alimento para adultos de <i>D. longicaudata</i> (C) e unidade de parasitismo utilizada na criação (D).....  | 29     |
| 3. Materiais utilizados nos experimentos de resposta funcional: unidade de parasitismo, com área de exposição delimitada pelo colchete contendo larvas do hospedeiro (A) e tubos de vidro usados para pupação (B).....   | 31     |
| 4. Parasitismo de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> em moscas-das-frutas: marcas de oviposição (seta) em pupário (A) e larva do parasitoide (seta) no interior de pupário de moscas-das-frutas (B).....  | 38     |
| 5. Etogramas de fêmeas de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> expostas a unidades de parasitismo contendo larvas de <i>Ceratitis capitata</i> : densidade um (n = 10) (A) e densidade cinco (n = 11) (B). A espessura das flechas indica a porcentagem de ocorrência de cada categoria a partir de uma antecedente. Números dentro dos quadros indicam o tempo médio ( $\pm$ EP), em segundos, de ocorrência da categoria em cada ocasião..... | 41     |
| 6. Etogramas de fêmeas de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> expostas a unidades de parasitismo contendo larvas de <i>Ceratitis capitata</i> : densidade dez (n = 10) (A) e densidade 25 (n = 12) (B). A espessura das flechas indica a porcentagem de ocorrência de  |        |

|   |    |
|---|----|
| <p>cada categoria a partir de uma antecedente. Números dentro dos quadros indicam o tempo médio (<math>\pm</math> EP), em segundos, de ocorrência da categoria em cada ocasião.....</p>   | 42 |
| <p>7. Etogramas de fêmeas de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> expostas a unidades de parasitismo contendo larvas de <i>Ceratitis capitata</i>: densidade 35 (n = 10) (A) e densidade 55 (n = 10) (B). A espessura das flechas indica a porcentagem de ocorrência de cada categoria a partir de uma antecedente. Números dentro dos quadros indicam o tempo médio (<math>\pm</math> EP), em segundos, de ocorrência da categoria em cada ocasião.....</p> | 43 |
| <p>8. Porcentagem de emergência de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> e mortalidade total de <i>Ceratitis capitata</i>, em diferentes densidades de larvas oferecidas ao parasitoide (N). Os valores referem-se aos dados observados (valores brutos).....</p>   | 50 |
| <p>9. Porcentagem de emergência de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> e de mortalidade total de <i>Anastrepha fraterculus</i>, sob diferentes densidades de larvas oferecidas ao parasitoide (N). Os valores referem-se aos dados observados (valores brutos).....</p>   | 51 |
| <p>10. Resposta funcional de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> em <i>Ceratitis capitata</i>: •, número de larvas parasitadas em cada repetição; x, número médio de larvas parasitadas para cada densidade. A linha contínua refere-se ao ajuste do modelo polinomial aos dados observados.....</p>  | 54 |
| <p>11. Resposta funcional de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> em <i>Anastrepha fraterculus</i>: •, número de larvas parasitadas em cada repetição; x, número médio de larvas parasitadas para cada densidade. A linha contínua refere-se ao ajuste do modelo polinomial aos dados observados.....</p>  | 54 |
| <p>12. Relação entre o número de marcas por pupário e o de larvas de primeiro instar de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> presentes em pupários de <i>Ceratitis capitata</i>.....</p>   | 63 |
| <p>13. Relação entre o número de marcas por pupário e o de larvas de primeiro instar de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> presentes em pupários de <i>Anastrepha fraterculus</i>.....</p>   | 63 |

## 1 INTRODUÇÃO

Danos provocados pelas moscas-das-frutas (Diptera, Tephritidae) são problema em várias frutíferas no país, sendo responsáveis por grandes perdas na produção. O controle destas pragas, nas últimas décadas, pouco avançou do ponto de vista técnico e conceitual. O método químico é a forma de controle mais utilizada, empregando-se inseticidas fosforados, de elevada toxicidade e carência, além de não serem seletivos aos inimigos naturais.

A utilização de técnicas reducionistas ou não impactantes para o ambiente, no manejo das moscas-das-frutas é fundamental para a implantação de sistemas produtivos equilibrados e sustentáveis. O controle biológico por meio da liberação de inimigos naturais representa uma alternativa ao controle químico destas pragas. O uso de himenópteros braconídeos tem sido priorizado, devido à especialização destes insetos quanto ao hospedeiro. Contudo, apesar do potencial da utilização de inimigos naturais no controle das moscas-das-frutas, poucos estudos têm sido realizados avaliando a relação parasitoide/hospedeiro. O entendimento das interações entre estes organismos é fundamental para aperfeiçoar o manejo das populações das pragas em programas de controle biológico da praga.

Neste contexto, este trabalho foi realizado com objetivo de investigar o parasitismo de *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera,

Braconidae) sobre os tefritídeos *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) e *Ceratitis capitata* (Wiedemann), avaliando a resposta funcional do parasitoide a diferentes densidades de larvas das espécies hospedeiras, a influência de coespecíficos no parasitismo, em diferentes razões de parasitoides e hospedeiros, além da preferência por espécie hospedeira para oviposição.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Mosca-das-frutas - importância econômica, danos e controle

Os gêneros de Tephritidae que apresentam importância econômica no Brasil estão incluídos em Trypetinae e os principais são, *Anastrepha* Schiner, *Bactrocera* Macquart e *Ceratitis* Macleay (Zucchi, 2000). As espécies de moscas-das-frutas que causam danos à produção, no Brasil, pertencem a *Anastrepha* e *Ceratitis* (Kovaleski *et al.*, 2000; Brito *et al.*, 2009). Destes, *Anastrepha* é o que apresenta maior importância em função do grande número de espécies existentes e da ocorrência nas mais diversas fruteiras (Zucchi, 2008). Segundo Sequeira *et al.* (2001), as espécies de *Anastrepha* são as mais destrutivas entre os tefritídeos, atacando fruteiras de regiões tropicais e subtropicais.

O gênero *Anastrepha* encontra-se distribuído no México, Texas e Sul da Flórida, na América Central, em praticamente toda América do Sul (exceto Chile e Sul da Argentina) e na maioria das ilhas do Caribe (Aluja, 1994). Até o momento, são conhecidas no Brasil, 112 espécies de *Anastrepha* (Zucchi, 2008). As de maior importância econômica na fruticultura mundial, segundo Aluja (1994), são *A. fraterculus*, *Anastrepha grandis* (Macquart), *Anastrepha ludens* (Loew), *Anastrepha obliqua* (Macquart), *Anastrepha serpentina* (Wiedemann), *Anastrepha striata* (Schiner) e *Anastrepha suspensa* (Loew).

Das 112 espécies do gênero *Anastrepha* conhecidas no Brasil, apenas 53 têm algum hospedeiro conhecido, sendo que 26 possuem apenas um hospedeiro associado (Zucchi, 2008). No Brasil, 38 famílias de plantas são relatadas como hospedeiras de espécies de *Anastrepha*, merecendo destaque Sapotaceae, Myrtaceae, Anacardiaceae e Passifloraceae respectivamente, com dezesseis, quatorze, onze e nove espécies associadas (Zucchi, 2008).

No Estado do Rio Grande do Sul, a mosca-das-frutas-sul-americana, *A. fraterculus* e a mosca-do-mediterrâneo, *C. capitata* são as principais espécies que atacam frutíferas cultivadas causando dano econômico, sendo a primeira nativa e de maior importância, e a segunda exótica e menos frequente (Kovaleski *et al.*, 2000).

*Anastrepha fraterculus* se destaca por ser uma das espécies de mosca-das-frutas mais polífaga e amplamente dispersa pelo Continente Americano (Kovaleski *et al.*, 1999; Kovaleski *et al.*, 2000). Sua importância varia conforme o local de ocorrência, sendo considerada praga primária na Argentina, Uruguai e estados do Sul e Sudeste do Brasil (Malavasi *et al.*, 2000).

Em *Ceratitis*, destaca-se *C. capitata*, uma das espécies-praga mais frequentes e de maior importância econômica para a fruticultura mundial (White, 1996). Apresenta ampla distribuição geográfica e grande capacidade de adaptação a novos ambientes (Malavasi, 2001). Ocorre desde a África Equatorial até a região do Mediterrâneo, Sul da África, Austrália, Havaí, Américas Central e do Sul. No Brasil, é encontrada desde o Estado do Rio Grande do Sul até alguns estados do Norte e Nordeste (Brito *et al.*, 2009).

*Ceratitis capitata* possui mais de 200 hospedeiros de diferentes famílias de plantas. As fêmeas podem ovipositar mais de um ovo por hospedeiro, mesmo que

este já contenha ovos, sejam estes de *C. capitata* ou de outras espécies de moscas-das-frutas (Fleisher, 2004).

No Brasil, as espécies de *Anastrepha* são muito recorrentes em frutos nativos, enquanto que *C. capitata* é mais encontrada em frutos exóticos, como pêsego, maçã, café, entre outros (Carvalho *et al.*, 1998; Zucchi, 2000).

O ataque das moscas-das-frutas pode ocorrer em todas as fases de maturação dos frutos, mas é mais frequente quando o fruto começa a amadurecer. Os ovos são depositados no interior dos frutos e as larvas alimentam-se da polpa (Vieira Neto, 2002). As fêmeas também podem provocar danos mesmo quando não deixam ovos, caracterizados pela podridão causada por fungos que penetram nos orifícios feitos com o ovipositor e deformação dos frutos, o que acarreta diminuição do valor comercial (Malavasi, 2001; Aguiar-Menezes *et al.*, 2004; Botton *et al.*, 2005).

As formas correntes de controle das moscas-das-frutas continuam sendo a utilização de iscas tóxicas, pulverizações de inseticidas e fumigações pós-colheita (Brito *et al.*, 2009). Frequentemente têm sido utilizados inseticidas fosforados, os quais possuem elevada toxicidade e carência, além de não serem seletivos aos inimigos naturais (Kovaleski & Ribeiro, 2003), deixarem resíduos nos frutos e causarem desequilíbrio e contaminação ambiental (Carvalho, 2006).

Em confronto com essa realidade, muitos países importadores têm exigido a diminuição dos níveis de resíduos de agrotóxicos nos frutos (Kovaleski & Ribeiro, 2003). Além disso, nota-se um aumento gradativo no consumo de alimentos oriundos de sistemas orgânicos ou da produção integrada, os quais são certificados (Andrigueto & Kososki, 2005).

O uso do controle biológico com parasitoides representa uma alternativa para o manejo sustentável das moscas-das-frutas. Contudo, a aplicação desta técnica no Brasil ainda é incipiente e requer estudos mais aprofundados acerca da biologia destes inimigos naturais (Malavasi & Nascimento, 2002).

## **2.2 Controle biológico de mosca-das-frutas com *Diachasmimorpha longicaudata***

A utilização de parasitoides como inimigos naturais de moscas-das-frutas teve início logo após a introdução no Havaí da mosca-do-mediterrâneo, *C. capitata*, quando foi criado um programa de pesquisa, propagação e liberação de inimigos naturais desta e de outros tefritídeos, como *Dacus cucurbitae* Coquillet e *Dacus dorsalis* Hendel, conduzido entre os anos de 1947 e 1951 (Funasaki *et al.*, 1988; Carvallho *et al.*, 2000). Neste programa, o parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* se desenvolveu satisfatoriamente sobre os hospedeiros, elevando o parasitismo de 15% para 47% nos levantamentos posteriores às liberações (Funasaki *et al.*, 1988).

O controle biológico das moscas-das-frutas tem utilizado parasitoides braconídeos da subfamília Opiinae (Hymenoptera), devido à sua especificidade para tefritídeos (Aluja *et al.*, 1990). Opiíneos são endoparasitoides, coinobiontes, que 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 clássico com o objetivo de controlar as moscas-das-frutas (Wharton, 1989). No Havaí, por exemplo, *D. longicaudata* e *Diachasmimorpha tryoni* (Cameron) tiveram sucesso no estabelecimento no início

da década de 1950 (Wong *et al.*, 1984). No mundo, são conhecidas pelo menos 100 espécies de braconídeos provenientes de tefritídeos que infestam frutos, sendo que as principais estão incluídas nos gêneros *Diachasmimorpha* Viereck, *Psytalia* Walker, *Utetes* Förster e *Opius* Wesmael (Wharton, 2007).

*Diachasmimorpha longicaudata* tem sido considerado o agente mais significativo em programas de liberação na América Latina (González *et al.*, 2007). É um endoparasitóide coinobionte que oviposita no último instar larval de tefritídeos e completa seu desenvolvimento no estágio pupal do hospedeiro (Carvalho & Nascimento, 2002). A espécie é originária da região Indo-Australiana, onde parasita, pelo menos, 14 espécies de moscas do gênero *Bactrocera* (= *Dacus*) (Wharton & Gilstrap, 1983).

Após a sua introdução em diversos países, *D. longicaudata* tem sido registrada parasitando *Anastrepha* spp., *C. capitata* e *B. dorsalis* (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). Na maioria dos casos, *D. longicaudata* apresenta maior porcentagem de parasitismo em relação a outros parasitoides (López *et al.*, 1999).

Na década de 1950, no México, após ter sido registrada a ocorrência das mesmas espécies de moscas-das-frutas introduzidas no Havaí, foram realizadas as primeiras liberações de *D. longicaudata*. Porém, foi nas populações de *Anastrepha ludens* (Loew), espécie nativa da região do México, que foi verificado o maior impacto, tendo elevado o índice de parasitismo de 20%, antes das primeiras liberações, para 60% (Cancino & Montoya, 2006).

Em 1965 foi registrada, pela primeira vez, *A. suspensa* na Flórida, e, em 1972, ocorreram as primeiras liberações de *D. longicaudata* (Do Valle, 2006).

Atualmente o índice de parasitismo de *A. suspensa* em território Norte Americano é de 40%, sendo 95% realizado por *D. longicaudata* (Carvalho & Nascimento, 2002). Uma redução de 90 a 95% desta espécie de mosca em duas áreas da Flórida foi registrada, após liberação semanal de 20 a 60 mil parasitoides/km<sup>2</sup>(Sivinski *et al.*, 1996).

A continuidade entre os territórios e a semelhança de espécies frutíferas produzidas na Flórida, no México e na Guatemala, levou à criação do programa Trinacional MOSCAMED, visando o manejo integrado da mosca-do-mediterrâneo, *C. capitata* (Cancino & Montoya, 2006). No México, em Tapachula, encontra-se a maior biofábrica do programa MOSCAMED, referido como o mais bem sucedido programa de controle biológico de moscas-das-frutas com parasitoides, onde são criados 500 mil indivíduos de *D. longicaudata* por semana (Cancino & Montoya, 2006).

No México, no período de 1987 a 1998, 200 mil parasitoides foram liberados semanalmente no Vale de Mazapa, no estado de Chiapas, para o controle de *A. ludens*, contribuindo para uma elevação no índice de parasitismo de 20 para 60% (Guillen *et al.*, 1991).

De acordo com Ovruski *et al.* (2000), nas Américas, *D. longicaudata* foi liberado, ainda, na Costa Rica, Nicarágua, Panamá, Argentina, Guatemala, Peru, Trinidad e Tobago, e no Brasil.

Na Argentina, na década de 60, foram liberados cem mil indivíduos de *D. longicaudata*, e após, foram realizadas apenas liberações ocasionais na província de Tucumán, entre 1977 e 1986 (Schliserman *et al.*, 2003). Entretanto, os autores relataram que das coletas de frutos realizadas entre 1987 e 1999 nenhum

exemplar do parasitoide foi recuperado, apesar de posteriormente, entre 2000 e 2002, fêmeas dessa espécie tenham sido novamente encontradas.

Em 1994, *D. longicaudata* foi importada dos EUA e introduzida no Brasil, pela Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, visando estudar o comportamento e a eficácia deste inseto no controle de moscas-das-frutas, para implementação de um programa de controle biológico no Nordeste brasileiro (Carvalho & Nascimento, 2002). A escolha de *D. longicaudata* para o desenvolvimento deste programa, deveu-se à facilidade de criação e multiplicação em laboratório e a pouca especificidade com o hospedeiro, podendo parasitar *C. capitata* e várias espécies de *Anastrepha* (Carvalho & Nascimento, 2002).

Nesse programa, os parasitoides foram criados sobre *C. capitata* (Carvalho *et al.*, 1998) e liberados nos pomares dois a três dias após emergirem pois, conforme Carvalho & Nascimento (2002) o máximo de parasitismo é atingido aos nove dias de idade. Os autores afirmam que as liberações inundativas devem ser realizadas em épocas de menor densidade da praga, em pomares preferencialmente isolados ou suficientemente grandes, para minimizar os efeitos de migrações de populações de parasitoides e das moscas-das-frutas.

No Recôncavo Baiano, 42 mil indivíduos de *D. longicaudata* foram liberados e, após dez semanas, foram recuperados em goiaba, carambola, pitanga e manga (Matrangolo *et al.*, 1998). Em Pernambuco e na Bahia, na região do submédio Rio São Francisco, foram realizados testes em goiabeira utilizando-se gaiolas teladas, com diferentes densidades de hospedeiros, sendo verificado um percentual médio de parasitismo de 10,5 a 17,2%, quando o fruto foi infestado com *A. fraterculus*. Para *C. capitata*, o parasitismo médio oscilou de 44 a 57% (Carvalho & Nascimento, 2002).

Em lavouras de café, no Estado de São Paulo, foi observado um índice de parasitismo de 19,8% em *C. capitata* (Walder, 1997).

De acordo com Carvalho (2005a), entre agosto de 1995 e junho de 1996, foram realizadas liberações de *D. longicaudata* no município de Conceição de Almeida, BA. Conforme o autor, o braconídeo apresentou boa adaptação ao meio ambiente e o complexo de parasitoides nativos não foi afetado, não havendo mudanças na diversidade ou extinção de espécies.

*Diachasmimorpha longicaudata* não compete pelos sítios de oviposição, com o braconídeo mais abundante no Recôncavo Baiano, *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti) (Carvalho *et al.*, 2000). Conforme os autores, o parasitoide nativo tem preferência por larvas de final de segundo e início de terceiro instar, enquanto o exótico prefere larvas de final de terceiro.

Apesar da fácil multiplicação em laboratório, *D. longicaudata* apresentou alguns problemas de adaptação em diferentes ambientes, especialmente nas regiões mais frias do Sul do Brasil (Sugayama, 2000).

O Rio Grande do Sul foi um dos estados brasileiros onde exemplares de *D. longicaudata* foram liberados, em 1994 (Carvalho *et al.*, 2000). Entretanto, em levantamentos de parasitoides de moscas-das-frutas realizados posteriormente a essa data, como os de Gattelli (2006) e Redaelli *et al.* (2009), não foi detectada a sua presença.

### **2.3 Características bioecológicas de *Diachasmimorpha longicaudata***

As espécies de *Diachasmimorpha* já foram incluídas em *Parasteres* Fischer e *Opius* (Wharton, 2007). Segundo o autor, em trabalhos anteriores a 1988, é

frequente a referência de *Biosteres longicaudatus* Ashmead e *Opius longicaudata* Ashmead, considerados sinonímias de *D. longicaudata*.

O tamanho corporal de adultos de *D. longicaudata* desenvolvidos sobre *C. capitata* é de, em média, 5,4 mm para machos e de 7,7 mm para fêmeas, excluindo o ovipositor (Do Valle, 2006). Os machos apresentam antenas um pouco mais longas (6,6 mm) do que as fêmeas (5,8 mm) e o comprimento médio da tíbia é semelhante entre machos e fêmeas (1,38 e 1,41 mm, respectivamente), conforme o mesmo autor.

Temperaturas moderadas, de 22 a 25 °C, parecem ser as ideais para desenvolvimento da espécie em larvas do tefritídeo *Bactrocera oleae* (Gmelin), segundo Sime *et al.* (2006). Neste hospedeiro, o tempo de desenvolvimento ovo-dulto de *D. longicaudata*, em 25 °C, é de  $17,02 \pm 0,69$  dias para machos e de  $20,79 \pm 0,92$  para fêmeas. A longevidade dos indivíduos emergidos de *B. oleae* diminui com o aumento da temperatura e é similar entre machos e fêmeas, à exceção da faixa de 30 °C, quando as fêmeas vivem mais (Sime *et al.*, 2006).

Estudando a morfologia e a fisiologia do ovipositor de *D. longicaudata*, Greany *et al.* (1976) verificaram que uma série de receptores orgânicos podem ser capazes de analisar as condições do substrato de oviposição. Segundo esses mesmos autores, algumas substâncias presentes em larvas já parasitadas podem aderir aos quimiorreceptores do ovipositor que, por sua vez, enviam o sinal que é processado pelo inseto, o qual acaba não ovipositando, indo procurar outro hospedeiro.

Fêmeas de *D. longicaudata* são atraídas por produtos liberados pela fermentação de frutos caídos (Thompson, 1989). Assim, o encontro de frutos infestados por moscas-das-frutas, ocorre a partir de sinais químicos, e a

localização das larvas ocorre através da vibração que as mesmas emitem, ao se alimentarem da polpa dos frutos (Carvalho, 2005b). Após localizar a larva no interior do fruto, a fêmea do parasitoide insere o ovipositor e realiza postura dentro do corpo do hospedeiro. Fêmeas de *D. longicaudata* parasitam preferencialmente larvas de terceiro instar, as quais muitas vezes são encontradas em frutos caídos (Purcell *et al.*, 1994). Os ovos, se fecundados, dão origem a fêmeas e, caso contrário, originarão somente machos, através de partenogênese do tipo arrenótoca. A larva do parasitoide desenvolve-se no interior da larva da mosca, até o início da fase pupal, no solo, quando, após a formação do pupário, o conteúdo corporal desta última é consumido pela primeira, emergindo o parasitoide, que obrigatoriamente mata o hospedeiro (Lawrence, 1981; Carvalho & Nascimento, 2002).

