



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA
DOUTORADO EM FITOTECNIA

ELANIA CLEMENTINO FERNANDES

**ASPECTOS BIOECOLÓGICOS DE PARASITÓIDES (HYMENOPTERA) DA
MOSCA-DO-MEDITERRÂNEO (DIPTERA: TEPHRITIDAE)**

MOSSORÓ-RN

2018

ELANIA CLEMENTINO FERNANDES

**ASPECTOS BIOECOLÓGICOS DE PARASITOIDES (HYMENOPTERA) DA
MOSCA-DO-MEDITERRÂNEO (DIPTERA: TEPHRITIDAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Doutora em Agronomia: Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Proteção de Plantas.

Orientador: Prof. Dr. Elton Lucio de Araujo

Co-orientador: Dr. Francisco Beitia Crespo

MOSSORÓ-RN
2018

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

C363a CLEMENTINO FERNANDES, ELANIA.
ASPECTOS BIOECOLÓGICOS DE PARASITÓIDES
(HYMENOPTERA) DA MOSCA-DO-MEDITERRÂNEO (DIPTERA:
TEPHRITIDAE) / ELANIA CLEMENTINO FERNANDES. -
2018.
92 f. : il.

Orientador: ELTON LUCIO ARAUJO.
Coorientador: FRANCISCO BEITIA CRESPO.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural
do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Fitotecnia, 2018.

1. Competição. 2. Biologia. 3. Controle
biológico. 4. Insetos frugívoros. 5. Semiárido. I.
ARAUJO, ELTON LUCIO, orient. II. BEITIA CRESPO,
FRANCISCO, co-orient. III. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

ELANIA CLEMENTINO FERNANDES

**ASPECTOS BIOECOLÓGICOS DE PARASITOIDES (HYMENOPTERA) DA
MOSCA-DO-MEDITERRÂNEO (DIPTERA: TEPHRITIDAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-
Árido, como parte dos requisitos para obtenção do
Grau de Doutora em Agronomia: Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Proteção de Plantas

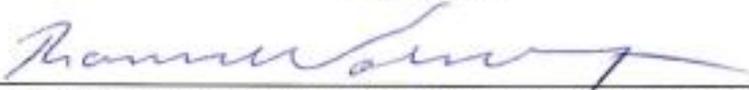
Defendida em: 24 / 04 / 2 018

BANCA EXAMINADORA



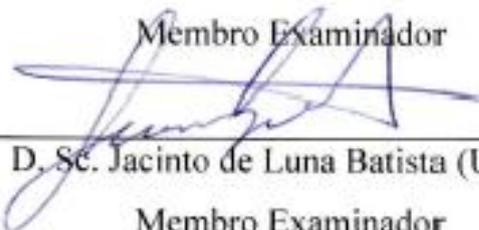
D. Sc. Elton Lúcio de Araujo (UFERSA)

Presidente



D. Sc. Raimundo Braga Sobrinho (EMPRABA/CNPAT)

Membro Examinador



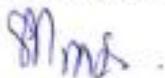
D. Sc. Jacinto de Luna Batista (UFPB)

Membro Examinador



D. Sc. Iron Macêdo Dantas (UERN)

Membro Examinador



D. Sc. Glauber Henrique de Sousa Nunes (UFERSA)

Membro Examinador

Ao meu pai Carlos Miguel Fernandes (*In Memoriam*).

DEDICO

À minha família, em especial a minha mãe Maria Luzenita Clementino Fernandes a meus irmãos Enaldo Fernandes, Edinaldo Fernandes, Edivaldo Fernandes e Eneide Fenandes pelo amor e companheirismo.....

OFEREÇO

AGRADECIMENTO

A Deus, primeiramente, que sempre me deu força e motivação para que eu alcançasse esse objetivo.

Ao professor Dr. Elton Lucio de Araujo, pela orientação, pelos ensinamentos, confiança, pelos conselhos e ensinamentos repassados e por ser um exemplo de dedicação e comprometimento.

Ao Dr. Francisco Beitia Crespo, pesquisador do Instituto Valenciano de Investagaciones Agrarias - IVIA, pela orientação, pelos ensinamentos, confiança, pelos conselhos e conhecimentos compartilhados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de doutorado como também pela bolsa de doutorado sanduíche, possibilitando o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), pela oportunidade de acesso ao ensino público de qualidade.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da UFERSA, pelos ensinamentos repassados.

Ao Dr. Valmir Antônio da Costa do Instituto Biológico da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, em Campinas, São Paulo, pela identificação dos parasitoides.

À chefia e funcionários do Instituto Valenciano de Investagaciones Agrarias - IVIA pelo acolhimento e estrutura para o desenvolvimento de uma parte deste trabalho.

Aos colegas e amigos do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, pelos momentos de discussão e conhecimentos compartilhados.

A todos os que integram e integraram o Laboratório de Entomologia Aplicada da UFERSA, André Vitor, Barbara Albuquerque, Edivino Silva, Fernanda Dantas, Hellany Matos, Ivan Remígio, Dijalma Batista, Gabriela Santos, Joseph Jonatan, Ewerton Marinho, Adriano Carvalho, pela amizade e momentos de descontração. Em especial a Mariana Macedo, Ítala Maria, Gabriel Felipe e Sandja Fonseca, pela convivência e auxílio nos experimentos da tese.

Enfim, a todos os que contribuíram, direta ou indiretamente, na realização deste trabalho e me incentivaram nesta caminhada, meu muito obrigado.

RESUMO

FERNANDES, Elania Clementino. **Aspectos bioecológicos de parasitoides (Hymenoptera) da mosca-do-mediterrâneo (Diptera: Tephritidae)**. 2018. 93f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

A mosca-do-mediterrâneo *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) é uma das principais pragas de frutos de importância econômica e quarentenária. Devido seu grande poder de colonização e adaptação, este tefritídeo vem se disseminando por toda região tropical e subtropical do mundo, causando severas perdas. O controle biológico de *C. capitata*, com o uso de parasitoides (Hymenoptera) é uma importante ferramenta para reduzir as populações deste tefritídeo. Dentre os principais parasitoides de *C. capitata* podemos relatar, *Aganaspis daci* (Weld) (Hymenoptera: Figitidae), *Pachycrepoideus vindemmiae* Rondani (Hymenoptera: Pteromalidae), *Spalangia cameroni* Perkins (Hymenoptera: Pteromalidae) e *Tetrastichus giffardianus* Silvestre (Hymenoptera: Eulophidae). Contudo, existem vários fatores que limitam a escolha ou o sucesso do uso de parasitoides no controle biológico, dentre eles podemos destacar, à deficiência de informações sobre a competição existente entre os diferentes grupos de parasitoides, a falta de informações detalhadas sobre metodologias de criação e a falta de estudos sobre a bioecologia de muitas espécies de parasitoides. Portanto, os objetivos deste estudo foram: 1) Avaliar a competição entre o endoparasitoide de larva-pupa *A. daci* e os ectoparasitoides de pupa, *P. vindemmiae* e *S. cameroni*; 2) Adaptar e descrever detalhadamente uma metodologia de criação para *T. giffardianus*; 3) Caracterizar o desenvolvimento e os aspectos morfológicos dos estágios imaturos de *T. giffardianus*; 4) Avaliar o efeito de diferentes temperaturas no desenvolvimento de *T. giffardianus* e elaborar sua tabela de vida de fertilidade. No estudo de competição entre *A. daci*, *P. vindemmiae* e *S. cameroni*, constatou-se uma redução na emergência de *A. daci* na presença dos concorrentes; A razão sexual da prole de *A. daci* também foi significativamente afetada; Mas ocorreu um efeito aditivo no parasitismo, principalmente entre *A. daci* e *P. vindemmiae*. No estudo da técnica de criação e do potencial de crescimento populacional de *T. giffardianus* foi verificado, através dos dados demográficos da população estudada, que o método de criação apresentado neste estudo é viável para criação de *T. giffardianus*. O estudo do desenvolvimento e caracterização morfológica dos estágios imaturos de *T. giffardianus*, demonstrou que o desenvolvimento completo (ovo-adulto) desse parasitoide ocorre em 14 dias e que através da forma, coloração e tamanho é possível caracterizar morfológicamente cada um dos estágios imaturos de *T. giffardianus*. No estudo sobre o efeito da temperatura na biologia e tabela de vida de fertilidade de *T. giffardianus* foi observado que a temperatura influenciou o desenvolvimento dos estágios imaturos desse parasitoide, ocorreu desenvolvimento dos imaturos apenas nas temperaturas de 20, 25 e 30°C; A duração do desenvolvimento pré-imaginal (ovo-adulto) variou de 41 dias a 20°C a 11 dias a 25°C; A longevidade média de machos e fêmeas foi inversamente proporcional à temperatura, variando de 50,3 a 8,4 dias para machos e de 31,8 a 8,0 dias para fêmeas, na faixa térmica de 15 a 35°C. De acordo com os dados da tabela de vida de fertilidade, o melhor desempenho de *T. giffardianus* ocorreu a 25°C.

Palavras-chave: Competição. Biologia. Controle biológico. Insetos frugívoros. Semiárido.

ABSTRACT

FERNANDES, Elania Clementino. **Bioecological aspects of parasitoids (Hymenoptera) of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae)**. 2018. 93f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

The Mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) is one of the main fruit pests of economic and quarantine importance. Due to its great power of colonization and adaptation, this tefritídeo has been spreading throughout the tropical and subtropical region of the world, causing severe losses. The biological control of *C. capitata* with the use of parasitoids (Hymenoptera) is an important tool to reduce the populations of this tefritídeo. Among the main parasitoids of *C. capitata* we can report *Aganaspis daci* (Weld) (Hymenoptera: Figitidae), *Pachycrepoideus vindemmiae* Rondani (Hymenoptera: Pteromalidae), *Spalangia cameroni* Perkins (Hymenoptera: Pteromalidae) and *Tetrastichus giffardianus* Silvestre (Hymenoptera: Eulophidae). However, there are several factors that limit the choice or success of the use of parasitoids in biological control, among them we can highlight the lack of information on competition among the different groups of parasitoids, the lack of detailed information on rearing methodologies and the lack of studies on the bioecology of many species of parasitoids. Therefore, the objectives of this study were: 1) To evaluate the competition between the endoparasitoid of larva-pupa *A. daci* and the ectoparasitoids of pupa, *P. vindemmiae* and *S. cameroni*; 2) Adapt and describe in detail a rearing methodology for *T. giffardianus*; 3) To characterize the development and morphological aspects of the immature stages of *T. giffardianus*; 4) To evaluate the effect of different temperatures on the development of *T. giffardianus* and to elaborate its fertility life table. In the competition study between *A. daci*, *P. vindemmiae* and *S. cameroni*, a reduction in the emergence of *A. daci* was observed in the presence of the competitors; The sex ratio of offspring of *A. daci* was also significantly affected; But there was an additive effect on parasitism, especially between *A. daci* and *P. vindemmiae*. In the study of the rearing technique and the population growth potential of *T. giffardianus*, it was verified, through the demographic data of the studied population, that the rearing method presented in this study is feasible for the creation of *T. giffardianus*. The study of the development and morphological characterization of the immature stages of *T. giffardianus* demonstrated that the complete development (egg-adult) of this parasitoid takes place in 14 days and that through the form, coloration and size it is possible to characterize morphologically each of the immature stages of *T. giffardianus*. In the study on the effect of temperature on the biology and fertility life table of *T. giffardianus*, it was observed that temperature significantly influenced the development of the immature stages of this parasitoid, development occurred only at temperatures of 20, 25 and 30°C; The duration of pre-imaginal development (egg-adult) ranged from 41 days at 20°C to 11 days at 25°C; The mean longevity of males and females was inversely proportional to temperature, ranging from 50.3 to 8.4 days for males and from 31.8 to 8.0 days for females, in the thermal range of 15 to 35°C. According to fertility life table data, the best performance of *T. giffardianus* occurred at 25°C.

Keywords: Competition. Biology. Biological control. Frugivorous insects. Semiarido

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

- Figura 1 – Percentagem de emergência (Média \pm DP) de *Aganaspis daci* (Ad), *Pachycrepoideus vindemmiae* (Pv) e *Spalangia cameroni* (Sc), parasitando *Ceratitis capitata* isoladamente e em competição 29
- Figura 2 – Percentagem de parasitismo (Média \pm DP) isoladamente e em conjunto para *Aganaspis daci* (Ad), *Pachycrepoideus vindemmiae* (Pv) e *Spalangia cameroni* (Sc)..... 30

CAPÍTULO 3

- Figura 1 – Etapas da metodologia de criação de *Tetrastichus giffardianus* em laboratório. Gaiola de criação de adultos contendo recipiente com alimento e água (A); Fruto de *Terminalia catappa* infestados artificialmente com larvas de *Ceratitis capitata* (B); Fruto infestado dentro dos recipientes plásticos (C); Exposição de frutos infestados aos parasitoides na gaiola de criação (D); Placa de *Petri* contendo vermiculita umedecida e pupários (E); Parasitoides adultos (fêmea e macho) (F)..... 45
- Figura 2 – Dinâmica da fecundidade das fêmeas de *Tetrastichus giffardianus*, criadas parasitando larvas-pupas de *Ceratitis capitata*, em condições de laboratório (Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, Umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e Fotofase de 12 horas)..... 47

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 4

- Figura 1 – Larvas (a) e pupas (b) de *T. giffardianus* em pupário de *C. capitata*; (c) emergência de adultos; (d) Pupario de *C. capitata* com orifício de emergência de *T. giffardianus* 59
- Figura 2 – Estágios imaturos de *Tetrastichus giffardianus*. Ovos (a, b); Larva de primeiro instar (c); Larva de segundo instar (d); Larva de terceiro instar (e); Pré-pupa (f); Pupa em dois estádios de melanização (g, h) 62

CAPÍTULO 5

- Figura 1 – Duração média do desenvolvimento de ovo-adulto de *Tetrastichus giffardianus* em larvas de *Ceratitis capitata* mantidos em diferentes temperaturas, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h 77
- Figura 2 – Parasitismo diário e acumulado de *Tetrastichus giffardianus* em larvas de *Ceratitis capitata* em diferentes temperaturas (15, 20, 25, 30 e 35°C), umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas 79
- Figura 3 – Curvas de sobrevivência de machos (A) e fêmeas (B) de *Tetrastichus giffardianus* mantidos em diferentes temperaturas (15, 20, 25, 30 e 35°C) e umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Curvas seguidas pelas mesmas letras, para cada sexo, não diferem entre si pelo teste de Log-Rank. (Tms - tempo médio de sobrevivência) 80

LISTAS DE TABELAS

CAPÍTULO 2

- Tabela 1 – . Razão sexual da prole de *Aganaspis daci*, *Pachycrepoideus vindemmiae* e *Spalagia cameroni*, parasitando *Ceratitis capitata* isoladamente e em competição 29

CAPÍTULO 3

- Tabela 1 – Valores médios da taxa de reprodução líquida (R_o), Taxa intrínseca de crescimento (R_m), Tempo médio de uma geração (T) (dias), Tempo de duplicação da população (T_d) (dias) e a taxa finita de aumento (λ) de *Tetrastichus giffardianus* criados em larvas de *Ceratitis capitata* ($25 \pm 2^\circ\text{C}$; $60 \pm 10\%$ de UR; 12L:12E..... 48

CAPÍTULO 5

- Tabela 1 – Número médio de descendentes (emergidos e não emergidos), média do percentual de parasitismo e razão sexual de *Tetrastichus giffardianus* mantidos em diferentes temperaturas, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h..... 78
- Tabela 2 – Parâmetros da tabela de vida de fertilidade de *Tetrastichus giffardianus* em larvas-pupas de *Ceratitis capitata* criados diferentes temperaturas, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12h..... 81

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO GERAL..... | 14 |
| REFERÊNCIAS..... | 17 |
| CAPÍTULO 2 - COMPETIÇÃO ENTRE ENDO E ECTOPARASITOIDES DE <i>Ceratitis capitata</i> (WIEDEMANN) (DIPTERA: TEPHRITIDAE) | 21 |
| RESUMO..... | 21 |
| ABSTRACT..... | 22 |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 23 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS..... | 26 |
| 2.1 Manutenção das moscas e parasitoides..... | 26 |
| 2.2 Bioensaios de competição..... | 26 |
| 2.3 Parâmetros avaliados..... | 28 |
| 2.4 Análises estatísticas..... | 28 |
| 3 RESULTADOS..... | 28 |
| 4 DISCUSSÃO..... | 30 |
| AGRADECIMENTOS..... | 33 |
| REFERÊNCIAS..... | 34 |
| CAPÍTULO 3 – TÉCNICA DE CRIAÇÃO E PARÂMETROS DEMOGRÁFICOS POPULACIONAL DE <i>Tetrastichus giffardianus</i> SILVESTRI (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) | 40 |
| RESUMO..... | 40 |
| ABSTRACT..... | 41 |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 42 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS..... | 43 |
| 2.1 Local do estudo..... | 43 |
| 2.2. Metodologia de criação de <i>T. giffardianus</i> | 43 |
| 2.3 Desenvolvimento populacional de <i>T. giffardianus</i> | 45 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 46 |
| AGRADECIMENTOS..... | 49 |
| REFERÊNCIAS..... | 49 |
| CAPÍTULO 4 – DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS ESTÁGIOS IMATUROS DE <i>Tetrastichus giffardianus</i> (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) | 53 |
| RESUMO..... | 53 |
| ABSTRACT..... | 54 |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 55 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS..... | 56 |
| 2.1 Local do estudo..... | 56 |
| 2.2 Criação dos insetos | 56 |
| 2.3 Desenvolvimento e caracterização de <i>T. giffardianus</i> | 57 |
| 3 RESULTADOS..... | 58 |
| 3.1 Desenvolvimento dos imaturos..... | 58 |
| 3.2 Caracterização morfológica..... | 60 |

| | |
|--|----|
| 4 DISCUSSÃO | 63 |
| 4.1 Desenvolvimento dos imaturos..... | 63 |
| 4.2 Caracterização morfológica..... | 64 |
| REFERÊNCIAS | 66 |
| CAPÍTULO 5 – BIOLOGIA E TABELA DE VIDA DE FERTILIDADE DE <i>Tetrastichus giffardianus</i> Silvestre (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM LARVAS DE <i>Ceratitis capitata</i> (DIPTERA: TEPHRITIDAE) | 69 |
| RESUMO | 69 |
| ABSTRACT | 70 |
| 1 INTRODUÇÃO | 71 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS | 72 |
| 2.1 Local do estudo..... | 72 |
| 2.2 Criações de manutenção..... | 72 |
| 2.2.1 <i>Ceratitis capitata</i> | 72 |
| 2.2.2 <i>Tetrastichus giffardianus</i> | 73 |
| 2.3 Efeito da temperatura no desenvolvimento do imaturo de <i>T. giffardianus</i> .. | 74 |
| 2.4 Biologia do adulto e determinação dos parâmetros demográficos de <i>T. giffardianus</i> | 74 |
| 2.5 Análises estatística..... | 76 |
| 3 RESULTADOS | 76 |
| 3.1 Efeito da temperatura no desenvolvimento do imaturo de <i>T. giffardianus</i> . | 76 |
| 3.2 Biologia do adulto e determinação dos parâmetros demográficos de <i>T. giffardianus</i> | 77 |
| 3.3 Tabela de vida de fertilidade..... | 80 |
| 4 DISCUSSÃO | 81 |
| 4.1 Efeito da temperatura no desenvolvimento do imaturo de <i>T. giffardianus</i> .. | 81 |
| 4.2 Biologia do adulto e determinação dos parâmetros demográficos de <i>T. giffardianus</i> | 82 |
| 4.3 Tabela de vida de fertilidade..... | 84 |
| AGRADECIMENTOS | 86 |
| REFERÊNCIAS | 86 |

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL

As moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) representam um dos principais problemas fitossanitários para fruticultura mundial, causando perdas diretas e indiretas de aproximadamente US\$ 2 bilhões/ano (MACEDO et al., 2017). As perdas diretas são ocasionadas pelas larvas das moscas que se alimentam da polpa dos frutos, tornando-os impróprios para o consumo *in natura* e até mesmo para industrialização (BADII et al., 2015). Indiretamente, os prejuízos provocados pelas moscas-das-frutas são decorrentes das barreiras quarentenárias impostas por países que importam frutos *in natura*, e não querem correr o risco de introduzir em seus territórios espécies exóticas (MALAVASI, 2000).

Os tefritídeos frugívoros iniciam seu desenvolvimento com as fêmeas realizando a oviposição nos frutos. Após alguns dias surgem as larvas que se desenvolvem na polpa dos frutos, passando por três instares. Ao final do terceiro instar as larvas saem dos frutos e se enterram no solo, onde se transformam em pupas, e após alguns dias emergem os adultos que irão reiniciar um novo ciclo da praga.

Dentre os tefritídeos frugívoros, a mosca-do-mediterrâneo *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) é considerada uma das principais pragas do ponto de vista econômico e quarentenário, pois é cosmopolita e infesta mais de 300 espécies de frutíferas (SZYBISZEWSKA; TATEM, 2014). O controle dessa praga é realizado basicamente através da aplicação de inseticidas em cobertura ou na forma de isca-tóxica (atrativo + inseticida) (JUAN-BLASCO et al., 2013; SCHUTZE et al., 2018). No entanto, apesar dos avanços das técnicas e produtos utilizados no controle químico, os consumidores de frutas *in natura* têm exigido frutos sem resíduos ou com resíduos dentro dos limites permitidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Dessa maneira, tem-se buscado gradativamente substituir o controle químico convencional, por técnicas de controle menos impactantes ao meio ambiente e aos consumidores, tais como, liberação de insetos estéreis (TIE), uso de feromônios sexuais e alimentar, principalmente o uso do controle biológico

(OVRUSKI; SCHLISERMAN, 2012).

Os himenópteros parasitoides são os principais inimigos naturais utilizados no controle biológico de moscas-das-frutas (GIUNTI et al., 2015). As larvas dos parasitoides se desenvolvem alimentando-se do conteúdo corporal dos ovos, larvas e pupas do tefritídeo hospedeiro (CHEN et al., 2015).

Embora muitos programas de controle biológico de moscas-das-frutas, que introduziram diferentes espécies de parasitoides, tenham sido bem sucedidos, até hoje não se conhece os reais efeitos das múltiplas introduções (VAN LENTEREN, 2012). Entretanto, sabe-se que a competição entre parasitoides pode ser determinante na eficiência de programas de controle biológico que utilizam múltiplas espécies destes inimigos naturais (ALUJA et al., 2013; WANG et al., 2016). Contudo, são escassos os estudos visando esclarecer as interações ecológicas existentes entre os diferentes grupos de parasitoides.

Assim, a compreensão das possíveis interações competitivas entre parasitoides é importante para a concepção de programas de controle biológico, em que duas ou mais espécies de parasitoides sejam simultaneamente utilizadas (MURDOCH et al., 1996). Considerando que combinações inadequadas de espécies de parasitoides devem ser evitadas, quando se escolhe potenciais candidatos para liberações aumentativas (PEDERSEN & MILLS, 2004).

Os parasitoides *Aganaspis daci* (Weld) (Hymenoptera: Figitidae), *Pachycrepoideus vindemmiae* Rondani (Hymenoptera: Pteromalidae) e *Spalangia cameroni* Perkins (Hymenoptera: Pteromalidae) são espécies simpátricas na região do mediterrâneo (PAPADOPOULOS & KATSOYANNOS, 2003; FALCÓN et al., 2006; HARBI et al., 2015), e apresentam potencial de uso na supressão populacional de *C. capitata*. No entanto, apesar do potencial de uso destes parasitoides na supressão populacional de *C. capitata* são escassas as informações sobre a competição entre estes inimigos naturais.

No Brasil, *C. capitata* é uma das principais espécies de moscas-das-frutas de importância quarentenária para os países importadores (ZUCCHI, 2015). Este tefritídeo infesta mais de 93 espécies de plantas, distribuídas em 27 famílias botânicas, no país (ZUCCHI, 2012). Devido seu grande poder de colonização e adaptação, esta praga vem se disseminando por toda região do semiárido brasileiro, onde tem sido constatada infestando

diversas frutíferas exóticas e nativas (ARAUJO et al., 2005; ALVARENGA et al., 2009).

As primeiras tentativas de se utilizar parasitoides no controle de *C. capitata* tiveram início na década de 30 (COSTA et al., 2005). Mas foi a partir da década de 90 que se intensificaram os estudos sobre levantamento de parasitoides de moscas-das-frutas. Várias espécies de parasitoides foram obtidas, principalmente das famílias Braconidae, Figitidae, Eulophidae, Diapriidae e Pteromalidae (GUIMARÃES; ZUCCHI, 2004; ALVARENGA et al., 2009; MARINHO et al., 2009; NUNES et al., 2012; TAIRA et al., 2013; ARAUJO et al., 2015; LEITE et al., 2017). Contudo, à maioria dos parasitoides detectados nesses levantamentos estão associados com espécies de *Anastrepha* (nativas das Américas), e apenas algumas espécies foram relatadas em associação com *C. capitata*, possivelmente por ser uma espécie exótica (ZUCCHI, 2015).