Segundo van Alphen & Jervis (1996), é comum que braconídeos utilizem o tamanho do corpo do hospedeiro como critério de escolha. Jervis (2005) referiu que a fecundidade, a fertilidade e a longevidade de parasitoides podem ser estar relacionadas com o tamanho dos indivíduos.

Estudos desenvolvidos nas Américas do Norte e Central apontam que a eficiência de *D. longicaudata* depende de vários fatores, tais como: densidade do hospedeiro (Ashley & Chambers, 1979; Vargas *et al.*, 1993; Harris & Bautista, 1996), tamanho (Sivinski, 1991), competição intraespecífica (Purcell *et al.*, 1994) e superparasitismo (González *et al.*, 2007). Segundo Jirón & Mexzon (1989), no Havaí, *D. longicaudata* foi encontrada parasitando em maior proporção espécies de *Anastrepha*, talvez por serem mais apropriadas nutricionalmente aos parasitoides, ou por serem mais abundantes.

## **2.4 Interações parasitoide-hospedeiro**

Os estudos da dinâmica populacional de hospedeiros e parasitoides bem como o modo como interagem, são de importância para determinar a eficiência destes em programas de controle biológico (Huffaker & Gutierrez, 1999; Jervis & Kidd, 1996).

Parasitoides são organismos cujas larvas se alimentam exclusivamente no corpo de outro levando-o à morte (Godfray, 1994). Apenas um hospedeiro é necessário para que complete seu desenvolvimento e, por vezes, alguns parasitoides se desenvolvem gregariamente sobre um mesmo indivíduo (Godfray, 1994).

Um aspecto considerado decisivo para o sucesso de liberações de parasitoides em campo é o conhecimento da proporção adequada destes em relação à densidade do hospedeiro em um determinado agroecossistema, pois a eficiência dos mesmos pode ser reduzida, devido à competição intraespecífica (Neil & Specht, 1990).

Um fator fundamental no estudo da interação das populações de parasitoide e de suas presas é a avaliação do tipo de resposta funcional, numérica ou global expressa pelo parasitoide, já que os componentes destas repostas poderão determinar até quando este afetará a abundância do hospedeiro (Holling, 1965). Os termos “resposta funcional” e “resposta numérica” foram propostos por Solomon (1949) para denominar, respectivamente, as mudanças no comportamento de predadores e o aumento populacional destes, em função da abundância de hospedeiros. O autor chamou ainda de “resposta global” a combinação destes dois tipos de respostas. Segundo Solomon (1949), um inimigo

natural será mais efetivo se a resposta funcional por ele demonstrada for dependente da densidade do hospedeiro.

A avaliação do superparasitismo e sua relação com a resposta funcional também pode contribuir para o conhecimento da interação hospedeiro-parasitoide, buscando a otimização da liberação massal, já que provê dados sobre o possível comportamento do inseto no campo (Godfray, 1994). Além disso, alguns aspectos gerais estudados do comportamento reprodutivo de insetos, como corte, seleção sexual, frequência de cópulas, transferência de esperma, protandria, oviposição, e, preferência por espécie hospedeira, devem ser avaliados também para parasitoides (Luck, 1990).

#### **2.4.1 Comportamento de localização e seleção do hospedeiro**

Estudos de comportamento de parasitoides representam uma chave importante para a compreensão de como estes vivem, como influenciam a dinâmica populacional de seus hospedeiros e como interferem na estrutura da comunidade de insetos que integram (Jervis & Kidd, 1996). Este é um pré-requisito necessário para a seleção de inimigos naturais em programas de controle biológico e para a avaliação da performance destes insetos após a liberação (Luck, 1990).

O comportamento de um parasitoide durante o forrageamento (busca por hospedeiros) envolve algumas escolhas e decisões, baseadas na identificação dos estímulos para encontrar e reconhecer os hospedeiros (Jervis & Kidd, 1996). Diversas hipóteses, segundo esses autores, têm sido sugeridas acerca do comportamento de forrageamento de parasitoides, demonstrando que,

frequentemente, existe uma intrincada relação tritrófica entre os insetos fitófagos, as plantas hospedeiras e os parasitoides.

Eben *et al.* (2000) afirmaram que *D. longicaudata* apresenta uma resposta inata a estímulos olfativos, discriminando entre larvas hospedeiras desenvolvidas em diferentes frutos e, além disso, mostra uma clara preferência por odores de frutos infestados em relação aos não-infestados.

A seleção do parasitoide por hospedeiros está diretamente relacionada com a disponibilidade de recursos necessários ao seu desenvolvimento (Mackauer *et al.*, 1996). Brodeur *et al.* (1998) avaliaram a preferência de dois braconídeos, sendo um generalista, *Cotesia glomerata* (L.), e outro especialista, *Cotesia rubecula* Marshall, por três diferentes espécies de borboletas do gênero *Pieris* (Lepidoptera: Pieridae). O parasitoide generalista foi capaz de se desenvolver nas lagartas das três espécies testadas [*Pieris brassicae* L., *Pieris rapae* (L.) e *Pieris napi* L.], enquanto o especialista não se desenvolveu em *P. napi*. Segundo os autores, a procura dos parasitoides por hospedeiros leva à seleção de lagartas que ofereçam os melhores recursos para o desenvolvimento de suas larvas.

A localização espacial de hospedeiros e de outros recursos do ambiente, como a disponibilidade de nutrientes, influenciam as estratégias reprodutivas e a distribuição de adultos dos parasitoides no habitat (Godfray, 1994) e, portanto, atuam sobre a resposta funcional.

#### **2.4.2 Resposta funcional**

A resposta funcional é um dos elementos que pode influenciar a dinâmica das populações envolvidas na interação e relaciona-se à taxa de parasitismo

frente à densidade ou número de hospedeiros (Begon & Mortimer, 1986; Garcia, 1991).

Holling (1959a) classificou as respostas funcionais em quatro tipos, segundo o número de indivíduos hospedeiros disponíveis. Para determinação das mesmas, devem ser avaliados o tempo de exposição do hospedeiro e do parasitoide um ao outro ( $T$ ); o tempo de busca do parasitoide pelo hospedeiro ( $T_b$ ); a taxa de ataque ou parasitismo ( $a'$ ) sendo esta equivalente à proporção de “ataques” bem sucedidos durante a busca, a eficiência de busca ( $E$ ), que complementa a taxa de parasitismo e o tempo de manuseio ( $T_m$ ).

A taxa de ataque, por sua vez, é influenciada pelo comportamento de parasitismo do inseto, que depende em grande parte da eficiência da localização do hospedeiro (Holling, 1959a). O tempo de manuseio abrange o momento da localização do hospedeiro pela fêmea do parasitoide, a sua manipulação, a oviposição, sinalização e o tempo gasto na geração de novos ovos (Jervis & Kidd, 1996). Este é considerado o componente mais importante da análise da resposta funcional, visto que influencia a taxa de ataque e a eficiência de busca, determinando as curvas que definem o tipo de resposta: tipo I (linear), tipo II (curvilínea) e tipo III (sigmoide) (Beddington, 1975; Jervis & Kidd, 1996). A resposta tipo IV (cupuliforme) não é usualmente registrada na interação parasitoide hospedeiro (Jervis & Kidd, 1996).

Na resposta tipo I, o parasitismo aumenta linearmente com a elevação da densidade dos hospedeiros. Neste caso, o tempo de manuseio deve ser praticamente zero (Begon *et al.*, 1990). No tipo II, o número de hospedeiros parasitados aumenta com a elevação da densidade de hospedeiros, embora numa taxa decrescente, até alcançar um platô, a partir do qual esta se estabiliza,

mesmo com acréscimo da densidade de hospedeiros (Holling,1959a). Segundo esse autor, neste tipo de resposta o tempo de manuseio do parasitoide é sempre o mesmo, independentemente da densidade do hospedeiro ( $N$ ). No entanto, considerando o tempo de manuseio total ( $T_m \times N_p$ ), ele crescerá na medida em que a densidade de hospedeiros aumentar, reduzindo o tempo de busca.

A resposta funcional tipo III é semelhante à II, na medida em que tem um limite superior ao parasitismo, mas difere porque a resposta dos parasitoides aos hospedeiros diminui em baixas densidades, devido à percepção deficiente das larvas hospedeiras em baixo número pelo inimigo natural (Ricklefs, 1996). Este tipo de resposta, conforme o autor, só é constatada quando um aumento na densidade de hospedeiros conduz a um incremento acelerado da taxa de parasitismo e diminuição do tempo de manuseio.

Dentre os trabalhos de resposta funcional realizados com parasitoides, os tipos mais frequentes são II e III. Avaliando a resposta funcional de *D. longicaudata* a larvas de *A. suspensa*, por exemplo, Montoya *et al.* (2000) observaram, para fêmeas isoladas, uma curva do tipo III, apresentando uma dependência direta da densidade, levando em conta a proporção de larvas atacadas. No entanto, os autores verificaram que para fêmeas em grupos, os dados de ataque às larvas se encaixaram no modelo de curva tipo II. A taxa de ataque para fêmeas isoladas variou de 0,081 a 0,129 hospedeiro/fêmea, enquanto para fêmeas agrupadas foi de 0,259 hospedeiro/fêmea. O tempo de manuseio registrado, em relação à proporção ao tempo total de exposição das larvas, foi 18,9% e 22,1% em fêmeas isoladas e agrupadas, respectivamente.

A resposta funcional de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) sobre ovos de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera:

Gelechiidae), foi registrada como uma curva do tipo II (Faria *et al.*, 2000). O parasitismo máximo foi atingido com a manipulação de aproximadamente 3,22% do tempo total disponível para cada fêmea e o máximo observado foi de 30 ovos parasitados/fêmea.

O parasitismo de ninfas de *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) por *Cales noacki* Howard (Hymenoptera: Aphelinidae) também seguiu o modelo de resposta tipo II, onde o incremento no parasitismo total caiu de 122,2% (em densidade de quatro fêmeas de parasitoides/arena), para 2,5% (16 fêmeas de parasitoides/arena) (Rossato, 2007). O número de ninfas testado por fêmea de parasitoide foi 4, 8, 16, 32 e 64.

O tipo de resposta funcional, dependendo do grau com que a taxa de parasitismo acelera ou desacelera perante as diferentes densidades de hospedeiros, irá influenciar a dinâmica das populações envolvidas na interação, já que diferentes parasitoides podem ter distinta capacidade de parasitar o hospedeiro em baixas ou mais elevadas densidades, influenciando seu controle (Begon *et al.*, 1990).

### **2.4.3 Superparasitismo**

O superparasitismo consiste na deposição de ovos em hospedeiro previamente parasitado por um indivíduo da mesma espécie (van Dijken & Waage, 1987). Uma fêmea de parasitoide só pode evitar o superparasitismo se for capaz de reconhecer que um hospedeiro foi previamente atacado, ou de distinguir hospedeiros com número variável de ovos no seu interior, o que é denominado “discriminação de hospedeiro” (Godfray, 1994). Segundo Bakker *et al.* (1989), algumas espécies de parasitoides himenópteros podem distinguir entre

hospedeiros parasitados contendo diferentes números de ovos, tornando possível a escolha de larvas menos parasitadas.

Apesar da oviposição em hospedeiros não parasitados oferecer maior sucesso à prole, o superparasitismo ocorre frequentemente em condições naturais e de laboratório, em diversas espécies (Janssen, 1989).

O superparasitismo foi tratado, durante certo tempo, como um erro dos parasitoides. Sob o ponto de vista das espécies, aparentemente não há benefícios em realizar postura em um hospedeiro já parasitado. No entanto, o superparasitismo pode promover a seleção natural, através da competição intraespecífica (Bakker *et al.*, 1985). González *et al.* (2007) sugeriram que o superparasitismo não ocasiona efeitos negativos para a população de *D. longicaudata*, pois seleciona uma melhor habilidade de vôo e maior produção de fêmeas, aumentando o sucesso reprodutivo da espécie.

A discriminação do hospedeiro é um fenômeno observado em diversas espécies de diferentes famílias de parasitoides pertencentes à ordem Hymenoptera (Vinson, 1976). Este fenômeno se torna particularmente importante quando os hospedeiros são escassos ou quando o custo de discriminação do hospedeiro é muito alto e a produção de ovos não é limitada, permitindo à fêmea do parasitoide ovipositar em um hospedeiro, mesmo que seus descendentes tenham menor probabilidade de sobrevivência (Visser *et al.*, 1992).

Avaliando o superparasitismo de *Fopius arisanus* (Sonan) (Hymenoptera: Braconidae), Wang & Messing (2008) observaram que nenhuma fêmea aceitou larvas de *C. capitata* previamente parasitadas por elas mesmas. De acordo com os autores, mesmo larvas parasitadas por coespecíficos não foram aceitas quando as fêmeas tiveram experiência prévia com larvas não parasitadas. O

tempo de experiência pode influenciar positivamente a capacidade de discriminação entre hospedeiros parasitados ou não (Van Alphen & Jervis, 1996).

Em trabalho envolvendo *D. longicaudata* parasitando larvas de *A. suspensa*, Montoya *et al.* (2000) encontraram uma correlação negativa entre o número de marcas de oviposição por pupário e a porcentagem de emergência do parasitoide. Conforme os autores, esta correlação pode ser atribuída aos efeitos negativos do superparasitismo, já que, no tratamento onde foi verificado o maior número de marcas, houve um decréscimo de 33,4% na emergência de parasitoides.

O superparasitismo pode ser influenciado, ainda, pelo tamanho do hospedeiro, já que este pode ser utilizado como indicador da qualidade do mesmo para oviposição em várias espécies de parasitoides (Sequeira & Mackauer, 1992). Hospedeiros maiores apresentam maior abundância de recursos, permitindo o desenvolvimento de indivíduos maiores e mais competitivos, com maior potencial reprodutivo (Chau & Mackauer, 2001). Um exemplo disto é que *D. longicaudata* apresenta maior emergência, longevidade, fecundidade e velocidade na busca por hospedeiros, quando desenvolvida em organismos maiores (López *et al.*, 2009).

Segundo modelo proposto por Van Alphen & Visser (1990), para parasitoides solitários, o superparasitismo pode ocorrer sob as mesmas condições que favorecem a oviposição em hospedeiros de baixa qualidade. Assim, o superparasitismo pode não ocorrer quando há abundância de hospedeiros não parasitados. De acordo com os autores, quando o reconhecimento da larva hospedeira é instantâneo, a decisão de superparasitar ou não, pode ser baseada na disponibilidade de larvas não parasitadas.

Assim, a relação entre o número de fêmeas do parasitoide e o de larvas do hospedeiro é determinante no sucesso de parasitismo e, conseqüentemente, na multiplicação de um agente de controle biológico. Em experimentos realizados em *D. longicaudata*, sobre *A. ludens*, as razões de parasitoide/hospedeiro em que ocorreram superparasitismo mais intenso foram aquelas em que havia menor densidade de larvas hospedeiras por parasitoide, e a estas correspondiam valores menores de emergência de parasitoides (Montoya *et al.*, 2000).

#### **2.4.4 Preferência por espécie hospedeira**

Estudos envolvendo a preferência e a qualidade de espécies de hospedeiros podem fornecer importantes informações para a criação massal e uso dos parasitoides como agentes de controle biológico (Silva *et al.*, 2008).

Pesquisas sobre preferência por espécie hospedeira, de modo geral, avaliam o efeito do hospedeiro sobre os índices de parasitismo, a emergência de parasitoides e a razão sexual da prole gerada (Ovruski *et al.*, 2011). Alguns trabalhos acerca de relações tritróficas também já foram realizados para investigar os efeitos da qualidade do hospedeiro e da composição química de plantas hospedeiras sobre o desenvolvimento e sobrevivência de parasitoides (Barbosa *et al.*, 1986). Eben *et al.* (2000) verificaram um efeito significativo das espécies de plantas hospedeiras na preferência e performance de fêmeas de *D. longicaudata*, afetando o tamanho do parasitoide, a longevidade e o sucesso reprodutivo. Segundo observado pelos autores, *A. ludens* criada em manga (*Mangifera indica* L.) foi um melhor hospedeiro que *A. obliqua* criada no mesmo fruto ou quaisquer destas espécies hospedeiras desenvolvidas sobre toranja (*Citrus paradisi* Macfaden).

A taxa de emergência de fêmeas pode ser utilizada como um indicativo da preferência de um parasitoide pelo hospedeiro, conforme demonstrado nos trabalhos de Milne (1988), Eben *et al.* (2000), Mansfield & Mills (2004) e Ovruski *et al.* (2011).

O reconhecimento da adequação nutricional e da qualidade do hospedeiro por parte da fêmea do parasitoide implica na aceitação deste, indicando que o hospedeiro apresenta características nutricionais e fisiológicas mínimas para o desenvolvimento das formas jovens do parasitoide (Mackauer *et al.*, 1996). O hospedeiro representa o ambiente nutricional e fisiológico para o desenvolvimento dos parasitoides imaturos (Colinet *et al.*, 2005). Segundo Arthur (1981), as fêmeas do parasitoide podem realizar provas sobre o hospedeiro para avaliar seu conteúdo, prejudicando o desenvolvimento do mesmo, sem, no entanto, realizar oviposição.

Alguns modelos assumem que o desempenho (tamanho, desenvolvimento, razão sexual, fecundidade e longevidade) de um parasitoide está relacionado com o tamanho do hospedeiro no momento do parasitismo (Nicol & Mackauer, 1999; Chau & Mackauer, 2001). Fêmeas de *D. longicaudata* preferiram larvas maiores para o desenvolvimento de sua prole (Messing *et al.*, 1993; Cancino *et al.*, 2002; López *et al.*, 2009). O tamanho do hospedeiro também pode influenciar diretamente o do parasitoide gerado (Godfray, 1994). Segundo Jervis (2005), parasitoides maiores tendem a apresentar maior chance de sucesso reprodutivo, com fecundidade e fertilidade superiores.

A relação entre as características do hospedeiro no momento do parasitismo e o ganho no desempenho do parasitoide, entretanto, não é linear e depende da combinação de vários fatores relacionados ao hospedeiro, tais como

fisiologia, comportamento e qualidade nutricional (Mackauer *et al.*, 1996; Colinet *et al.*, 2005).

A taxa de parasitismo de *F. arisanus* foi investigada por Quimio (2001) nos hospedeiros *Bactrocera tryoni* Froggart, *Bactrocera jarvisi* (Tryon) e *Bactrocera cucumis* French, expostos ao parasitoide separadamente ou em teste de dupla-escolha. Segundo o autor, *F. arisanus* parasitou as três espécies de moscas-das-frutas, mas apresentou forte preferência por *B. tryoni*, dando origem a maior número de parasitoides.

A preferência de *D. longicaudata* por larvas de *A. fraterculus* ou *C. capitata* foi avaliada por Ovruski *et al.* (2011), os quais registraram diferença significativa na escolha entre os hospedeiros, quando estes foram oferecidos separadamente às fêmeas do braconídeo. No entanto, em testes de dupla-escolha, *D. longicaudata* mostrou forte preferência por *A. fraterculus*, apresentando número maior de fêmeas do parasitoide emergidas desta espécie de mosca-das-frutas. Contudo, no referido trabalho, não foi avaliada a influência da origem das fêmeas do parasitoide.

A espécie hospedeira na qual a fêmea se desenvolveu também pode influenciar a taxa de parasitismo (Papaj & Lewis, 1993). O aprendizado e a memória, referente ao hospedeiro em que o parasitoide se desenvolveu pode representar uma adaptação para lidar com as imprevisibilidades do ambiente (Alcock, 2005).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os indivíduos de *D. longicaudata*, *C. capitata* e *A. fraterculus* utilizados nos bioensaios foram oriundos das criações mantidas no Laboratório de Biologia, Ecologia e Controle Biológico de Insetos, do Departamento de Fitossanidade, na Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em câmara climatizada, a  $25 \pm 2$  °C, umidade relativa do ar de  $65 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas.

#### 3.1 Criação de *Ceratitidis capitata*

Os primeiros exemplares de *C. capitata* foram obtidos de frutos infestados de jambo-branco (*Eugenia aquea* Cambess, Myrtaceae) e de caquizeiro-mole (*Diospyrus kaki* L., Ebenaceae) coletados, respectivamente, em Porto Alegre, RS, e na Estação Experimental Agrônômica da UFRGS, Eldorado do Sul, RS, em 2008.

A criação de *C. capitata* foi baseada na metodologia proposta por Terán (1976), com adaptações. Os adultos foram mantidos em gaiolas de madeira (45 x 30 x 30 cm), recobertas nas laterais com tecido tipo voile (Figura 1A). Água destilada era oferecida em potes de plástico de 140 ml, disponibilizada através de tiras de pano Spontex Resist<sup>®</sup>, inseridas em tampa perfurada. O alimento oferecido era constituído de açúcar cristal, levedo de cerveja, gérmen de trigo e

extrato de soja (3:1:1:1) e complexo vitamínico (Diarium<sup>®</sup> – VitaminLife), na proporção de um comprimido macerado para cada 250 g de dieta. Os ingredientes eram misturados e a dieta disponibilizada em placas de Petri, trocada duas vezes por semana.

Como substrato de oviposição, era utilizado um tubo plástico (Figura 1B) de 250 ml, de cor laranja, com orifícios nas laterais feitos com agulha de injeção, de seringa de 10 ml, através dos quais as fêmeas realizavam a postura (FAO/IAEA/USDA, 2003). Um pequeno volume (aproximadamente 30 ml) de água destilada era mantido no fundo desses tubos para que os ovos não desidratassem. Diariamente a água dos tubos era substituída e a que continha os ovos transferida para um copo de Becker de 200 ml, o qual permanecia em câmara climatizada ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $65 \pm 10\%$  UR e sem fotofase) por 24 horas. Após, ovos eram retirados da água com a ajuda de uma pipeta plástica e distribuídos sobre um recorte de papel toalha (2 x 6 cm), disposto sobre a dieta das larvas (Figura 1C).