No entanto, recentemente, em diferentes locais da região semiárida dos estados do Rio Grande do Norte e Ceará foram obtidas larvas/pupas de *C. capitata* parasitadas por *Tetrastichus giffardianus* Silvestre (Hymenoptera: Eulophidae) (ARAUJO et al., 2015). Este parasitoide foi usado com sucesso no controle *C. capitata* nas ilhas Havaianas (EUA) e foi trazido para o Brasil na década de 30, para ser utilizado no controle biológico de *C. capitata* em pomares de citros no estado de São Paulo, no entanto não alcançou os resultados esperados, pois não foram mais encontrados nos lugares liberados (COSTA et al., 2005). Possivelmente, a falha no estabelecimento de *T. giffardianus* está relacionada com a falta de informações sobre os aspectos bioecológicos deste parasitoide.

Portanto, o conhecimento de uma metodologia de criação que permita a realização de estudos básicos sobre aspectos bioecológicos de *T. giffardianus*, é fundamental para que este parasitoide possa ser utilizado no controle biológico de *C. capitata*, em áreas de fruticultura do semiárido brasileiro e em outras regiões do país. Dessa forma, os objetivos deste trabalho foram: 1) Estudar a competição entre o endoparasitoide de larva/pupa *A. daci* e os ectoparasitoides de pupa, *P. vindemmiae* e *S. cameroni*; 2) Adaptar e descrever detalhadamente uma metodologia de criação para o parasitoide *T. giffardianus*; 3) Conhecer o desenvolvimento e os aspectos morfológicos dos estágios imaturos de *T. giffardianus*; 4) Avaliar o efeito de diferentes temperaturas no desenvolvimento de *T. giffardianus* para construir sua tabela de vida de fertilidade.

REFERÊNCIAS

- ALUJA, M.; OVRUSKI, S.M.; SIVINSKI, J.; CÓRDOVA-GARCIA, G.; SCHLISERMAN, P.; NÚÑEZ-CAMPERO, S.; ORDANO, M. Inter-specific competition and competition-free space in the tephritid parasitoids *Utetes anastrephae* and *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae: Opiinae). **Ecological Entomology**, v. 38, n. 5, p. 485–496, 2013.
- ALVARENGA, C.D.; MATRANGOLO, C.A.R.; LOPES, G.N.; SILVA, M.A.; LOPES, E.N.; ALVES, D.A.; NASCIMENTO, A.S.; ZUCCHI, R.A. Moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) e seus parasitóides em plantas hospedeiras de três municípios do norte do estado de Minas Gerais. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 2, p. 195-204, 2009.
- ARAUJO, E.L.; MEDEIROS, M.K.M.; SILVA, V.E.; ZUCCHI, R.A. Moscas-das frutas (Diptera: Tephritidae) no semiárido do Rio Grande do Norte: plantas hospedeiras e índices de infestação. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 6, p. 889-894, 2005.
- ARAUJO, E.L.; FERNANDES, E.C.; SILVA, R.I.R.; FERREIRA, A.D.C.L.; COSTA, V.A. Parasitoides (Hymenoptera) de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) no semiárido do estado do Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 3, p. 610-616, 2015.
- BADII, K.B.; BILLAH, M.K.; AFREH-NUAMAH, K.; OBENG-OFORI, D.; NYARKO, G. Review of the pest status, economic impact and management of fruit-infesting flies (Diptera: Tephritidae) in Africa. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 12, p.1488-1498, 2015.
- CHEN, W.; HE, Z.; JI, X.L.; TANG, S.T.; HU, H.Y. Hyperparasitism in a generalist ectoparasitic pupal parasitoid, *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae), on its own conspecifics: when the lack of resource lead to cannibalism. **PLoS ONE**, v. 10, n. 4, p. 1-16, 2015.
- COSTA, V.A.; ARAUJO, E.L.; GUIMARAES, J.A.; NASCIMENTO, A.S.; LASALLE, J.

Redescoberta de *Tetrastichus giffardianus* (Hymenoptera: Eulophidae) após 60 anos da sua introdução no Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 72, n. 4, p. 539-541, 2005.

FALCO, J.V.; GARZÓN-LUQUE, E.; PEREZ-HINAREJOS, M.; TARAZONA, I.; MALAGON, J.; BEITIA, F. Two native pupal parasitoids of *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) found in Spain. *Integrated Control in Citrus Fruit Crops*, v. 29, n. 3, p. 71-74, 2006.

GUIMARÃES, J.A.; ZUCCHI, R.A. Parasitism behavior of three species of Eucoilinae (Hymenoptera: Cynipoidea, Figitidae) fruit fly parasitoids (Diptera) in Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 2, p. 217-224, 2004.

GIUNTI, G.; CANALE, A.; MESSING, R.H.; DONATI, E.; STEFANINI, C.; MICHAUD, J.P.; BENELLI, G. Parasitoid learning: current knowledge and implications for biological control. **Biological Control**, v. 90, p. 208-219, 2015.

HARBI, A.; BEITIA, F.; SABATER-MUÑOZ, B.; FALCÓ, J.V.; CHERMITI, B. First record of *Pachycrepoideus vindemmiae* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae) parasitizing pupae of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera). **African Entomology**, v. 23, n. 2, p. 514-518, 2015.

JUAN-BLASCO, M.; SABATER-MUÑOZ, B.; ARGILÉS, R.; JACAS, J.A.; FÉLIX ORTEGO, F.; URBANEJA, A. Effects of pesticides used on citrus grown in Spain on the mortality of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) Vienna-8 strain sterile males. **Journal of economic entomology**, v. 106, n. 3, p. 1226-1233, 2013.

LEITE, S.A.; CASTELLANI, M.A.; RIBEIRO, A.E.L.; COSTA, D.R.; BITTENCOURT, M.A.L.; MOREIRA, A.A. Moscas frugívoras e seus parasitoides no polo de fruticultura de livramento de nossa senhora, Bahia, com registro de interações inéditas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n.4, p. 1-10, 2017.

MACEDO, M.; AVILA, S.; ZUCCHI, R.; FARIA, F. Mid-level image representation for fruit fly identification (Diptera: Tephritidae). Conference: IEEE **International Conference on eScience**, At Auckland, New Zealand. P. 1-10, 2017.

MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A.; SUGAYAMA, R.L. Biogeografia. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica do Brasil: Conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, p. 93-98, 2000.

MARINHO, F.C.; SOUZA-FILHO, M.F.; RAGA, A.; ZUCCHI, R.A. Parasitóides (Hymenoptera: Braconidae) de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) no estado de São Paulo: Plantas hospedeiras e parasitismo. **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 3 p. 321-326, 2009.

MURDOCH, W.W.; BRIGGS, C.J.; NISBET, R.M. Competitive displacement and biological control in parasitoids: a model. **The American Naturalist**, v. 148, n. 5, p. 807-826, 1996.

NUNES, A.M.; MULLER, F. A.; GONCALVEZ, R.S.; GARCIA, M.S.; COSTA, V.A. NAVA, D.E. Moscas frugívoras e seus parasitoides nos municípios de Pelotas e Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 42, n. 1, p. 6-12, 2012.

OVRUSKI, S.M.; SCHLISERMAN, P. Biological control of Tephritid fruit flies in Argentina: historical review, current status, and future trends for developing a parasitoid mass-release program. **Insects**, v.3, n. 3, p. 870–888, 2012

PAPADOPOULOS N.T.; KATSOYANNOS B.L. Field parasitism of *Ceratitis capitata* larvae by *Aganaspis daci* in Chios, Greece. **BioControl**, v. 48, n. 2, p. 191-195, 2003.

PEDERSEN, B.S.; MILLS, N.J. Single vs. multiple introduction in biological control: the roles of parasitoid efficiency, antagonism and niche overlap. **Journal of Applied Ecology**, v. 41, n. 5, p. 973-984, 2004.

SCHUTZE, I.X.; BARONIO, C.A.; BALDIN, M.M.; LOEK, A.E.; BOTTON, M. Toxicity and residual effects of toxic baits with spinosyns on the South American fruit fly. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 53, n. 2, p. 144-151, 2018.

SZYNISZEWSKA, A.M.; TATEM, A.J. Global assessment of seasonal potential distribution of Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **PLoS One**, v. 9, n. 11, p. 1- 13, 2014.

TAIRA, T.L.; ABOT, A.R.; NICÁCIO, J.; UCHÔA, M.A.; RODRIGUES, S.R.; GUIMARÃES, J.A. Fruit flies (Diptera, Tephritidae) and their parasitoids on cultivated and wild hosts in the Cerrado-Pantanal ecotone in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 57, n. 3, p. 300–308, 2013.

VAN LENTEREN J.C. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. **BioControl**, v.57, p. 1–20, 2012.

WANG, X.G; KAÇAR, G.; BIONDI, A.; DAANE, M.K. Foraging efficiency and outcomes of interactions of two pupal parasitoids attacking the invasive spotted wing drosophila. **Biological Control**, v. 96, p. 64–71, 2016.

ZUCCHI, R.A. Fruit flies in Brazil - **Hosts and parasitoids of the Mediterranean fruit fly**, 2012. Available in: www.lea.esalq.usp.br/ceratitis/, updated on January 18, 2018. Accessed on 22 de janeiro de 2018.

ZUCCHI, R.A. Mosca-do-medeterrâneo, *Ceratitis capitata* (Wiedemann). In: VILELA, E.F; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Pragas introduzidas no Brasil: insetos e ácaros**. Piracicaba: FEALQ, p. 153-172, 2015.

CAPÍTULO 2

COMPETIÇÃO ENTRE ENDO E ECTOPARASITOIDES DE *Ceratitis capitata* (WIEDEMANN) (DIPTERA: TEPHRITIDAE)

RESUMO: O uso de múltiplas espécies de parasitoides tende a aumentar a eficiência dos programas de controle biológico de moscas-das-frutas praga, desde que não haja sobreposição de nichos entre as espécies utilizadas. Dessa maneira, a competição entre as espécies de parasitoides deve ser levada em consideração na seleção desses agentes para uso em programas de controle biológico de tefritídeos praga. O objetivo deste estudo foi avaliar a competição entre endoparasitoide de larval-pupa *Aganaspis daci* (Weld) (Hymenoptera: Figitidae) e os ectoparasitoides de pupa, *Pachycrepoideus vindemmiae* Rondani (Hymenoptera: Pteromalidae) e *Spalangia cameroni* Perkins (Hymenoptera: Pteromalidae), que são espécies simpátricas na região do mediterrâneo. Os bioensaios de competição compreenderam duas etapas. Na primeira etapa, larvas de *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) foram expostas ao parasitismo por *A. daci*, para obtenção de pupários oriundos de larvas previamente parasitadas. Na segunda etapa, os pupários parasitados por *A. daci* foram expostos, separadamente, aos parasitoides *P. vindemmiae* e *S. cameroni*. Para se avaliar a competição foram avaliados os seguintes caracteres: Percentual de emergência dos parasitoides = (número de insetos adultos/número de pupários) x 100; Razão sexual da prole originada pelos parasitoides = (número de fêmeas/número de fêmeas + machos); Índice de parasitismo = (número de parasitoides emergidos/número de pupários expostos) x 100. Constatou-se uma redução na emergência de *A. daci* de 56,2% sem competição para 16,9% na presença do concorrente *P. vindemmiae* (F=88,17; P<0,0001). Na competição entre *A. daci* e *S. cameroni*, a taxa de emergência de *A. daci* também foi significativamente afetada (F=60,51; P<0,0001), reduziu de 56,2% sem competição para 25,2% com competição com *S. cameroni*. A razão sexual da prole de *A. daci* foi significativamente influenciada (F=48,79; P<0,001) pela exposição subsequente a *P. vindemmiae* ou *S. cameroni*. Apesar do aspecto negativo da competição foi observado um efeito aditivo no parasitismo quando o hospedeiro (*C. capitata*) sofreu a ação do parasitoide larval e posteriormente dos parasitoides pupal. Portanto, se observou que *A. daci* foi afetado negativamente pela competição com os ectoparasitoides *P. vindemmiae* ou *S. cameroni*, apesar da razão sexual da prole não ter sido afetada e ter sido constatado um efeito aditivo no parasitismo.

Palavras chave: Controle biológico, multiparasitismo, efeito aditivo, moscas-das-frutas.

**COMPETITION BETWEEN ENDO AND ECTOPARASITIDS OF *Ceratitis capitata*
(WIEDEMANN) (DIPTERA: TEPHRITIDAE)**

ABSTRACT: The use of multiple species of parasitoids tends to increase the efficiency of biological control programs of pest fruit flies, provided there is no overlap of niches among the species used. Thus, competition among parasitoid species should be taken into account in the selection of these agents for use in biological control programs of tephritid pests. The objective of this study was to evaluate the competition between larval-pupal endoparasitoid *Aganaspis daci* (Weld) (Hymenoptera: Figitidae) and pupal ectoparasitoids, *Pachycrepoideus vindemmiae* Rondani (Hymenoptera: Pteromalidae) and *Spalangia cameroni* Perkins (Hymenoptera: Pteromalidae) which are sympatric species in the Mediterranean region. Competition bioassays comprised two steps. In the first step, larvae of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) were exposed to parasitism by *A. daci*, to obtain puparia from larvae previously parasitized. In the second step, pupae parasitized by *A. daci* were exposed separately to *P. vindemmiae* and *S. cameroni* parasitoids. To evaluate the competition, the following characters were evaluated: Percentage of emergence of parasitoids = (number of adult insects / number of puparia) x 100; Sex ratio of offspring originated by parasitoids = (number of females / number of females + males); Parasitism index = (number of parasitoids emerged / number of puparia exposed) x 100. A reduction in the emergence of *A. daci* from 56.2% without competition to 16.9% was found in the presence of the competitor *P. vindemmiae* (F=88.17; P<0.0001). In the competition between *A. daci* and *S. cameroni*, the *A. daci* emergence rate was also significantly affected (F=60.51; P<0.0001), reduced from 56.2% without competition to 25.2% with competition of *S. cameroni*. The sex ratio of *A. daci* offspring was significantly influenced (F=48.79; P<0.001) by competition with *P. vindemmiae* or *S. cameroni*. Despite the fact negative of the competition, an additive effect was observed in the parasitism when the host (*C. capitata*) underwent by action of the larval parasitoid and later by pupal parasitoids. Therefore, it was observed that *A. daci* was negatively affected by competition with the ectoparasitoids *P. vindemmiae* or *S. cameroni*, although the offspring sex ratio was not affected and an additive effect was observed in the parasitism.

Key words: Biological control, multiparasitism, additive effect, fruit flies.

1 INTRODUÇÃO

Os himenópteros parasitoides são os principais inimigos naturais utilizados em programas de supressão populacional de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) (GIUNTI et al., 2015). As larvas destes parasitoides se desenvolvem alimentando-se do conteúdo corporal do tefritídeo hospedeiro, que ao pupar é finalmente consumido pelas larvas do parasitoide (CHEN et al., 2015). Entretanto, a competição entre parasitoides pode ter um papel determinante na eficiência de programas de controle biológico, que utilizam múltiplas espécies destes inimigos naturais (ALUJA et al., 2013; WANG et al., 2016).

Competição pelo hospedeiro pode ocorrer diretamente entre fêmeas adultas dos parasitoides, quando forrageiam o hospedeiro (competição extrínseca) ou no estágio larval dentro do corpo do hospedeiro (competição intrínseca) (CUSUMANO et al., 2016). Na competição intrínseca pode haver o superparasitismo ou multiparasitismo. No superparasitismo um único hospedeiro é parasitado por vários indivíduos da mesma espécie, e no multiparasitismo um único hospedeiro é parasitado por indivíduos de diferentes espécies, entretanto apenas um parasitoide sobrevive e emerge como adulto (HARVEY et al., 2013). Além disso, a cadeia alimentar pode se tornar ainda mais complexa quando ocorre o hiperparasitismo, ou seja, um parasitoide secundário se desenvolve utilizando um parasitoide primário como alimento e apenas um dos dois parasitoides sobrevive e emerge (CHEN et al., 2015).

Na natureza tudo isso é possível de acontecer, uma vez que os parasitoides não removem do habitat seu hospedeiro e estes permanece "*in situ*" podendo ser explorado por concorrentes coespecíficos ou interespecíficos (BOIVIN; BRODEUR, 2006; HARVEY et al., 2011; CUSUMANO et al., 2016). Por exemplo, muitos parasitoides de moscas-das-frutas são endoparasitoides coinobiontes que parasitam larvas e completam o desenvolvimento dentro do pupário hospedeiro (OVRUSKI et al., 2000; WHARTON; YODER, 2018), sendo que estes pupários parasitados permanecem no mesmo habitat e são suscetíveis ao ataque de parasitoides pupais (WANG; MESSING, 2004b). Espécies de parasitoides pupais típicos (ectoparasitoides idiobiontes) podem apresentar algumas características biológicas

(fisiológicas) que são consideradas vantagens competitivas quando comparados aos parasitoides de ovo/larva (endoparasitoides coinobiontes), e estas vantagens podem afetar o resultado final da competição definindo o vencedor (HARVEY et al., 2013). Isso é bem demonstrado em fêmeas adultas de ectoparasitoides pupais, que geralmente injetam toxinas no momento da oviposição que são capazes de matar ou paralisar permanentemente seu hospedeiro, em alguns casos pode até causar a morte dos concorrentes em hospedeiros multiparasitados (WANG et al., 2004a; HARVEY et al., 2013). Outro fator que contribui como uma vantagem competitiva para os ectoparasitoides idiobiontes típicos é a forma como deposita seus ovos, estes são colocados sobre a cutícula externa do hospedeiro, no espaço existente entre o conteúdo corporal e a última exúvia que forma a parte interna do pupário, onde a larva alimenta-se externamente e não tem que lidar com as defesas internas do hospedeiro (STRAND; PECH 1995; HARVEY et al., 2011). Além destas estratégias, o rápido desenvolvimento verificado em muitas espécies de ectoparasitoides pode ser determinante no resultado da competição entre endo e ectoparasitoides (TORMOS, 2009; HARVEY et al., 2013; CUSUMANO et al., 2016).

Atualmente existe um crescente interesse no uso combinado de múltiplas espécies de parasitoides com diferentes nichos de forrageamento, em programas de supressão de tefritídeos pragas (NÚÑEZ-CAMPERO et al., 2012; CANCINO et al., 2014; VAN NIEUWENHOVE et al., 2016; WANG et al., 2016). Uma vez que não exista competição e/ou sobreposição de nicho entre as espécies utilizadas, o uso de múltiplas espécies tende a aumentar a eficiência do programa de controle através de um efeito aditivo (CANCINO et al., 2014; VAN NIEUWENHOVE et al., 2016). Caso contrário, o resultado a ser verificado poderá ser um efeito não aditivo na supressão da praga, ou seja, a mortalidade causada por duas ou mais espécies de inimigos naturais poderá ser igual ou menor ao efeito de suas capacidades individuais de suprimir a praga (VAN LENTEREN et al., 2006). Por isso, é necessário conhecer bem os potenciais candidatos a ser utilizados em programas de controle biológico, pois o uso combinado de espécies inadequadas poderá diminuir a eficiência de controle (WANG et al., 2003; MIRANDA et al., 2015; VAN NIEUWENHOVE et al., 2016).

Os parasitoides *Aganaspis daci* (Weld, 1951) (Hymenoptera: Figitidae), *Pachycrepoideus vindemmia* Rondani (Hymenoptera: Pteromalidae) e *Spalangia cameroni*

Perkins, 1910 (Hymenoptera: Pteromalidae) são espécies simpátricas na região do mediterrâneo (PAPADOPOULOS; KATSOYANNOS, 2003; FALCÓN et al., 2006; HARBI et al., 2015), e apresentam potencial de uso na supressão populacional de *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae).

Aganaspis daci é um endoparasitoide coinobionte primário de larva-pupa, foi registrado pela primeira vez em 1951, como um parasitoide larval de *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (= *Dacus dorsalis*) (Diptera: Tephritidae) na Malásia e Taiwan (Weld, 1951). Este figítídeo foi introduzido em vários países para o controle de diferentes espécies de tefritídeos de importância econômica, sendo considerado como um parasitoide eficiente e com grande potencial para ser usado em programas de controle biológico massal de tefritídeos pragas (DEPEDRO et al., 2016).

Pachycrepoideus vindemmiae é um ectoparasitoide idiobionte que ataca pupários de uma gama de dípteros cyclorrhaphous, tais como: Anthomyiidae, Calliphoridae, Drosophilidae, Muscidae, Sarcophagidae, Tachinidae e Tephritidae (GUILLÉN et al., 2002; WANG et al., 2004b). Dentre os tefritídeos, *P. vindemmiae* parasita mais de 18 espécies incluindo moscas-das-frutas de importância econômica e quarentenária, como *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett), *Bactrocera oleae* Rossi, *Anastrepha fraterculus* (Wied.), *A. obliqua* Macquart e *C. capitata* (NOYES, 2017; WHARTON; YODER, 2018). Além de atuar como parasitoide primário (WANG et al., 2016) é frequentemente registrado como hiperparasitoide facultativo (WANG et al., 2004b; CHEN et al., 2015).

Spalangia cameroni é um ectoparasitoide, solitário que ataca pupas de dípteros cyclorrhaphous, especialmente os pertencentes as famílias Muscidae e Tephritidae (BEITIA, et al., 2016). Este ectoparasitoide vem sendo utilizado em diversos países, para o controle de moscas doméstica e mosca do estábulo em liberações inundativas, com resultados satisfatórios (SKOVGARD, 2006; GEDEN; HOGSETTE, 2006; BIRKEMOE et al., 2009).

Apesar do potencial de uso do endoparasitoide larval *A. daci* e os ectoparasitoides pupais *P. vindemmiae* e *S. cameroni* na supressão populacional de *C. capitata* são escassas as informações sobre a competição entre estes parasitoides. Portanto, o objetivo deste estudo é avaliar a competição entre estes parasitoides, considerando que essas espécies coexistem em muitos habitats.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Manutenção das moscas e parasitoides

Todos os bioensaios foram realizados em conformidade com a lei espanhola atual. Os insetos utilizados foram criados em câmaras climatizadas com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar (UR) de $70 \pm 5\%$ e fotofase de (16L: 8E), no Departamento de Entomologia do Instituto Valenciano de Investigações Agrárias (IVIA), Moncada, Espanha. No momento em que os bioensaios foram realizados, as populações de *A. daci*, *P. vindemmiae* e *S. cameroni* haviam sido criadas por aproximadamente 73, 140 e 143 gerações, respectivamente. Larvas de terceiro instar (7-8 dias de idade) de *C. capitata* foram utilizadas como hospedeiro para a criação de *A. daci* e pupas (2-3 de idade) como hospedeiro para *P. vindemmiae* e *S. cameroni*. A mosca-do-mediterrâneo vem sendo criado no IVIA há mais de 10 anos, em gaiolas de criação (40 x 30 x 30 cm) com água e açúcar como fontes nutricionais, com base em Pérez-Hinarejos e Beitia (2008). Procedimentos detalhados da metodologia de criação do *A. daci* são descritos por DePedro (2018) e dos parasitoides *P. vindemmiae* e *S. cameroni* por Tormos et al. (2010).

2.2 Bioensaios de competição

Os bioensaios de competição compreenderam duas etapas. Na primeira etapa, larvas de *C. capitata* foram expostas ao parasitismo de *A. daci*, para obtenção de pupários oriundos de larvas previamente parasitadas. Na segunda etapa, os pupários já parasitados por *A. daci* foram expostos, separadamente, aos parasitoides *P. vindemmiae* ou *S. cameroni*.

Na primeira etapa, durante a realização dos bioensaios, a cada dia aproximadamente 700 larvas de terceiro instar de *C. capitata*, obtidas da criação realizada em dieta artificial, eram expostas ao parasitismo de *A. daci* em uma gaiola de criação (25 cm de altura x 25 cm diâmetro x 40 cm de comprimento), por um período de 5 horas. Em seguida, as larvas eram

transferidas para um recipiente plástico (13 x 13 cm de diâmetro x 10 cm altura) onde permaneciam até a pupação (\pm 48 horas). Após esse período, os pupários eram examinados sob um microscópio estereoscópio (Leica, MZ9.5) para seleção de pupários parasitados, que eram reconhecidos pelas cicatrizes de oviposição deixadas na cutícula do pupário, seguindo a metodologia de Montoya et al. (2012). Neste estudo foram utilizados pupários com três dias de idade que continham 2 a 4 cicatrizes de oviposição de *A. daci*. Um estudo prévio demonstrou que pupários com 2 a 4 cicatrizes de oviposição de *A. daci* foram os que apresentaram os maiores percentuais de emergência de *A. daci* (Dados não publicados).