A dieta artificial para larvas de *C. capitata* era composta por cenoura crua descascada (125 g), cenoura cozida (125 g), levedo de cerveja (25 g), farinha de milho (150 g), açúcar (125 g), água destilada (175 ml), nipagin<sup>®</sup> (1,1 g), ácido cítrico (3,6 g), benzoato de sódio (1,1 g) e sulfato de estreptomicina (0,5 g) (adaptado de Téran, 1976). Os ingredientes eram misturados no liquidificador e a mistura distribuída em bandejas quadradas de isopor (15 x 15 x 2 cm).

As bandejas de dieta, já com os ovos distribuídos sobre recortes de toalhas de papel, eram tapadas com outra similar, embrulhadas em jornal e colocadas em câmara climatizada ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ;  $65 \pm 10\%$  UR; em escotofase) por cinco dias.

Após este período, as bandejas eram colocadas sobre areia em bandejas plásticas maiores, para pupação. Após dez dias, a areia era peneirada para retirar os pupários, que eram acondicionados em caixas gerbox® (11 x 11 x 3,5 cm) e mantidos até a emergência em câmara climatizada. Com aproximadamente 400 pupários, montava-se uma nova gaiola. Os adultos de *C. capitata* eram mantidos nas gaiolas por um período de 20 dias, sendo a seguir eliminados.

### **3.2 Criação de *Anastrepha fraterculus***

A criação de *A. fraterculus* foi estabelecida utilizando-se pupários oriundos de pitangas (*Eugenia uniflora* L.) (Myrtaceae) coletadas em Porto Alegre, RS, nos anos de 2008 e 2009. Os adultos obtidos foram mantidos em gaiolas de estrutura de madeira idênticas àsquelas utilizadas para criação de *C. capitata* (Figura 1A), recebendo água e alimento seguindo a mesma metodologia utilizada para a mosca-do-mediterrâneo.

A partir dos sete dias de idade das moscas, era oferecido um painel de oviposição confeccionado com uma placa de Petri plástica de 15 cm de diâmetro (Figura 1D), da qual se retirava uma área de 11 cm de diâmetro do fundo e substituía-se por tecido voile coberto por silicone frio de cor preta. Esta placa era colocada sobre a face superior da gaiola de criação de *A. fraterculus*, contendo água no seu interior. As fêmeas ovipositavam através dos tecidos da gaiola neste painel e os ovos ficavam retidos na água. Diariamente, a água do interior da placa era trocada e os ovos decantados e dispostos sobre recortes de tecido voile de cor azul, os quais eram mantidos por dois dias sob fina lâmina de água, em placa de Petri embalada com papel (Figura 1D), em condições controladas ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ;  $65 \pm 10\%$  UR; em escotofase). Após este período, os recortes eram colocados

sobre dieta de larvas em bandejas, seguindo o descrito no item 3.1, assim como os demais procedimentos. Cada gaiola de *A. fraterculus* era mantida por um período de 30 dias, sendo os insetos, após este período, mortos e descartados.

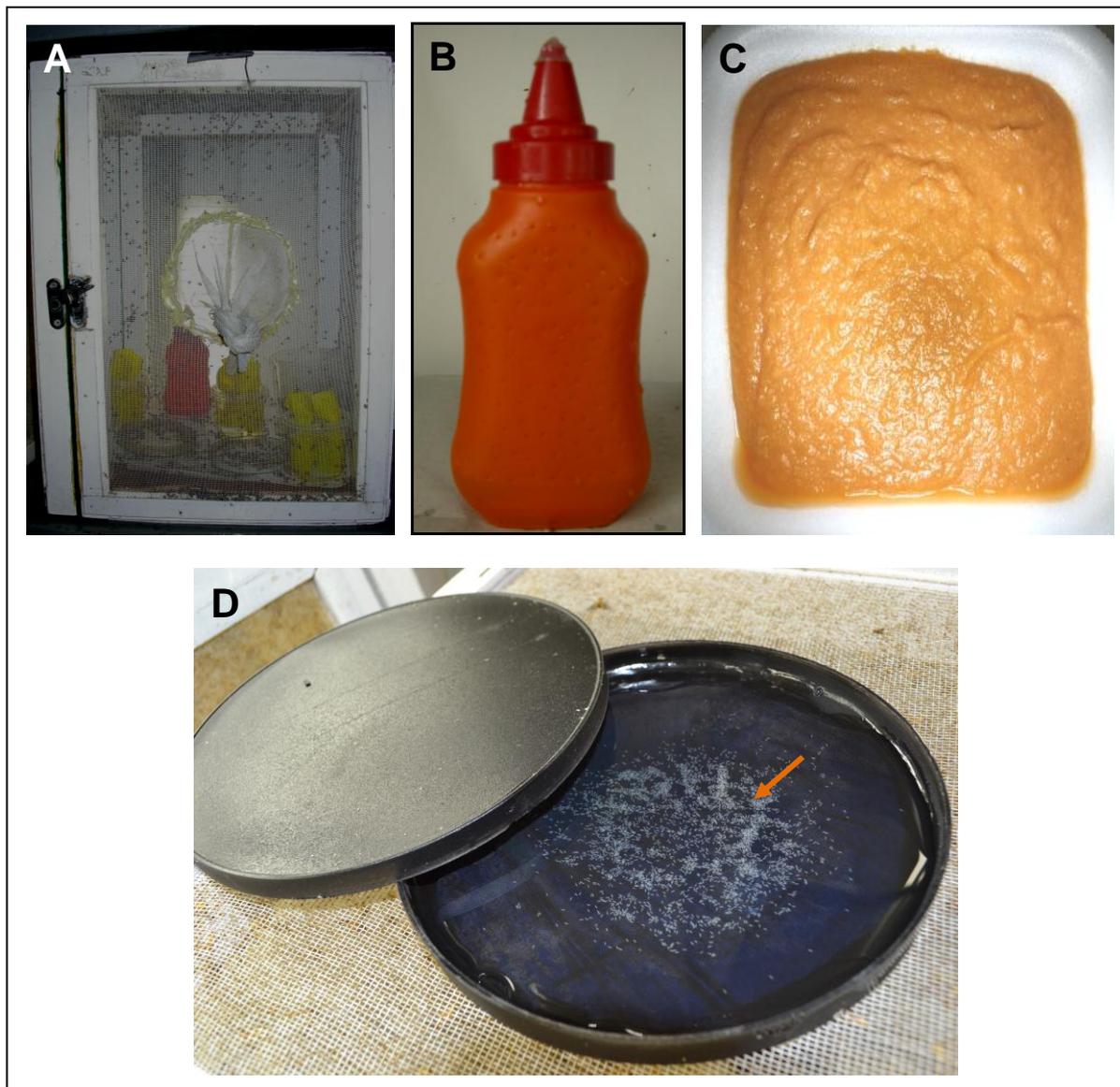


FIGURA 1. Metodologia de criação *Ceratitidis capitata* ou *Anastrepha fraterculus*: gaiola de adultos (A), tubo plástico utilizado como substrato de oviposição de *C. capitata* (B), dieta artificial para larvas de moscas-das-frutas (C) e substrato artificial para oviposição de *A. fraterculus* (ovos indicados pela seta)(D).

### 3.3 Criação de *Diachasmimorpha longicaudata*

A criação de *D. longicaudata* (Figura 2A) foi estabelecida a partir de pupários provenientes do Laboratório de Entomologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical (Embrapa/CNPMPF), fornecidas pelo Dr. Antônio Nascimento, em dezembro de 2008. A criação do parasitoide foi mantida de acordo com a metodologia proposta por Carvalho *et al.* (1998). Os adultos (cerca de 30 casais) eram colocados em gaiolas com armação de madeira (20 x 15 x 15 cm), coberta nas laterais com tecido voile (Figura 2B). A água era fornecida em frascos de vidro (50 ml) com tampa perfurada, disponibilizada por capilaridade através de tiras de tecido Spontex Resist<sup>®</sup>. A dieta dos adultos consistia de água destilada (120 ml), mel (120 ml), agar-ágar (1,8 g), ácido ascórbico (0,05 g) e nipagin<sup>®</sup> (0,005 g). O ágar era diluído em água fervente e, após, misturava-se os outros ingredientes. A mistura, ainda líquida, era distribuída em placas de Petri de 5 cm de diâmetro (Figura 2C). As placas eram deixadas em temperatura ambiente até que a dieta esfriasse, adquirindo consistência geleificada e armazenadas em refrigerador ( $\pm 4$  °C) por até dez dias. Em cada gaiola de criação era disponibilizada uma placa de dieta, a qual era trocada duas vezes por semana.

Para manutenção da criação eram utilizadas, como hospedeiros, larvas de terceiro instar (aproximadamente 12 dias) de *C. capitata* e *A. fraterculus*. As larvas de moscas-das-frutas eram expostas aos parasitoides em número de 40 a 50, em unidades de parasitismo (Figura 2D), pendurados no alto da gaiola (Figura 2B) dos adultos de *D. longicaudata*, por uma hora, uma vez ao dia.

Os substratos de oviposição eram confeccionados com tecido voile, um anel plástico e uma tampa plástica. As larvas eram colocadas sobre o voile e prensadas com a tampa contra o anel plástico, as bordas do tecido eram presas

com atilho de borracha. Cada gaiola recebia até três unidades de parasitismo por dia, conforme a disponibilidade de larvas e as necessidades da criação.

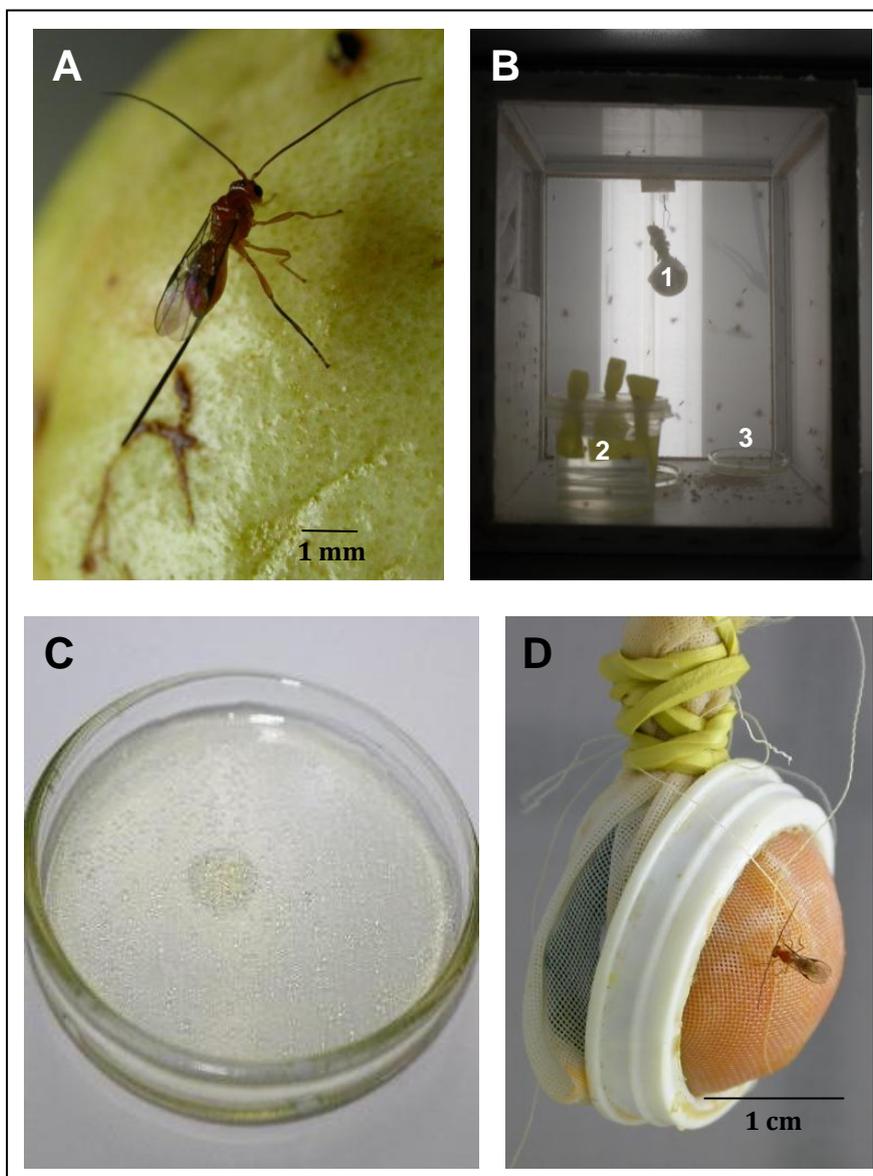


FIGURA 2. Criação de *Diachasmimorpha longicaudata*: fêmea adulta do parasitoide (A), gaiola de criação de adultos de *D. longicaudata* com unidade de parasitismo (1), potes de água (2) e placa de alimento (3) (B), placa com alimento para adultos de *D. longicaudata* (C) e unidade de parasitismo utilizada na criação (D).

### 3.4 Resposta funcional de *Diachasmimorpha longicaudata*

A resposta funcional de fêmeas de *D. longicaudata* foi avaliada, independentemente, em sete densidades de hospedeiros (larvas de terceiro instar de *C. capitata* ou *A. fraterculus*), definidas após bioensaio piloto. As densidades determinadas foram de 1, 3, 5, 10, 25, 35 ou 55 larvas de moscas-das-frutas por unidade de parasitismo. O número de repetições por densidade variou em função da disponibilidade de hospedeiros. Para *C. capitata*, foram feitas 46, 20, 35, 34, 35, 28 e 20 repetições, respectivamente, para cada densidade e para *A. fraterculus* 20 em todas as densidades. As repetições variaram conforme a disponibilidade de insetos para os bioensaios.

As larvas eram expostas em unidades de parasitismo confeccionadas a partir de duas placas retangulares de acrílico (10 x 8 cm), sendo que uma delas possuía uma abertura (4 x 6 cm) forrada com voile, por onde as fêmeas do parasitoide tinham acesso às mesmas, de modo que todas as larvas ficassem igualmente expostas (Figura 3A). As larvas dos hospedeiros eram depositadas sobre o voile, cobertas com a dieta de criação e, com a outra placa, eram levemente prensadas para limitar o movimento das mesmas, sendo a espessura da área de exposição igual a 2 mm. As duas placas eram unidas com atilho de borracha. As unidades de parasitismo eram oferecidas individualmente, penduradas na parede da gaiola, diante de fonte luminosa, a uma fêmea copulada de quatro ou cinco dias de idade, escolhida aleatoriamente, durante três horas, seguindo metodologia de Montoya *et al.* (2000).

As fêmeas do parasitoide permaneciam com os machos desde a emergência, na proporção sexual 1:1. Um dia antes do experimento, eram oferecidas às fêmeas, por três horas, larvas de *C. capitata* ou *A. fraterculus*, de

acordo com a espécie de hospedeiro que seria utilizada no experimento subsequente, baseado em metodologia de Montoya *et al.* (2000), na mesma unidade de parasitismo, para que adquirissem experiência.

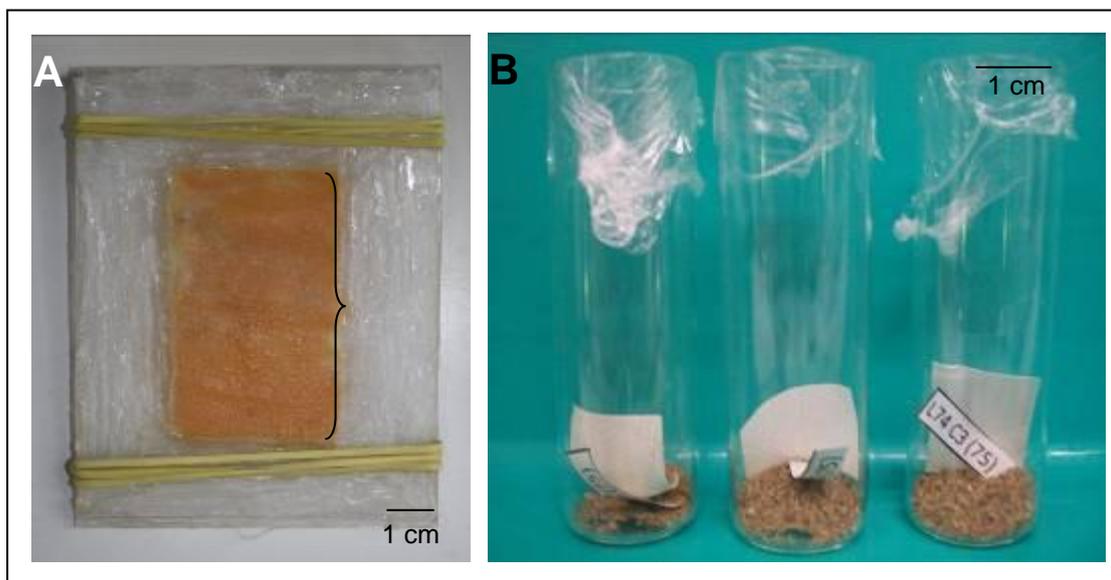


FIGURA 3. Materiais utilizados nos experimentos de resposta funcional: unidade de parasitismo, com área de exposição delimitada pelo colchete contendo larvas do hospedeiro (A) e tubos de vidro usados para pupação (B).

Após três horas de exposição, todas as larvas foram individualizadas e acondicionadas em tubos de vidro (8 cm de comprimento x 2 cm de diâmetro) para pupação (Figura 3B), identificados com etiquetas de papel, contendo areia esterilizada previamente borrifada com Nipagin<sup>®</sup> a 10%, diluído em álcool 96°. Os tubos foram fechados com filme plástico e mantidos na mesma câmara climatizada, até a emergência do parasitoide ou da mosca.

Foi registrada a porcentagem de parasitismo (parasitoides emergidos/parasitoides + moscas emergidos). O número de parasitoides emergidos, somado ao número daqueles encontrados durante a dissecação dos

pupários, de onde não emergiram insetos, definiu o número de larvas parasitadas ( $Np$ ).

A mortalidade de larvas, natural ou em função do manuseio e/ou da forma de exposição, foi obtida mantendo-se unidades de parasitismo controle, com cada uma das sete densidades, por três horas dentro das gaiolas de experimento, em frente à fonte de luz, contando, sem a presença de fêmea do parasitoide. As larvas, após esse período, foram individualizadas em tubos de vidro, até a emergência das moscas. Foram realizadas dez repetições do controle para cada densidade de larvas.

Os valores médios da mortalidade controle foram comparados àqueles registrados nos ensaios de exposição a *D. longicaudata*, através do teste de Kruskal-Wallis, a 5% de significância.

#### **3.4.1 Estimativa de parâmetros e análise numérica da resposta funcional**

O número de larvas parasitadas ( $Np$ ) nas diferentes densidades de hospedeiros ( $N$ ), obtido por meio dos ensaios de resposta funcional, foi utilizado para estimar a eficiência de busca ( $E$ ), que é a probabilidade de um dado parasitoide encontrar qualquer hospedeiro em um tempo  $T$  determinado, através da fórmula:

$$E = Np/N$$

O tipo de resposta funcional foi estimado através do ajuste dos dados observados ( $Np$ ), ao modelo de resposta funcional sigmoidal dado pela equação dos discos de Holling (1959b), após terem sido testados seus pressupostos:

$$Np = \frac{bNo^2T}{1 + cNo + bTmNo^2}$$

sendo:

$Np$  = número de larvas atacadas

$No$  = número de larvas expostas

$T$  = tempo total de exposição

$Tm$  = tempo de manuseio

$b$  e  $c$  = constantes matemáticas (valores fixos pertencentes a uma fórmula – equação dos discos de Holling)

O tempo de manuseio ( $Tm$ ) de *D. longicaudata*, que abrange o momento da localização do hospedeiro, a sua manipulação, oviposição, sinalização e tempo gasto para gerar novos ovos, foi estimado através da equação dos discos de Holling (1959b) pelo método dos quadrados mínimos não lineares (procedimento NLIN, método de Marquardt) do aplicativo SAS System (SAS Institute, 2004). Com base no  $Tm$ , foi possível estimar o tempo de manuseio total ( $Tm_{total}$ ) que é a soma dos tempos de manuseios de cada ocasião; o tempo de busca ( $Tb$ ), que envolve os mecanismos de localização do hospedeiro; a taxa de ataque ( $a'$ ), que representa a proporção de indivíduos encontrados parasitados, e; o número máximo de larvas que uma fêmea de *D. longicaudata* seria capaz de parasitar em um tempo estabelecido ( $Np_{max}$ ), através das fórmulas abaixo:

$$Tm_{total} = Tm \times Np$$

$$Tb = T - (Tm_{total})$$

$$a' = Np / (N \times Tb)$$

$$Np_{max} = T / Tm$$

A normalidade dos dados observados ( $Np$ ,  $Tm$  e  $Tb$ ) e estimados ( $Tm_{total}$ ,  $Tb$ ,  $a'$  e  $E$ ) foi verificada através do teste Kolmogorov-Smirnov. As diferenças nos valores médios observados foram submetidas ao teste de Kruskal-Wallis a 5% de significância.

A qualidade do ajuste ao modelo de resposta funcional foi testado através do pseudo- $r^2$  (SAS Institute 2004), calculado a partir da soma dos quadrados da (SQ) da análise não-linear, onde:

$$\text{Pseudo-}r^2 = 1 - (\text{resíduo da SQ} / \text{total corrigido da SQ})$$

A porcentagem de emergência de parasitoides e a mortalidade total de moscas-das-frutas, entre as densidades testadas, foram comparadas através do teste do Qui quadrado de heterogeneidade, a 5 % de significância.

As análises estatísticas foram efetuadas através dos programas computacionais Bioestat 5.0 (Ayres *et al.*, 2007) e SAS System (SAS Institute, 2004).