Na segunda etapa, adultos de *P. vindemmiae* e *S. cameroni* com quatro dias de idade foram sexados para formação de casais. Cada casal formado era acondicionado em uma gaiola de parasitismo (15x10x10cm) contendo água fornecida em potes de acrílico (30 mL) através de uma esponja vegetal. Como alimento foi disponibilizado mel puro pincelado papel filtro (2,5 cm de diâmetro). Em seguida, sempre no período da manhã, os pupários de *C. capitata* (3 dias de idade) provenientes de larvas parasitadas por *A. daci* eram expostos aos parasitoides de pupa *P. vindemmiae* e *S. cameroni*, separadamente. Para cada casal foram ofertados 25 pupários de *C. capitata*, e estes ficavam expostos aos parasitoides por um período de 24 h. Este mesmo procedimento foi realizado durante três dias. Foram ofertados 75 pupários para cada casal ao longo dos três dias. Como controle para *P. vindemmiae* e *S. cameroni* foram ofertados pupários de *C. capitata* (3 dias de idade) não parasitados por *A. daci*.

Após serem expostos ao parasitismo, os pupários foram colocados em placa de Petri e fechadas com filme plástico, que em seguida foram acondicionadas em câmara B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand) (Sanyo MLR350), onde permaneceram até a emergência dos adultos (parasitoides e/ou moscas). Após o período de emergência, todos os pupários que não originaram adultos foram dissecados sob microscópio estereoscópio (Leica, MZ9.5) para verificar se havia presença de parasitoides inviáveis.

Para cada bioensaio foram estabelecidos tratamentos controle para *C. capitata* e *A. daci*, criados nas mesmas condições em que os ensaios foram realizados. O controle de *C. capitata* consistiu de pupas sem exposição aos parasitoides, assim a mortalidade natural da mosca foi corrigida em todos os tratamentos utilizando a fórmula de Abbott. O controle de *A. daci* foi constituído por pupários de *C. capitata* com 2 a 4 cicatrizes de oviposição de *A. daci*.

Cada bioensaio foi realizado três vezes em diferentes períodos do ano, com cada tratamento sendo cada parcela replicada 12 vezes.

2.3 Caracteres avaliados

Ao final de cada bioensaio foram avaliados os seguintes caracteres: Percentual de emergência dos parasitoides = (número de insetos adultos/número de pupários) x 100; Razão sexual da prole originada pelos parasitoides = (número de fêmeas/número de fêmeas + machos); Índice de parasitismo = (número de parasitoides emergidos/número de pupários expostos) x 100. Com base nestes caracteres foram avaliados o efeito da competição na emergência dos parasitoides, efeito da competição na razão sexual e efeito da competição no índice de parasitismo.

2.4 Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à ANOVA, com o erro tipo I e $P = 0,05$. Este tipo de análise permite identificar efeitos significativos entre as espécies de parasitoides. Todas as comparações dos valores médios foram realizadas pelo teste de Tukey (HSD) com $P = 0,05$. A percentagem da prole feminina de *A. daci*, *P. vindemmiae* e *S. cameroni* foi comparado utilizando um teste *t* com $P = 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa SAS versão 9.2 (SAS Institute 2009).

3 RESULTADOS

No sistema de competição avaliado neste estudo, verificou-se que houve uma redução significativa na emergência de *A. daci*, de 56,2% sem competição para 16,9% na presença do concorrente *P. vindemmiae* ($F=88,17$; $P<0,0001$) (Fig. 1). A emergência de *P. vindemmiae* permaneceu praticamente inalterado, com 54,1% sem competição e 54,8% em competição

com *A. daci* ($F=0,01$; $P=0,9093$) (Fig. 1). Quando foi avaliada a competição entre *A. daci* e *S. cameroni*, constatou-se que a taxa de emergência de *A. daci* também foi significativamente afetada ($F=60,51$; $P<0,0001$), ocorreu uma redução na emergência de 56,2% sem competição para 25,2% com competição. A emergência de *S. cameroni* não foi estatisticamente afetada ($F=0,52$; $P=0,4801$), sendo de 35,4% sem competição e 33,2% com competição (Fig. 1). A percentagem média de emergência da mosca hospedeira (*C. capitata*) no tratamento controle foi de 93,7%.

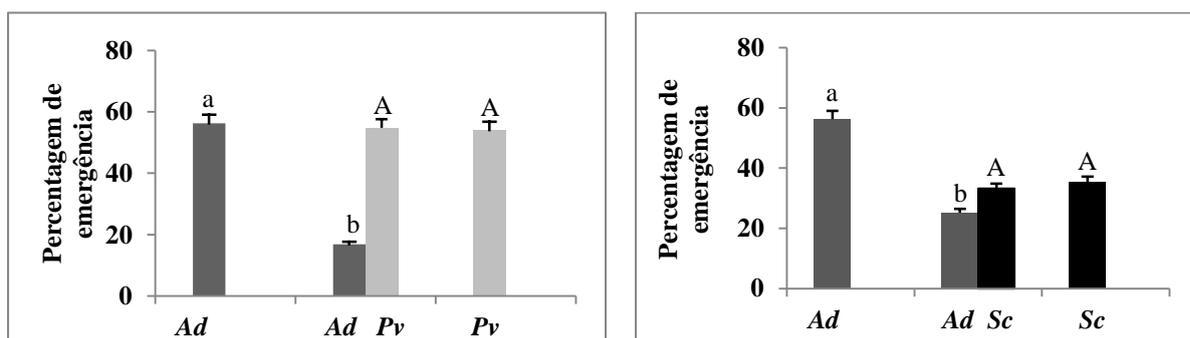


Figura 1. Percentagem de emergência (Média \pm DP) de *Agaspsis daci* (*Ad*), *Pachycrepoideus vindemmiae* (*Pv*) e *Spalangia cameroni* (*Sc*), parasitando *Ceratitidis capitata* isoladamente e em competição. Médias seguidas pelas mesmas letras, maiúscula ou minúscula, não diferem estatisticamente entre si (Teste de Tukey HSD, $P = 0,05$).

A razão sexual da prole de *A. daci* foi significativamente afetada ($F=48,79$; $P<0,001$) quando em competição com *P. vindemmiae* ou *S. cameroni* (Tab. 1). Contudo, a razão sexual da prole dos parasitoides pupais não foi alterada, *P. vindemmiae* ($F=0,021$; $P=0,8878$) e *S. cameroni* ($F=0,643$; $P=0,4351$), quando estes se desenvolveram em competição com *A. daci*.

Tabela 1. Razão sexual da prole de *Agaspsis daci*, *Pachycrepoideus vindemmiae* e *Spalangia cameroni*, parasitando *Ceratitidis capitata* isoladamente e em competição. Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna, não diferem estatisticamente (Teste Tukey, $P = 0,05$)

| Parasitoides | <i>A. daci</i> | | <i>P. vindemmiae</i> | | <i>S. cameroni</i> | |
|----------------------|-------------------|--------------|----------------------|--------------|--------------------|--------------|
| | Fêmeas (%) | Razão sexual | Fêmeas (%) | Razão sexual | Fêmeas (%) | Razão sexual |
| <i>A. daci</i> | 48,9 ^b | 0,49 | - | - | - | - |
| <i>P. vindemmiae</i> | - | - | 51,4 ^a | 0,51 | - | - |
| <i>S. cameroni</i> | - | - | - | - | 53,4 ^a | 0,53 |
| <i>Ad + Pv</i> | 35,3 ^a | 0,35 | 59,0 ^a | 0,59 | - | - |
| <i>Ad + Sc</i> | 38,2 ^a | 0,38 | - | - | 56,4 ^a | 0,56 |

Os índices de parasitismo em *C. capitata* que tiveram suas larvas parasitadas por *A. daci* e que os pupários formados foram subsequentemente ofertados aos parasitoides *P. vindemmiae* ou *S. cameroni*, apresentaram um efeito aditivo significativo de parasitismo ($F=9,81$; $P<0,001$). Na ação conjunta de *A. daci* e *P. vindemmiae*, o índice de parasitismo foi de 71,8%, enquanto que os índices de parasitismo separadamente de *A. daci* e *P. vindemmiae* foram de 56,2% e 54,1%, respectivamente (Fig. 2). O parasitismo conjunto de *A. daci* e *S. cameroni* foi de 58,4%, não diferindo significativamente do parasitismo de *A. daci* sem competição, mas apresentou um efeito aditivo significativo, quando comparado ao índice de parasitismo de *S. cameroni* sem competição (Fig. 2).

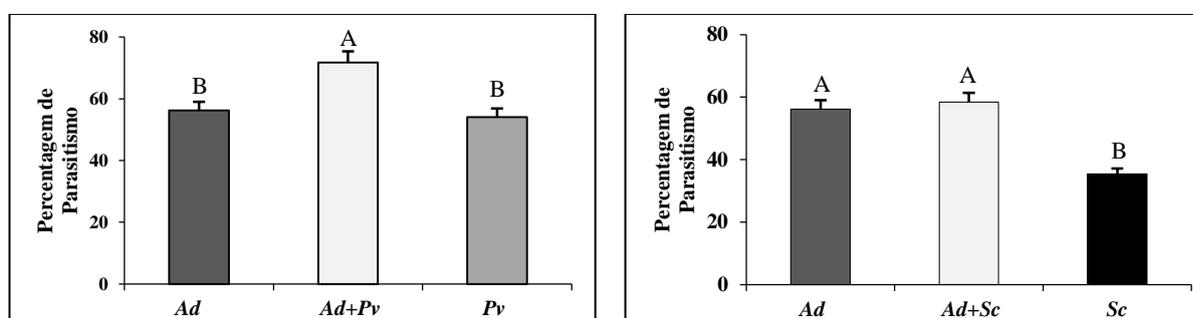


Figura 2. Percentagem de parasitismo (Média \pm DP) isoladamente e em conjunto para *Aganaspis daci* (*Ad*), *Pachycrepoideus vindemmiae* (*Pv*) e *Spalangia cameroni* (*Sc*). Médias seguidas pelas mesmas letras, maiúscula ou minúscula, não diferem estatisticamente entre si (Teste de Tukey HSD, $P = 0,05$).

4 DISCUSSÃO

A redução na emergência de *A. daci* (endoparasitoides coinobiontes) em competição com *P. vindemmiae* e *S. cameroni* (ectoparasitoides idiobiontes) provavelmente ocorreu em função de algumas vantagens competitivas destes ectoparasitoides idiobiontes, como por exemplo, injeção da toxina durante a oviposição, local de oviposição e tempo de desenvolvimento.

A injeção de veneno realizada pelas fêmeas de *P. vindemmiae* no momento da oviposição, pode ter atrasado ou paralisado o desenvolvimento das larvas de *A. daci* (endoparasitoide coinobionte), como observado para outras espécies de endoparasitoides por

Wang & Messing (2004). Com relação as espécies do gênero *Spalangia*, as informações disponíveis sobre as interações competitivas com endoparasitoides ainda são incipientes. Harvey et al. (2013) relataram que a injeção de veneno no hospedeiro é uma característica comportamental que parece ser comum nos ectoparasitoides idiobiontes. Entretanto, no presente estudo larvas de primeiro ínstar de *A. daci*, com até quatro dias de idade, não foram afetadas pelo veneno injetado por *P. vindemmiae* ou *S. cameroni* no momento da oviposição, pois em pupários dissecados foi comum encontrar larvas vivas de ambas as espécies de parasitoides (*A. daci* e *P. vindemmiae* ou *A. daci* e *S. cameroni*) (Dados não publicados). Possivelmente, a toxina injetado pelos ectoparasitoides idiobiontes tem rápida ação sobre o hospedeiro primário (*C. capitata*), mas necessita de algum tempo para agir no endoparasitoide (*A. daci*) que se desenvolve no interior do hospedeiro primário.

Outro aspecto que possivelmente contribuiu como uma vantagem competitiva para *P. vindemmiae* e *S. cameroni* foi o fato destes parasitoides depositarem seus ovos sobre a cutícula externa do hospedeiro, em um espaço interno no pupário, onde a larva que surge se fixa e alimenta-se, não tendo que lidar com as defesas internas do hospedeiro (STRAND & PECH 1995; HARVEY et al., 2013).

Além disso, o rápido desenvolvimento de muitas espécies de ectoparasitoides (TORMOS, 2009; HARVEY et al., 2013; CUSUMANO et al., 2016), pode ter permitido ao *P. vindemmiae* utilizar mais rapidamente os recursos do hospedeiro, não havendo mais alimento e tempo hábil para o desenvolvimento das larvas de *A. daci*. Mills (2006) ressaltou que na competição intrínseca entre parasitoides, a diferença entre os tempos de desenvolvimento das espécies envolvidas pode ser letal para uma delas. Possivelmente, o mesmo acontece nas competições envolvendo endo e ectoparasitoides.

O fato do percentual de emergência de *P. vindemmiae* e *S. cameroni* ter permanecido praticamente inalterado, sem competição e em competição com *A. daci*, demonstra que estes eparasitoides pupais não conseguem discriminar hospedeiros previamente parasitados por *A. daci*, e se desenvolvem com sucesso em pupários já ocupado por este endoparasitoide.

Apesar de haver relatos de endoparasitoides de larva se sobressaindo em competição com parasitoides de pupa, como por exemplo, o sucesso de *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) em competição intrínseca com *Coptera haywardi* (Ogloblin)

(Hymenoptera: Diapriidae) (VAN NIEUWENHOVE et al., 2016), na maioria dos casos os ectoparasitoides idiobiontes de pupas prevalecem em competição com endoparasitoides coinobiontes de ovo ou larva-pupa de moscas-das-frutas (WANG & MESSING, 2004b; SIVINSKI et al., 1998).

A menor emergência de fêmeas de *A. daci* na competição com os ectoparasitoides possivelmente ocorreu porque as fêmeas, quando comparadas com os machos, se desenvolvem mais lentamente (TORMOS et al., 2013) e são mais exigentes por nutrientes (CHARNOV et al., 1981). Dessa maneira a competição pode ter desfavorecido o sucesso na emergência de fêmeas. De uma forma geral, as fêmeas dos parasitoides avaliam a qualidade do hospedeiro e alocam o sexo que terá mais aptidão nele (GODFRAY, 1994). Ovos que originarão fêmeas são preferencialmente depositados em hospedeiros com melhores qualidades nutricionais (CHARNOV et al., 1981).

O fato da razão sexual dos ectoparasitoides não terem sofrido alteração, quando em competição com *A. daci*, reforça a informação de que *P. vindemmiae* e *S. cameroni* não conseguem identificar hospedeiros previamente parasitados por *A. daci*. Os resultados obtidos para *P. vindemmiae* foram semelhantes ao verificado por Stacconi et al. (2017) que registraram uma proporção sexual dos descendentes de *P. vindemmiae* sempre tendenciosa para fêmeas. Apesar dos esforços, os estudos sobre a influência da competição na razão sexual da prole de inimigos naturais são escassos.

Embora as interações competitivas sejam complexas para se entender e muitas vezes tendem a desfavorecer uma das espécies competidoras, mesmo assim é possível constatar efeito aditivo de parasitismo quando duas espécies estão em competição (VAN LENTEREN, 2006). É possível que o efeito aditivo de parasitismo observado na competição entre *A. daci* e *P. vindemmiae* ou *A. daci* e *S. cameroni* aconteceu casualmente, pois tudo indica que *P. vindemmiae* e *S. cameroni* não conseguem detectar se o hospedeiro foi previamente parasitado por *A. daci*. O efeito aditivo de parasitismo teoricamente poderia ter sido maior se *P. vindemmiae* e *S. cameroni* fossem capazes de detectar e evitar pupários parasitados por *A. daci*, como acontece com *C. haywardi* que evita ovipositar em pupários de *A. ludens* previamente parasitados por *D. longicaudata* (CANCINO et al., 2012). Contudo, este tema precisa ser melhor estudado, uma vez que, o reconhecimento de ODPs (Feromônio de

Oviposição Dissuadiria) heteroespecífico é relativamente raro na natureza (BOIVIN & BRODEUR, 2006).

De um modo geral, a competição entre espécies de parasitoides que utilizam a mesma fase do hospedeiro são bastante comuns, principalmente em pragas que sofrem metamorfose completa (PEDERSEN & MILLS, 2004; MILLS, 2006). Vários estudos demonstram que o multiparasitismo é frequente entre parasitoides de Tephritidae, onde uma espécie tipicamente elimina a outra na competição (WANG & MESSING, 2004a; 2008; PARANHOS et al., 2013; MIRANDA et al., 2015; VAN NIEUWENHOVE et al., 2016).

É importante avaliar o efeito das competições entre espécies de parasitoides a ser utilizadas em programas de controle biológico, visando evitar a redução da eficiência do parasitismo, ou até mesmo, a eliminação ou deslocamento de uma espécie por outra. Apesar dos resultados mostrarem a superioridade dos ectoparasitoides nas competições, ainda não existem resultados substanciais que comprovem a eliminação de endoparasitoides por ectoparasitoides de tefritídeos em ambientes naturais. Dessa maneira, os resultados obtidos neste estudo colaboram para um melhor entendimento da competição entre *A. daci* (endoparasitoide de larva-pupa) e *P. vindemmia* ou *S. cameroni* (ectoparasitoides de pupa). Todavia, mais estudos devem ser realizados em condições de laboratório e campo a fim de esclarecer o efeito das competições sobre o controle biológico.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de PDSE (Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior - Processo nº 99999.002664/2015-01) concedida a autora Elania C. Fernandes. Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela bolsa de PDE (Pós Doutorado no Exterior - Processo nº 206773/2014-5) concedida ao autor Elton L. Araujo. Ao IVIA (Instituto Valenciano de Investigações Agrárias) por disponibilizar sua estrutura de pesquisa para realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

ALUJA, M.; OVRUSKI, S.M.; SIVINSKI, J.; CÓRDOVA-GARCIA, G.; SCHLISERMAN, P.; NÚÑEZ-CAMPERO, S.; ORDANO, M. Inter-specific competition and competition-free space in the tephritid parasitoids *Utetes anastrephae* and *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae: Opiinae). **Ecological Entomology**, v. 38, n. 5, p.485–496, 2013.

BEITIA, F.; VALENCIA, E.; PERIS, B.; DE PEDRO, L.; ASÍS, J.D.; TORMOS, J.; Influence of natal host on parasitism by *Spalangia cameroni* (Hymenoptera: Pteromalidae). **European Journal Entomology**, v, 113, n. 1, p. 99–103, 2016.

BIRKEMOE, T.; SOLENG, A; AAK, A. Biological control of *Musca domestica* and *Stomoxys calcitrans* by mass releases of the parasitoid *Spalangia cameroni* on two Norwegian pig farms. **BioControl**, v. 54, n. 3, p. 425–436, 2009.

BOIVIN, G; BRODEUR, J: **Intra-and interspecific interactions among parasitoids: mechanisms, outcomes and biological control**. In: Trophic and guild interactions in Biological Control. Brodeur G.; Boivin J. (Eds). Springer: p. 123-144, 2006.

CANCINO, J., LIEDO, P., RUIZ, L., LÓPEZ, G., MONTOYA, P., BARRERA, J., SIVINSKI, J., ALUJA, M. Discrimination by *Coptera haywardi* (Hymenoptera: Diapriidae) of hosts previously attacked by conspecifics or by the larval parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). **Biocontrol Science Technology**, v. 22, n. 8, p. 899–914, 2012.

CANCINO, J.; MONTOYA, P.; BARRERA, J.F.; ALUJA, M.; LIEDO, PABLO. Parasitism by *Coptera haywardi* and *Diachasmimorpha longicaudata* on *Anastrepha* flies with different fruits under laboratory and field cage conditions. **BioControl**, v. 59, n. 3, p. 287-295, 2014.

CHARNOV, E.L.; LOS-DEN HARTOGH, R.L.; JONES, W.T.; VAN DEN ASSEM, J. Sex

ratio evolution in a variable environment. **Nature**, n. 289, p. 27-33, 1981.

CHEN W, HE Z, JI X-L, TANG S-T, HU H-Y. Hyperparasitism in a generalist ectoparasitic pupal parasitoid, *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae), on its own conspecifics: when the lack of resource lead to cannibalism. **PLoS ONE**, v. 10, n. 4, p. 1-16, 2015.

CUSUMANO, A.; PERI E.; S COLAZZA, S. Interspecific competition/facilitation among insect parasitoids **Insect Science**, v. 14, p. 12-16, 2016.

DEPEDRO, L.; BEITIA, F.; SABATER-MUNOZ, B.; ASIS, J.D.; TORMOS, J. Effect of temperature on the developmental time, survival of immatures and adult longevity of *Aganaspis daci* (Hymenoptera: Figitidae), a natural enemy of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Crop Protection**, v. 85, n. 7, p. 17-22, 2016.

DEPEDRO, L.; TORMOS, J.; ASÍS, J.D.; SABATER-MUÑOZ, B.; BEITIA, F. Biology of *Aganaspis daci* (Hymenoptera: Figitidae), parasitoid of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae): Mode of reproduction, biological parameters and superparasitism. **Crop Protection**, v. 108, n. 2, p. 54-61, 2018.

FALCÓ, J.V.; GARZÓN-LUQUE, E.; PÉREZ-HINAREJOS, M.; TARAZONA, I.; MALAGÓN, J.; BEITIA, F. Two native pupal parasitoids of *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) found in Spain. **Integrated Control in Citrus Fruit Crops IOBC wprs Bulletin** v. 29, n. 3, p. 71-74, 2006.

GEDEN C.J.; HOGSETTE J.A. Suppression of house flies (Diptera: Muscidae) in Florida poultry houses by sustained releases of *Muscidifurax raptorellus* and *Spalangia cameroni* (Hymenoptera: Pteromalidae). **Environmental Entomology**, v. 35, n. 1, p. 75– 82, 2006.

GIUNTI, G., CANALE, A., MESSING, R.H., DONATI, E., STEFANINI, C., MICHAUD,

J.P., BENELLI, G. Parasitoid learning: current knowledge and implications for biological control. **Biological Control**, v. 90, n. 6, p. 208-219, 2015.

GODFRAY, H.C.J. **Parasitoids: Behaviour and Evolutionary Ecology**. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, 1994.

GUILLÉN, L.; ALUJA, M.; EQUIHUA, M.; SIVINSKI, J. Performance of two fruit fly (Diptera: Tephritidae) pupal parasitoids (*Coptera haywardi* [Hymenoptera: Diapriidae] and *Pachycrepoideus vindemiae* [Hymenoptera: Pteromalidae]) under different environmental soil conditions. **Biological Control**, v. 23, n. 3, p. 219-227, 2002.

HARBI, A.; BEITIA, F.; SABATER-MUÑOZ, B.; FALCÓ, J.V.; CHERMITI, B. First record of *Pachycrepoideus vindemmiae* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae) parasitizing pupae of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera). **African Entomology**, v. 23, n. 2, p. 514-518, 2015.

HARVEY, J.A.; PASHALIDOU, F.; SOLER, R.; BEZEMER, T. M. Intrinsic competition between two secondary hyperparasitoids results in temporal trophic switch. **Oikos**, v. 120, n. 2, p. 226-223, 2011.

HARVEY, J.A.; POELMAN, E.H.; TANAKA, T. Intrinsic inter- and intraspecific competition in parasitoid wasps. **Annual Review of Entomology**, v. 58, p. 333–351, 2013.

MILLS, N. Interspecific competition among natural enemies and single versus multiple introductions in biological control. In: Brodeur J.; Boivin G. (Eds). **Trophic and Guild in Biological Interactions Control**. Springer. Progress in Biological Control, v.3., p. 191-220, 2006.

MIRANDA, M.; SIVINSKI, J.; RULL, J.; CICERO, L.; ALUJA, M. Niche breadth and interspecific competition between *Doryctobracon crawfordi* and *Diachasmimorpha*

longicaudata (Hymenoptera: Braconidae), native and introduced parasitoids of *Anastrepha* spp. fruit flies (Diptera: Tephritidae). **Biological Control**, v. 82, p. 86–95, 2015.

NOYES, J.S. Universal Chalcidoidea Database. World Wide Web electronic publication. Disponível em: <http://www.nhm.ac.uk/chalcidoids>. Acessado em 10/02/2018.

NUÑEZ-CAMPERO, S.R.; OVRUSKI, S.M.; ALUJA, M. Survival analysis and demographic parameters of the pupal parasitoid *Coptera haywardi* (Hymenoptera: Diapriidae), reared on *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). **Biological Control**, v. 61, n. 1, p. 40-46, 2012.