### 3.5 Comportamento de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* sobre unidades contendo larvas de *Ceratitidis capitata*

Durante a realização dos experimentos-piloto de resposta funcional em *C. capitata* foram determinados os padrões de comportamento realizados por uma fêmea de *D. longicaudata*. Os movimentos observados foram: *inspeção* (1), quando a fêmea andava sobre a unidade de parasitismo vibrando as antenas e tocando o substrato; *contato bucal* (2), onde o inseto se mantinha parado sobre a unidade, inclinava-se e encostava o aparelho bucal no substrato; *punctura* (3), em que a fêmea efetuava a inserção do ovipositor através da membrana de tecido voile presente na região central da unidade onde estavam as larvas de *C. capitata* e *limpeza* (4), quando o parasitoide, pousado na unidade de parasitismo, limpava as asas, pernas, ovipositor ou aparelho bucal. Também foi contabilizado o tempo que cada fêmea permaneceu *fora* da unidade de parasitismo (5) e ainda, *parada* (6) sobre as margens da unidade, sem efetuar nenhum comportamento dos descritos acima.

O comportamento de fêmeas do parasitoide foi registrado de forma concomitante à realização dos experimentos de resposta funcional em *C. capitata*, anotando-se a sequência e o tempo de duração em segundos de cada comportamento, com auxílio do software Etholog 2.2.5. Este registro foi realizado com objetivo de obter o tempo médio de manuseio e busca, observados em cada densidade do hospedeiro, e aplicá-los à equação dos discos de Holling, obtendo-se, por isolamento das variáveis, valores equivalentes às constantes matemáticas *b* e *c* pertencentes à fórmula. Estes valores foram lançados como parâmetros na aplicação do método dos quadrados mínimos não lineares (procedimento NLIN, método de Marquardt) do aplicativo SAS System (SAS Institute, 2004).

As observações foram realizadas por 60 minutos, e iniciadas após uma hora de exposição das unidades de parasitismo às fêmeas de *D. longicaudata*, período no qual estas apresentaram maior atividade, de acordo com os experimentos piloto. Foram realizadas, no mínimo, dez repetições para cada densidade de larvas (1, 5, 10, 25, 35 e 55). As observações não foram repetidas para a mosca-das-frutas da espécie *A. fraterculus*, já que os dados não são essenciais para traçar a resposta funcional realizada pelo parasitoide sobre o hospedeiro.

Foram elaborados etogramas para as diferentes densidades, nos quais foram incluídos os padrões de comportamento que foram executados por mais de um indivíduo observado. Os dados foram submetidos à análise estatística descritiva, calculando-se as médias, erros padrões e variâncias do tempo total de duração das categorias de comportamento em cada densidade, sendo os resultados comparados por Kruskal-Wallis e pelo teste do Qui quadrado de heterogeneidade, ambos a 5% de significância. O tempo total em atividade e o tempo total sem exercer qualquer ação também foram comparados, pelo teste do Qui-quadrado, a 5% de significância, entre as densidades. As análises foram realizadas através do software Bioestat 5.0.

### **3.6 Superparasitismo de *Diachasmimorpha longicaudata* em *Ceratitis capitata* e *Anastrepha fraterculus***

A interferência mútua, influência de parasitoides coespecíficos na mesma unidade de parasitismo sobre a resposta funcional e o superparasitismo foram avaliados em experimento usando cinco diferentes relações de larvas de

hospedeiro por fêmea de parasitoide, equivalentes às estabelecidas no experimento piloto. Foram testadas as seguintes proporções entre fêmeas de parasitoides/hospedeiros: 4:1, 2:1, 1:1, 1:2 e 1:4, além da proporção 0:1, controle, que permitiu estimar a mortalidade natural das larvas de moscas, baseado em metodologia utilizada por Montoya *et al.* (2000). Como hospedeiros, foram utilizadas larvas de terceiro instar de *A. fraterculus* ou de *C. capitata*, expostas nas unidades de parasitismo já descritas para os experimentos de resposta funcional (Figura 3A), de acordo com a quantidade de fêmeas do parasitoide disponível na data, nunca excedendo 40 larvas de mosca oferecidas na unidade.

As fêmeas copuladas de *D. longicaudata*, utilizadas no experimento, tinham cinco dias de idade e, 24 horas antes do experimento, foram previamente expostas por três horas a larvas de terceiro instar do respectivo hospedeiro, para obterem experiência na unidade de oviposição. Depois da exposição, as larvas de cada repetição foram mantidas em grupo, em recipientes plásticos com substrato de areia esterilizada para pupação. Após 72 horas do fim do experimento, os pupários de moscas-das-frutas foram observados sob estereomicroscópio (em aumento de 50X) para contagem do número de puncturas ou marcas de oviposição (Figura 4A) e dissecados para contagem do número de larvas de *D. longicaudata* (Figura 4B), conforme Montoya *et al.*(2000) e González *et al.* (2007). Este experimento foi repetido, para cada hospedeiro, até que se alcançasse tamanho amostral mínimo de 120 pupários dissecados para cada proporção, já que ocorria mortalidade de larvas.

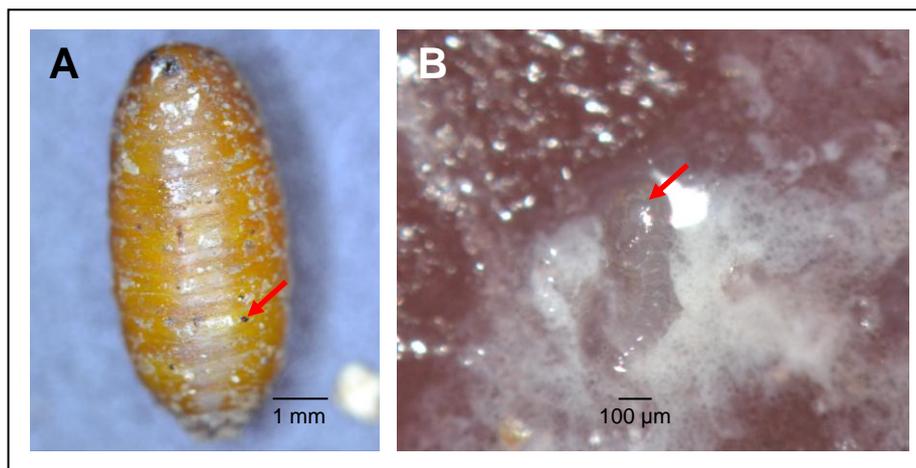


FIGURA 4. Parasitismo de *Diachasmimorpha longicaudata* em moscas-das-frutas: marcas de oviposição (seta) em pupário (A) e larva do parasitoide (seta) no interior de pupário de moscas-das-frutas (B).

Diferenças nos dados apontados no experimento de superparasitismo foram testadas por análise de variância e as médias comparadas por teste de Kruskal-Wallis a 5% de significância.

A diferença entre o número de pupários que apresentava superparasitismo, considerado sempre que um pupário continha pelo menos duas larvas de parasitoide, entre as espécies e entre as densidade foi comparada pelo teste de Mann-Whitney, a 5 % de significância.

### 3.7 Avaliação da preferência de *Diachasmimorpha longicaudata* por hospedeiro

A preferência de fêmeas de *D. longicaudata* pela espécie hospedeira foi avaliada oferecendo-se concomitantemente dez larvas de terceiro instar de *A. fraterculus* e dez de *C. capitata* a uma fêmea experiente de cinco dias de idade, em unidades de parasitismo (Figura 3A), por três horas. O período de experiência consistiu em oferecer larvas de mosca-das-frutas por uma hora, 72 horas antes do experimento. As fêmeas testadas tinham duas origens: emergidas da criação

em larvas de *C. capitata* ou emergidas da primeira geração em larvas de *A. fraterculus*.

O bioensaio de preferência foi repetido vinte vezes para cada origem das fêmeas de *D. longicaudata*. Após a exposição, as larvas foram acondicionadas em areia esterilizada para pupação e mantidas até a emergência. O número de parasitoides e/ou moscas emergidas de cada uma das espécies hospedeiras foi registrado e comparado por teste de Wilcoxon. A proporção de indivíduos parasitados em cada espécie hospedeira, oriundos de cada origem, foi comparada pelo teste Exato de Fisher, ambos a 5% de significância, através do software Bioestat 5.0.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Comportamento de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* expostas a larvas de *Ceratitis capitata*

O comportamento de oviposição registrado para fêmeas de *D. longicaudata* compreendeu seis categorias, sendo elas inspeção, punctura, contato bucal, parada, limpeza e fora da unidade de parasitismo, sem evidenciar um padrão de ocorrência definido (Figuras 5 a 7), visto que as frequências de execução das categorias foram muito similares e estas não apresentaram uma sequência recorrente. A ausência de um comportamento padrão pode estar relacionada à breve experiência com a unidade de parasitismo, à que as fêmeas foram submetidas, apenas no dia anterior ao experimento, por um período de três horas. Segundo Lawrence *et al.* (1978), fêmeas acasaladas de *D. longicaudata* com 72 horas de experiência em oviposição maturam seus ovos mais rapidamente e realizam mais posturas do que aquelas com 24 horas de experiência, fato que refletiria no comportamento de busca dos indivíduos.

O tempo total médio de duração de todas as categorias de comportamento, no período de uma hora de observação, não diferiu significativamente entre as densidades de hospedeiros testadas, sendo elas: *fora* ( $\chi^2_{\text{calc}} = 2,2001$ ), *parada* ( $\chi^2_{\text{calc}} = 4,8873$ ), *inspeção* ( $\chi^2_{\text{calc}} = 0,4063$ ), *punctura* ( $\chi^2_{\text{calc}} = 0,7137$ ), *contato*

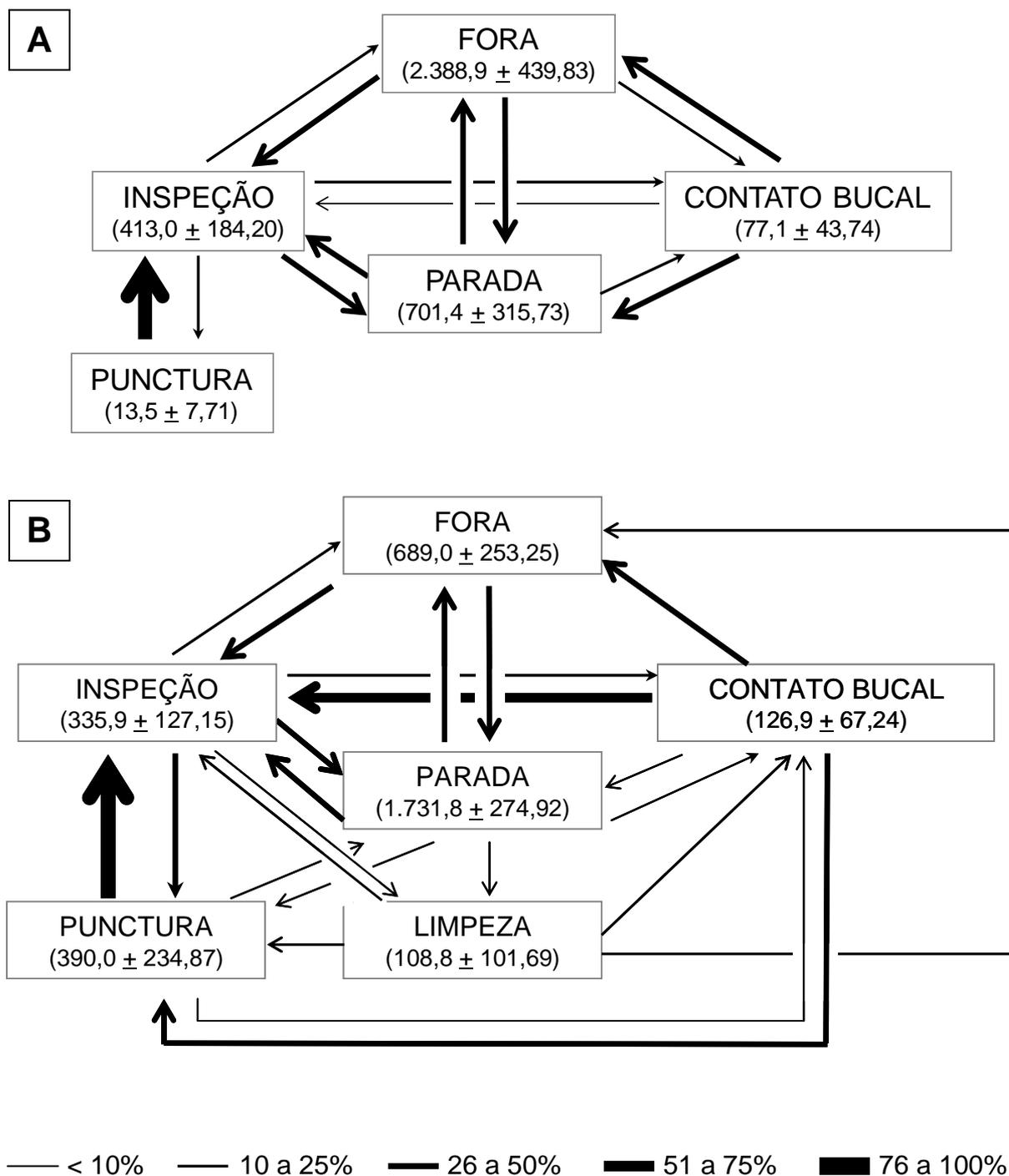


FIGURA 5. Etogramas de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* expostas a unidades de parasitismo contendo larvas de *Ceratitis capitata*: densidade um ( $n = 10$ ) (A) e densidade cinco ( $n = 11$ ) (B). A espessura das flechas indica a porcentagem de ocorrência de cada categoria a partir de uma antecedente. Números dentro dos quadros indicam o tempo total médio ( $\pm$  EP), em segundos, de ocorrência da categoria em cada ocasião.

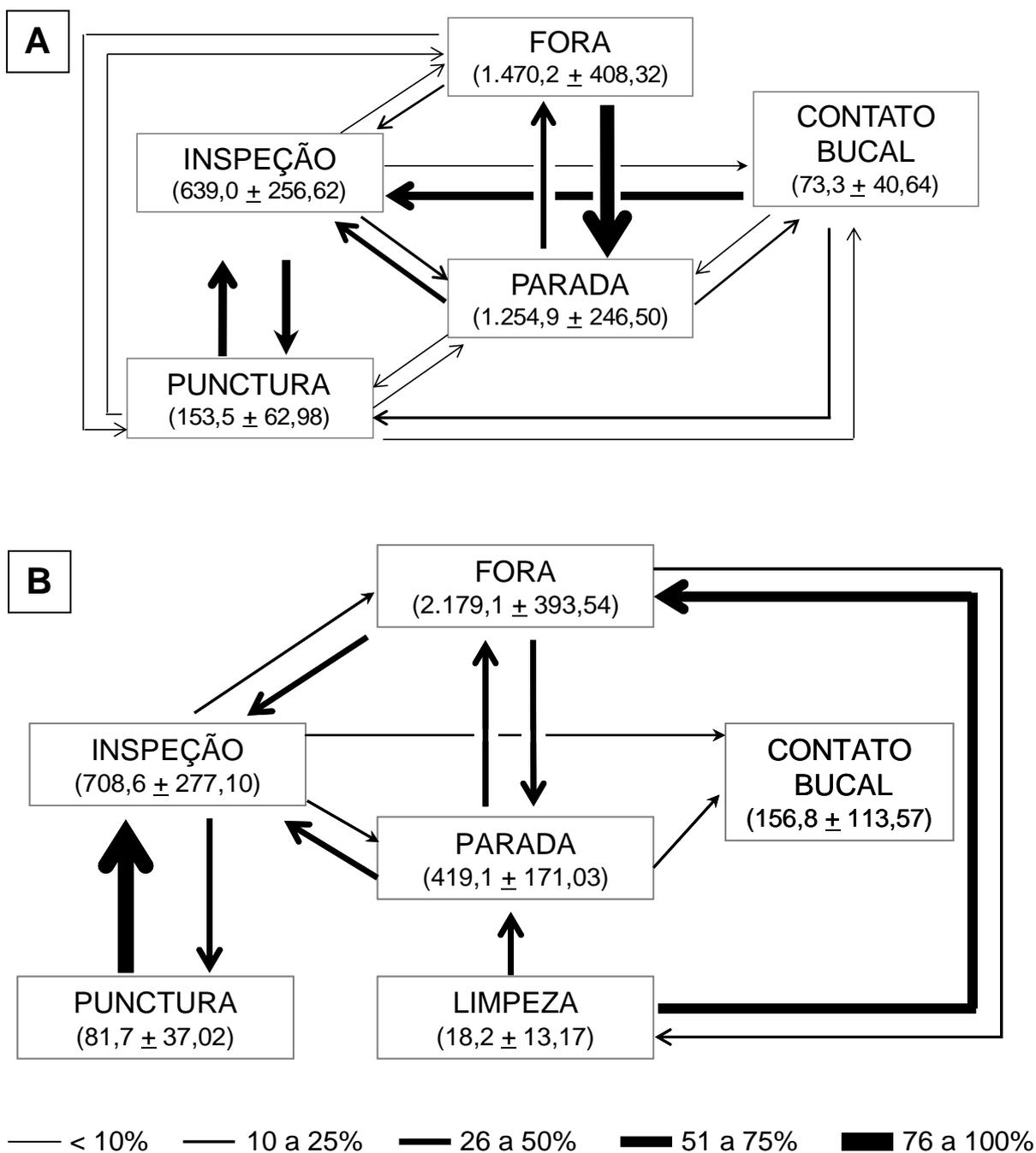


FIGURA 6. Etogramas de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* expostas a unidades de parasitismo contendo larvas de *Ceratitis capitata*: densidade dez ( $n = 10$ ) (A) e densidade 25 ( $n = 12$ ) (B). A espessura das flechas indica a porcentagem de ocorrência de cada categoria a partir de uma antecedente. Números dentro dos quadros indicam o tempo total médio ( $\pm$  EP), em segundos, de ocorrência da categoria em cada ocasião.

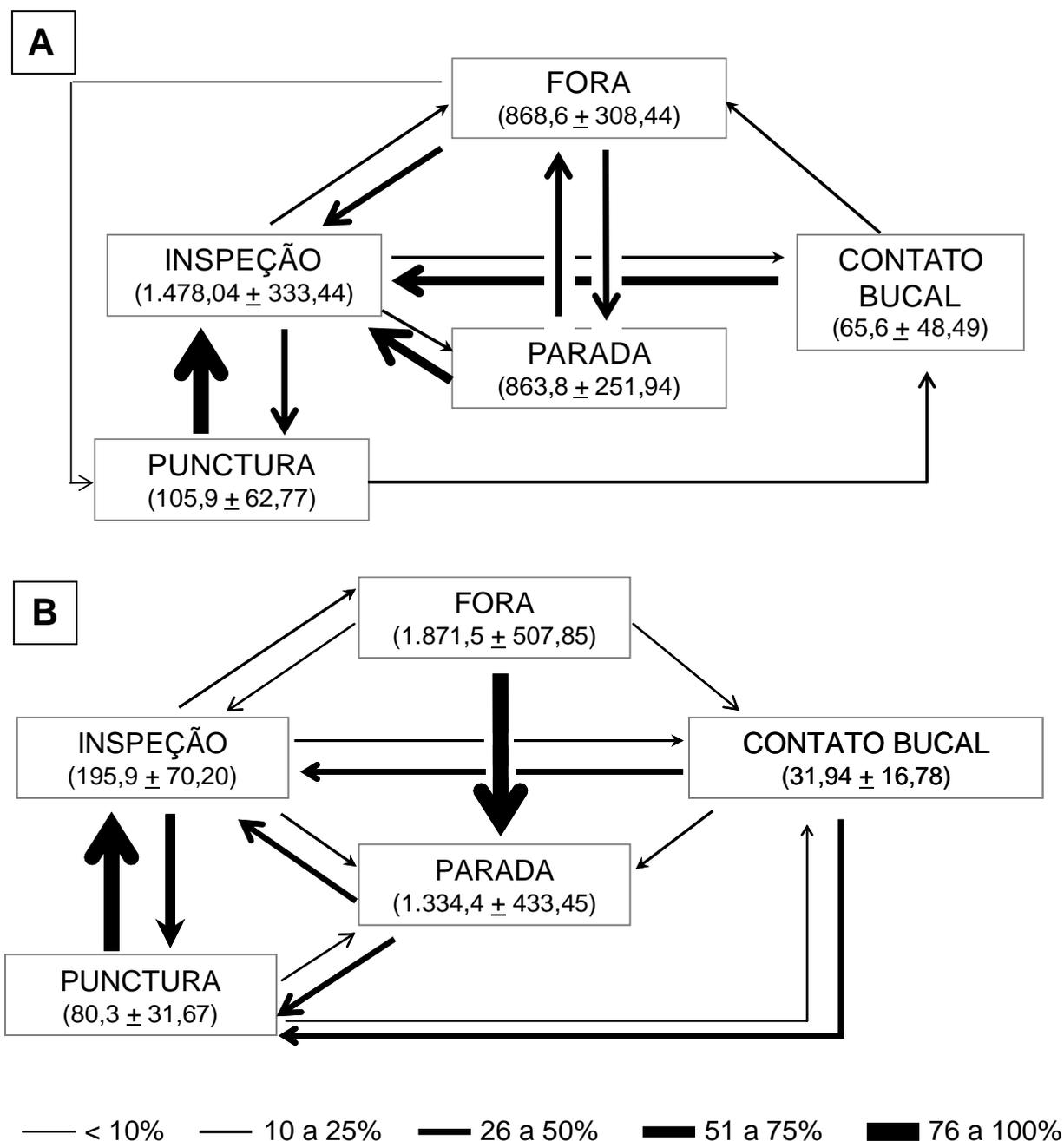


FIGURA 7. Etogramas de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* expostas a unidades de parasitismo contendo larvas de *Ceratitidis capitata*: densidade 35 (n = 10) (A) e densidade 55 (n = 10) (B). A espessura das flechas indica a porcentagem de ocorrência de cada categoria a partir de uma antecedente. Números dentro dos quadros indicam o tempo total médio ( $\pm$  EP), em segundos, de ocorrência da categoria em cada ocasião.