PAPADOPOULOS N.T.; KATSOYANNOS B.L. Field parasitism of *Ceratitis capitata* larvae by *Aganaspis daci* in Chios, Greece. **BioControl**, v. 48, n. 2, p. 191-195, 2003.

PARANHOS, B.J.; SIVINSKI, J.; STUHL, C.; HOLLER, T.; ALUJA, M. Intrinsic competition and competitor-free-space influence the coexistence of parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Opiinae) of Neotropical Tephritidae (Diptera). **Environmental Entomology**, v. 42, n. 4, p. 717-723, 2013.

PEDERSEN, B.S.; MILLS, N.J. Single vs. multiple introduction in biological control: the roles of parasitoid efficiency, antagonism and niche overlap. **Journal of Applied Ecology**, v. 41, n. 5, p. 973–984, 2004.

PÉREZ-HINAREJOS, M., BEITIA, F. Parasitism of *Spalangia cameroni* (Hymenoptera, Pteromalidae), an idiobiont parasitoid on pupae of *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). **IOBC/WPRS Bull**, v. 38, p. 130–133, 2008.

SAS INSTITUTE, 2002. SAS system for Windows, version 9.1. SAS Institute, Cary

STACCONI, M.V.R.; PANEL, A.; BASER, N.; IORIATTI, C.; PANTEZZI, T.; ANFORA, G. Comparative life history traits of indigenous Italian parasitoids of *Drosophila suzukii* and their effectiveness at different temperatures. **Biological Control**, v. 112, n. 6, p. 20–27, 2017.

STRAND, M.R.; PECH, L.L. Immunological basis for compatibility in parasitoid-host relationships. **Annual Review of Entomology**. v. 40, p. 31–56, 1995.

SIVINSKI, J.; VULINEC, K.; MENEZES, E.; ALUJA, M. The bionomics of *Coptera haywardi* (Oglobin) (Hymenoptera: Diapriidae) and other pupal parasitoids of tephritid fruit flies (Diptera). **Biological Control**, v. 202, n. 11, p. 193–202, 1998.

SKOVGÅRD, H. Search efficiency of *Spalangia cameroni* and *Muscidifurax raptor* on *Musca domestica* pupae in dairy cattle farms in Denmark. **BioControl**, v. 51, n. 1, 49-64, 2006.

TORMOS J.; BEITIA, F.; BÖCKMANN, A.E.; ASÍS, J.D. The preimaginal stages and development of *Spalangia cameroni* Perkins (Hymenoptera: Pteromalidae) on *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Micron**, v. 40, n. 5, p. 646–658, 2009a.

TORMOS, J.; BEITIA, F.; BÖCKMANN, E.A.; ASÍS, J.D.; FERNÁNDEZ, S. The preimaginal phases and development of *Pachycrepoideus vindemmia* (Hymenoptera, Pteromalidae) on mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). **Microscopy and Microanalysis**, v. 15, p. 422–434, 2009b.

TORMOS, J.; SABATER-MUÑOZ, B.; ASÍS, J.D.; BEITIA, F. Assessment of *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) pupae killed by heat or cold as hosts for rearing *Spalangia cameroni* (Hymenoptera: Pteromalidae). **Annals of Applied Biology**, v. 156, n. 2, p. 179–185, 2010.

TORMOS, J.; DE PEDRO, L.; BEITIA, F.; SABATER, B.; ASÍS, J.D.; POLIDORI, C. Development, preimaginal phases and adult sensillar equipment in *Aganaspis* parasitoids (Hymenoptera: Figitidae) of fruit flies. **Microscopy and Microanalysis**, v. 19, p. 1475–1489, 2013.

VAN NIEUWENHOVE, V.; BEZDJIAN, L.P.; SCHLISERMAN, P.; ALUJA, M.; OVRUSKI, S.M. Combined effect of larval and pupal parasitoid use for *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) control. **Biol. Control**, v. 95, n. 1, p. 94–102, 2016.

VAN LENTEREN, J.C.; BALE, J.; BIGLER, F.; HOKKANEN, H.M.T.; LOOMANS, A.J.M. Assessing risks of releasing exotic biological control agents of arthropod pests. **Annual Review of Entomology**. v. 51, p. 609–634, 2006.

WANG, X.G.; MESSING, R.H. Potential interactions between pupal and egg or larval-pupal parasitoids of tephritid fruit flies. **Environmental Entomology**, v. 33, p. 1313–1320, 2004a.

WANG, X.G.; MESSING, R.H. The ectoparasitic pupal parasitoid, *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae), attacks other primary tephritid fruit fly parasitoids: host expansion and potential non-target impact. **Biological Control**, v. 31, p. 227–236, 2004b.

WANG, X.G.; BOKONON-GANTA, A.H.; MESSING, R.H. Intrinsic inter-specific competition in a guild of tephritid fruit fly parasitoids: effect of coevolutionary history on competitive superiority. **Biol. Control**, v. 44, p. 312–320, 2008.

WANG, X.G.; GÜLAY KAÇAR, G.; ANTONIO BIONDI, A.; DAANE, K.M. Foraging efficiency and outcomes of interactions of two pupal parasitoids attacking the invasive spotted wing drosophila. **Biological Control**, v. 96, p. 64–71, 2016.

WHARTON, R.A.; YODER, M.J. **Parasitoids of fruit-Infesting Tephritidae**. <http://paroffit.org>. Accessed on Fri Jan 13 22:56:23 -0500 2018

CAPÍTULO 3

TÉCNICA DE CRIAÇÃO E PARÂMETROS DEMOGRÁFICOS POPULACIONAL DE *Tetrastichus giffardianus* SILVESTRI (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)

RESUMO: *Tetrastichus giffardianus* Silvestri (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide coinobionte gregário de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). Este tefritídeo é considerado uma das principais pragas da fruticultura na região semiárida do Brasil. Nos últimos anos, *T. giffardianus* tem sido detectado parasitando *C. capitata* em diferentes locais do semiárido brasileiro. Dessa maneira, *T. giffardianus* tem potencial para ser utilizado em programas de controle biológico de *C. capitata* no semiárido. Entretanto, um dos fatores limitantes para uso deste parasitoide é a falta de informações detalhadas sobre sua metodologia de criação e seus aspectos bioecológicos. Assim, o objetivo deste estudo foi adaptar uma metodologia de criação para *T. giffardianus* e estimar seu potencial de crescimento populacional, em condições de laboratório. Para isso, exemplares de *T. giffardianus* foram obtidos em campo, através da coleta de frutos de castanhola (*Terminalia catappa* - Combretaceae) infestados com *C. capitata*. A partir dos exemplares obtidos foi adaptada uma metodologia de criação para *T. giffardianus* em condições de laboratório. As informações dos caracteres demográficos populacional de *T. giffardianus*, foram obtidas com a avaliação de 15 casais criados com a mesma metodologia adaptada. Com base nos parâmetros avaliados foi constatado que a taxa intrínseca de aumento populacional de *T. giffardianus* foi de 0,34, o tempo médio de uma geração foi de 19,7 dias, o tempo de duplicação da população foi de 2,03 dias e a taxa finita de aumento populacional (λ) foi de 1,41. Os resultados obtidos demonstraram que a metodologia de criação apresentada neste estudo é viável para manutenção populacional de *T. giffardianus* em condições de laboratório.

Palavras chave: Tephritidae, parasitoide, controle biológico.

**REARING TECHNIQUE AND POPULATIONAL DEMOGRAPHIC PARAMETERS
OF *Tetrastichus giffardianus* SILVESTRI (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)**

ABSTRACT: *Tetrastichus giffardianus* Silvestri (Hymenoptera: Eulophidae) is a gregarious coinobiont endoparasitoid of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). This tefritídeo is considered one of the main fruit pests in the semi-arid region of Brazil. In recent years, *T. giffardianus* has been detected parasitizing *C. capitata* in different Brazilian semiarid sites. In this way, *T. giffardianus* has potential to be used in biological control programs of *C. capitata* in the semiarid. However, one of the limiting factors for the use of this parasitoid is the lack of detailed information on its rearing methodology and its bioecological aspects. Thus, the objective of this study was to adapt a rearing methodology to *T. giffardianus* and estimate its population growth potential under laboratory conditions. For this, specimens of *T. giffardianus* were obtained in the field, through the collection of fruits of *Terminalia catappa* (Combretaceae) infested with *C. capitata*. With the specimens obtained, a rearing methodology was developed for *T. giffardianus* under laboratory conditions. The information on the population demographic parameters of *T. giffardianus* was obtained with the evaluation of 15 pairs created with the same methodology. Based on the parameters evaluated, it was found that the intrinsic rate of population increase of *T. giffardianus* was 0.34, the average time of one generation was 19.7 days, the population doubling time was 2.03 days and the finite rate of population increase (λ) was 1.41. The results obtained demonstrated that the rearing methodology presented in this study is feasible for the population maintenance of *T. giffardianus* under laboratory conditions.

Key Words: Tephritidae, parasitoid, biological control.

1 INTRODUÇÃO

Tetrastichus giffardianus Silvestri (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide coinobionte gregário que parasita várias espécies de tefritídeos praga. As fêmeas de *T. giffardianus* tem o comportamento de penetrar nos frutos que apresentam rachaduras, para ovipositar diretamente nas larvas (PURCELL et al., 1996; COSTA et al., 2005).

Devido suas boas características como parasitoide de moscas-das-frutas, *T. giffardianus* foi levado da África Ocidental para o Havaí (USA) e posteriormente distribuído para diversos países da América Latina (PURCELL et al., 1996; OVRUSKI et al., 2000), para o controle de *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). No Brasil, este inimigo natural foi introduzido na década de 30, no estado de São Paulo, para o controle de *C. capitata* em pomares de citros (COSTA et al., 2005).

Apesar de ter sido bem sucedido em diferentes partes do mundo, *T. giffardianus* não teve êxito no estado de São Paulo, possivelmente devido à espécie não ter se adaptado as condições climáticas da região. Contudo, após 60 anos sem relatos no Brasil, depois de sua introdução, *T. giffardianus* foi registrado parasitando moscas-das-frutas em diferentes locais da região Nordeste do país, onde predomina o clima semiárido, semelhante ao centro de origem desse parasitoide (COSTA et al., 2005; ARAUJO et al., 2015; ARAÚJO et al., 2016).

Na região Nordeste do Brasil, onde se concentra os principais polos de fruticultura tropical irrigados do país, *C. capitata* foi detectada pela primeira vez na década de 90 e atualmente se encontra disseminada, infestando diferentes tipos de frutíferas (ARAUJO et al., 2013). Mas apesar da diversidade de parasitoides de moscas-das-frutas já relatados na região Nordeste do Brasil (ZUCCHI et al., 2012), são poucos os parasitoides que apresentam boas perspectivas de serem utilizados em programas de controle biológico de *C. capitata*, nessa região. Diante disto, *T. giffardianus* pode ser uma opção viável para auxiliar no controle biológico de *C. capitata* nos polos de fruticultura da região Nordeste do Brasil.

Entretanto, um dos fatores limitantes para utilização de um inimigo natural em programas de controle biológico aplicado refere-se à possibilidade de sua criação em condições de laboratório. Estabelecer metodologias de criação de inimigos naturais tem sido um dos grandes desafios do controle biológico, e até mesmo para os estudos de biologia

(OLIVEIRA, 2010). A partir da criação em laboratório que são obtidas informações biológicas fundamentais, para o uso efetivo de parasitoides em programas de controle biológico (CANCINO et al., 2009).

Alguns estudos relacionados à criação de *T. giffardianus* foram apresentados por Purcell et al. (1996). No entanto, faltam informações mais detalhadas que permitam estabelecer uma criação contínua e padronizada de *T. giffardianus* em condições de laboratório. Portanto, os objetivos deste estudo foram apresentar uma metodologia de criação de *T. giffardianus* em condições de laboratório e estimar os parâmetros demográficos de uma população criada com a mesma metodologia apresentada, visando saber se esta metodologia é adequada para manter uma população de *T. giffardianus* de forma contínua.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do estudo

As criações de *C. capitata* e *T. giffardianus* foram conduzidas em salas climatizadas (temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas) no Laboratório de Entomologia Aplicada da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, em Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil ($5^\circ 11' 26''\text{S}$ e $37^\circ 20' 17''\text{W}$; Altitude: 20m). Os adultos de *T. giffardianus* utilizados foram criados por aproximadamente 30 gerações

2.2 Metodologia de criação de *T. giffardianus*

Para o estabelecimento da criação de *T. giffardianus* inicialmente foram coletados frutos de castanhola (*Terminalia catappa* - Combretaceae) infestados com *C. capitata*, na cidade de Mossoró (RN). Os frutos coletados foram colocados em sacos de papel e encaminhados para o laboratório, onde foram colocados em bandejas plásticas, contendo uma

camada de vermiculita, e coberto com tecido *voile*. Após sete dias, a vermiculita foi peneirada para a obtenção dos pupários, que foram transferidos para placas de Petri contendo uma fina camada de vermiculita umedecida, onde permaneceram até a emergência dos adultos (moscas e parasitoides).

Os adultos de *T. giffardianus* obtidos foram colocados em uma gaiola de metalacrílico (30 x 30 x 30 cm), com uma abertura (10 x 10 cm) na parte superior protegida por tecido *voile*, para ventilação e na lateral uma tela em forma de manga para manipulação (Fig. 1a). Os parasitoides eram alimentados com açúcar granulado e mel puro pincelado em um papel colocado em uma placa de Petri de (9,5 x 9,5 x 1,6 cm). A água foi ofertada através de uma garrafa plástica de 50 ml com fita absorvente (Spontex®), onde água ficava disponível por capilaridade.

Diariamente, frutos de castanhola eram infestados manualmente, com larvas de terceiro instar (± 10 dias) de *C. capitata* (Fig. 1b), provenientes de uma criação mantida em laboratório. Os frutos infestados eram acondicionados em recipientes plásticos transparentes de 1.000 ml (15 cm de diâmetro x 9,4 cm de altura) (Fig. 1c) e ofertados aos parasitoides (Fig. 1d). Após um período de 24h de exposição aos parasitoides, as larvas eram transferidas para placas de Petri (9,0 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura) contendo vermiculita fina levemente umedecida, para pupação (Fig. 1e). As placas de Petri com os pupários eram então fechadas com filme plástico e os pupários permaneciam, até a emergência dos parasitoides (Fig. 1f) que diariamente eram liberados nas gaiolas de criação.

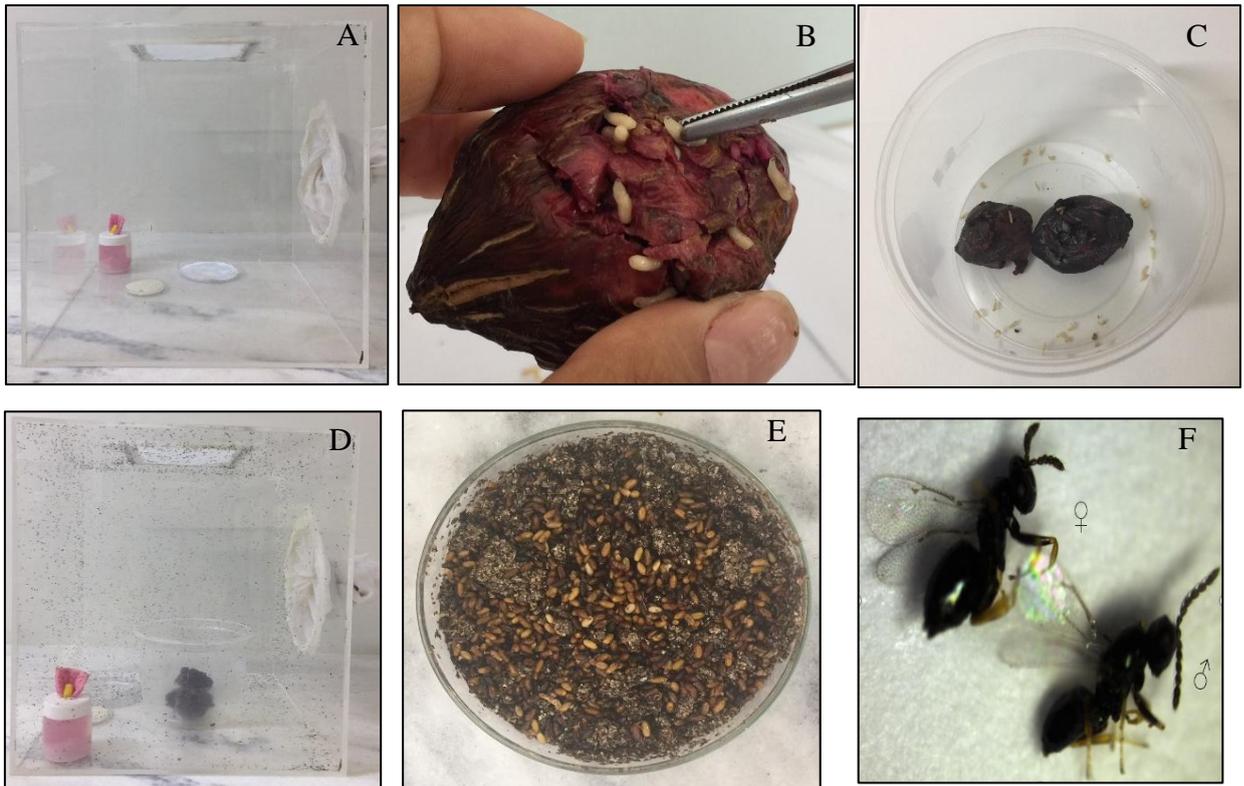


Figura 1. Etapas da metodologia de criação de *Tetrastichus giffardianus* em laboratório. Gaiola de criação de adultos contendo recipiente com alimento e água (A); Fruto de *Terminalia catappa* infestados artificialmente com larvas de *Ceratitidis capitata* (B); Fruto infestado dentro dos recipientes plásticos (C); Exposição de frutos infestados aos parasitoides na gaiola de criação (D); Placa de Petri contendo vermiculita umedecida e pupários (E); Parasitoides adultos (fêmea e macho) (F).

2.3 Desenvolvimento populacional de *T. giffardianus*

Nesta etapa do estudo foram sexados 15 machos e 15 fêmeas de *T. giffardianus* recém-emergidos, com base nas características morfológicas das antenas (machos possuem a antena mais longa do que as fêmeas) e do abdômen (machos apresentam abdômen menor). Os 30 indivíduos foram colocados todos juntos em uma gaiola de acrílico (20 cm de comprimento x 20 cm de largura x 15 cm de altura), com uma abertura (10 x 10 cm) na parte superior, fechada com tecido *voile*, para permitir aeração e uma das laterais contendo uma tela em forma de manga para manipulação. Os parasitoides tiveram acesso *ad libitum* à água, açúcar e mel puro.

Diariamente eram expostas larvas de terceiro instar de *C. capitata*, na proporção de

sete larvas por fêmea, durante todo o período de vida dos parasitoides. As larvas foram expostas em frutos de castanhola por um período de 24 h, como descrito na metodologia de criação do parasitoide. Os pupários obtidos foram individualizados em recipientes plásticos (50 ml) contendo vermiculita fina umedecida e fechadas com filme plástico, onde permaneceram até a emergência das moscas e/ou parasitoides.

Aproximadamente 14 dias após o parasitismo, avaliou-se diariamente o número de moscas e parasitoides emergidos. Os pupários que permaneceram fechados foram dissecados para se verificar a presença de moscas ou parasitoides, visando determinar a real taxa de parasitismo. A dissecação foi realizada com auxílio de bisturi e pinça sob um microscópio estereoscópico (Motic) com aumento de 80X.

Com base em Silveira Neto (1976) foram calculados as seguintes variáveis: Número de descendentes (Nd) = número de parasitoides emergidos + número de parasitoides não emergidos; Razão sexual (Rs) = (número de fêmeas) / (número de fêmeas + número de machos); Número de descendentes fêmeas produzidas por fêmea para a geração seguinte (Mx); Índice de sobrevivência acumulado até a idade X (Lx); Taxa líquida de reprodução (Ro); Taxa bruta de reprodução (TBR); Taxa intrínseca de aumento natural (r); Taxa intrínseca de crescimento (Rm); Taxa finita de aumento (λ); Tempo médio de uma geração (T); Tempo de duplicação da população (Td). Os dados foram processados utilizando-se o programa SigmaPlot 14.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fêmeas de *T. giffardianus* começaram a parasitar as larvas de *C. capitata* com 24 horas após a emergência, indicando que este parasitoide não apresenta período de pré-oviposição, uma vez que a maturação ovariana ocorre no período pupal, como também no início da fase adulta (PEMBERTON & WILLARD, 1918). O número médio de descendentes por fêmea foi de 75,6 durante sua vida, com o pico de oviposição registrado no primeiro dia de parasitismo e decrescendo com o aumento da idade (Fig. 3a). O elevado número de descendentes no primeiro dia de exposição do hospedeiro pode ter sido potencializado pelo

efeito do grupo, uma vez que algumas espécies de parasitoides podem exibir parâmetros biológicos distintos quando são analisados em grupo (ALUJA et al., 2009) ou separados por casal (GONÇALVES et al., 2016). Os indivíduos da população sobreviveram até o 15º dia, no entanto, 50% da população havia morrido antes do 10º dia (Fig. 3b).

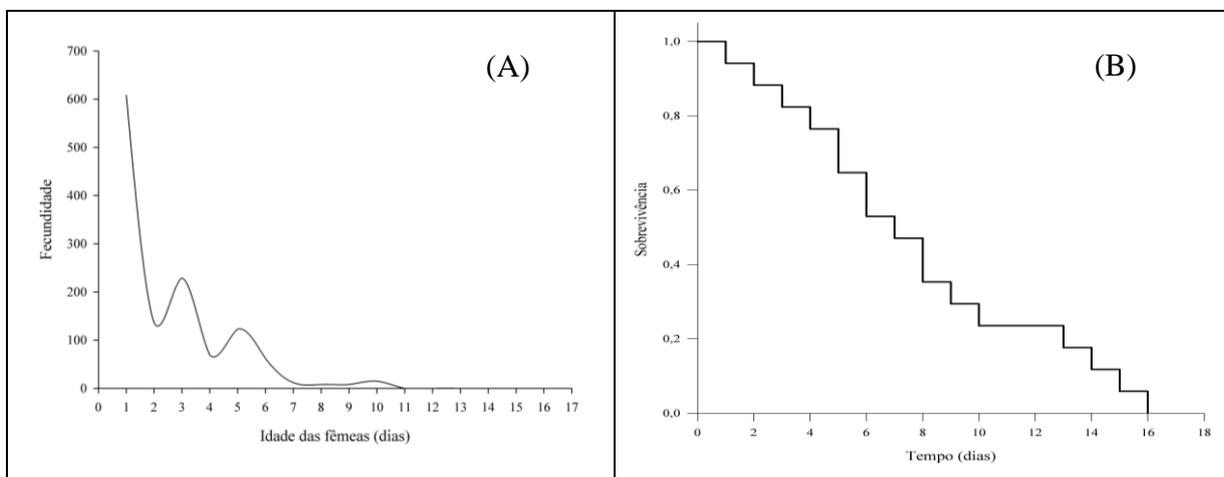


Figura 2. Dinâmica da fecundidade (A) e curva de sobrevivência (B) de uma população de *Tetrastichus giffardianus*, criadas parasitando larvas-pupas de *Ceratitis capitata*, em condições de laboratório (Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $60 \pm 10\%$; Fotoperíodo: 12L:12E).

A razão sexual (R_s) dos parasitoides emergidos foi significativamente tendenciosa ao sexo feminino (0,74), ou seja, 74% da prole desenvolvida por pupário foi de fêmeas. Estas características reprodutivas são comuns em outras espécies do gênero *Tetrastichus* (PEMBERTON & WILLARD, 1918). O valor da (R_s) varia de 0 a 1, indicando que as fêmeas superam os machos em quantidade quando o valor está mais perto de 1, e os machos superam as fêmeas quando esse valor está mais perto de 0. Assim, é importante determinar a proporção sexual ideal para alcançar a taxa máxima de aumento da população ou para produzir um determinado sexo para uma certa finalidade, como por exemplo, na criação de machos para esterilização e posterior liberação na técnica de inseto estéril. Dessa forma, para produção de inimigos naturais em programas de controle biológico em criações massais é fundamental um valor de (R_s) que otimizem a produção da prole feminina, uma vez que são as fêmeas que realizam o parasitismo controlando a população da praga no campo.

Os parâmetros demográficos estimados nesse estudo, em que 15 casais foram utilizadas, demonstraram que a taxa de reprodução líquida (R_o) de *T. giffardianus* foi de 824,08. Este valor indica que cada fêmea da população contribuiu com uma taxa de 54,93

progênie fêmea/dia para a geração seguinte (Tabela 2). Purcell et al. (1996) relataram um valor inferior ao registrado neste estudo que foi de 42,6 progênie fêmea/dia de *T. giffardianus*, também criados em larvas de *C. capitata*. A taxa de reprodução líquida de *T. giffardianus* neste estudo foi maior que a taxa constatada nos parasitoides solitários *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) que apresentou R_o de 45,56 (MEIRELLES et al., 2013) e *Aganaspis pelleranoi* (Brèthes) (Hymenoptera: Figitidae) com R_o de (2,60) (GONÇALVES et al., 2013), criados em larvas de *C. capitata*.

De um modo geral, o número de larva/dia parasitada por *T. giffardianus* é menor que o número de larvas/dia parasitadas por *D. longicaudata*, que é o parasitoide mais utilizado em programas de controle biológico de tefritídeos no mundo (SUAREZ et al., 2014; NÚÑEZ-CAMPERO et al., 2016), contudo este fato é compensado pelo hábito gregário e razão sexual tendenciosa para fêmeas em *T. giffardianus*.

Tabela 1. Taxa de reprodução líquida (R_o), Taxa intrínseca de crescimento (R_m), Tempo médio de uma geração (T) (dias), Tempo de duplicação da população (Td) (dias) e a taxa finita de aumento (λ) de uma população de fêmeas de *Tetrastichus giffardianus*, criadas em larvas-pupas de *Ceratitidis capitata* em condições de laboratório (Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $60 \pm 10\%$; Fotoperíodo: 12L:12E).

| Hospedeiro | R_o | R_m | T (dias) | Td (dias) | λ |
|--------------------|------------|-----------|------------|-----------|-----------|
| <i>C. capitata</i> | 54,93±3,04 | 0,34±0,03 | 19,70±0,16 | 2,03±0,04 | 1,41±0,06 |

A taxa intrínseca de crescimento populacional foi de 0,34 (R_m) (Tabela 2). Essa taxa foi maior que a R_m de outras espécies de parasitoides de moscas-das-frutas como *D. longicaudata* que foi de 0,14 (R_m) (MEIRELLES et al., 2013) e *A. pelleranoi* com 0,02 (R_m) (GONÇALVES et al., 2016). Contudo, foi menor que *Fopius arisanus* (Sonan) (Hymenoptera: Braconidae) que apresentou uma R_m de 0,39 (GROTH et al., 2016). Segundo Pedigo & Zeiss (1996), quanto maior o valor R_m melhor será a adaptação da espécie a um ambiente ou hospedeiro particular.

A partir dos parâmetros calculados foi estimado que o tempo médio de uma geração de *T. giffardianus* criada em larvas de *C. capitata* foi de 19,7 dias e o tempo de duplicação da população foi de 2,03 dias (Tabela 2). Alguns destes parâmetros são próximos aos observados por Purcell et al. (1996), que verificaram um tempo médio de uma geração de 21,09 dias e tempo de duplicação de 3,9 dias. O menor tempo de duplicação (2,03 dias) registrado neste

estudo, pode estar relacionado com a idade da larva hospedeira, uma vez que foram utilizadas larvas L3 (\pm 10 dias de idade), ao contrário das larvas de seis dias utilizadas por Purcell et al. (1996). Conseqüentemente, larvas de maior tamanho são capazes de fornecer uma maior quantidade de alimento aos parasitoides, influenciando diretamente o aumento do potencial reprodutivo da população. A taxa finita de aumento populacional (λ) foi de 1,41, ou seja, a cada dia a população foi multiplicada 1,41 vezes.

Os resultados demonstram que a metodologia apresentada pode ser utilizada para criar populações de *T. giffardianus* em condições de laboratório. De acordo com os valores médios dos parâmetros demográficos obtidos, a metodologia descrita permite a criação contínua de *T. giffardianus* em larvas de *C. capitata*. Além disso, pode-se afirmar que *T. giffardianus* é um inimigo natural com potencial para o controle biológico de *C. capitata*, pois seu hábito gregário e relação tendenciosa para o sexo feminino são características positivas que contribuem diretamente para o estabelecimento e crescimento populacional. Dessa maneira, os resultados obtidos neste estudo poderão auxiliar no estabelecimento de criações de *T. giffardianus*, para a realização de estudos básicos e aplicados, visando à utilização desse parasitoide no controle biológico de *C. capitata*.

AGRADECIMENTOS

Ao pesquisador Dr. Valmir Antônio Costa, da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, em Campinas (SP), pela identificação do parasitoide *T. giffardianus*.

REFERÊNCIAS

ALUJA, M.; SIVINSKI, J.; OVRUSKI, S.; GUILLÉN, L.; LÓPEZ, M.; CANCINO, J.; TORRES-ANAYA, A.; GALLEGOS-CHAN, G.; RUÍZ, L. Colonization and domestication of seven species of native New World hymenopterous larval-prepupal and pupal fruit fly (Diptera: Tephritidae) parasitoids. **Biocontrol Science and Technology**, v. 19, n. 1, p. 49-79, 2009.

ARAÚJO, A.A.R.; SILVA, P.R.R.; SILVA, R.B.Q.; SOUSA, E.P.D.S. *Tetrastichus giffardianus* on pupae of *Anastrepha* in Brazil. **Ciência Rural**, v. 46, n. 7, p. 1134-1135, 2016.

ARAÚJO, E.L.; RIBEIRO, J.C.; CHAGAS, M.C.M.; DUTRA, V.S.; SILVA, J.G. Moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) em um pomar de goiabeira, no semiárido brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 41-51, 2013.

ARAÚJO, E.L.; FERNANDES, E.C.; SILVA, R.I.R.; FERREIRA, A.D.C.L.; COSTA, V.A. Parasitoides (Hymenoptera) de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) no semiárido do estado do Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 3, p.610-616, 2015.

COSTA, V.A.; ARAÚJO, E.L.; GUIMARÃES, J.A.; NASCIMENTO, A.S.; LASALLE, J. Redescoberta de *Tetrastichus giffardianus* (Hymenoptera: Eulophidae) após 60 anos da sua introdução no Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 4, n. 72, p. 539-541, 2005.

CANCINO, J.; RUIZ, L.; SIVINSKI, J.; GALVEZ, F. O.; ALUJA, M. Rearing of 5 hymenopterous larval prepupal (Braconidae, Figitidae) and three pupal (Diapriidae, Chalcidoidea, Eurytomidae) native parasitoids of the genus *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) on irradiated *A. ludens* larvae and pupae. **Biocontrol Science and Technology**, v. 19, n. 1, p. 193-209, 2009.

GONÇALVES, R.S.; NAVA, D.E.; PEREIRA, H.C.; LISBOA, H.; GRUTZMACHER, D.D.; VALGAS, R.A. Biology and fertility life table of *Aganaspis pelleranoi* (Hymenoptera: Figitidae) in larvae of *Anastrepha fraterculus* and *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 106, n. 6, p. 791-798, 2013.

GONÇALVES, R.S.; ANDREAZZA, F.; LISBÔA, H.; GRÜTZMACHER, A.D.; VALGAS, R.A.; MANICA-BERTO, R.; NÖRNBERG, S.D.; NAVA, D.E. Basis for the development of a rearing technique of *Aganaspis pelleranoi* (Hymenoptera: Figitidae) in *Anastrepha fraterculus* (Tephritidae: Diptera). **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 3, p. 1094-

1101, 2016.

GROTH, M.Z.; LOECK, A.E.; NORBERG, S.D.; BERNARDI, D.; NAVA, D.E. Biology of *Fopius arisanus* (Hymenoptera: Braconidae) in two species of fruit flies. **Journal of Insect Science**, v. 16, n. 1, p. 1–7, 2016.

MEIRELLES, R.N.; REDAELLI, L.R.; OURIQUE, C.B. Comparative biology of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) reared on *Anastrepha fraterculus* and *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Florida Entomologist**, v. 96, n. 2, p. 412-418, 2013.

NÚÑEZ-CAMPERO, S.R.; BENITEZ-VIEYRA, S.; GORLA, D.E.; OVRUSKI, S.M. Changes in *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) functional response as consequence of host density choice. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 109, n. 5, p. 730–6, 2016.

OLIVEIRA, J.E.M.; DE BORTOLI, S.A.; SANTOS, R.F.; MOREIRA, A.N. Desenvolvimento de metodologia de criação e multiplicação de *Aphis gossypii*: avanços e sucessos. **Comunicata Scientiae**, v. 1, p. 65-68, 2010.

OVRUSKI, S.; ALUJA, M.; SIVINSKI, J.; WHARTON, R. 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**, v. 5, n. 2, p. 81-107, 2000.

PEDIGO, L.P.; ZEISS, R.M. Constructing life table for insect populations, p. 75–105. In **Analyses in insect ecology and management**. Iowa State University Press, Iowa. 1996.

PEMBERTON, C.E.; WILLARD, H.F. A contribution to the biology of fruit-fly parasites in Hawaii. **Journal of Agricultural Research**, v. 15, n. 8, p. 419-465, 1918.

PURCELL, M.F.; VAN NIEUWENHOVEN, A.; BATCHELOR, M.A. Bionomics of

Tetrastichus giffardianus (Hymenoptera: Eulophidae): an endoparasitoid of tephritid fruit flies. **Environmental Entomology**, v. 25, n. 1, p. 198-206, 1996

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA NOVA, N.A. **Manual de Ecologia dos Insetos**. Ed. Agronômica Ceres, 1976, p. 419.

SUAREZ, L.; MURUA, F.; LARA, N.; ESCOBAR, J.; TARET, G.; RUBIO, J.L.; VAN NIEUWENHOVE, G., BEZDJIAN, L.; SCHLISERMAN, P.; OVRUSKI, S.M. Biological control of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in Argentina: releases of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) in fruit-producing semi-arid areas of San Juan. **Natural Science**, v. 6, p. 664-675, 2014.

ZUCCHI, R.A. 2012. **Fruit flies in Brazil - Hosts and parasitoids of the Mediterranean fruit fly**. Available in: www.lea.esalq.usp.br/ceratitis/, updated on January 18, 2018. Accessed on 18 de janeiro de 2018.

CAPÍTULO 4

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS ESTÁGIOS IMATUROS DE *Tetrastichus giffardianus* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)

RESUMO: O conhecimento do desenvolvimento e das características morfológicas dos estágios imaturos do endoparasitoide gregário *Tetrastichus giffardianus* Silvestri (Hymenoptera: Eulophidae) é fundamental para seus estudos de bioecologia, visando otimizar sua utilização no controle biológico de moscas-das-frutas. Assim, o objetivo deste trabalho foi conhecer o desenvolvimento e os aspectos morfológicos dos estágios imaturos de *T. giffardianus*. Para isso, populações de *T. giffardianus* foram criados em larvas/pupas de *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), em condições de laboratório (Temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, Umidade Relativa de $60\pm 10\%$ e Fotofase de 12 horas). Para realização dos estudos, inicialmente larvas de 3º ínstar de *C. capitata* foram expostas ao parasitismo de *T. giffardianus*, por um período de 24 horas. Após o parasitismo, a cada 24 horas dez pupários foram dissecados durante todo período de desenvolvimento do parasitoide, para avaliar os estágios de desenvolvimento e registrar as características morfológicas dos imaturos. Todas as observações das fases imaturas de *T. giffardianus* foram realizadas com auxílio de um microscópio Leica S8APO. O desenvolvimento completo de *T. giffardianus* foi de 14 dias: Ovo ($\cong 1$ dia); Larva - primeiro ínstar ($\cong 1$ dia), segundo ínstar ($\cong 1$ dia) e terceiro ínstar ($\cong 2$ dias); Pré-pupa ($\cong 2$ dias); Pupa ($\cong 7$ dias). Os estágios imaturos de *T. giffardianus* apresentaram forma, coloração e tamanho que permitiram caracterizar morfolologicamente cada um dos estágios de desenvolvimento deste parasitoide. Os resultados obtidos são importantes porque permitem conhecer melhor o desenvolvimento e as características morfológicas dos estágios imaturos de *T. giffardianus*, o que irá contribuir para futuros estudos sobre este parasitoide.

Palavras chave: Tephritidae, biologia, morfologia, parasitoide, controle biológico.

**DEVELOPMENT AND MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF THE
IMMATURE STAGES OF *Tetrastichus giffardianus* (HYMENOPTERA:
EULOPHIDAE)**

ABSTRACT: The knowledge of the development and the morphological characteristics of the immature stages of the gregarious endoparasitoid *Tetrastichus giffardianus* Silvestri (Hymenoptera: Eulophidae) is fundamental for its bioecology studies, aiming to optimize its use in the biological control of fruit flies. Thus, the objective of this work was to know the development and the morphological aspects of the immature stages of *T. giffardianus*. For this, populations of *T. giffardianus* were raised in larvae/pupae of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions (Temperature of $25 \pm 2^\circ\text{C}$, Relative Humidity of $60 \pm 10\%$ and Photophase of 12 hours). For the accomplishment of the studies, initially larvae of 3rd instar of *C. capitata* were exposed to the parasitism of *T. giffardianus*, for a period of 24 hours. After parasitism, ten puparia were dissected during the entire development period of the parasitoid, to evaluate the stages of development and to register the morphological characteristics of the immature ones. All observations of the immature stages of *T. giffardianus* were performed using a Leica S8APO microscope. The complete development of *T. giffardianus* was 14 days: Egg ($\cong 1$ day); Larvae - first instar ($\cong 1$ day), second instar ($\cong 1$ day) and third instar ($\cong 2$ days); Pre-pupae ($\cong 2$ days); Pupa ($\cong 7$ days). The immature stages of *T. giffardianus* presented shape, color and size that allowed to characterize each of the stages of development of this parasitoid. The results obtained are important because they allow a better understanding of the development and morphological characteristics of the immature stages of *T. giffardianus*, which will contribute to future studies on this parasitoid.

Key Words: Tephritidae, biology, morphology, parasitoid, biological control.

1 INTRODUÇÃO

O controle biológico de tefritídeos praga tem sido realizado basicamente através do uso de himenopteros parasitoides, em praticamente todas as regiões do mundo (OVRUSKI et al., 2000; ALUJA et al., 2014). Na região neotropical, estes parasitoides são representados principalmente pelas famílias Braconidae, Chalcididae, Diapriidae, Eulophidae, Figitidae e Pteromalidae, com destaque para os braconídeos, da subfamília Opiinae (ALUJA et al., 2009; NÚÑEZ-CAMPERO et al., 2014; ARAUJO et al., 2015; WHARTON; YODER, 2018). A maioria dos estudos sobre esta guilda de inimigos naturais de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) estão relacionados aos endoparasitoides solitários (OVRUSKI et al., 2000) e pouco se conhece sobre as espécies de parasitoides gregários (PEMBERTON & WILLARD, 1918; OVRUSKI et al., 2006; VIGGIANI et al., 2007; ACHTERBERG et al., 2012).

Dentre os parasitoides gregários de moscas-das-frutas pode-se destacar *Tetrastichus giffardianus* Silvestri (Hymenoptera: Eulophidae). Este parasitoide foi levado da África Ocidental para o Havaí em 1914, para o controle da mosca-do-mediterrâneo *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), onde rapidamente se estabeleceu ao longo das ilhas havaianas (PURCELL et al., 1996). Posteriormente, durante as décadas de 20 e 30, esse parasitoide foi distribuído para países da América Latina, visando principalmente o controle de *C. capitata* (OVRUSKI et al., 2000).

Tetrastichus giffardianus é um endoparasitoide coinobionte gregário, que forrageia penetrando nas rachaduras dos frutos e oviposita em larvas maduras (terceiro instar) de tefritídeos (PEMBERTON & WILLARD, 1918). O tempo médio de desenvolvimento de ovo a adulto é de 17,4 dias em uma temperatura de 26°C (PURCELL et al., 1996). Em *T. giffardianus* a proporção entre os sexos é altamente tendenciosa as fêmeas, e o acasalamento ocorre entre irmãos logo após a emergência (PURCELL et al., 1996).

Apesar da importância de *T. giffardianus* como inimigo natural de moscas-das-frutas, são escassas as informações sobre o desenvolvimento e as características morfológicas dos estágios imaturos deste parasitoide (PEMBERTON & WILLARD, 1918; PURCELL et al., 1996). No entanto, essas informações são importantes pois servem de base para vários tipos de estudos, por exemplo, conhecer as características morfológicas das fases imaturas dos

parasitoides é fundamental para os estudos taxonômicos da espécie. Conhecer o desenvolvimento dos imaturos é importante para o planejamento de criações massais, pois fornece informações sobre a idade ideal para liberação dos parasitoides, em programas de controle biológico (TORMOS et al., 2013).

Portanto, considerando a escassez de informações sobre *T. giffardianus*, o objetivo deste trabalho foi conhecer o desenvolvimento e as características dos estágios imaturos de *T. giffardianus*, criados em larvas/pupas de *C. capitata*, em condições de laboratório, visando auxiliar futuros estudos sobre este inimigo natural.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do estudo

Os exemplares de *T. giffardianus* avaliados foram criados em larvas de *C. capitata*. As populações de *T. giffardianus* e *C. capitata* foram mantidas em sala climatizada (temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas), no Laboratório de Entomologia Aplicada da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, município de Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil.

2.2 Criação dos insetos

Ceratitis capitata foi criada em gaiolas plásticas semitransparentes (27,6 x 33,1 x 48,7 cm) com um dos lados revestido com tecido *voile*, onde as fêmeas realizavam a postura. Em uma das laterais na gaiola tinha uma tela em forma de manga para manipulação e na face superior havia dois orifícios de forma circular, contendo tela musselina por onde era fornecida a alimentação. No interior da gaiola foram colocadas duas placas de Petri (8,5 x 8,5 x 2,5 cm) contendo a alimentação e duas garrafas plásticas de 250 ml com fita absorvente (Spontex®)

que serve de bebedouro para as moscas adultas. A alimentação das moscas consistiu de uma mistura de levedura de cerveja e açúcar na proporção de 1:4. Fora da gaiola, na parte frontal, logo abaixo do tecido *voile*, foi colocada uma bandeja plástica contendo água, para o recolhimento dos ovos. A coleta dos ovos era realizada a cada 24 horas, com auxílio de um pincel. Os ovos coletados eram colocados em dieta artificial, onde as larvas eclodiam e começavam a se desenvolver na dieta artificial, alcançando seu máximo desenvolvimento no estágio L3, quando saltam da dieta para o fundo do recipiente onde ocorria a formação das pupas. Neste momento recolhem-se as pupas e coloca-se em uma nova caixa de cria, anteriormente descrita, iniciando assim, um novo ciclo. A dieta artificial utilizada neste estudo tem como base a dieta descrita por Albajes e Santiago Álvarez (1980), sofrendo pequenas modificações: 159,7g de levedura de cerveja, 308g de açúcar, 1,700ml de água, 1.100 de farelo de trigo, 11g de benzoato de sódio, 12,32g de metilparaben (nipagin) e 12,32g de propilparaben sódico (nipasol).

O parasitoide *T. giffardianus* foi criado em gaiolas de metalacrílico (30 x 30 x 30 cm), com uma abertura (10 x10 cm) de tecido *voile* na parte superior para ventilação e na lateral uma tela em forma de manga para manipulação. Os parasitoides adultos eram alimentados com açúcar granulado e mel puro pincelado em um papel posto numa placa de Petri de (8,5 x 8,5 x 2,5 cm). A água era fornecida em uma garrafa plástica de (50 ml) disponível por capilaridade através de fita absorvente (Spontex®). Para multiplicar os parasitoides, frutos de castanhola *Terminalia catappa* L. (Combretaceae) foram infestados manualmente, com auxílio de uma pinça, com larvas de terceiro ínstar de *C. capitata*. Diariamente, cerca de 300 larvas eram ofertadas aos parasitoides, por um período de 24h. Após este período, as larvas eram transferidas para um recipiente plástico contendo dieta artificial fresca, onde permaneciam até a formação dos pupários. Os pupários formados eram transferidos para placas de Petri (8,5 x 8,5 x 2,5 cm), contendo vermiculita fina levemente umedecida, onde permaneceram até a emergência das moscas e/ou parasitoides.

2.3 Desenvolvimento e caracterização de *Tetrastichus giffardianus*

Para estudar o desenvolvimento e caracterizar os estágios imaturos (ovo, larva, pré-pupa e pupa) de *T. giffardianus*, inicialmente larvas de 3º ínstar de *C. capitata* foram expostas aos adultos desse parasitoide, em gaiolas de criação, por um período de 24 horas, seguindo a mesma metodologia descrita acima. Após este período, as larvas foram acondicionadas em placas de Petri (9,0 x 1,5 cm) contendo vermiculita fina umedecida e cobertas com plástico filme, para formação dos pupários. As placas de Petri contendo os pupários foram mantidas em sala climatizada (temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas).

Para avaliar o período de desenvolvimento das formas imaturas de *T. giffardianus*, a cada 24 h, dez pupários eram retirados da placa de Petri e dissecados com o auxílio de pinças e alfinetes entomológicos, sob microscópio estereoscópio. Os estágios de desenvolvimento foram registrados para cada idade. As frequências dos diferentes estágios de desenvolvimento de *T. giffardianus* serviram como referência para separar as fases pré-imaginais (ovo, os três ínstars larvais, pré-pupa e pupa). Neste estudo 140 pupários de *C. capitata* foram dissecados para avaliar o período de desenvolvimento de *T. giffardianus*. De cada um dos pupários dissecados foram analisados dez imaturos, totalizando 1.400 imaturos estudados, para a realização das medidas e a caracterização morfológica.

Para caracterizar as fases imaturas do parasitoide foram observados os aspectos da forma, coloração e tamanho das diferentes fases de desenvolvimento do inseto. Todas as observações (medidas e fotos) das fases imaturas de *T. giffardianus* foram realizadas usando um microscópio estereoscópio Leica S8APO com aumento de 50x equipado com uma câmera digital DMC 2900 usando o software de fotos LAS versão 4.6 Leica (Leica Microsystems Imaging Solutions). Teste de Tukey ($p < 0,05$) foi utilizado para discriminar diferenças significativas entre as médias realizadas pelo SigmaPlot (Versão 11).

3 RESULTADOS

3.1 Desenvolvimento dos imaturos

O desenvolvimento de *T. giffardianus* teve início com a oviposição de um grupo de ovos no interior de uma larva de terceiro ínstar de *C. capitata*. Após o desenvolvimento embrionário, de cada ovo viável eclodiu uma larva de *T. giffardianus* que se desenvolveu de forma gregária (Figura 1a), no interior do hospedeiro. Durante o desenvolvimento larval foram constatados três ínstares, que neste estudo foram caracterizados por uma diferença significativa no tamanho dos estádios larvais ($F=55,69$; $P<0,0001$) e por pequenas mudanças na forma da cápsula cefálica. Após o desenvolvimento larval surgiu a pré-pupa e posteriormente a pupa (Figura 1b). Ao final da fase de pupa emergiram os adultos, que utiliza as mandíbulas para fazer um único orifício circular na parede do pupário (Figura 1c), através do qual ocorre a saída dos parasitoides para o meio externo (Figura 1d), com machos e fêmeas saindo em um curto intervalo de tempo.

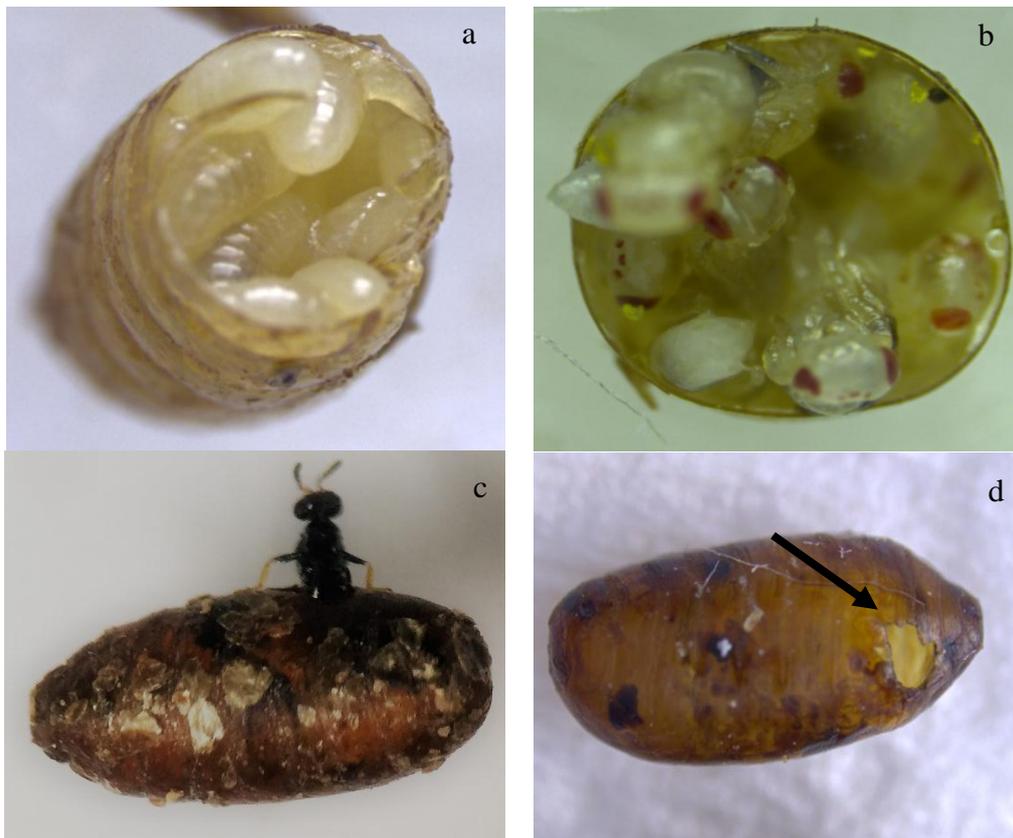


Figura 1. Larvas (a) e pupas (b) de *T. giffardianus* em pupário de *C. capitata*; (c) emergência de adultos; (d) Pupário de *C. capitata* com orifício de emergência de *T. giffardianus*.