( $\chi^2_{\text{calc}} = 0,0078$ ) e *limpeza* ( $\chi^2_{\text{calc}} = 0,5547$ ) ( $\chi^2_{\text{tab}} = 12,592$ , gl = 6,  $P < 0,05$ ) (Tabela 1). Assim, parece não haver uma dependência entre a densidade de larvas e o comportamento de busca e de oviposição para esta espécie, sob as condições testadas.

No entanto, considerando-se as categorias de comportamento agrupadas em tempo total de ação (inspeção, contato bucal, limpeza e punctura) e tempo total de inatividade (parado e fora), houve diferença significativa entre as densidades, onde o tempo total de ação aumentou com a elevação do número de larvas, enquanto o tempo total de inatividade diminuiu ( $\chi^2_{\text{calc}} = 973,3555$ ,  $\chi^2_{\text{tab}} = 11,070$ , gl = 5,  $P < 0,05$ ).

A partir destes resultados, é possível inferir que diferentes densidades de larvas oferecidas nas unidades de oviposição não influenciam a execução das categorias de comportamento de fêmeas de *D. longicaudata*. O encontro dos sítios de oviposição, segundo diversos autores, também poderia estar mais vinculado a voláteis emitidos por frutos atacados por mosca-das-frutas, a características físicas destes ou ainda à presença de coespecíficos.

Hickel (2002) observou que frutos com polpa mais fina são preferidos pelas fêmeas de parasitoides braconídeos para parasitismo. Bioensaios realizados por Harris & Bautista (1996) mostraram que a preferência de oviposição de *Bioesteres arisanus* (Sonan) (Hym., Braconidae) variou de acordo com a espécie do fruto infestado, embora a porcentagem de parasitoides emergidos não tenha variado. Aguiar-Menezes & Menezes (1997) ressaltaram que há uma associação dos parasitoides de tefritídeos, não apenas com as espécies de mosca, mas com os frutos hospedeiros. Esses autores encontraram maiores índices de parasitismo

TABELA 1. Duração total média (em segundos) ( $\pm$  EP) da execução de cada categoria de comportamento de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* quando expostas a diferentes densidades de larvas de *Ceratitidis capitata*, por um período de exposição de uma hora. Valores entre parênteses indicam o número de repetições realizadas.

| Categorias de comportamento | Densidades de larvas (N) |                     |                     |                     |                     |                     |
|-----------------------------|--------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                             | 1 (10)                   | 5 (11)              | 10 (10)             | 25 (12)             | 35 (10)             | 55 (10)             |
| Fora                        | 2388,9 $\pm$ 439,83      | 688,9 $\pm$ 253, 25 | 1470,2 $\pm$ 408,32 | 2179,1 $\pm$ 393,57 | 868,6 $\pm$ 308,44  | 1871,5 $\pm$ 507,85 |
| Inspeção                    | 413 $\pm$ 184,20         | 335,8 $\pm$ 127,15  | 639 $\pm$ 246,62    | 708,6 $\pm$ 277,10  | 1478,4 $\pm$ 333,44 | 195,8 $\pm$ 70,20   |
| Punctura                    | 13,5 $\pm$ 7,71          | 390 $\pm$ 234,87    | 153,4 $\pm$ 62,98   | 81,7 $\pm$ 37,02    | 105,9 $\pm$ 62,77   | 80,3 $\pm$ 31,68    |
| Parada                      | 701,4 $\pm$ 315,73       | 1731,8 $\pm$ 274,92 | 1254,9 $\pm$ 246,50 | 419,1 $\pm$ 171,03  | 863,8 $\pm$ 251,94  | 1334,4 $\pm$ 433,48 |
| Contato bucal               | 77,1 $\pm$ 43,74         | 126,9 $\pm$ 67,24   | 73,3 $\pm$ 40,64    | 156,7 $\pm$ 113,57  | 65,6 $\pm$ 48,49    | 31,9 $\pm$ 16,78    |
| Limpeza                     | 1,9 $\pm$ 3,40           | 108,8 $\pm$ 176,14  | 3,0 $\pm$ 5,27      | 18,2 $\pm$ 22,81    | 72,5 $\pm$ 85,81    | 28,6 $\pm$ 40,84    |

em mirtáceas nativas da região estudada, o que pode estar associado ao reconhecimento de sinais específicos.

A influência das características físicas de frutos infestados, dos voláteis emitidos por estes ou da presença de outros indivíduos da espécie no comportamento de fêmeas não foram avaliados neste trabalho, já que os experimentos foram realizados em unidade artificial, não em fruto hospedeiro, e as fêmeas foram observadas individualmente.

Embora não tenham sido verificadas diferenças no tempo gasto na execução de cada uma das categorias de comportamento avaliadas em diferentes densidades de larvas, foi observado um aumento no tempo médio em que as fêmeas de *D. longicaudata* efetuaram qualquer atividade (inspeção, punctura, contato bucal ou limpeza), associado à elevação da densidade do hospedeiro. Estes resultados contribuem para a compreensão do comportamento de fêmeas da espécie associado à sua resposta funcional, através da expressão do tempo de gasto em busca e manuseio do hospedeiro.

#### **4.2 Resposta funcional de *Diachasmimorpha longicaudata***

O número médio de larvas de *C. capitata* parasitadas por uma fêmea de *D. longicaudata* foi maior com o aumento da densidade das oferecidas (ou expostas) ( $H = 83,9439$ ;  $gl = 6$ ;  $P < 0,0001$ ) (Tabela 2). Entre as densidades mais baixas testadas (uma, três e cinco larvas) este número não diferiu ( $P > 0,05$ ), o mesmo foi observado entre as densidades 35 e 55 ( $P > 0,05$ ). No entanto, quando se comparou as menores (1, 3 e 5) e as maiores densidades (35 e 55) o número foi significativamente diferente ( $P < 0,05$ ) (Tabela 2).

TABELA 2. Número médio observado (valores brutos e transformados por  $\sqrt{x+1}$ ) e estimado de larvas de *Ceratitis capitata* parasitadas por fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* ( $N_p$ ), expostas a diferentes densidades do hospedeiro ( $N$ ), porcentagem de larvas parasitadas e valores estimados de taxa de ataque ( $a'$ ), eficiência de busca ( $E$ ), tempo de manuseio total ( $Tm_{total}$ ) e tempo de busca ( $Tb$ ), a partir do modelo randômico da equação dos discos de Holling. Os dados referem-se a um tempo total de exposição de três horas. Valores entre parênteses indicam o número de repetições realizadas.

| Média ± E.P.                        | Densidade de larvas oferecidas (N) |   |                             |    |                             |    |                            |    |                             |    |                             |    |                             |    |
|-------------------------------------|------------------------------------|---|-----------------------------|----|-----------------------------|----|----------------------------|----|-----------------------------|----|-----------------------------|----|-----------------------------|----|
|                                     | 1 (46)                             |   | 3 (20)                      |    | 5 (35)                      |    | 10 (34)                    |    | 25 (35)                     |    | 35 (28)                     |    | 55 (20)                     |    |
| $N_p$ observado<br>(valores brutos) | 0,04 ± 0,087                       | c | 0,19 ± 0,7                  | bc | 0,19 ± 0,943                | bc | 2,03 ± 0,34                | ab | 2,71 ± 0,45                 | ab | 5,0 ± 0,7                   | a  | 4,85 ± 0,85                 | a  |
| $N_p$ observado<br>(transformado)   | 1,04 ± 0,017                       | c | 1,27 ± 0,072                | bc | 1,34 ± 0,065                | bc | 1,65 ± 0,095               | ab | 1,81 ± 0,113                | ab | 2,32 ± 0,150                | a  | 2,29 ± 0,177                | a  |
| $N_p$ estimado                      | 0,22                               |   | 0,64                        |    | 1,02                        |    | 1,82                       |    | 3,44                        |    | 4,15                        |    | 5,11                        |    |
| % larvas parasitadas                | 8,7                                |   | 23,3                        |    | 18,9                        |    | 20,3                       |    | 10,9                        |    | 14,3                        |    | 8,2                         |    |
| $a'$                                | 0,0005 ± 2x10 <sup>-4</sup>        | b | 0,0014 ± 4x10 <sup>-4</sup> | a  | 0,0011 ± 2x10 <sup>-4</sup> | a  | 0,001 ± 2x10 <sup>-4</sup> | a  | 0,0006 ± 9x10 <sup>-5</sup> | a  | 0,0008 ± 9x10 <sup>-5</sup> | ab | 0,0005 ± 5x10 <sup>-5</sup> | ab |
| $E$                                 | 0,09 ± 0,042                       | b | 0,23 ± 0,064                | a  | 0,19 ± 0,034                | a  | 0,20 ± 0,029               | a  | 0,11 ± 0,016                | a  | 0,14 ± 0,016                | a  | 0,09 ± 0,010                | a  |
| $Tm$ total (min)                    | 1,83 ± 0,886                       | c | 13,70 ± 3,83                | bc | 19,88 ± 4,141               | bc | 42,8 ± 7,095               | ab | 57,24 ± 9,572               | ab | 105,5 ± 14,87               | a  | 102,29 ± 18,121             | a  |
| $Tb$ (min)                          | 178,17 ± 0,886                     | a | 166,29 ± 3,83               | ab | 160,12 ± 4,141              | ab | 137,2 ± 7,095              | bc | 122,76 ± 9,572              | bc | 74,55 ± 14,87               | c  | 77,71 ± 18,121              | c  |

Médias seguidas de mesma letra, nas linhas, não diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ( $\alpha=0,05$ ).

Apesar de ser possível observar um acréscimo no número médio de larvas parasitadas, a porcentagem de parasitismo (porcentagem de larvas parasitadas) foi decrescente ao longo das densidades. A porcentagem de parasitismo elevou-se da densidade mais baixa (uma larva), alcançando um máximo de 23,3% na de três larvas, mas tornou a diminuir nas demais (Tabela 2).

Em *A. fraterculus*, o número médio de larvas parasitadas por fêmea de *D. longicaudata* também aumentou com a elevação da densidade de larvas ( $H = 83,7169$ ;  $gl = 6$ ;  $P < 0,0001$ ) (Tabela 3). Contudo, entre as menores densidades de larvas (1, 3, 5 e 10), este número foi semelhante ( $P > 0,05$ ). Comparando-se as densidades mais baixas (1, 3, 5 e 10) com as mais elevadas (35 e 55), a diferença observada no número de larvas parasitadas foi significativa ( $P < 0,05$ ) (Tabela 3). Os maiores valores de porcentagem de parasitismo foram registrados nas densidades 3, 35 e 55, sendo a máxima taxa de parasitismo (55%) obtida na densidade três, do mesmo modo que em *C. capitata* (Tabela 2).

A proporção de parasitoides emergidos de larvas de *C. capitata* variou de 6,5% na densidade um a 21,66%, na densidade três, tornando a diminuir com o aumento do número de larvas. A porcentagem de parasitoides emergidos foi reduzida com o aumento do número de larvas oferecidas ( $\chi^2_{\text{calc}} = 178,6304$ ,  $\chi^2_{\text{tab}} = 12,592$ ,  $gl = 6$  e  $P < 0,05$ ) (Figura 8). A mortalidade total de *C. capitata*, contabilizando-se a morte na fase de larva e de pupas da mosca, somada ao número de parasitoides emergidos, foi maior à medida que aumentou a densidade de larvas oferecidas, apresentando diferença significativa ( $\chi^2_{\text{calc}} = 168,99$ ,  $\chi^2_{\text{tab}} = 12,592$ ,  $gl = 6$  e  $P < 0,05$ ) (Figura 8).

TABELA 3. Número médio observado (valores brutos e transformados por  $\sqrt{x+1}$ ) e estimado de larvas de *Anastrepha fraterculus* parasitadas por fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* ( $N_p$ ), expostas a diferentes densidades do hospedeiro ( $N$ ), porcentagem de larvas parasitadas e valores estimados de taxa de ataque ( $a'$ ), eficiência de busca ( $E$ ), tempo de manuseio total ( $Tm_{total}$ ) e tempo de busca ( $Tb$ ), a partir do modelo randômico da equação dos discos de Holling. Os dados referem-se a um tempo de exposição de três horas. Valores entre parênteses indicam o número de repetições realizadas.

| Média ± E.P.                        | Densidade de larvas oferecidas (N) |                               |                               |                               |                               |                               |                                |
|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
|                                     | 1 (20)                             | 3 (20)                        | 5 (20)                        | 10 (20)                       | 25 (20)                       | 35 (20)                       | 55 (20)                        |
| $N_p$ observado<br>(valores brutos) | 0,25 ± 0,099 c                     | 1,65 ± 0,232 c                | 0,5 ± 0,139 c                 | 1,85 ± 0,296 bc               | 3,85 ± 0,513 ab               | 11,05 ± 0,954 a               | 10,85 ± 0,983 a                |
| $N_p$ observado<br>(transformado)   | 1,10 ± 0,027 c                     | 1,59 ± 0,075 c                | 1,18 ± 0,055 c                | 1,59 ± 0,098 bc               | 2,06 ± 0,130 ab               | 3,34 ± 0,185 a                | 3,28 ± 0,233 a                 |
| $N_p$ estimado                      | 0,001                              | 0,02                          | 0,05                          | 0,26                          | 4,02                          | 10,99                         | 10,84                          |
| % larvas parasitadas                | 25                                 | 55                            | 10                            | 18,5                          | 15,4                          | 31,54                         | 19,72                          |
| $a'$                                | 0,0024 ± 9x10 <sup>-4</sup> b      | 0,0046 ± 7x10 <sup>-4</sup> a | 0,0007 ± 3x10 <sup>-4</sup> b | 0,0012 ± 3x10 <sup>-4</sup> b | 0,0009 ± 2x10 <sup>-4</sup> b | 0,0021 ± 3x10 <sup>-4</sup> a | 0,0012 ± 2x10 <sup>-4</sup> ab |
| $E$                                 | 0,25 ± 0,099 b                     | 0,55 ± 0,077 a                | 0,10 ± 0,004 b                | 0,18 ± 0,045 b                | 0,15 ± 0,031 b                | 0,32 ± 0,041 a                | 0,20 ± 0,027 ab                |
| $Tm$ total (min)                    | 19,10 ± 7,59 c                     | 126,11 ± 17,77 c              | 38,21 ± 16,17 c               | 141,40 ± 34,30 ac             | 294,26 ± 59,53 ab             | 844,6 ± 110,50 b              | 929,27 ± 113,94 b              |
| $Tb$ (min)                          | 160,90 ± 7,59 a                    | 53,89 ± 17,77 a               | 141,79 ± 16,17 a              | 38,60 ± 34,30 a               | ---                           | ---                           | ---                            |

Médias seguidas de mesma letra, nas linhas, não diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ( $\alpha=0,05$ ).

A mortalidade observada nas densidades 1, 5, 10, 25 e 55, de larvas de *C. capitata* (considerando-se a morte na fase de larva e de pupas da mosca, sem contabilizar a emergência de parasitoides), não diferiu significativamente da observada nas testemunhas ( $P > 0,05$ ). No entanto, na densidade três esta foi superior ( $H = 4,8859$ ,  $gl = 1$ ,  $P < 0,05$ ) e 35 ( $H = 4,4579$ ,  $gl = 1$ ,  $P < 0,05$ ), em relação ao seu controle.

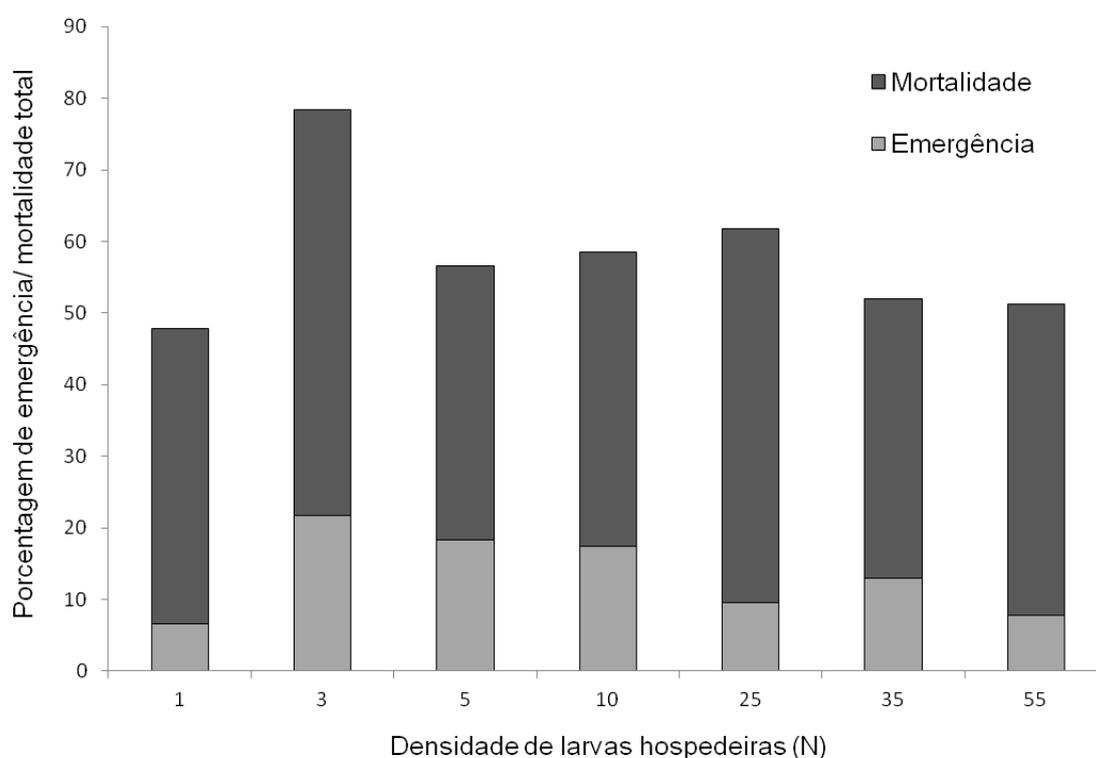


FIGURA 8. Porcentagem de emergência de *Diachasmimorpha longicaudata* e mortalidade total de *Ceratitidis capitata*, em diferentes densidades de larvas oferecidas ao parasitoide (N). Os valores referem-se aos dados observados (valores brutos).

Em larvas de *A. fraterculus*, a proporção de parasitoides emergidos foi diferente entre as densidades ( $\chi^2_{\text{calc}} = 101,4673$ ,  $\chi^2_{\text{tab}} = 12,592$ ,  $gl = 6$ ,  $P < 0,05$ ) e o maior valor foi registrado na densidade três (36,66%), diminuindo a partir desta (Figura 9). A mortalidade total de *A. fraterculus* diminuiu junto com a densidade de

larvas oferecidas, e diferiu as diferentes densidades ( $\chi^2_{\text{calc}} = 59,4562$ ,  $\chi^2_{\text{tab}} = 12,592$ , gl = 6,  $P < 0,05$ ) (Figura 9).

A mortalidade de larvas e de pupas de *A. fraterculus* observada nas densidades 1, 3, 5, 25, 35 e 55 não diferiu significativamente da verificada nas testemunhas ( $P > 0,05$ ). No entanto, na densidade de 10 larvas esta foi superior à da testemunha ( $H = 12,4484$ , gl = 1,  $P < 0,05$ ).

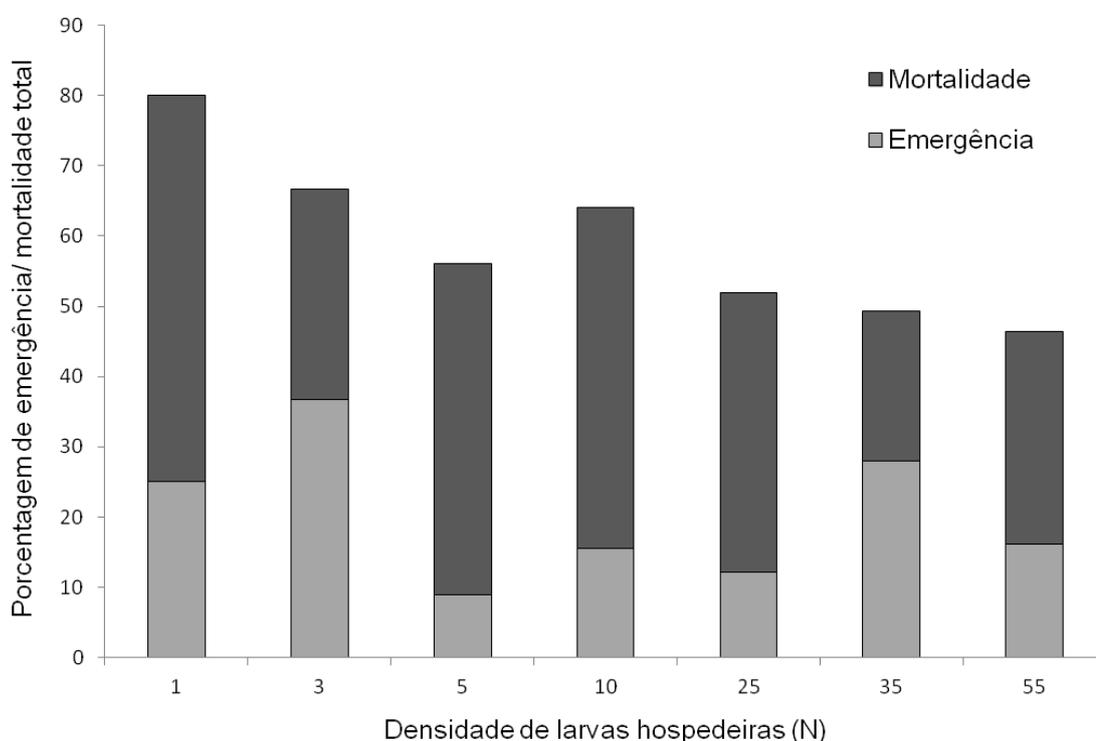


FIGURA 9. Porcentagem de emergência de *Diachasmimorpha longicaudata* e de mortalidade total de *Anastrepha fraterculus*, sob diferentes densidades de larvas oferecidas ao parasitoide (N). Os valores referem-se aos dados observados (valores brutos).

Avaliando-se o parasitismo de *D. longicaudata* em ambas as espécies de mosca-das-frutas, o número médio de indivíduos parasitados ( $N_p$ ) foi superior em *A. fraterculus*, nas densidades três ( $H = 8,4647$ ), 35 ( $H = 13,2522$ ) e 55 ( $H = 9,0215$ ) ( $P < 0,05$ ). O  $N_p$  foi semelhante, entre os hospedeiros, nas densidades

um ( $H = 1,0978$ ;  $P = 0,2947$ ), cinco ( $H = 2,0845$ ;  $P = 0,1488$ ), 10 ( $H = 0,0845$ ;  $P = 0,7713$ ) e 25 ( $H = 1,2131$ ;  $P = 0,2707$ ).

Quando comparada a mortalidade entre os hospedeiros (sem considerar a emergência de parasitoides), *C. capitata* apresentou valores superiores aos de *A. fraterculus* nas densidades três ( $H = 5,3371$ ;  $P = 0,0209$ ), 35 ( $H = 17,1475$ ;  $P < 0,0001$ ) e 55 ( $H = 10,0522$ ;  $P = 0,0015$ ), coincidindo com as densidades onde o número de larvas parasitadas foi superior para *A. fraterculus*. A mortalidade não diferiu entre as espécies de mosca-das-frutas nas densidades um ( $H = 1,1335$ ;  $P = 0,287$ ), cinco ( $H = 1,715$ ;  $P = 0,1903$ ), 10 ( $H = 1,7219$ ;  $P = 0,1805$ ), 25 ( $H = 2,5182$ ;  $P = 0,1125$ ).

Durante a atividade de parasitismo, o ferimento causado pela punctura realizada por fêmeas de *D. longicaudata* pode ter sido mais prejudicial para as larvas de *C. capitata*, menores que as de *A. fraterculus*, levando-as à morte, o que exerceria controle da espécie praga, sem, no entanto, a geração de um novo parasitoide. Para o controle populacional da espécie praga a campo, esta característica pode ser vantajosa, entretanto, para fins de multiplicação do parasitoide através de criação massal, *A. fraterculus* poderia apresentar melhores resultados como hospedeiro.

O teste de ajuste dos resultados de parasitismo ao modelo randômico, em ambas as espécies de mosca-das-frutas, evidenciou uma resposta funcional tipo III, confirmada pelo alto pseudo- $r^2$  (0,9768 e 0,9785 para *C. capitata* e *A. fraterculus*, respectivamente). Embora graficamente não se observem curvas de formato sigmoidal, há uma ascendência acentuada da taxa de parasitismo entre as três primeiras densidades, tornando-se a inflexão das curvas mais tênue a partir da densidade 10 (Figuras 10 e 11). Além disso, o  $Tm$  total elevou-se com o

aumento da disponibilidade de hospedeiros (Tabelas 2 e 3), concordando com uma resposta funcional tipo III. Através do método dos quadrados mínimos não lineares foi possível estimar os valores para o componente  $Tm$  (21,09 min em *C. capitata* e 76,43 min em *A. fraterculus*). O número máximo de hospedeiros que podem ser parasitados no período de tempo considerado (três horas) foi estimado em 8,53 larvas de *C. capitata* e 2,35 larvas de *A. fraterculus*.

Apesar dos valores de  $Tm$  estimados nos dois hospedeiros terem sido elevados, nota-se que os de  $Tm_{total}$  (tempo de manuseio de todas as ocasiões de manuseio somadas) calculados com base em dados observados, foram bastante inferiores aos estimados pelo método, nas densidades de larvas mais baixas (Tabelas 2 e 3). Além disso, em *A. fraterculus*, o número máximo de hospedeiros que podem ser parasitados no período de tempo considerado (três horas), foi igual a 2,35 larvas, valor superado pelos dados observados nas densidades 25, 35 e 55 (Tabela 3), mostrando que o  $Tm$  pode ter sido superestimado pelo método dos quadrados mínimos não lineares. Ao avaliar o tempo de manuseio total ( $Tm_{total}$ ) registrou-se, nas duas espécies de mosca-das-frutas, uma tendência ao aumento à medida que a densidade de hospedeiros aumentava ( $P < 0,05$ ), o que é confirmado pelo número crescente de indivíduos parasitados ( $Np$ ) observado com o aumento das densidades (Tabelas 2 e 3).

Em relação ao tempo de busca estimado ( $Tb$ ) constatou-se uma diminuição à medida que a densidade de hospedeiros aumentava (Tabelas 2 e 3). Resposta que corrobora Hassell (1978), segundo o qual espécies que tem resposta funcional sigmoideal ou curvilínea, apresentam um aumento do  $Tb$  à medida que a densidade de hospedeiros é reduzida.

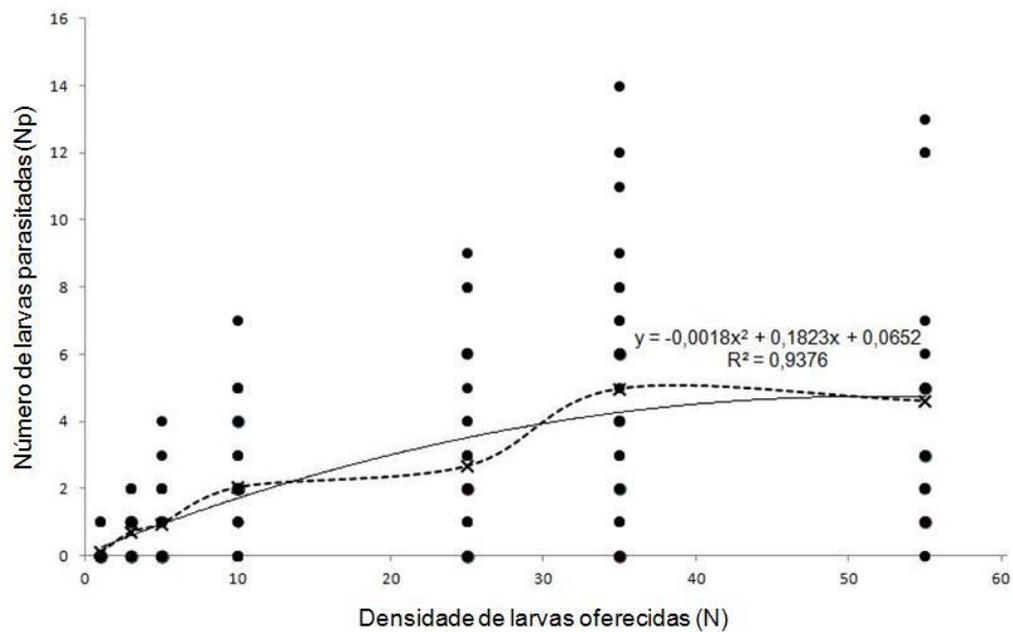


FIGURA 10. Resposta funcional de *Diachasmimorpha longicaudata* em *Ceratitis capitata*: ●, número de larvas parasitadas em cada repetição; x, número médio de larvas parasitadas para cada densidade. A linha contínua refere-se ao ajuste do modelo polinomial aos dados observados.

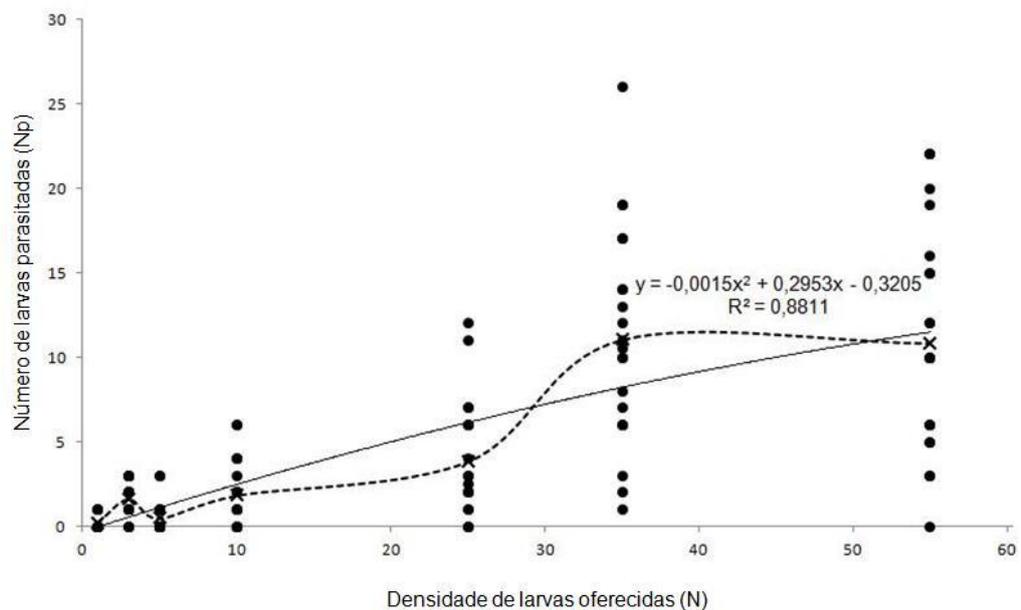


FIGURA 11. Resposta funcional de *Diachasmimorpha longicaudata* em *Anastrepha fraterculus*: ●, número de larvas parasitadas em cada repetição; x, número médio de larvas parasitadas para cada densidade. A linha contínua refere-se ao ajuste do modelo polinomial aos dados observados.

A eficiência de busca estimada ( $E$ ) e a taxa instantânea de ataque ( $a$ ) se mantiveram constantes com o aumento da densidade para *C. capitata* ( $P > 0,05$ ) (Tabela 2), enquanto em *A. fraterculus*, estes parâmetros apresentaram valores significativamente superiores nas densidades 3, 35 e 55 ( $P < 0,05$ ), correspondentes também às maiores porcentagens de larvas parasitadas (Tabela 3).

Diferente do que foi observado neste trabalho, diversos autores citam que a resposta funcional tipo III se aplica, mais comumente, ao comportamento de vertebrados predadores, sendo a tipo II a mais frequente entre invertebrados (Hassell *et al.*, 1977; Jervis & Kidd, 1996).

De fato, em alguns trabalhos, a resposta do tipo II foi encontrada para himenópteros parasitoides (Canto Silva, 2003; Carneiro *et al.*, 2010). Fujii *et al.* (1986) referiram que a resposta funcional do tipo III é mais característica de vertebrados predadores, que podem aprender a concentrar-se em uma presa quando esta é abundante, aumentando o tempo gasto em manuseio, do mesmo modo como demonstrado para *D. longicaudata* no presente trabalho, nas maiores densidades. No entanto, revisando estudos publicados de resposta funcional com insetos, Hassell *et al.* (1977) constataram que a do tipo sigmóide pode ser mais comum do que previamente suposto, mesmo em insetos predadores.

Montoya *et al.* (2000) também obtiveram ajuste da resposta funcional do tipo III para *D. longicaudata*, tendo como hospedeiro *A. ludens* (Loew). Segundo os autores, em condições naturais de campo, a resposta sigmóide poderia se mostrar mais comum, já que condições artificiais de laboratório seriam limitadoras.

Embora o modelo randômico apresente boa performance para descrever dados experimentais, nem sempre a estimativa dos parâmetros da resposta funcional pode ser extrapolada para a realidade (Hassell, 1978). No entanto, a utilização de modelos não lineares para a determinação dos parâmetros de resposta funcional tem-se mostrado a mais adequada (Juliano & Willians, 1987), em especial quando o objetivo é a avaliação de uma interação específica ou quando os parâmetros serão utilizados em modelos (Livdahl & Stiven, 1983).

A importância de conhecer o tipo de resposta funcional que um organismo apresenta, reside no fato que diferentes respostas representam distintos efeitos sobre a estabilidade das interações populacionais e, assim, refletem na eficácia de um programa de controle biológico (Hassell, 1978; Hassell & Waage, 1984). Entretanto, a extrapolação dos parâmetros obtidos em condições de laboratório para o campo, tem sido considerada com cautela, devido à artificialidade em que os experimentos são conduzidos e ao confinamento dos testes em arenas com dimensões, que de modo geral não reproduzem as densidades do campo. Independente destas limitações, os resultados aqui apresentados, associados a outras investigações a respeito da bioecologia das espécies envolvidas e, sobretudo acerca da dinâmica populacional do sistema, permitirão obter um panorama mais realista desta interação.

#### **4.3 Superparasitismo de *Diachasmimorpha longicaudata* em *Ceratitis capitata* e *Anastrepha fraterculus***

Os resultados evidenciaram a ocorrência de superparasitismo em *D. longicaudata* em larvas de ambos os hospedeiros, *C. capitata* e *A. fraterculus* em laboratório.

O número médio de marcas de oviposição por pupário diferiu entre as proporções de larvas de *C. capitata* X parasitoide, avaliadas ( $H = 170,1525$ ,  $gl = 4$ ,  $P < 0,0001$ ). O mesmo foi observado quanto ao número de larvas do parasitoide encontradas nos pupários após 72 horas da exposição ( $H = 131,0551$ ,  $gl = 4$ ,  $P < 0,0001$ ) (Tabela 4).

TABELA 4. Número médio ( $\pm$  EP) de marcas de oviposição por pupário hospedeiro e de larvas de primeiro instar de *Diachasmimorpha longicaudata*, nas diferentes razões de fêmeas de parasitoides e larvas de *Ceratitis capitata* (valores entre parênteses indicam o número de larvas hospedeiras expostas).

| Razão<br>parasitoide: hospedeiro | Número de        |          |                 |          |
|----------------------------------|------------------|----------|-----------------|----------|
|                                  | Marcas           |          | Larvas          |          |
| 4:1 (120)                        | 9,43 $\pm$ 0,89  | <b>b</b> | 6,94 $\pm$ 0,78 | <b>a</b> |
| 2:1 (123)                        | 13,20 $\pm$ 0,82 | <b>a</b> | 7,56 $\pm$ 0,66 | <b>a</b> |
| 1:1 (127)                        | 5,42 $\pm$ 0,33  | <b>b</b> | 1,70 $\pm$ 0,20 | <b>b</b> |
| 1:2 (133)                        | 3,19 $\pm$ 0,18  | <b>c</b> | 1,25 $\pm$ 0,13 | <b>b</b> |
| 1:4 (143)                        | 3,17 $\pm$ 0,28  | <b>c</b> | 0,87 $\pm$ 0,11 | <b>b</b> |

Valores seguidos de letras distintas, nas colunas, diferem estatisticamente entre si (Kruskal-Wallis,  $\alpha=0,05$ ).

Nos testes realizados com o hospedeiro *A. fraterculus*, também foi observado maior número de marcas nos pupários oriundos das proporções onde a densidade de hospedeiros era menor ( $H = 123,4763$ ,  $gl = 4$ ,  $P < 0,0001$ ), assim como um número superior de larvas de *D. longicaudata* ( $H = 139,7015$ ,  $gl = 4$ ,  $P < 0,0001$ ) (Tabela 5).

Resultados semelhantes aos deste trabalho foram descritos por Montoya *et al.* (2000) avaliando *D. longicaudata* sobre o hospedeiro *A. ludens*, onde nas razões 4:1 e 2:1 observaram maiores números de marcas e de larvas do

parasitoide, do que nas proporções com maior densidade de larvas do hospedeiro.

TABELA 5. Número médio ( $\pm$  EP) de marcas de oviposição por pupário hospedeiro e de larvas de primeiro instar de *Diachasmimorpha longicaudata*, nas diferentes razões de fêmeas do parasitoides e larvas de *Anastrepha fraterculus* (valores entre parênteses indicam o número de larvas hospedeiras expostas).

| Razão<br>parasitoide: hospedeiro | Número de                  |                          |
|----------------------------------|----------------------------|--------------------------|
|                                  | Marcas                     | Larvas                   |
| 4:1 (121)                        | 17,02 $\pm$ 0,96 <b>a</b>  | 9,35 $\pm$ 0,65 <b>a</b> |
| 2:1 (123)                        | 13,75 $\pm$ 0,82 <b>ab</b> | 7,0 $\pm$ 0,53 <b>a</b>  |
| 1:1 (120)                        | 11,38 $\pm$ 0,48 <b>b</b>  | 4,50 $\pm$ 0,26 <b>b</b> |
| 1:2 (136)                        | 10,63 $\pm$ 0,47 <b>b</b>  | 4,29 $\pm$ 0,23 <b>b</b> |
| 1:4 (124)                        | 6,08 $\pm$ 0,33 <b>c</b>   | 1,86 $\pm$ 0,13 <b>c</b> |

Valores seguidos de letras distintas, nas colunas, diferem estatisticamente entre si (Kruskal-Wallis,  $\alpha=0,05$ ).

Algumas espécies de parasitoides himenópteros tem a capacidade de distinguir entre hospedeiros parasitados contendo diferentes números de ovos, o que permitiria a estas escolher larvas menos parasitadas (Bakker *et al.*,1989). Embora Montoya *et al.* (2003) tenham afirmado que *D. longicaudata* é capaz de discriminar hospedeiros parasitados, isto não foi registrado no presente trabalho. O curto período de experiência a que foram submetidas as fêmeas do parasitoide pode ter influenciado este resultado. Van Alphen & Jarvis (1996) referiram que quanto maior o tempo de experiência, maior a capacidade de discriminação entre hospedeiros parasitados ou não. A escassez de recursos (hospedeiros) pode ser outro fator que leve as fêmeas a ovipositar em larvas previamente parasitadas.

Montoya *et al.* (2000) também verificaram que aquelas razões em que haviam ocorrido superparasitismo mais intenso correspondiam a valores menores de emergência de parasitoides, o que poderia ser atribuído aos efeitos negativos

do superparasitismo. Este dado não foi avaliado no presente trabalho, já que todos os pupários foram dissecados. No entanto, é razoável supor que, como as fêmeas de *D. longicaudata* realizaram superparasitismo em proporções semelhantes em *A. ludens*, nas espécies de hospedeiros avaliadas neste trabalho, a taxa de emergência também seria dependente da razão parasitoide/hospedeiro.

Os números médios ( $\pm$  EP) de registros de superparasitismo (registros de ocorrência ou não de mais de uma larva do parasitoide no interior de cada pupário), em larvas de *C. capitata*, foram de  $0,76 \pm 0,04$  (na razão 4:1),  $0,79 \pm 0,04$  (2:1),  $0,61 \pm 0,04$  (1:1),  $0,56 \pm 0,04$  (1:2) e  $0,44 \pm 0,04$  (1:4). Quando o hospedeiro testado foi *A. fraterculus*, os números médios de registro de superparasitismo ( $\pm$  EP) foram  $0,88 \pm 0,03$  (na razão 4:1),  $0,91 \pm 0,02$  (2:1),  $0,93 \pm 0,02$  (1:1),  $0,94 \pm 0,02$  (1:2) e  $0,81 \pm 0,03$  (1:4). Não houve diferença entre os valores observados entre os dois hospedeiros nas razões 4:1 ( $U = 6.405,5$ ,  $P = 0,1143$ ) e 2:1 ( $U = 6.642,0$ ,  $P = 0,0983$ ). No entanto, *A. fraterculus* apresentou maior registro de superparasitismo nas razões 1:1 ( $U = 5.128,0$ ,  $P < 0,0001$ ), 1:2 ( $U = 5.564,0$ ,  $P < 0,0001$ ) e 1:4 ( $U = 5.550,5$ ,  $P < 0,0001$ ).

O número de marcas de oviposição por pupário variou de 1 a 66 em *C. capitata*, considerando todas as repetições, apresentando uma média ( $\pm$  EP) de  $6,67 \pm 0,289$ , independentemente da razão parasitoide/hospedeiro testada. Em *A. fraterculus*, este número variou de 1 a 53 e a média ( $\pm$  EP) foi  $11,72 \pm 0,323$ .

Comparando-se os hospedeiros, o número médio de marcas de oviposição de *D. longicaudata* foi superior em *A. fraterculus*, nas razões 4:1 ( $H = 38,3865$ ,  $gl = 1$ ,  $P < 0,05$ ), 1:1 ( $H = 79,5814$ ,  $gl = 1$ ,  $P < 0,05$ ), 1:2 ( $H = 131,7541$ ,  $gl = 1$ ,  $P <$

0,05) e 1:4 ( $H = 48,8724$ ,  $gl = 1$ ,  $P < 0,05$ ), sendo semelhante apenas na razão 2:1 ( $H = 0,3654$ ,  $gl = 1$ ,  $P = 0,54$ ).

Quanto ao número médio de larvas do parasitoide no interior do pupários, também foram verificados valores mais elevados em *A. fraterculus* nas razões 4:1 ( $H = 12,3466$ ,  $gl = 1$ ,  $P < 0,05$ ), 1:1 ( $H = 71,9833$ ,  $gl = 1$ ,  $P < 0,05$ ), 1:2 ( $H = 95,744$ ,  $gl = 1$ ,  $P < 0,05$ ) e 1:4 ( $H = 37,9866$ ,  $gl = 1$ ,  $P < 0,05$ ), e semelhantes na 2:1 ( $H = 0,0092$ ,  $gl = 1$ ,  $P = 0,92$ ).