O período do desenvolvimento pré-imaginal completo (ovo a adulto) de *T.*

giffardianus foi de 14 dias, nas condições em que o estudo foi realizado (Temperatura $25 \pm 2^\circ\text{C}$, Umidade

relativa de $60 \pm 10\%$ e Fotofase de 12 horas). A duração de cada estágio de desenvolvimento de *T. giffardianus* foi a seguinte: ovo ($\cong 1$ dia), larva de primeiro ínstar ($\cong 1$ dia), larva de segundo ínstar ($\cong 1$ dia), larva de terceiro ínstar ($\cong 2$ dias), pré-pupa ($\cong 2$ dias) e pupa ($\cong 7$ dias).

3.2 Caracterização morfológica

Ovo: Tem formato alongado, ligeiramente cilíndrico com uma membrana fina esbranquiçada. Uma área opaca central é visível, mostrando a larva em formação dentro do ovo (Figura 2a-b). Como o parasitoide é gregário, geralmente são encontrados em média 10 ovos por larva hospedeira. O ovo apresenta o tamanho médio de 0,20 mm (0,17 a 0,21 mm) de comprimento.

Larva de primeiro ínstar: Esta larva tem o formato himenopteriforme, constituído por 13 segmentos e cápsula cefálica sem mandíbulas aparentes. Possuem corpo translúcido, com canal digestivo gradualmente preenchido com glóbulos de gordura oriundos da alimentação do conteúdo corporal do hospedeiro (Figura 2c). A larva apresenta baixa mobilidade, o único movimento visível é a contração e expansão do corpo. Foram encontradas larvas de primeiro ínstar em pupários de dois dias. As larvas têm em média 0,57 mm (0,30 a 1,40 mm) de comprimento.

Larva de segundo ínstar: O corpo é inteiramente glabroso com formato alongado e os segmentos ondulatórios mais distinguíveis do que no ínstar anterior (Figura 2d). A cápsula cefálica tem pouca diferenciação dos outros segmentos do corpo e as mandíbulas são pequenas, difíceis de visualizar. As mandíbulas são importantes, pois é um parâmetro utilizado para definir os estádios larvais. As larvas apresentam um tamanho médio de 0,92 mm (0,56 a 1,20 mm) de comprimento.

Larva de terceiro ínstar: Apresenta coloração do corpo branco/amarelada. A larva

madura (terceiro instar) aumenta de tamanho e tem forma alongada (Figura 2e), mas não muito diferente dos ínstars anteriores. Peças bucais com mandíbulas pouco desenvolvidas (Figura 2f). Neste ínstar as larvas ocupam quase todo o pupário, já não havendo restos do conteúdo corporal do hospedeiro. Um mecônio escuro pode ser visto através da cutícula no extremo

caudal. O comprimento médio das larvas é de 1,19 mm (0,68 a 1,60 mm).

Pré-pupa: Apresenta coloração branco/amarelada e é caracterizada pela parada no crescimento e pelo início da definição do corpo (Figura 2g). A primeira parte do corpo que ganha forma é o abdômen. Um mecônio oval escuro pode ser visto através da cutícula no extremo caudal. O estágio de pré-pupa foi de aproximadamente 24-48 horas. A pré-pupa têm em média 1,36 mm (0,82 a 1,99 mm) de comprimento.

Pupa: A forma da pupa é semelhante ao adulto e apresenta olhos completamente pigmentados com coloração avermelhada/marrom. No início da fase de pupa o corpo do imaturo é branco/amarelada, mas com o passar do tempo, a pigmentação fica escura, até que sua coloração padrão seja alcançada. As pupas apresentam cabeça, tórax e abdômen bem definidos (Figura 2h). As antenas, ocelos e aparelho bucal são totalmente visíveis. A pupa é formada com a cabeça voltada para a extremidade cefálica do pupário. O dimorfismo sexual entre machos e fêmeas não é muito visível, apesar das fêmeas apresentarem o abdômen bem maior quando comparado ao abdômen dos machos. As pupas têm em média 1,33 mm (0,81 a 1,80 mm) de comprimento.

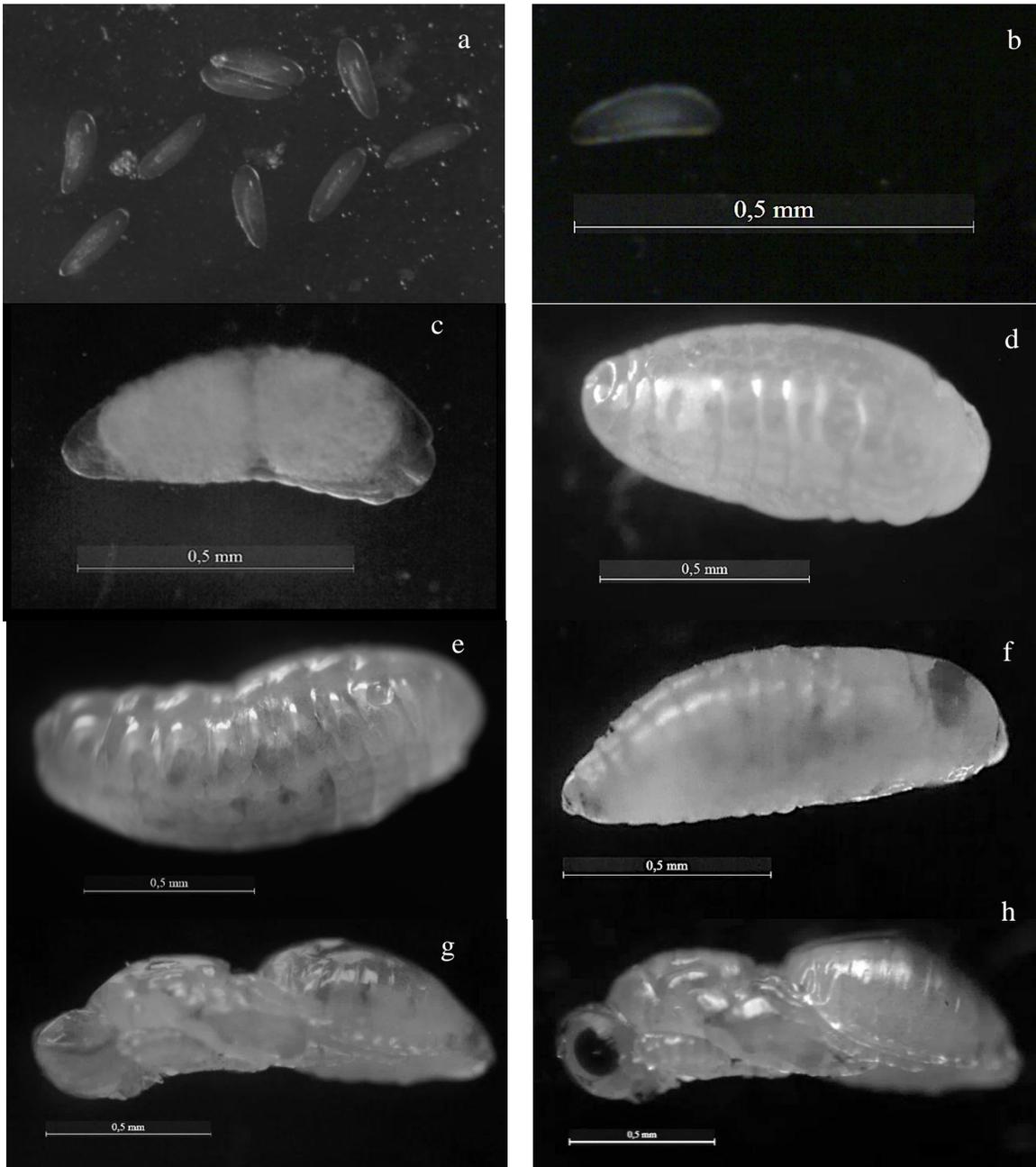


Figura 2. Estágios imaturos de *Tetrastichus giffardianus*. Ovos (a, b); Larva de primeiro instar (c); Larva de segundo instar (d); Larva de terceiro instar (e); Pré-pupa (f); Pupa em dois estádios de melanização (g, h). Barra = 0,5 mm

4. DISCUSSÃO

4.1 Desenvolvimento dos imaturos

Em função do reduzido número de espécies de parasitoides gregários de moscas-das-frutas conhecido e a falta de informações sobre os estágios imaturos destes inimigos naturais (PURCELL et al., 1996; OVRUSKI et al., 2006; VIGGIANI et al., 2007; VAN ACHTERBERG et al., 2012) em várias partes deste trabalho, *T. giffardianus* (endoparasitoide gregário) foi comparado com espécies de endoparasitoides solitário.

O desenvolvimento de *T. giffardianus* é tipicamente holometabólico, semelhante ao endoparasitoide solitário *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae), ou seja, se inicia com a fase de ovo, passa por três ínstaes larvais, pré-pupa e pupa, até alcançar a fase adulta. No entanto, constatou-se diferença com relação a emergência dos adultos, pois em *T. giffardianus* ocorre a emergência simultânea de machos e fêmeas e em *D. longicaudata*, machos emergem em dias diferentes das fêmeas (CARABAJAL-PALADINO et al., 2010). Além disso, deve-se salientar que *T. giffardianus* é um parasitoide gregário, com vários indivíduos se desenvolvendo ao mesmo tempo em um único pupário.

A duração do período pré-imaginal de *T. giffardianus* foi inferior ao constatado por Pemberton & Willard (1918). Estes autores verificaram que a duração de ovo a adulto de *T. giffardianus* foi de 24-31 dias nos meses de frio e cerca de 18 dias durante os meses mais quente. Como Pemberton & Willard (1918) não revelaram a temperatura em que o parasitoide foi criado, possivelmente o período de desenvolvimento mais curto constatado neste estudo ocorreu devido as diferenças nas condições de temperatura, umidade relativa e fotoperíodo. O desenvolvimento dos parasitoides também pode ser influenciado pelo tamanho, idade e qualidade do hospedeiro (LAWRENCE, 1990).

Neste estudo constatou-se que a duração de cada um dos estágios imaturos de *T. giffardianus* (ovo, larva, pré-pupa e pupa) foi menor que a observada para os imaturos de *Aganaspis daci* (Weld) (Hymenoptera: Figitidae) (TORMOS et al., 2013) e semelhante a duração verificada para os imaturos de *D. longicaudata* (CARABAJAL-PALADINO et al.,

2010), ambos criados em *C. capitata*, numa condição de temperatura constante à 25°C.

4.2 Caracterização morfológica

Apesar da falta de informações sobre caracterização dos estágios pré-imaginal de parasitoides gregários de moscas-das-frutas, constatou-se que as características dos ovos de *T. giffardianus* recém-depositados são diferentes de outros parasitoides de larva-pupa. Por exemplo, o ovo do endoparasitoide solitário *A. daci* é maior, mede aproximadamente 0,51 mm, e apresenta um pedúnculo na extremidade anterior, que desaparece após 48 h (TORMOS et al., 2013).

As larvas de *T. giffardianus* apresentam características morfológicas distintas da larva do endoparasitoide solitário *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti) (Hymenoptera: Braconidae), que possui larva de forma longa e cilíndrica, e com o último segmento abdominal em forma de cauda (MURILLO et al., 2016). A presença do apêndice caudal permite que a larva do endoparasitoide solitário percorra toda a hemolinfa do hospedeiro, visando encontrar e destruir larvas de parasitoides concorrentes (HARVEY et al., 2013). Acredita-se que a ausência de apêndice caudal nas larvas de parasitoides gregário, como *T. giffardianus*, é uma característica evolutiva importante, pois permite que as larvas permaneçam praticamente imóveis durante seu desenvolvimento facilitando o hábito gregário destes parasitoides (PEXTON & WAYHEM, 2004).

Os três ínstares larvais de *T. giffardianus* foram caracterizados pelo aumento no tamanho e pequenas mudanças na forma da cápsula cefálica. Alguns estudos sobre parasitoides relatam que as únicas diferenças entre o segundo e terceiro estádios larvais são aumento de tamanho, muda de mandíbulas e medida da cápsula cefálica (PARRA; HADAD, 1989; TORMOS et al., 2013). A presença de minúsculas mandíbulas é uma característica que diferencia larvas de *T. giffardianus* de larvas de muitas espécies de endoparasitoides solitários. Geralmente, endoparasitoides solitários apresentam mandíbulas bem desenvolvidas no primeiro instar larval, isso porque elas usam as mandíbulas para perfurar e matar os parasitoides concorrentes dentro do hospedeiro (WANG et al., 2008; HARVEY et al., 2013).

As características gerais da pré-pupa de *T. giffardianus* é semelhante a outras espécies

de endoparasitoides de moscas-das-frutas, que se caracterizam pela desaceleração do movimento, expulsão dos restos do hospedeiro (mecônio) e início da pigmentação dos olhos (MURILLO et al., 2015; TORMOS et al., 2009). Contudo, constatou-se que a pré-pupa de *T. giffardianus* é menor que a pré-pupa de *D. longicaudata* (2,8 mm) (CARABAJAL-PALADINO et al., 2010), *D. areaolatus* (4,3 mm) (MURILLO et al., 2015) e *A. daci* (2,1 mm) (TORMOS et al., 2013).

Na fase de pupa de *T. giffardianus* já são visíveis várias características (antenas, coloração, pernas, etc.) que estarão presente nos adultos, assim como em *D. longicaudata* (CARABAJAL-PALADINO et al., 2010). O dimorfismo sexual entre machos e fêmeas de *T. giffardianus* não é muito visível na fase de pupa, apesar das fêmeas apresentarem o abdômen bem desenvolvido. Entretanto, em *D. longicaudata* o dimorfismo sexual na fase de pupa é bem evidente, as fêmeas apresentam o ovipositor bem desenvolvido com inclinação para o lado dorsal e os machos possuem antenas mais longas e válvulas que corresponde à parte externa do sistema reprodutivo na região ventral-caudal (CARABAJAL-PALADINO et al., 2010). Além disso, a pupa de *T. giffardianus* é menor que a pupa de *D. longicaudata* (CARABAJAL-PALADINO et al., 2010).

O desenvolvimento e a descrição das fases imaturas de *T. giffardianus* apresentada neste estudo, bem como outras características observadas durante as dissecações, contribuem para um melhor conhecimento da biologia e morfologia dos estágios pré-imaginal deste parasitoide. Essas informações, por exemplo, podem auxiliar na determinação do tempo que este parasitoide deve ser mantido na criação antes de sua liberação em campo, para o controle biológico de *C. capitata*. Além disso, a caracterização das fases imaturas pode auxiliar nos estudos taxonômicos destes imaturos e nas pesquisas sobre competição interespecífica de parasitoides. No entanto, estudos mais detalhados sobre *T. giffardianus* devem ser realizados, visando utilizar este parasitoide no controle biológico de *C. capitata*, em determinadas regiões da América Tropical.

REFERÊNCIAS

ALBAJES, R. y C. SANTIAGO-ALVAREZ. Efecto de la densidad larvaria y de la alimentación en la proporción de sexos de *Ceratitis capitata* (Diptera: Trypetidae). *An.INIA. Serie Agrícola*, n. 13: p. 175-182, 1980.

ALUJA, M.; SIVINSKI, J.; OVRUSKI, S.; GIULLÉN, L.; LÓPEZ, M.; CANCINO, J.; TORRES-ANAYA, A.; GALLEGOS-CHAN, G.; RUIZ, L. Colonization and domestication of seven species of native New World hymenopterous larval prepupal and pupal fruit fly (Diptera: Tephritidae) parasitoids. **Biocontrol Science and Technology**, v.19, n.1, p.49-79, 2009.

ALUJA, M.; SIVINSKI, J.; VAN DRIESCHE, R.; ANZURES-DADDA, A.; GUILLEN, L. Pest management through tropical tree conservation. **Biodiversity and Conservation**, v. 23, p. :831–853, 2014.

ARAUJO, E.L.; FERNANDES, E.C.; SILVA, R.I.R.; FERREIRA, A.D.C.; COSTA, V.A. Parasitoides (Hymenoptera) de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) no semiárido do estado do Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 3, p. 610-616, 2015.

CARABAJAL-PALADINO, L.Z.; PAPESCHI, A.G.; CLADERA, J.L. Immature stages of development in the parasitoid wasp, *Diachasmimorpha longicaudata*. **Journal of Insect Science**, v. 10, n. 56, p. 1-10, 2010.

HARVEY, J.A.; POELMAN, E.H.; TANAKA, T. Intrinsic inter-and intraspecific competition in parasitoid wasps. **Annual Review of Entomology**, v. 58, n. 19, p. 333–351, 2013.

LAWRENCE, P.O. The biochemical and physiological effects of insect hosts on the development and ecology of their insect parasites: An overview. **Archives on Insect Biochemistry and Physiology**, v. 13p. 217-228, 1990.

MURILLO F.D.; CABRERA-MIRELES H.; BARRERA J.F.; LIEDO P.; MONTOYA P. *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera, Braconidae) a parasitoid of early developmental stages of *Anastrepha obliqua* (Diptera, Tephritidae). **Journal of Hymenoptera Research**, v. 46, p. 91–105, 2015.

MURILLO, F.D.; LIEDO, P.; NIETO-LÓPEZ, M.G.; CABRERA-MIRELES, H.; BARRERA, J.F.; MONTOYA, P. First instar larvae morphology of Opiinae (Hymenoptera: Braconidae) parasitoids of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) fruit flies. Implications for interspecific competition. **Arthropod Structure & Development**, v. 45, n. 3, p. 294–300, 2016.

NÚÑEZ-CAMPERO, R.S.; ALUJA, M.; RULL J.; OVRUSKI, S.M. Comparative demography of three neotropical larval-prepupal parasitoid species associated with *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). **Biological Control**, v. 69, p. 8–17, 2014.

OVRUSKI, S.M.; ALUJA, M.; SIVINSKI, J.; WHARTON, R. Hymenopteran parasitoids on fruit infesting Tephritidae (Diptera) in Latin America and the southern United State: diversity, distribution, taxonomic status and their use in fruit fly biological control. **Integrated Pest Management Reviews**, v. 5, n. 2, p. 81–107, 2000.

OVRUSKI, S.M.; SCHLISERMAN, P.; DE COLL, O.R.; PEÑALOZA, C.; OROÑO, L.E.; COLIN, C. The establishment of *Aceratoneuromyia indica* (Hymenoptera: Eulophidae) in three biogeographical regions of Argentina. **Florida Entomologist**, v. 89, n. 2, p. 270-273, 2006.

PARRA, J.R.P.; HADAD, M.L. **Determinação do número de ínstaes de insetos**. Piracicaba, FEALQ, p. 49, 1989.

PEMBERTON, C.E.; WILLARD, H.F. A contribution to the biology of fruit-fly parasites in Hawaii. **Journal of Agricultural Research**, v.15, n. 8, 419-465, 1918.

PEXTON, J.J.; MAYHEW, P.J. Competitive interactions between parasitoid larvae and the evolution of gregarious development. **Oecologia**, v. 141, n. 1, p. 179–190, 2004.

PURCELL, M.F.; VAN NIEUWENHOVEN, A.; BATCHELOR, M.A. Bionomics of *Tetrastichus giffardianus* (Hymenoptera: Eulophidae): an endoparasitoid of tephritid flies. **Environmental Entomology**, v. 25, n. 1, p. 198-206, 1996.

TORMOS, J.; BEITIA, F.; BÖCKMANN, E.A.; ASÍS, J.D.; FERNÁNDEZ, S. The preimaginal phases and development of *Pachycrepoideus vindemniae* (Hymenoptera: Pteromalidae) on mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). **Microscopy and Microanalysis**, v. 15, n. 5, p. 422–434, 2009.

TORMOS, J.; DE PEDRO, L.; BEITIA, F.; SABATER, B.; ASÍS, J.D.; POLIDORI, C. Development, preimaginal phases and adult sensillar equipment in *Aganaspis* parasitoids (Hymenoptera: Figitidae) of fruit flies. **Microscopy and Microanalysis**, v. 19, n. 6, p.1475–1489, 2013.

VAN ACHTERBERG, K.; TEIXEIRA, T.; OLIVEIRA, L. *Aphaereta ceratitivora* sp. n. (Hymenoptera, Braconidae), a new parasitoid of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera, Tephritidae) from the Azores. **ZooKeys**, v. 222, p. 1-9, 2012.

VIGGIANI, G; BERNARDO, U.; SASSO, R. Description of *Baryscapus silvestrii*, n. sp. (Hymenoptera: Eulophidae), a new gregarious parasitoid of the olive fly *Bactrocera oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae) in southern Italy. **Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria**, v. 61, p. 63-70, 2007.

WANG, X.G., BOKONONEGANTA, A., MESSING, R. Intrinsic inter-specific competition in a guild of tephritid fruit fly parasitism: effects of co-evolutionary history on competitive superiority. **Biological Control**, v. 44, n. 3, p. 312-320, 2008.

WHARTON, R.A. & YODER, M.J. **Parasitoids of Fruit-Infesting Tephritidae**. <http://paroffit.org>. Accessed on Mon Jan 16 09:34:19 -0500 2018.

CAPÍTULO 5

BIOLOGIA E TABELA VIDA DE FERTILIDADE DE *Tetrastichus giffardianus* SILVESTRE (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EM LARVAS DE *Ceratitis capitata* (WIEDEMANN) (DIPTERA: TEPHRITIDAE)

RESUMO: *Tetrastichus giffardianus* Silvestri (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide coinobionte gregário de várias espécies de tefritídeos praga, incluindo *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) que é uma das principais pragas de frutas em todo mundo. Entretanto, são escassas as informações sobre o efeito da temperatura na biologia de *T. giffardianus*, sendo estas informações fundamentais para sua criação em laboratório e para avaliar seu uso como agente de controle biológico. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de temperaturas constantes na biologia e no desenvolvimento do período ovo-adulto de *T. giffardianus* em larvas/pupas de *C. capitata*, visando elaborar uma tabela de vida de fertilidade para este inimigo natural. O estudo foi realizado em câmara climatizada B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand), nas temperaturas constantes de 15, 20, 25, 30 e 35°C, com precisão $\pm 1^\circ\text{C}$, com $70 \pm 10\%$ UR e 12 h:12 h (L: D) de fotoperíodo. Foi observado o desenvolvimento de estágios imaturos de *T. giffardianus* apenas nas temperaturas de 20, 25 e 30°C. A longevidade média de machos e fêmeas foi inversamente proporcional à temperatura, variando de 50,21 a 8,44 dias para machos e de 31,81 a 8,00 dias para fêmeas, nas temperaturas de 15 a 35°C, respectivamente. A duração do desenvolvimento do período pré-imaginal (ovo - adulto) foi influenciado pela temperatura e variou de 41 dias a 20°C a de 11 dias a 25°C. De acordo com a tabela de vida de fertilidade, o melhor desempenho ocorreu a 25°C, onde a taxa intrínseca de aumento foi de 0,21; o tempo médio de uma geração foi de 20,43 dias; o tempo necessário para duplicar a população foi de 3,33 dias e a taxa finita de aumento populacional (λ) foi de 1,23. De uma forma geral, os resultados deste estudo fornecem informações importantes para o estabelecimento de criação massal e avaliação da adaptabilidade de *T. giffardianus* em diferentes ambientes, colaborando para o uso deste parasitoide no controle biológico de tefritídeos praga.