As diferenças nos valores de superparasitismo observados entre *A. fraterculus* e *C. capitata* podem ter sido influenciados pelo tamanho do hospedeiro. A maioria dos parasitoides utilizam o tamanho do corpo do hospedeiro como indicador de qualidade para oviposição (Sequeira & Mackauer, 1992). A quantidade de nutrientes existente no hospedeiro, capaz de suportar um determinado número de descendentes, é fornecida por seu tamanho (Cônoli & Parra, 2002). Geralmente, hospedeiros maiores apresentam maior qualidade, devido à abundância de recursos a serem explorados, permitindo o desenvolvimento de parasitoides maiores e mais competitivos, com maior potencial reprodutivo (Chau & Mackauer, 2001).

Neste contexto, de acordo com López *et al.* (2009), *D. longicaudata* apresenta maior emergência, longevidade, fecundidade e velocidade na busca por hospedeiros, quando desenvolvidas em indivíduos maiores. Meirelles (2011) também observou maior número de registro de superparasitismo em *A. fraterculus* do que em *C. capitata* na razão 1:10 (parasitoide: hospedeiro). Assim, aparentemente *A. fraterculus* apresenta-se como um hospedeiro mais adequado, uma vez que larvas de terceiro instar de *A. fraterculus* possuem peso maior que

as de *C. capitata* (Meirelles, 2011), indicando a maior quantidade de recursos disponível.

Durante as dissecações, as larvas eram observadas, de modo geral, em distribuição agregada dentro dos pupários. Contudo, de um total de 1.270 pupários dissecados, em apenas um foi observado combate físico entre duas larvas de primeiro instar de *D. longicaudata*, e nenhum ferimento foi visualizado em quaisquer outras larvas. Em trabalho realizado por Montoya *et al.* (2000), com esta mesma espécie, utilizando como hospedeiro *A. ludens*, afirmaram não ter observado qualquer combate entre as larvas, nas dissecações realizadas após 48 horas ou após 96 horas. Entretanto, os autores mencionam que, ao longo do estudo, um percentual pequeno de larvas no início do primeiro instar apresentavam manchas escuras, sugerindo um combate físico.

Em parasitoides solitários, a eliminação de concorrentes no interior de pupários pode ocorrer através de combate letal entre as larvas, o que foi observado apenas uma vez no presente trabalho, ou devido à supressão fisiológica (Godfray, 1994), que pode explicar os resultados obtidos no estudo. Tal hipótese já havia sido sugerida por van Alphen & Visser (1990), para os quais *D. longicaudata* pode eliminar de maneira eficiente larvas coespecíficas excedentes através de mecanismos fisiológicos. As observações realizadas neste trabalho sugerem que prevalece a competição fisiológica, corroborando as observações de Montoya *et al.* (2000), mas o combate físico pode ser um mecanismo secundário na eliminação de indivíduos.

Embora neste trabalho todos os pupários de ambas as espécies hospedeiras tenham sido dissecados e não haja registro da emergência, uma estratégia conhecida para fêmeas de *D. longicaudata* que resulta em vantagem

na competição por recursos é a oviposição de ovos de fêmeas (Darrouzet *et al.*, 2003). Segundo os autores, as fêmeas seriam melhores competidoras que os machos, quando identificam uma larva já parasitada. González *et al.* (2007) e Montoya *et al.* (2011) relataram que, em pupários de *A. ludens* expostos na fase de larva a *D. longicaudata*, houve uma correlação positiva entre o número de marcas de oviposição e o de fêmeas emergidas.

Foi observada correlação positiva entre o número de marcas e o de larvas de primeiro instar do parasitoide por pupário de *C. capitata* ( $r = 0,8348$ ,  $r^2 = 0,6969$ ,  $P < 0,0001$ ) (Figura 12). O mesmo foi observado para *A. fraterculus* ( $r = 0,8455$ ,  $r^2 = 0,7149$ ,  $P < 0,0001$ ) (Figura 13). Estes dados corroboram os descritos por Montoya *et al.* (2000), que também observaram correlação positiva entre número de marcas e larvas de *D. longicaudata* em larvas de *A. ludens*, como neste trabalho.

Como visto anteriormente, *D. longicaudata* apresenta resposta funcional dependente da densidade de larvas hospedeiras. Em adição a esta característica, foi possível observar uma tendência ao comportamento de superparasitismo, o que pode trazer benefícios aumentando o sucesso reprodutivo da espécie (González *et al.*, 2010).

Durante muito tempo o superparasitismo foi considerado um erro cometido por parasitoides, mas passou a ser reconhecido como uma característica adaptativa (van Alphen & Visser, 1990). Estas duas características agregadas podem ser alguns dos fatores que justificam o sucesso de *D. longicaudata* como agente de controle biológico de mosca-das-frutas.

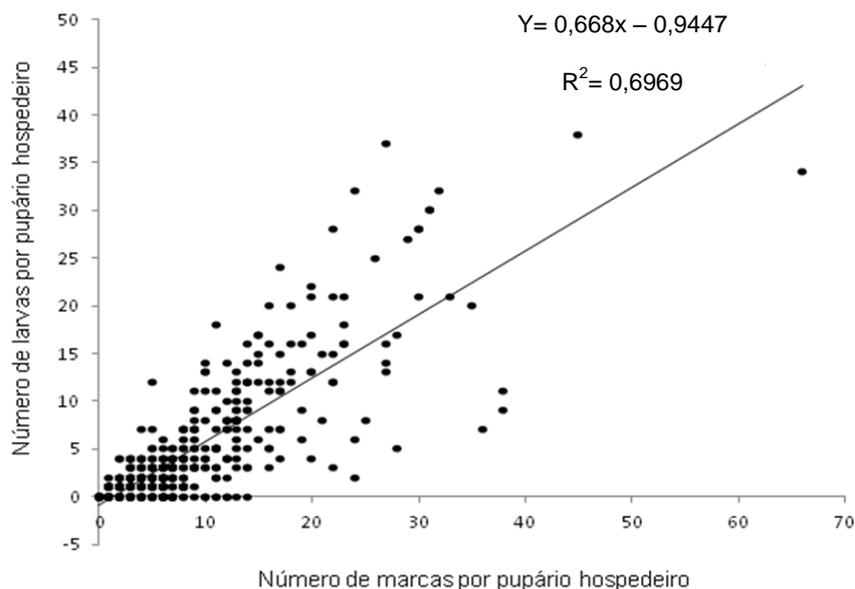


FIGURA 12. Relação entre o número de marcas por pupário e o de larvas de primeiro instar de *Diachasmimorpha longicaudata* presentes em pupários de *Ceratitidis capitata*.

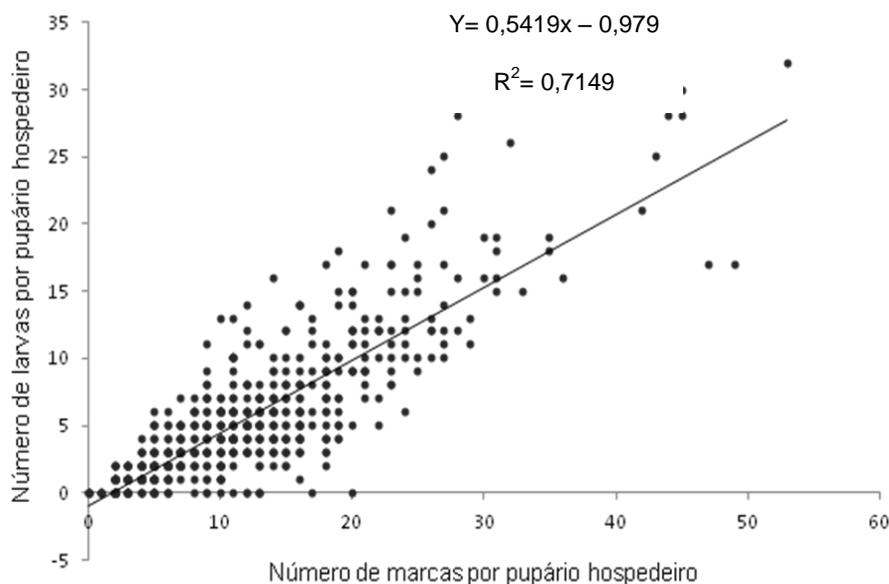


FIGURA 13. Relação entre o número de marcas por pupário e o de larvas de primeiro instar de *Diachasmimorpha longicaudata* presentes em pupários de *Anastrepha fraterculus*.

Em *D. longicaudata*, González *et al.* (2007) sugeriram que o superparasitismo não ocasiona efeitos negativos para a população, pois seleciona

uma melhor habilidade de vôo e maior produção de fêmeas, aumentando o sucesso reprodutivo da espécie. Além disso, os autores afirmaram que a presença de mais de uma larva do parasitoide pode ajudar na sobrevivência contra defesas do hospedeiro ou reduzir a severidade da resposta imune deste. No entanto, níveis muito altos de superparasitismo, como os observados neste trabalho nas razões 4:1 e 2:1, poderiam levar a uma diminuição da qualidade do hospedeiro. Os ferimentos deixados pelas puncturas de fêmeas seriam mais deletérios do que a competição entre larvas coespecíficas, levando à morte prematura do hospedeiro e a uma menor emergência de parasitoides (Montoya *et al.*, 2000; González *et al.*, 2007;).

Os resultados encontrados neste trabalho podem ser aplicados na otimização dos processos de criação em massa do parasitoide nas duas espécies hospedeiras testadas, já que permitiram inferir que as razões parasitoide/hospedeiro 1:1, 1:2 e 1:4, levariam a melhor eficiência na multiplicação da espécie.

#### **4.4 Avaliação da preferência de *Diachasmimorpha longicaudata* por hospedeiro**

A taxa de parasitismo de fêmeas de *D. longicaudata* criadas em *C. capitata* não diferiu entre as espécies hospedeiras ( $z = -0,169$ ;  $P = 0,8658$ ). Contudo, a porcentagem de emergência de fêmeas foi superior em *A. fraterculus* ( $z = -2,1704$ ;  $P = 0,03$ ) (Tabela 6).

Quando as fêmeas do parasitoide tiveram origem a partir de *A. fraterculus*, apresentaram maior porcentagem de parasitismo ( $z = -3,0584$ ,  $P = 0,0022$ ) e de

emergência de fêmeas sobre este mesmo hospedeiro ( $z = -3,3316$ ;  $P = 0,0009$ ) (Tabela 6).

TABELA 6. Porcentagem média ( $\pm$  EP) de parasitismo e de emergência de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* de diferentes origens sobre *Ceratitis capitata* ( $n = 20$ ) e *Anastrepha fraterculus* ( $n = 20$ ), em experimento de preferência por hospedeiro.

| Origem das fêmeas de <i>D. longicaudata</i> |                    |                          |                  |                 |                          |    |                 |    |
|---|--------------------|--------------------------|------------------|-----------------|--------------------------|----|-----------------|----|
| Espécie Hospedeira                          | <i>C. capitata</i> |                          |                  |                 | <i>A. fraterculus</i>    |    |                 |    |
|   | Parasitismo (%)    | Emergência de fêmeas (%) |                  | Parasitismo (%) | Emergência de fêmeas (%) |    |                 |    |
| <i>C. capitata</i>                          | 13,0 $\pm$ 3,70    | Aa                       | 23,7 $\pm$ 8,65  | Ba              | 16,0 $\pm$ 3,93          | Ba | 25,7 $\pm$ 8,93 | Ba |
| <i>A. fraterculus</i>                       | 14,0 $\pm$ 4,06    | Ab                       | 52,5 $\pm$ 11,16 | Ab              | 40,0 $\pm$ 5,47          | Aa | 72,0 $\pm$ 7,20 | Aa |

Letras maiúsculas comparam o mesmo parâmetro entre distintas espécies hospedeiras, nas colunas. Letras minúsculas comparam o mesmo parâmetro, numa mesma espécie hospedeira, entre origens, nas linhas. Letras distintas indicam diferença significativa (Wilcoxon,  $\alpha = 0,05$ ).

Comparando-se a porcentagem de parasitismo entre *A. fraterculus* e *C. capitata*, de ambas as origens, a proporção de parasitoides emergidos de larvas de *A. fraterculus*, parasitadas por fêmeas com origem neste mesmo hospedeiro foi significativamente maior que nos outros grupos ( $H = 17,965$ ,  $gl = 3$ ,  $P = 0,0004$ ). Neste caso, a espécie hospedeira na qual a fêmea se desenvolveu, parece influenciar a taxa de parasitismo, e isto pode ocorrer devido à aprendizagem, já que esta tem papel fundamental em uma variedade de decisões tomadas por diferentes grupos de insetos (Papaj & Lewis, 1993). É considerada, segundo Alcock (2005), uma adaptação para lidar com as imprevisibilidades do ambiente. A familiaridade com o hospedeiro pode resultar em uma mudança de comportamento, e, a retenção da informação adquirida, em termos fisiológicos, é referida como memória (Matthews & Matthews, 2010). Assim, em *D. longicaudata*, fêmeas podem reconhecer características fisiológicas adequadas nos hospedeiros em que se desenvolveram.

Apesar de serem capazes de parasitar as duas espécies de mosca-das-frutas, fêmeas de *D. longicaudata* criadas em larvas de *A. fraterculus* preferiram larvas desta espécie para a oviposição, quando lhes foi oferecida escolha. Esta preferência de *D. longicaudata* por larvas de *A. fraterculus* a despeito das de *C. capitata* também foi constatada por Ovruski *et al.* (2011). O tamanho do hospedeiro, que estaria relacionado à disponibilidade de recurso para o desenvolvimento da prole dos parasitoides, parece ser o fator responsável por esta preferência, uma vez que Silva *et al.* (2007) observaram que *D. longicaudata* não discrimina entre odores de voláteis emitidos por *C. capitata* ou *A. fraterculus*.

Em concordância com os resultados deste trabalho, Messing *et al.* (1993), Cancino *et al.* (2002) e López *et al.* (2009) demonstraram que fêmeas de *D. longicaudata* preferem larvas maiores para o desenvolvimento de sua prole. Além disso, o tamanho do hospedeiro pode influenciar diretamente o do parasitoide gerado (Godfray, 1994) e, parasitoides maiores tendem a apresentar maior chance de sucesso reprodutivo, com fecundidade e fertilidade superiores (Jervis, 2005).

Na natureza, a percepção olfativa de voláteis emitidos por frutos de plantas hospedeiras poderia interferir no encontro e escolha do substrato de oviposição, conforme evidenciado por Eben *et al.* (2000) e Carrasco *et al.* (2005), que verificaram, através de testes de percepção química, que *D. longicaudata* é capaz de discriminar entre odores de frutos de plantas hospedeiras em maturação, fase de infestação por mosca-das-frutas. Este fator, no entanto, foi excluído neste trabalho, já que as larvas expostas ao parasitoide foram distribuídas em unidade artificial.

A taxa de emergência de fêmeas pode ser utilizada como um indicativo da preferência de um parasitoide pelo hospedeiro, e foi verificada em trabalhos anteriores como parâmetro para avaliação da preferência em *D. longicaudata* (Milne, 1988; Eben *et al.*, 2000; Mansfield & Mills, 2004; Ovruski *et al.*, 2011). Nos experimentos realizados por Eben *et al.* (2000) com *D. longicaudata* criada em larvas maiores, foi registrada maior proporção de fêmeas na prole, corroborando os resultados observados neste trabalho.

A taxa de parasitismo e a porcentagem de emergência de fêmeas do parasitoide observadas em *C. capitata* foram iguais entre fêmeas de *D. longicaudata* com origem em *C. capitata* e *A. fraterculus* ( $z = -0,4828$ ,  $P = 0,6293$ ;  $z = -0,5916$ ,  $P = 0,5541$ ). Quanto ao parasitismo e à emergência de fêmeas do braconídeo em *A. fraterculus*, os valores foram superiores quando as fêmeas foram criadas na mesma espécie hospedeira, *A. fraterculus* ( $z = -3,1792$ ,  $P = 0,0015$ ;  $z = -2,0251$ ,  $P = 0,0429$ ) (Tabela 6).

Avaliando a fertilidade e a fecundidade de fêmeas de *D. longicaudata* emergidas de *C. capitata* e *A. fraterculus*, expostas ao mesmo hospedeiro, Meirelles (2011) não observou diferenças nos parâmetros entre as origens do parasitoide. A ausência de diferença, segundo o autor, se deve a pouca experiência do parasitoide com o hospedeiro *A. fraterculus*, uma vez que as fêmeas testadas faziam parte da primeira geração emergida deste hospedeiro. No entanto, neste trabalho, para a taxa de parasitismo e a proporção de fêmeas emergidas, foi possível detectar diferença entre os valores desempenhados por fêmeas da primeira geração emergida de *A. fraterculus*.

A porcentagem de emergência das duas espécies de mosca-das-frutas não diferiu quando o parasitoide teve origem em *C. capitata* ( $z = -1,1323$ ,  $P = 0,2575$ ).

No entanto, quando as fêmeas de *D. longicaudata* foram criadas em *A. fraterculus*, a proporção de indivíduos emergidos de *C. capitata* foi superior ( $z = -2,5956$ ,  $P = 0,0094$ ) (Tabela 7), confirmando a preferência das fêmeas do parasitoide por larvas de *A. fraterculus* quando haviam sido criadas neste mesmo hospedeiro. Em teste de escolha entre estes dois hospedeiros Ovruski *et al.* (2011) observaram que fêmeas de *D. longicaudata* visitam igualmente as larvas das duas espécies de mosca-das-frutas, mas efetuam maior número de provas nas de *A. fraterculus*.

A mortalidade de mosca-das-frutas foi semelhante tanto quando as fêmeas do parasitoide tiveram origem em *C. capitata* ( $z = -1,3491$ ,  $P = 0,1773$ ) como quando foram oriundas de *A. fraterculus* ( $z = -1,609$ ,  $P = 0,1089$ ) (Tabela 7). A ausência de diferença na mortalidade entre as espécies hospedeiras pode indicar que as fêmeas do parasitoide efetuam provas sobre as larvas para avaliar seu conteúdo, nem sempre realizando oviposição (Arthur, 1981), mas prejudicando o desenvolvimento da mosca.

TABELA 7. Porcentagem média ( $\pm$  EP) de emergência e mortalidade de *Ceratitis capitata* ( $n = 20$ ) e *Anastrepha fraterculus* ( $n = 20$ ) expostas à *Diachasmimorpha longicaudata* de diferentes origens, em experimento de preferência por hospedeiro.

| Origem do Parasitoide | Emergência de          |                           | Mortalidade de           |                           |
|-----------------------|------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
|                       | <i>C. capitata</i> (%) | <i>A. fraterculus</i> (%) | <i>C. capitata</i> (%)   | <i>A. fraterculus</i> (%) |
| <i>C. capitata</i>    | 63,5 $\pm$ 6,25        | 56,0 $\pm$ 4,88           | 23,5 $\pm$ 4,54          | 27,0 $\pm$ 3,25           |
| <i>A. fraterculus</i> | 59,5 $\pm$ 3,36        | <b>a</b> 42,0 $\pm$ 5,55  | <b>b</b> 25,0 $\pm$ 3,66 | 18,5 $\pm$ 3,42           |

Letras minúsculas, distintas, na linha considerando-se a emergência, indicam diferença significativa (Wilcoxon,  $\alpha = 0,05$ ).

Os dados deste trabalho confirmam que, tanto *C. capitata* quanto *A. fraterculus*, são hospedeiros viáveis para a multiplicação do parasitoide, sob as

condições testadas e que o parasitismo no campo e a progênie de parasitoides fêmeas poderiam ser incrementados utilizando-se larvas de *A. fraterculus* na criação de *D. longicaudata*.

## 5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, nas condições em que foram realizados os experimentos, foi possível concluir que:

- o comportamento de oviposição de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* sobre unidade artificial de parasitismo, compreende as atividades de inspeção, contato bucal, punctura e limpeza das asas, pernas e antenas;
- o tempo total de atividade de *Diachasmimorpha longicaudata* aumenta com a elevação da densidade de larvas hospedeiras;
- o número médio de larvas parasitadas por fêmea de *Diachasmimorpha longicaudata* aumenta com a elevação da densidade em ambos os hospedeiros, *Ceratitis capitata* e *Anastrepha fraterculus*;
- a proporção de emergência de parasitoides diminui com o aumento da densidade do hospedeiro; tanto em *Anastrepha fraterculus* quanto em *Ceratitis capitata*;
- a mortalidade de larvas de *Ceratitis capitata* e *Anastrepha fraterculus* aumenta à medida que a densidade destas se eleva;
- *Diachasmimorpha longicaudata* evidencia resposta funcional Tipo III, dependente da densidade de larvas hospedeiras, em ambas as espécies;

- o número de indivíduos parasitados e a porcentagem de emergência de fêmeas são superiores em *Anastrepha fraterculus*, em comparação com *Ceratitis capitata*;
- o superparasitismo é maior em *Anastrepha fraterculus*;
- a maior porcentagem de emergência de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* ocorre quando o hospedeiro é *Anastrepha fraterculus*;
- fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* oriundas de *Anastrepha fraterculus* apresentam maior taxa de parasitismo e maior porcentagem de emergência de fêmeas quando o hospedeiro é o mesmo.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste trabalho contribuem para o aperfeiçoamento dos métodos de multiplicação de *D. longicaudata* com vistas à liberação do parasitoide para controle de *A. fraterculus* e *C. capitata*.

As maiores porcentagens de parasitismo foram registradas nas densidades 3, 35 e 55, em *C. capitata*, e 3 e 35, em *A. fraterculus*, sendo a taxa de parasitismo máxima obtida na densidade 3. Além disso, para ambas as espécies de mosca-das-frutas, o tempo de manuseio total aumentou com a elevação da densidade de hospedeiros, enquanto o tempo de busca estimado diminuiu, confirmando a dependência entre o parasitismo e a densidade de hospedeiros. Estes dados podem ser usados como subsídio para modular o menor e o maior número de larvas a ser oferecido por parasitoide, minimizando custos de produção.

Tanto em *C. capitata* quanto em *A. fraterculus*, o superparasitismo é mais elevado nas razões em que a densidade de hospedeiros por parasitoide é menor. No entanto, as razões parasitoide/hospedeiro, 1:1, 1:2 e 1:4 são mais eficientes na multiplicação da espécie, pois nestas o número de parasitoides emergidos tende a ser maior, enquanto naquelas em que o superparasitismo é superior há maior efeito negativo devido aos ferimentos ou competição intraespecífica.

Para fins de multiplicação do parasitoide, *A. fraterculus* apresenta melhores resultados como hospedeiro. O parasitismo e a progênie de parasitoides fêmeas podem ser incrementados utilizando-se larvas deste hospedeiro na criação massal de *D. longicaudata*, já que o número de indivíduos parasitados é superior em *A. fraterculus*, em comparação com *C. capitata*.

Além disso, para o controle de *A. fraterculus*, parasitoides desenvolvidos neste mesmo hospedeiro podem apresentar taxa de parasitismo maior, sendo mais eficientes. No entanto, são necessários estudos que confirmem o sucesso superior de *D. longicaudata* criadas na espécie a que se pretende controlar, após a liberação no campo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

AGUIAR-MENEZES, E. L.; MENEZES, E. B. Natural Occurrence of Parasitoids of *Anastrepha* spp. Schiner, 1868 (Diptera: Tephritidae) in Different Host Plants, in Itaguaí (RJ), Brazil. **Biological Control**, Orlando, v. 8, n. 1, p. 1-6, 1997.

ALCOCK, J. **Animal behavior – an evolutionary approach**. Sunderland: Sinauer Associates, 2005. 624 p.

ALUJA, M. Bionomics and management of *Anastrepha*. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 39, p. 155-178, 1994.

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

ANDRIGUETO, J. R.; KOSOSKI, A. R. **Desenvolvimento e Conquistas da Produção Integrada de Frutas no Brasil, 2005**. Disponível em: <[http://www.cnpv.embrapa.br/tecnologias/pin/pdf/p\\_01.pdf](http://www.cnpv.embrapa.br/tecnologias/pin/pdf/p_01.pdf)>. Acesso em: 10 mar. 2009.

ARTHUR, A. P. Host acceptance by parasitoids. In: NORDLUND, D. A.; JONES, R. L.; LEWIS, W. J. (Eds.) **Semiochemicals**: their role in pest control. New York: John Wiley & Sons, 1981. p. 97-120.

ASHLEY, T. R.; CHAMBERS, D. L. Effects of parasite density and host availability on progeny production by *Biosteres* (*Opius*) *longicaudatus*, (Hym.: Braconidae), a parasite of *Anastrepha suspensa* (Dip.: Tephritidae). **Entomophaga**, Paris, v. 24, p. 363-369, 1979.

AYRES, M. et al. **Bioestat 5.0 – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Tefé: Sociedade Civil Mamirauá, 2007. 364p.

BAKKER, K. et al. The function of host discrimination and superparasitism in parasitoids. **Oecologia**, Berlin, v. 67, p. 572-576, 1985.

BAKKER, K. et al. The ability to distinguish between hosts containing different numbers of parasitoid eggs by the solitary parasitoid *Leptopilina heterotoma* (Thomson) (Hym. Cynip.). **Netherlands Journal of Zoology**, Leiden, v. 40, n. 3, p. 514–520, 1989.

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

BARBOSA, P. et al. Plant allelochemicals and insect parasitoids. Effects of nicotine on *Cotesia congregata* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) and *Hyposoter annulipes* (Cresson) (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 12, p. 1319-1328, 1986.

BEDDINGTON, J. R. Mutual interference between parasites or predators and its effects on searching efficiency. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 44, p. 331-340, 1975.

BEGON, M. et al. **Ecology**: individuals, population and communities. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1990. 945 p.

BEGON, M.; MORTIMER, M. **Population ecology**: a unified study of animals and plants. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1986. 219 p.

BOTTON, M. et al. Pragas da videira sem sementes. In: Embrapa. (Org.). **Uvas Sem Sementes cultivares BRS Clara, BRS Linda e BRS Morena**. Brasília: Embrapa, 2005, v. 1. 8 p.

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

BRODEUR, J. et al. Effects of *Pieris* host species on life history parameters in a solitary specialist and gregarious generalist parasitoid (*Cotesia* species). **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 86, p.145–152, 1998.

CANCINO, J. et al. Quality control parameters of wild and mass reared *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead), a fruit fly parasitoid. In: LEPPLA, N. C.; BLOEM, K. A.; LUCK, R. F. (Eds.) **Quality control for mass-reared arthropods**. Florida: Institute of Food and Agricultural Science, 2002. p.84-94.

CANCINO, J.; MONTOYA, P. Advances and perspectives in the mass rearing of fruit fly parasitoids in Mexico - Fruit Flies of Economic Importance: From Basic to Applied Knowledge. **Proceedings of the 7th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance**, Salvador, p. 133-142, 2006.

CANTO SILVA, C. R. **Parâmetros bioecológicos de *Gryon gallardoi* (Brethes) (Hymenoptera: Scelionidae) e modelagem da dinâmica espaço-temporal da sua interação com *Spartocera dentiventris* (Berg) (Hemiptera: Coreidae) através da simulação de múltiplos agentes**. 2003. 225 f. Tese (Doutorado) -

Biologia Animal, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

CARNEIRO, T. R. et al. Functional response of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera, Noctuidae) eggs: effect of female age. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 54, n. 4, p. 692-696, 2010.

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 parasitóide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) em pomar diversificado em Conceição do Almeida, BA. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.34, n. 5, p. 799-805, 2005a.

CARVALHO, R. da S. **Circular Técnica 78 - Assincronia de emergência como método para a separação de adultos de *Ceratitis capitata* e do parasitóide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* em criações artificiais de baixo custo**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2005b, 4 p.

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

CARVALHO, R. S.; NASCIMENTO, A. S. Criação e utilização de *Diachasmimorpha longicaudata* para controle biológico de moscas-das-frutas. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J.M.S. (Eds.) **Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Editora Manole, 2002. p.165-179.

CARVALHO, R. S. et al. **Metodologia de criação do parasitóide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera, Braconidae), visando estudos em laboratório e em campo**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 1998. 16 p.

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, 2000, p. 113-117.

CHAU, A.; MACKAUER, M. Preference of the aphid parasitoid *Monoctomus paulensis* (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) for different aphid species: female choice and offspring survival. **Biological Control**, Orlando, v. 20, p. 30-38, 2001.

COLINET, H. et al. Host age and fitness-related traits in a koinobiont aphid parasitoid. **Ecological Entomology**, London, v. 30, p. 473-479, 2005.

CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P. Criação in vitro de parasitóides e predadores, p. 239-276. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Eds.) **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002, 609 p.

DARROUZET, E. et al. Self-superparasitism consequences for offspring sex ratio in the solitary ectoparasitoid *Eupelmus vuilleti*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 109, p. 167-171, 2003.

DO VALLE, G. E. **Aspectos biológicos e morfológicos de *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead, 1905) (Hymenoptera: Braconidae) criado em larvas irradiadas de *Ceratitis capitata* (Wiedmann, 1824) (Diptera: Tephritidae)**. 2006. 86 f. Tese (Doutorado) - Ciências/Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

EBEN, A. et al. Host species and host plant effects on performance of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). **Biological Control**, Orlando, v. 29, n. 1, p. 87-94, 2000.

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

FARIA, C. A. et al. Resposta funcional de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera:Trichogrammatidae) parasitando ovos de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae): efeito da idade do hospedeiro. **Anais da Sociedade Entomológica Brasileira**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 85-93, 2000.

FAO/IAEA/USDA. **Manual for Product Quality Control and Shipping Procedures for Sterile Mass-Reared Tephritid Fruit Flies**, Version 5.0. Vienna: International Atomic Energy Agency, 2003, 85p.

FLEISHER, F. D. Importância de la familia Tephritidae en la fruticultura. In: CURSO de control biológico de moscas de la fruta - Programa Moscamed-Moscafrut. Chiapas: Metapa de Dominguez, 2004, p. 11-15.

FUJII, K. et al. A simple generalized model of attack by predators and parasites. **Ecological Research**, Tsukuba, v. 1, n. 2, p. 141-156, 1986.

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, 56 p., 1988.

GARCIA, M. A. Ecologia nutricional de parasitóides e predadores terrestres. In: A. R. PANIZZI; PARRA, J. R. P. **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole, 1991, 360p.

GATTELLI, T. **Moscas frugívoras (Diptera: Tephritoidea) e parasitóides associados a mirtáceas e laranjeira “céu” em Montenegro e Harmonia, RS.**

2006. 71 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

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

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.

GONZÁLEZ, P. I. et al. Host discrimination and superparasitism in wild and mass-reared *Diachasmimorpha longicaudata* (Hym.: Braconidae) females. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 20, n. 2, p. 137-148, 2010.

GREANY, P. D. et al. Rearing and life history studies in *Biosteres* (Opius) *longicaudatus* (Hym.: Braconidae). **Entomophaga**, Paris, v. 21, n. 2, p. 207-215, 1976.

GUILLEN, J. A. et al. Reduccion poblacional de moscas-de-la-fruta *Anastrepha* spp. mediante liberaciones inundativas de *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) en Mazapa de Madera, Chiapas, México. **Vida Tephritidae**, v. 8, p. 5-6, 1991.

HARRIS, E. J.; BAUTISTA, R. C. Effects of fruit fly host, fruit species, and host egg to female parasitoid ratio on the laboratory rearing of *Biosteres arisanus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 79, p. 187-194, 1996.

HASSELL, M. P. et al. Sigmoid functional responses by invertebrate predators and parasitoids. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 46, p. 249-262, 1977.

HASSELL, M. P. **The dynamics of arthropod predator-prey system.**, New Jersey: Princeton University Press, 1978, 237p.

HASSELL, M. P.; WAAGE, J. K. Host-Parasitoid Population Interactions. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 29, p. 89-114, 1984.

HICKEL, E. R. Espessura da polpa como condicionante do parasitismo de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) por Hymenoptera: Braconidae. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 6, p. 1005-1009, 2002.

HOLLING, C. S. The components of predation as revealed by a study of small-mammal predation of the european pine sawfly. **Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 91, p. 293-320, 1959a.

HOLLING, C. S. Some characteristics of simple types of predation and parasitism. **Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 91, p. 385-398, 1959b.

HOLLING, C. S. The functional response of predators to prey density and its role mimicry and population regulation. **Memoirs of the Entomological Society of Canada**, Ottawa, v. 45, p. 1-60, 1965.

HUFFAKER, C. B.; GUTIERREZ, P. **Ecological Entomology**. New York: Harper & Hall, 1999, 654p.

JANSSEN, A. Optimal host selection by Drosophila parasitoids in the field. **Functional Ecology**, Oxford, v. 3, p. 469-479, 1989.

JERVIS, M. A.; KIDD, N. A. **Insect natural enemies: practical approaches to their study and evaluation**. London: Chapman & Hall, 1996, 491p.

JERVIS, M. A. **Insects as natural enemies: a practical perspective**. Dordrecht: kluwer Academic Publishers, 2005, 748p.

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, n. 1, p. 53-60, 1989.

JULIANO, S. A.; WILLIAMS, F.M. A comparison of methods for estimating the functional response parameters of the random predator equation. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 56, p. 641-653, 1987.

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, 2003, p. 61-76.

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

LAWRENCE, P. O. et al. Oviposition behavior of *Biosteres longicaudatus*, a parasite of the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa*. **Annals of The Entomological Society of America**, College park, v. 71, n. 2, p. 253-256, 1978.

LAWRENCE, P. O. Host vibration – a cue to the host location by the parasite *Biosteres longicaudatus*. **Oecologia**, Berlin, v. 48, p. 249-251, 1981.

LIVDAHL, T. P.; STIVEN, A. E. Statistical difficulties in the analysis of predator functional response data. **Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 115, p. 1365-1370, 1983.

LÓPEZ, M. et al. Hymenopterous larvalpupal and pupal parasitoids of *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) in Mexico. **Biological Control**, Orlando, v. 15, n. 2, p. 119-129, 1999.

LÓPEZ, O. P. et al. Is host size an indicator of quality in the mass-reared parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae)? **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 92, n. 3, p. 441-449, 2009.

LUCK, R. F. Evaluation of natural enemies for biological control: a behavioural approach. **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v. 5, p. 196-199, 1990.

MACKAUER, M. et al. Host choice by aphidiid parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae): host recognition, host quality, and value. **Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 120, p. 959-980, 1996.

MALAVASI, A. Programas de liberação inundativa de parasitóides para o controle de moscas-das-frutas na América Latina. In: ZAPATER, M. C. (Ed.) **El Control Biológico em América Latina**. Buenos Aires: Organización Internacional para el Control Biológico, 1996. p. 129 – 131.

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, 2001, p. 39-41.

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

MALAVASI, A.; NASCIMENTO, A. S. Implantação da biofábrica de Moscamed no nordeste do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 19., 2002, Manaus. **Anais...** Manaus: SEB, 2002. 1 CD-ROM.

MANSFIELD, S.; MILLS, N. J. A comparison of methodologies for the assessment of host preference of the gregarious egg parasitoid *Trichogramma platneri*. **Biological Control**, Orlando, v. 29, n. 3, p. 332-340, 2004.

MATTHEWS, R. W.; MATTHEWS, J.R. **Insect behavior**. New York: John Wiley & Sons, 2010. 514 p.

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

MEIRELLES, R. N. **Biologia e exigências térmicas de *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) em *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) e *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)**. 2011. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em

Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

MESSING, R. H. et al. Quality control parameters of mass-reared opine parasitoids used in augmentative biological control of tephritid fruit flies in Hawaii. **Biological Control**, Orlando, v. 3, p. 140-147, 1993.

MILNE, W. M. Effectiveness of aphidophagous insects in lucerne. In: NIEMCZYK, E.; DIXON, A. F. G. (Eds.) **Ecology and effectiveness of Aphidophaga**. The Hague, SPB Academic Publishing, 1988. p. 203-210.

MONTOYA, P. et al. Oviposition behavior and conspecific host discrimination in *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae), a fruit fly parasitoid. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 13, n. 7, p. 683-690, 2003.

MONTOYA, P. et al. Functional Response and Superparasitism by *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae), a Parasitoid of Fruit Flies (Diptera: Tephritidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 93, n. 1, p. 47-54, 2000.

MONTOYA, P. et al. Host size, superparasitism and sex ratio in mass reared *Diachasmimorpha longicaudata*, a fruit fly parasitoid. **Biocontrol**, Dordrecht, v. 56, p. 11-17, 2011.

NEIL, K. A.; SPECHT, H. B. Field releases of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for suppression of corn carworm, *Heliothis zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), egg populations on sweet corn in Nova Scotia. **The Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 122, n. 3, p. 1259-1266, 1990.

NICOL, C. M. Y.; MACKAUER, M. The scaling of body size and mass in a host-parasitoid association: influence of host species and stage. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 90, p. 83-92, 1999.

OVRUSKI, S. M. et al. Hymenopteran parasitoids on 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 Reviews**, Dordrecht, v. 5, p. 81-107, 2000.

OVRUSKI, S. M. et al. Host preference by *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) reared on larvae of *Anastrepha fraterculus* and *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v.94, n.2, p.195-200, 2011.

PAPAJ, D. R.; LEWIS, A. C. **Insect learning – ecological and evolutionary perspectives**. New York: Chapman & Hall, 1993. 416 p.

PURCELL, M. F. et al. Influence of guava ripening on parasitism of the oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae), by *Diachasmimorpha*

longicaudata (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) and other parasitoids. **Biological Control**, Orlando, v. 4, p. 396-404, 1994.

QUIMIO, W. Host preference and host suitability in an egg-pupal fruit fly parasitoid, *Fopius arisanus* (Sonan) (Hym., Braconidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 125, n. 3, p. 135-140, 2001.

REDAELLI, L. R. et al. Parasitoides de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) presentes em frutos de mirtáceas nativas. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 11., 2009, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: SEB, 2009. 1CD-ROM.

RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996, 470p.

ROSSATO, V. **Ocorrência de parasitoides de *Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1903 (Hemiptera: Aleyrodidae) e seu parasitismo por *Cales noacki* Howard, 1907 (Hymenoptera: Aphelinidae) nos municípios de Belém, Capitão Poço e Irituia no estado do Pará**. 2007. 47 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2007.

**SAS INSTITUTE INC**. SAS user's guide: Statistics. 9ª ed. North Carolina: Cary, 2004. 1032 p.

SCHLISERMAN, P. et al. The Establishment of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) in Misiones, Northeastern Argentina. **The Florida Entomologist**, Gainesville, v. 86, n. 4, p. 491-492, 2003.

SEQUEIRA, R.; MACKAUER, M. Nutritional ecology of an insect host-parasitoid association: the pea aphid- *Aphidius ervi* system. **Bulletin of the Ecological Society of America**, Tempe, v. 73, n. 1, p. 183-189, 1992.

SEQUEIRA, R. et al. **Identification of susceptible areas for the establishment of *Anastrepha* spp. fruit flies in the United States and analysis of selected pathways**. United States Department of Agriculture: Animal and Plant Health Inspection service, 2001. 28 p.

SILVA, J. W. P. et al. 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.

SILVA, R. J. et al. Qualidade de diferentes espécies de pulgões como hospedeiros do parasitóide *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 37, n. 2, p. 173-179, 2008.

SIME, K. R. et al. *Diachasmimorpha longicaudata* and *D. kraussii* (Hymenoptera: Braconidae), potential parasitoids of the olive fruit fly. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 16, n. 2, p. 169-179, 2006.

SIVINSKI, J. The influence of host fruit morphology on parasitization rates in the caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa*. **Entomophaga**, Paris, v. 36, p. 447-454, 1991.

SIVINSKI, J. et al. Suppression of caribbean fruit fly population through augmented releases of the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). **Biological Control**, Orlando, v. 6, p. 177-185, 1996.

SOLOMON, M. E. The natural control of animal populations. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 18, p. 1-35, 1949.

SUGAYAMA, R. L. **Anastrepha fraterculus (Wiedeman) (Diptera: Tephritidae) na região produtora de maçãs do Rio Grande do Sul: relação com os inimigos naturais e potencial para o controle biológico**. 2000. 117 f. Tese (doutorado) – Programa de Pós-graduação em Biologia Genética, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

TERÁN, H. R. Comportamiento alimentario y su correlación a la reproducción en hembras de *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). **Revista Agronómica del Noroeste Argentino**, Tucuman, n. 14, p. 17-34, 1976.

THOMPSON, C. R. *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae), biological control agent for the Caribbean fruit fly. Department of Agriculture and Consumer Services, Division Plant Industry, **Entomology Circular**, Gainesville, n. 325, p. 325-326, 1989.

VAN ALPHEN, J. J. M.; VISSER, M. E. Superparasitism as an adaptive strategy for insect parasitoids. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 35, p. 59-79, 1990.

VAN ALPHEN, J. J. M.; JERVIS, M. A. Foraging behavior. In: JERVIS, M. A.; KIDD, N. A. (Eds.) **Insect natural enemies: practical approaches to their study and evaluation**. London: Chapman & Hall, 1996, 491 p.

VAN DIJKEN, M. J.; WAAGE, J. K. Self and conspecific superparasitism by the egg parasitoid *Trichogramma evanescens*. **Entomologia Experimentalis Et Applicata**, Dordrecht, v. 43, p. 183-192, 1987.

VARGAS, R. I. et al. Opiine parasitoid (Hymenoptera: Braconidae) of oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) on Kauai Island, Hawaii: Islandwide relative abundance and parasitism rates in wild and orchard guava habitats. **Environmental Entomology**, College Park, v. 22, p. 246-53, 1993.

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

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

VISSER, M. E. et al. Adaptive superparasitism in solitary parasitoids: marking of parasitized hosts in relation to the pay-off from superparasitism. **Ecological Entomology**, London, v. 17, p. 76–82, 1992.

WALDER, J. M. M. Controle biológico de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) no Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16., 1997, Salvador. **Anais...** Salvador: SEB, 1997. 1 CD-ROM.

WANG, X. G.; MESSING, R. H. Role of Egg-Laying Experience in Avoidance of Superparasitism by Fruit Fly Parasitoid *Fopius arisanus* (Hymenoptera: Braconidae). **Annals of The Entomological Society of America**, College Park, v. 101, n. 3, p. 656-663, 2008.

WHARTON, R. A. Classical Biological control of fruit-infesting Tephritidae. In: ROBINSON, A. S.; HOOPER, G. (Eds.) **World Crop Pests – Fruit Flies: their biology, natural enemies and control**. Volume 3B. Netherlands: Elsevier, 1989. p.303-313.

WHARTON, R. **Parasitoids of Fruit-Infesting Tephritidae**. 2007. Disponível em: <<http://hymenoptera.tamu.edu/paroffit/>>. Acesso em: 30 jan. 2011.

WHARTON, R. A.; GILSTRAP, F. E. Key to and status of Opiinae 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. et al. Hymenopterous egg-pupal and larval-pupal parasitoids of *Ceratitis capitata* and *Anastrepha* spp. (Dipt.: Tephritidae) in Costa Rica. **Entomophaga**, Paris, v. 26, p. 285–290, 1981.

WHITE, I.M. Fruit fly taxonomy: recent advances and new approaches. In: MCPHERON, B.A.; STECK, G.J. **Fruit fly pests: a world assessment of their biology and management**. Delray Beach: St. Lucie Press, 1996. 586 p.

WONG, T. T. Y. et al. 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.

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, 2000, p.13-24.

ZUCCHI, R.A. 2008. **Fruit flies in Brazil - Anastrepha species and their hosts plants**. Disponível em: <[www.lea.esalq.usp.br/anastrepha/](http://www.lea.esalq.usp.br/anastrepha/)>. Acesso em: 10 fev. 2012.