Palavras chave: Controle biológico, parasitoide gregário, moscas-das-frutas, parasitismo.

**BIOLOGY AND FERTILITY LIFE TABLE OF *Tetrastichus giffardianus* Silvestre
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) ON LARVAE OF *Ceratitis capitata*
(WIEDEMANN) (DIPTERA: TEPHRITIDAE)**

ABSTRACT: *Tetrastichus giffardianus* Silvestri (Hymenoptera: Eulophidae) is a gregarious coinobiont endoparasitoid of several species of pest tephritids, including *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) which is one of the leading fruit pests worldwide. However, information about the effect of temperature on the biology of *T. giffardianus* is scarce, being this information essential for its rearing in the laboratory and to evaluate its use as a biological control agent. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of constant temperatures on the biology and development of the egg-adult period of *T. giffardianus* in larvae/pupae of *C. capitata*, in order to elaborate a fertility life table for this natural enemy. The study was performed in a B.O.D. (biochemical oxygen demand) at temperatures of 15, 20, 25, 30 and 35°C, with precision ± 1 ° C, with $70 \pm 10\%$ RH and 12 h: 12 h (L: D) of photoperiod. The development of immature stages of *T. giffardianus* was observed only at temperatures of 20, 25 and 30°C. The mean longevity of males and females was inversely proportional to temperature, ranging from 50.21 to 8.44 days for males and from 31.81 to 8.00 days for females, at temperatures of 15 to 35°C, respectively. The duration of pre-imaginal (egg-adult) development was influenced by temperature and ranged from 41 days at 20°C to 11 days at 25°C. According to the fertility life table, the best performance occurred at 25°C, where the intrinsic rate of increase was 0.21; the average generation time was 20.43 days; the time required to double the population was 3.33 days and the finite rate of population increase (λ) was 1.23. In general, the results of this study provide important information for the establishment of mass rearing and evaluation of the adaptability of *T. giffardianus* in different environments, collaborating for the use of this parasitoid in the biological control of tephritid pests.

Key Words: Biological control, gregarious parasitoid, fruit flies, parasitism.

1 INTRODUÇÃO

Tetrastichus giffardianus Silvestri, 1915 (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide coinobionte gregário, que oviposita em larvas maduras de várias espécies de tefritídeos praga. Esse parasitoide foi levado da África Ocidental para o Havaí em 1912, para o controle da mosca-do-mediterrâneo *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), e rapidamente se estabeleceu ao longo das ilhas havaianas (PURCELL et al., 1994). Devido o sucesso dessa introdução, *T. giffardianus* foi posteriormente redistribuído para diversos países do continente Americano (OVRUSKI, et al., 2002).

No Brasil, *T. giffardianus* foi introduzido na década de 30 para o controle de *C. capitata*, em pomares de citros, na região Sudeste do país (AUTUORI, 1938). Apesar das liberações realizadas, *T. giffardianus* não alcançou os resultados esperados, uma vez que não foram mais recapturados na região onde foram inicialmente liberados (COSTA et al., 2005). Contudo, 60 anos após sua introdução *T. giffardianus* foi registrado em outras regiões do Brasil, principalmente na região Nordeste (COSTA et al., 2005; ARAUJO et al., 2015).

Muitas falhas no estabelecimento de inimigos naturais provavelmente estão relacionadas com problemas de adaptação da espécie as condições climáticas no ambiente onde são liberados (LONI, 1997). A temperatura é um dos fatores mais importantes afetando diretamente a fecundidade, razão sexual, longevidade e duração do ciclo de vida nos diferentes estágios de desenvolvimento de inseto (WIMAN et al., 2014; PONCIO et al., 2016; STACCONI et al., 2017; GROTH et al., 2017). Portanto, o conhecimento das constantes térmicas requeridas para o desenvolvimento de insetos, permite desenvolver modelos de ocorrência e sobrevivência (NYAMUKONDIWA et al., 2013), bem como prever as condições necessárias para o seu estabelecimento em um novo ambiente, sua criação e liberação em programas de controle biológico.

O parasitoide *T. giffardianus* é um potencial candidato para ser utilizado no controle de *C. capitata* na região Nordeste do Brasil. Para isso, é fundamental compreender como a temperatura afeta seus parâmetros biológicos, para que se aumentem as chances de sucesso deste inimigo natural, nos ambientes selecionados para sua liberação. Entretanto, são escassas as informações sobre o efeito da temperatura na biologia deste parasitoide, sendo

estas informações fundamentais para avaliar sua adaptabilidade e viabilidade como agente de controle biológico de tefritídeos.

Portanto, o principal objetivo deste trabalho foi estudar o efeito de temperaturas constantes na biologia e no desenvolvimento do período ovo-adulto de *T. giffardianus* em larvas de *C. capitata*, visando determinar os requisitos térmicos e a tabela de vida de fertilidade.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de estudo

As criações de manutenção de *C. capitata* e *T. giffardianus* foram conduzidas em salas climatizadas com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas, no Laboratório de Entomologia Aplicada da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), em Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil.

2.2. Criação de *Ceratitis capitata*

As moscas foram mantidas em gaiolas plásticas semitransparentes (27,6 x 33,1 x 48,7 cm) (SANREMO®, 29L) com uma face revestida apenas com tecido *voile*, onde as fêmeas realizam a postura dos ovos; na lateral na gaiola contém uma tela em forma de manga para manipulação. No interior da gaiola foram colocadas duas placas de Petri contendo a alimentação e duas garrafas plásticas de 250 ml com fita absorvente (Spontex®) que serve de bebedouro para as moscas adultas. A alimentação das moscas consistiu de uma mistura de levedura de cerveja e açúcar na proporção de 1:4.

Fora da caixa, na parte frontal, logo abaixo da tela musselina, colocou-se uma bandeja plástica contendo água para o recolhimento dos ovos. A atração das fêmeas para o tecido de

oviposição foi realizada com a colocação de lâmpadas fluorescentes próximas ao mesmo. A coleta de ovos foi realizada a cada 24 horas com auxílio de um pincel posicionado sobre a bandeja, onde espera-se os ovos decantarem na bandeja, e com o auxílio de uma seringa, coleta-se 0,5 ml de ovos que serão postos em uma bandeja (250 mL) contendo dieta artificial. Este volume de ovos produzirá um total aproximado de 5.000 larvas e/ou pupas. A dieta artificial utilizada neste estudo tem como base a dieta descrita por Albajes e Santiago Álvarez (1980), sofrendo pequenas modificações

As larvas eclodem e começam a se desenvolver na dieta artificial, alcançando seu máximo desenvolvimento no estágio L3, quando saltam da dieta para o fundo do recipiente onde ocorrerá a formação das pupas. Neste momento recolhem-se as pupas e coloca-se em uma nova gaiola de criação, iniciando assim, um novo ciclo. A gaiola era substituída a cada quatro semanas, atualmente montam-se uma gaiola por semana, conseqüentemente retiram-se uma que é congelada para matar os insetos remanescentes, desta forma, mantém-se a criação de *C. capitata* que para manutenção dos parasitoides e desenvolvimento dos trabalhos de pesquisas.

2.3 Criação de *Tetrastichus giffardianus*

Para o estabelecimento da criação de *T. giffardianus* foram coletados frutos de castanhola (*Terminalia catappa*) infestando com *C. capitata* coletados na zona urbana de Mossoró-RN (5°11'26"S e 37°20'17"W; Altitude de 20m). Os frutos coletados foram colocados em sacos de papel, identificados e encaminhados ao laboratório, onde foram contados, pesados e colocados em bandejas plásticas contendo uma camada de vermiculita, e coberto com tecido do tipo *voile*. Após 7 dias, a vermiculita foi peneirada para a obtenção dos pupários, posteriormente os pupários foram transferidos para placas de Petri contendo uma fina camada de vermiculita fina umedecida. Os adultos emergidos de *T. giffardianus* foram colocados em uma gaiola de metalacrílico (30 x 30 x 30 cm), com uma abertura (10 x10 cm) de tecido *voile* na parte superior para ventilação e na lateral uma tela em forma de manga para manipulação. Parte dos adultos foram armazenados em recipientes plásticos (5 mL) contendo álcool 70% e identificados pelo pesquisador Valmir Antônio Costa, do Instituto Biológico da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, em Campinas, São Paulo.

Os parasitoides foram alimentados com açúcar granulado e mel puro pincelado em um papel posto numa placa de Petri de (9,5 x 9,5 x 1,6 cm). A água foi ofertada através de uma garrafa plástica de 50 ml com uma fita absorvente (Spontex®, Ilheus/Bahia), onde água ficava disponível por capilaridade. Para a multiplicação dos parasitoides, larvas nuas de terceiro instar de *C. capitata* foram expostas em recipiente plástico de 1000 mL (15,0 cm de diâmetro x 9,4 cm altura) por um período de 24 horas. Após a exposição, larvas foram transferidas para placas de Petri contendo dieta para completar o seu desenvolvimento e as pupas foram colocadas em recipiente plástico (9,5 x 9,5 x 1,6 cm) contendo vermiculita fina levemente umedecida, onde permaneceram até a emergência das moscas e/ou parasitoides

2.4 Efeito da temperatura no desenvolvimento dos estágios imaturos de *T. giffardianus*

Larvas nuas de terceiro instar de *C. capitata* foram expostas ao parasitismo de *T. giffardianus* com três dias de idade, por um período de 24 horas. As larvas foram ofertadas em recipiente plástico de 1.000 mL (15,0 cm de diâmetro x 9,4 cm altura), colocados no interior da gaiola, em sala climatizada com as condições de temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Após o período de exposição, as pupas foram acondicionadas individualmente em tubos de poliestireno (26,7 x 26,7 x 61,3 mm) (Injeplast®, São Paulo, Brasil), contendo vermiculita fina levemente umedecida e foram fechados com filme plástico, onde permaneceram até emergência das moscas e/ou parasitoides. Logo em seguida os tubos foram transferidos para câmara climatizada tipo B.O.D. (biochemical oxygen demand) nas temperaturas constantes: 15, 20, 25, 30 e 35°C com precisão $\pm 1^\circ\text{C}$, mantido sob fotoperíodo de 12 h:12 h (L: D) e $70 \pm 10\%$ UR. Diariamente foram realizadas observações para registrar a data da emergência, número dos parasitoides emergidos e a razão sexual dos insetos.

2.5 Biologia dos adultos e determinação dos parâmetros demográficos de *T. giffardianus*

Casais de *T. giffardianus* recém emergidos (< 24 h de idade) foram pareados em gaiola plástica (20 x 20,5 x 15,5 cm), com uma abertura (10 x 10 cm) de tecido *voile* em uma das laterais para permitir aeração e outra lateral revestida com uma tela em forma de manga para manipulação. Os parasitoides foram alimentados com mel puro, pincelado em um papel absorvente (5 cm x 5 cm), e água, ofertada através de uma garrafa plástica de 50 ml com fita absorvente (Spontex®), onde água ficava disponível por capilaridade, ambos foram substituídos quando houve a necessidade. Os casais foram mantidos em câmara climatizada tipo B.O.D. (biochemical oxygen demand) nas temperaturas constantes de 15, 20, 25, 30 e 35°C com precisão $\pm 1^\circ\text{C}$, mantido sob fotoperíodo de 12 h:12 h (L: D) e $70 \pm 10\%$ UR.

Diariamente, desde a formação dos casais até a morte das fêmeas, foram ofertadas sete larvas de terceiro instar (± 10 dias de idade) de *C. capitata* para cada fêmea. As larvas foram ofertadas em frutos de castanhola (*T. catappa*) por um período de 24 horas. Após o período de exposição, as larvas foram colocadas em copos plásticos de 50 ml contendo dieta para o completo desenvolvimento larval. Posteriormente, os pupários formados foram individualizados em tubos de poliestireno (26,7 x 26,7 x 61,3 mm) (Injeplast®, São Paulo, Brasil), contendo vermiculita fina levemente umedecida e foram fechados com filme plástico, onde permaneceram até emergência dos adultos (moscas ou parasitoides).

O número de moscas e parasitoides emergidos foi avaliado diariamente. Posteriormente, os pupários que permaneceram intactos foram dissecados para se verificar a presença de moscas ou parasitoides, visando determinar a real taxa de parasitismo. A dissecação foi realizada com auxílio de bisturi e pinça sob um microscópio estereoscópico (Motic) com aumento de 80x.

Foram determinados os seguintes caracteres: número de descendentes (ND), razão sexual (RS), percentual de parasitismo (P) e longevidade de machos e fêmeas. O número de descendentes foi obtido pela equação: $\text{ND} = \text{número de parasitoides emergidos} + \text{número de parasitoides não emergidos}$. A razão sexual (RS) foi calculada utilizando a equação: $\text{RS} = (\text{número de fêmeas}) / (\text{número de fêmeas} + \text{número de machos})$. O percentual de parasitismo foi obtido através da equação: $\text{P} (\%) = (\text{número de pupas parasitadas}) / (\text{número total de larvas expostas ao parasitismo}) \times 100$.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (temperaturas) e 20 repetições, sendo cada repetição constituída por um casal de

T. giffardianus. Com os dados dos parâmetros biológicos, obtidos do desenvolvimento do imaturo e da biologia de adultos de *T. giffardianus*, foi construída uma tabela de vida de fertilidade.

2.6 Análise estatística

Os dados foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk; à homocedasticidade pelo teste de Hartley; e, a independência dos resíduos por análise gráfica. Os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), constatando-se significância estatística, os efeitos do hospedeiro foram avaliados pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). A longevidade (dias) de fêmeas e machos foi analisada por meio da construção das curvas de sobrevivência utilizando o estimador de Kaplan-Meier, as quais foram comparadas pelo teste de log-rank (R version 3.4.4. Development Core Team 2018). Os parâmetros da tabela de vida de fertilidade foram estimados através da técnica de “Jackknife” (Meyer et al., 1986), utilizando-se o “Lifetable.sas” (Maia et al., 2000) no ambiente “SAS System”.

3 RESULTADOS

3.1 Efeito da temperatura no desenvolvimento dos estágios imaturos de *T. giffardianus*

Dentre as temperaturas estudadas ocorreu desenvolvimento dos estágios imaturos nas temperaturas de 20, 25 e 30°C. O tempo máximo de desenvolvimento do imaturo foi de 41 dias na temperatura de 20°C e o tempo mínimo de 11 dias a 25°C, com o tempo médio de desenvolvimento variando de $33,14 \pm 1,72$ dias a 20°C e $16,65 \pm 1,75$ dias a 30°C (Figura. 1). O tempo médio de desenvolvimento (ovo-adulto) de *T. giffardianus* foi prolongado com a redução da temperatura.

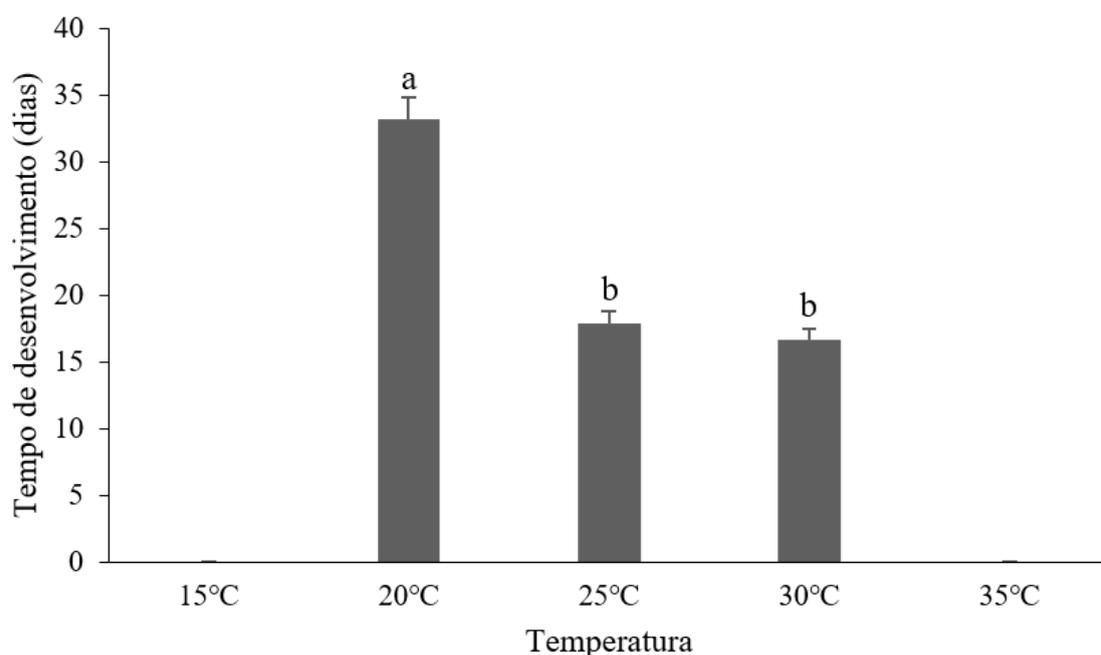


Figura 1. Duração média do desenvolvimento de ovo-adulto de *Tetrastichus giffardianus* em larvas de *Ceratitis capitata* mantidos em diferentes temperaturas, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h. Colunas seguidas por diferentes letras diferem no teste Tukey ($P \leq 0,05$).

3.2 Biologia dos adultos e determinação dos parâmetros demográficos de *T. giffardianus*

O número médio de descendentes por fêmea, considerando à soma dos parasitoides emergidos e não emergidos, foi significativamente afetado pela temperatura ($F=26,97$; $gl=2$; $P=0,001$) (Tabela 1). O número da prole produzida por fêmeas de *T. giffardianus* diminuiu com o aumento da idade das fêmeas. O número máximo de descendentes por fêmea (140) foi verificado na temperatura de 25°C e o número mínimo (3) à 35°C.

Ocorreram reduções na taxa de parasitismo com o aumento ou diminuição da temperatura, com as maiores médias de parasitismo sendo observadas nas temperaturas de 25 e 30°C (Tabela 1). A razão sexual dos parasitoides emergidos foi tendenciosa para o sexo feminino em todas as temperaturas estudadas, com a maior proporção sexual registrada na temperatura de 20°C (Tabela 1).

Tabela 1. Número médio de descendentes (emergidos e não emergidos), média do percentual de parasitismo e razão sexual de *Tetrastichus giffardianus* mantidos em diferentes temperaturas, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

| Temperatura (°C) | Número de descendentes ⁽¹⁾ | Parasitismo (%) | Razão sexual ⁽²⁾ |
|------------------|---------------------------------------|-----------------|-----------------------------|
| 15 | 17,22 c | 1,51 | 0,76 a |
| 20 | 72,86 b | 3,88 | 0,83 a |
| 25 | 94,65 a | 4,89 | 0,81 a |
| 30 | 32,21 c | 4,99 | 0,77 a |
| 35 | 22,88 c | 3,02 | 0,76 a |

(1) Valores seguidos pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste "Tukey" ($p \leq 0,05$).

(2) Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de "Tukey" ($p \leq 0,05$).

O parasitismo diário em todas as temperaturas estudadas foi variável e não ultrapassou a quantidade diária de seis larvas durante toda a vida das fêmeas (Figura 2). Na temperatura de 15°C a maior taxa de parasitismo diário foi de três larvas. Verificou-se que as fêmeas mantidas a 20°C parasitaram uma média 3,78 larvas por dia, sendo a maior entre todas as temperaturas estudadas. O pico de parasitismo ocorreu entre o 3° e 7° dia, no entanto a 35°C, este pico de parasitismo ocorreu no 1° dia de exposição das larvas.

Taxa de 80% de parasitismo acumulado foi alcançado aos 19°, 12°, 7°, 7° e 3° dia de vida das fêmeas, que foi inversamente proporcional as temperaturas de 15, 20, 25, 30 e 35°C, respectivamente (Figura. 2).

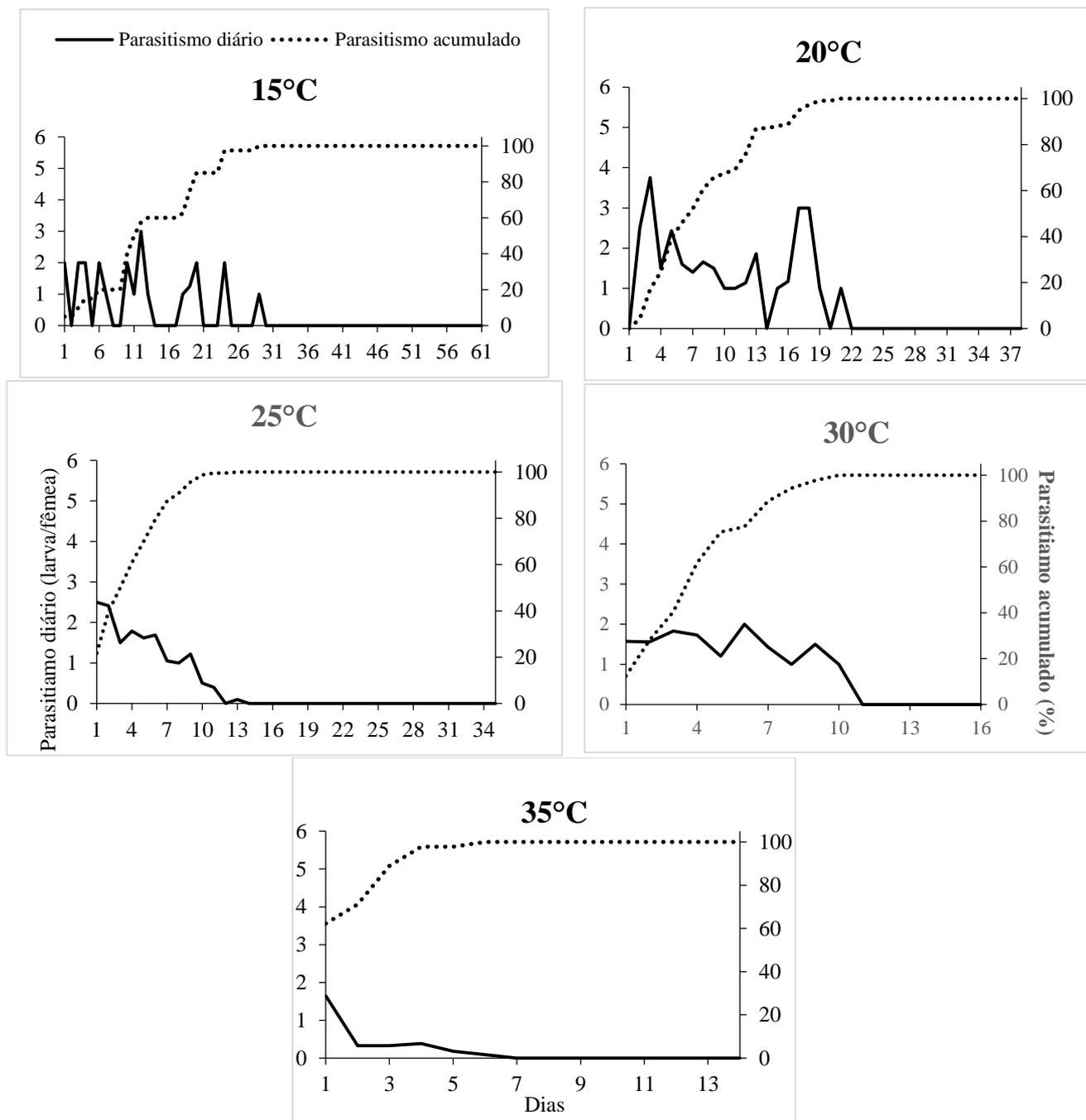


Figura 2. Parasitismo diário e acumulado de *Tetrastichus giffardianus* em larvas de *Ceratitidis capitata* em diferentes temperaturas (15, 20, 25, 30 e 35°C), umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Em relação à longevidade dos parasitoides, foi verificada uma diferença significativa tanto em machos ($X^2 = 144$; gl = 4; P= 0,000) (Figura 3 A) quanto em fêmeas ($X^2 = 92,6$; gl = 4; P= 0,000) (Figura 3 B), nas diferentes temperaturas. O tempo médio de vida dos machos

variou de 50,3 dias (15°C) a 8,44 dias (35°C) (Fig. 3A). Nas fêmeas a variação foi de 30,9 (15°C) a 8 dias (30°C) (Fig. 3B). Em todas as temperaturas estudadas, exceto à 25°C, os machos foram mais longevos que as fêmeas de *T. giffardianus*.

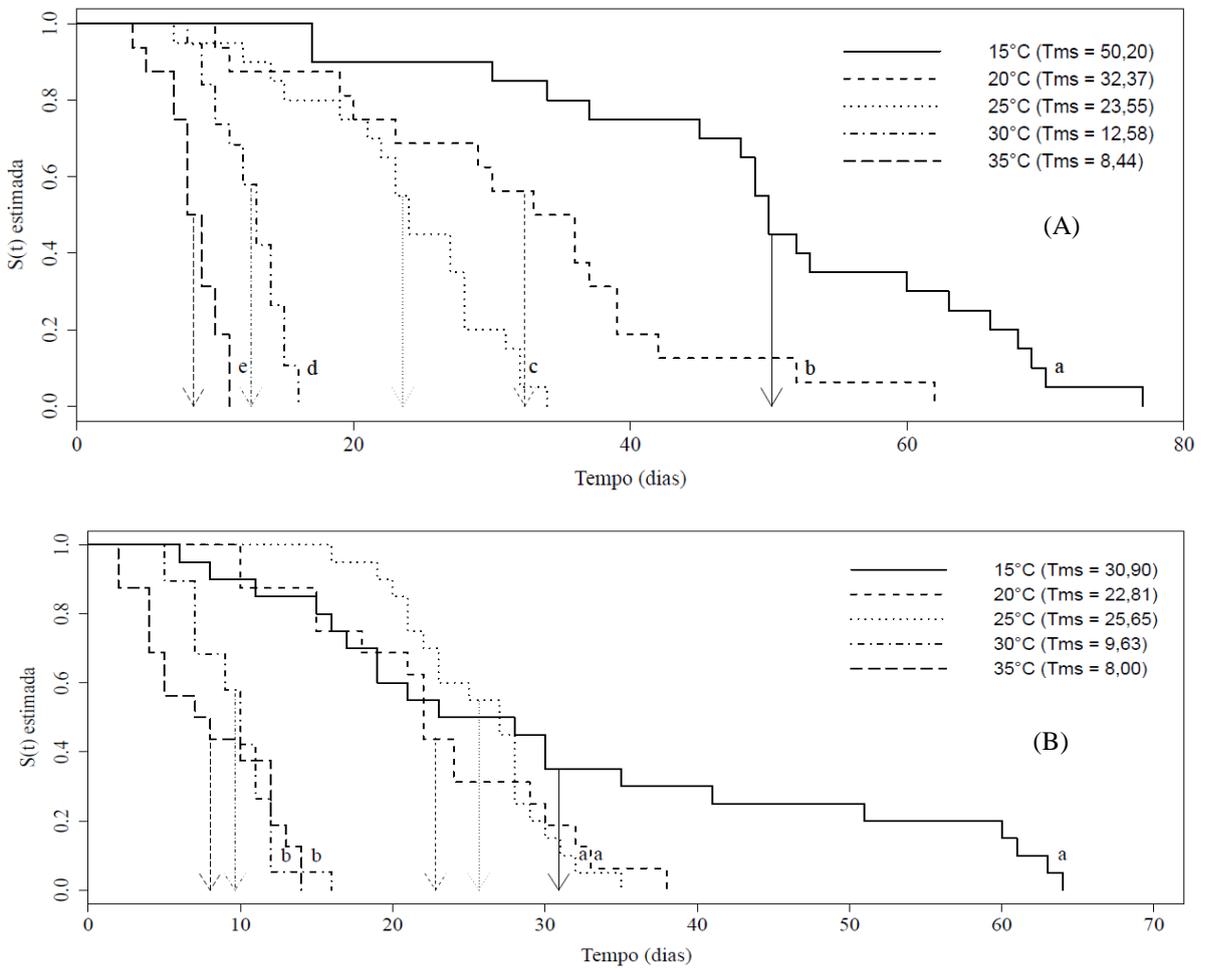


Figura 3. Curvas de sobrevivência de machos (A) e fêmeas (B) de *Tetrastichus giffardianus* mantidos em diferentes temperaturas (15, 20, 25, 30 e 35°C) e umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Curvas seguidas pelas mesmas letras, para cada sexo, não diferem entre si pelo teste de Log-Rank. (Tms - tempo médio de sobrevivência).

3.3 Tabela de vida de fertilidade

As temperaturas influenciaram significativamente ($F = 38,97$, $gl = 2$, $P = 0,0001$), a

taxa líquida de reprodução R_o do *T. giffardianus* (Tabela 2). As fêmeas mantidas a 20 e 25°C apresentaram acréscimo na R_o de 189,6 e 326,7%, respectivamente, quando comparadas com as fêmeas mantidas a 30°C. A taxa intrínseca de aumento (R_m) foi significativamente afetada pelas temperaturas estudadas ($F = 11,34$, $gl = 2$, $P = 0,0001$), o ponto de máxima R_m ocorreu a 25°C.

O intervalo médio entre gerações (IMG) de *T. giffardianus* foi significativamente influenciado pelas temperaturas estudadas ($F = 4,48$, $gl = 2$, $P = 0,0001$), apresentou relação inversa com o aumento da temperatura (Tabela 2). O tempo de duplicação da população (TD) diferiu estatisticamente nas temperaturas avaliadas, sendo o menor TD a 25°C. Os dados da taxa finita de aumento populacional (λ) também foi influenciada pelas temperaturas ($F = 14,48$, $gl = 2$, $P = 0,0001$), à 25°C foi obtida a razão máxima de crescimento populacional

Tabela 2. Parâmetros da tabela de vida de fertilidade de *Tetrastichus giffardianus* em larvas-pupas de *Ceratitis capitata* criados diferentes temperaturas, umidade relativa de 60±10% e fotofase de 12h.

| Parâmetros | Tratamentos | | |
|------------|---------------|---------------|---------------|
| | 20 | 25 | 30 |
| R_o | 40,60±5,64 b | 69,96±4,14 a | 21,41±2,74 c |
| R_m | 0,095±0,003 c | 0,208±0,003 a | 0,163±0,006 b |
| IMG | 39,14±0,46 a | 20,43±0,16 b | 18,79±0,17 c |
| TD | 7,30±0,27 a | 3,33±0,04 c | 4,23±0,16 b |
| λ | 1,09±0,003 b | 1,23±0,003 a | 1,17±0,007a |

Médias (\pm erro padrão) acompanhadas por mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). R_o (taxa líquida de reprodução), R_m (taxa intrínseca de crescimento), IMG (tempo médio de geração) e λ (taxa finita de aumento).

4 DISCUSSÃO

4.1 Efeito da temperatura no desenvolvimento dos estágios imaturos de *T. giffardianus*

Os resultados obtidos demonstraram que a temperatura influencia o desenvolvimento dos estágios imaturos de *T. giffardianus*. Isto é consistente com estudos anteriores realizados para outros parasitoides de moscas-das-fruta (GONÇALVES et al., 2014; DePEDRO et al., 2016; GROTH et al., 2017). A faixa de temperatura em que ocorreu o desenvolvimento de imaturos de *T. giffardianus* (20 a 30°C), em geral, é a faixa mais adequada para o desenvolvimento pré-imaginal da maioria dos parasitoides que habitam regiões tropicais, como por exemplo, *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti) (GONÇALVES et al., 2016), *D. longicaudata* e *Fopius arisanus* (Sonan) (APPIAH et al., 2013), que conseguem se desenvolver a temperatura constante de 30°C. Entretanto, estágios imaturos de outras espécies de parasitoide como *Diachasmimorpha kraussi* (Fullaway) (Hymenoptera: Braconidae) (SIME et al., 2006), *Doryctobracon brasiliensis* (Szépligeti) (PONCIO et al., 2016) e *Aganaspis pelleranoi* (Brèthes) (GONÇALVES et al., 2014) não foram capazes de se desenvolver em temperaturas constantes $\geq 30^\circ\text{C}$.

Embora imaturos de *T. giffardianus* não tenham conseguido completar seu desenvolvimento na temperatura de 15°C, foi observado que alguns exemplares de seu hospedeiro (*C. capitata*) emergiram nesta temperatura. Este tefritídeo consegue se desenvolver até mesmo em uma faixa de temperatura mais baixa (10-15°C) (RICALDE et al., 2012; SZYNISZEWSKA; TATEM, 2014). O não desenvolvimento pré-imaginal de *T. giffardianus* e *C. capitata* na temperatura de 35°C constante, possivelmente ocorreu devido a alterações fisiológicas.

A velocidade de desenvolvimento dos estágios imaturos de *T. giffardianus* mostrou uma relação inversamente proporcional com a temperatura, baixas temperaturas (15°C) ocasionam um desenvolvimento mais lento e altas temperaturas (entre 30 e 35°C) acelera o desenvolvimento. Isso ocorre porque exposições a temperaturas extremas podem alterar as interações hospedeiro-parasitoide causando danos letais ou subletais aos parasitoides, devido a alterações no sistema imunológico do hospedeiro tornando a resistência mais eficiente contra o parasitismo (HANCE et al., 2007; MIRONIDIS; SAVOPOULOU-SOULTANI, 2008).

4.2 Biologia dos adultos e determinação dos parâmetros demográficos de *T. giffardianus*

As diferentes temperaturas estudadas afetaram significativamente os parâmetros biológicos e demográficos na fase adulta de *T. giffardianus*. As fêmeas de *T. giffardianus* começaram a ovipositar nas primeiras 24 h após a emergência, aproximadamente 50% da oviposição ocorreu até o 5º dia de vida das fêmeas, em todas as temperaturas, exceto a 15°C, onde as fêmeas só atingiram esse valor no 11º dia de vida. Este comportamento de oviposição é comum em parasitoides que emergem com uma alta carga de ovos maduros, pois tendem a maximizar sua reprodução nos primeiros dias de vida (WANG et al., 2016). Alguns estudos relatam que dentre os fatores abióticos a temperatura é o que mais influência na variação intraespecífica na produção de ovos (RIS et al., 2004; JERVIS et al., 2008).

Na temperatura de 25°C ocorreu o maior número de descendentes de *T. giffardianus*. Estudos realizados com outras espécies de parasitoides de moscas-das-frutas, como por exemplo, *D. longicaudata* (APPIAH et al., 2013), *A. daci* (DePEDRO et al., 2016) e *F. arisanus* (GROTH et al., 2017) também se constatou uma maior prole a 25°C. Entretanto, em outras espécies como *D. brasiliensis* (PONCIO et al., 2016) e *A. pelleranoi* (GONÇALVES et al., 2014) a maior prole foi observada em uma faixa menor de temperatura (18 - 22°C).

A razão sexual da progênie de *T. giffardianus* não foi afetada nas diferentes temperaturas estudadas, foi sempre tendenciosa ao sexo feminino e superior ao valor satisfatório que é igual ou superior a 0,5 (FITZ-EARLE, 1989). A proporção sexual da prole é um fator importante para agentes de controle biológico, quanto maior essa proporção, maior taxa de crescimento populacional e parasitismo, pois são as fêmeas que realizam o parasitismo e controle das pragas em campo (HEIMPEL; LUNDGREN, 2000).

Os maiores índices de parasitismo diário de *T. giffardianus* foram observados nas temperaturas de 20 e 25°C, mas estes índices foram inferiores aos verificados nos braconídeos (VARGAS et al., 2002; MEIRELLES et al., 2013; PONCIO et al., 2016). No entanto, este baixo índice de parasitismo é compensado pelo hábito gregário de *T. giffardianus*, onde de uma única pupa parasitada podem emergir em média 11,7 parasitoides (PURCELL et al., 1996). Neste estudo algumas larvas/pupas parasitadas por *T. giffardianus* originaram um número de 25-30 indivíduos. Nas temperaturas de 15°C e 20°C o parasitismo foi distribuído mais uniformemente, enquanto que na temperatura de 35°C houve uma concentração acentuada no parasitismo nos primeiros dias de vida das fêmeas, provavelmente devido a aceleração do seu metabolismo. Esta forma de distribuição do parasitismo diário é comum em

outras espécies de parasitoides de moscas-das-frutas (GONÇALVES et al., 2014; PONCIO et al., 2016; GROTH et al., 2017). A redução do ritmo diário de parasitismo ao longo da vida das fêmeas foi constatada em todas as temperaturas.

As oscilações no parasitismo acumulado de *T. giffardianus*, provavelmente ocorreram por causa da temperatura do ambiente circundante que pode acelerar ou diminuir a taxa metabólica dos parasitoides, e conseqüentemente de seus processos reprodutivos (JERVIS et al., 2008; JAWORSKI; HILSZCZAŃSKI, 2013). É possível que essa relação inversa entre a temperatura e o parasitismo acumulado ocorra devido a troca que deve acontecer entre a longevidade e produção de progênie (GONÇALVES et al., 2014).

Com relação com a longevidade de *T. giffardianus*, os resultados obtidos neste estudo demonstram que machos e fêmeas viveram menos com o aumento da temperatura, e os machos apresentaram um maior tempo de vida em comparação com as fêmeas. Alguns estudos sugerem que o tempo de sobrevivência de um parasitoide está diretamente relacionado com o tamanho do hospedeiro, assim insetos desenvolvidos em hospedeiros maiores são mais longevos, sendo que essa relação é explicada pela maior disponibilidade de recursos nutricionais em hospedeiros maiores (SAGARRA et al., 2001; ELLERS; JERVIS, 2003). Entretanto, em parasitoides gregários onde ocorre o partilhamento dos recursos do hospedeiro (HARVEY et al., 2013), a longevidade da prole provavelmente não está diretamente relacionada a este fato. É possível que a alta demanda energética de reprodução deve ter um impacto negativo na longevidade das fêmeas de *T. giffardianus*, reduzindo assim seu tempo de vida.

De um modo geral, a longevidade dos insetos é importante porque é um componente da aptidão individual, que pode ser considerado como um indicador de capacidade de sobrevivência (RIVERO; WEST, 2002). Devido a isso, efeito negativo da temperatura na longevidade de parasitoides tem sido amplamente relatada em parasitoides de moscas-das-frutas (APPIAH et al., 2013; GONÇALVES et al., 2014; DePEDRO et al., 2016).

4.3 3 Tabela de vida de fertilidade

Os parâmetros demográficos estimados nesse estudo para a taxa de reprodução líquida (R_o) foi de 69,96 (ponto máximo), obtida na temperatura de 25°C, indica que uma população de *T. giffardianus* mantida nesta temperatura aumenta a cada geração aproximadamente 70 vezes. O decréscimo de R_o observado nas demais temperaturas, provavelmente ocorreu devido a existência de uma compensação (*trade-off*) entre as reservas utilizadas para a produção de descendentes e longevidade dos insetos (CASAS et al., 2005; SNART et al., 2018). A taxa de reprodução líquida observada em *T. giffardianus* é bem maior que a taxa de reprodução líquida de muitas espécies de parasitoides solitários, como por exemplo, *D. longicaudata* com R_o de 45,56 utilizando *C. capitata* como hospedeiro, à 25°C (MEIRELLES et al., 2013). A diferença entre os valores de R_o observada entre *T. giffardianus* e *D. longicaudata* pode ser explicada pelo hábito gregário e a razão tendenciosa para o sexo feminino em *T. giffardianus*.

A taxa intrínseca de aumento (0,21) obtida a 25°C, foi maior que a R_m de outras espécies de parasitoides de moscas-das-frutas como *D. longicaudata* (R_m de 0,14) (MEIRELLES et al., 2013) e *A. pelleranoi* R_m de 0,02 (GONÇALVES et al., 2016). O índice R_m é uma das principais informações obtidas na determinação dos parâmetros demográficos, pois indica se a espécie será bem sucedida a um ambiente ou hospedeiro particular, quanto maior o valor do R_m , melhor será a adaptação da espécie à temperatura do ambiente (PEDIGO; ZEISS, 1996).

O intervalo médio de uma geração (IMG) de *T. giffardianus* apresentou relação inversa com a temperatura, quanto maior a temperatura menor o (IMG), a 25°C foi de 20,43 dias. O (IMG) verificado neste estudo foi semelhante ao valor de 21,09 dias a 25±2°C constatado para este mesmo parasitoide por Purcell et al. (1996). Este comportamento ocorre, porque os insetos são organismos ectotérmicos em que a temperatura do corpo é variável de acordo com a temperatura do ambiente e as taxas das reações bioquímicas e processos biológicos tende a aumentar exponencialmente com a temperatura (ZUO et al., 2012). Dessa forma, a mudança de temperatura literalmente muda o ritmo de vida dos insetos.

A maior taxa finita de crescimento (λ) da população de *T. giffardianus* foi de 1,23 obtida a 25°C, pois nas temperaturas de 20 e 30°C ocorreu uma redução na produção de descendentes, conseqüentemente no número de fêmeas que influencia diretamente a redução dos valores de λ . Vargas et al. (2002), estudando os parâmetros reprodutivos e populacionais

de seis espécies de braconídeos parasitoides de moscas-das-frutas a $26\pm 2^{\circ}\text{C}$, obteve os maiores valores da taxa de crescimento finito (1,08 a 1,13).

Mediante os resultados obtidos, verifica-se que adultos de *T. giffardianus* são mais tolerantes as temperaturas extremas (15 e 35°C) do que as fases imaturas, pois não ocorreu desenvolvimento nestas temperaturas. Com relação a vida dos adultos, constatamos que *T. giffardianus* é capaz de parasitar o hospedeiro em uma faixa ampla de temperatura (15 a 35°C). De acordo com a análise conjunta dos dados da tabela de vida e fertilidade, o melhor desempenho ocorreu a 25°C para todos os parâmetros estudados, sendo esta a temperatura recomendada para a sua multiplicação, para uso em programas de controle biológico de *C. capitata*.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos para o primeiro autor. Ao Dr. Dori Edson Nava, pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) pelo auxílio na análise dos dados.

REFERÊNCIAS

ALBAJES, R. y C. SANTIAGO-ALVAREZ. Efecto de la densidad larvaria y de la alimentación en la proporción de sexos de *Ceratitis capitata* (Diptera:Trypetidae). *An.INIA. Serie Agrícola*, n. 13: p. 175-182, 1980.

ALUJA, M., SIVINSKI, J., OVRUSKI, S., GIULLÉN, L. LÓPEZ, M., CANCINO, J., TORRES-ANAYA, A., GALLEGOS-CHAN, G., RUIZ, L. Colonization and domestication of seven species of native New World hymenopterous larval prepupal and pupal fruit fly (Diptera: Tephritidae) parasitoids. **Biocontrol Science and Technology**, v. 19, n. 1, p. 49-79,

2009.

APPIAH, E.F.; EKESI, S.; SALIFU, D.; AFREH-NUAMAH, K.; OBENG-OFORI, D.; KHAMIS, F.; MOHAMED, S.A. Effect of temperature on immature development and longevity of two introduced opiine parasitoids on *Bactrocera invadens*. **Journal Applied Entomology**, v. 137, n. 8, p. 571–579, 2013.

ARAUJO, E.L.; FERNANDES, E.C.; SILVA, R.I.R.; FERREIRA, A.D.C.; COSTA, V.A. Parasitoides (Hymenoptera) de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) no semiárido do estado do Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 3, p. 610-616, 2015.

AUTUORI, M. Notas sobre a introdução e multiplicação do parasita *Tetrastichus giffardianus* Silv. no Brasil. **O Biológico** n. 6, p. 345-351, 1938.

CASAS, J.; PINCEBOURDE, S.; MANDON, N.; VANNIER, F.; POUJOL, R.; GIRON D. Lifetime nutrient dynamics reveal simultaneous capital and income breeding in a parasitoid. **Ecology**, v. 86, n. 3, p. 545–554, 2005.

COSTA, V.A., ARAUJO, E.L., GUIMARAES, J.A., NASCIMENTO, A.S., LASALLE, J. Redescoberta de *Tetrastichus giffardianus* (Hymenoptera: Eulophidae) após 60 anos da sua introdução no Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.72, n. 4, p. 539-541, 2005.

DEPEDRO, L.; BEITIA, F.; SABATER-MUÑOZ, S.; ASÍS, J.D.; TORMOS, J. Effect of temperature on the developmental time, survival of immatures and adult longevity of *Aganaspis daci* (Hymenoptera: Figitidae), a natural enemy of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Crop Protection**, v. 85, n. 7, p. 17-22, 2016.

ELLERS, J.; JERVIS, M. Body size and the timing of egg production in parasitoid wasps. **Oikos**, v. 102, n. 1, p. 164–172, 2003.

FITZ-EARLE, M.; BARCLAY, H.J., Is there an optimal sex ratio for insect mass rearing. **Ecological Modelling**, v. 45, p.: 205-220,1989.

GONÇALVES, R.S.; NAVA, D.E.; ANDREAZZA, F.; LISBÔA, H.; NUNES, A.M.; GRÜTZMACHER, A.D.; VALGAS, R.A.; MAIA, A.H.N.; PAZIANOTTO, R.A.A. Effect of constant temperatures on the biology, life table, and thermal requirements of *Aganaspis pelleranoi* (Hymenoptera: Figitidae), a parasitoid of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). **Environmental Entomology**, v. 43, n. 2, p. 491–500, 2014.

GONÇALVES, R.S.; ANDREAZZA, F.; LISBÔA, H.; GRÜTZMACHER, A.D.; VALGAS, R.A.; MANICA-BERTO, R.; NÖRNBERG, S.D.; NAVA, D.R. Basis for the development of a rearing technique of *Aganaspis pelleranoi* (Hymenoptera: Figitidae) in *Anastrepha fraterculus* (Tephritidae: Diptera). **Journal of Economic Entomology**, n. 109, n. 3, p. 1094–1101, 2016.

GROTH, M.Z.; LOECK, A.E.; NORBERG, S.D.; BERNARDI, D.; NAVA, D.E. Biology and Thermal requirements of *Fopius arisanus* (Sonan, 1932) (Hymenoptera: Braconidae) reared on *Ceratitis capitata* eggs (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Neotropical Entomology**, v. 46, n. 5, p. 554–560, 2017.

HANCE, T.; VAN BAAREN, J.; VERNON, P.; BOIVIN, G. Impact of extreme temperatures on parasitoids in a climate change perspective. **Annual Review of Entomology**, v. 52, p. 107–126, 2007.

HARVEY, JEFFREY A.; POELMAN, ERIK H.; TANAKA TOSHIHARU. Intrinsic Inter- and Intraspecific competition in parasitoid wasps. **Annual Review of Entomology** v.58, n. 19, p.:333–351, 2013.

HEIMPEL, G.E. & LUNDGREN, J.G. Sex ratios of commercially reared biological control agents. **Biological Control**, v. 19, n. 1, p. 77–93, 2000.

JAWORSKI, T.; HILSZCZAŃSKI, J. The effect of temperature and humidity changes on insects development their impact on forest ecosystems in the expected climate change. **Forest Research Papers**, v. 74, n. 4, p. 345–355, 2013.

JERVIS, M.A.; ELLERS, J.; HARVEY, J.A. Resource acquisition, allocation, and utilization in parasitoid reproductive strategies. **Annual Review of Entomology**, v. 53, n. 1, p. 361-385, 2008.

LONI, A. Developmental rate of *Opius concolor* (Hymenoptera: Braconidae) at various constant temperatures. **Entomophaga**, v. 42, n. 1, p. 359-366, 1997.

MAIA, A.H.N.; LUIZ, A.J.B.; CAMPANHOLA, C. Statistical inferences on associated lifetable parameters using jackknife technique: computational aspects. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 2, p. 511-518, 2000.

MEIRELLES, R. N.; REDAELLI, L. R.; ORIQUE, C. B.; Comparative biology of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) reared on *Anastrepha fraterculus* and *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Florida Entomologist**, v. 96, n. 2, p. 412-418, 2013.

MEYER, J.S.; IGERSELL, C.G.; MACDONALD, L.L.; BOYCE, M.S. Estimating uncertainty in population growth rates: Jack-knife vs. Bootstrap techniques. **Ecology**, v. 67, n. 5, p. 1156–1166, 1986.

MIRONIDIS, G.K.; SAVOPOULOU-SOULTANI, M. Development, survivorship, and reproduction of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) under constant and alternating temperatures. **Environmental Entomology**, v. 37, n. 1, p. 16-28, 2008.

NÚÑEZ-CAMPERO, R., ALUJA, M., RULL J., OVRUSKI, S.M. Comparative demography of three neotropical larval-prepupal parasitoid species associated with *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). **Biological Control**, v. 69, n.2, p. 8–17, 2014.

NYAMUKONDIWA, C., WELDON, C.W., CHOWN, S.L., LE ROUX, P.C., TERBLANCHE, J.S. Thermal biology, population fluctuations and implications of

temperature extremes for the management of two globally significant insect pests. **Journal of Insect Physiology**, v. 59, n. 12, p. 1199–1211, 2013.

OVRUSKI, S.M. New records of fruit fly parasitoids (Hymenoptera: Braconidae, Figitidae, Pteromalidae) for la Rioja Province, northwestern Argentina. **Entomological Society of Washington**, v. 104, n. 4, p. 1055-1057 2002.

PEDIGO, L.P.; ZEISS, R.M. Constructing life table for insect populations, p. 75–105. In **Analyses in insect ecology and management**. Iowa State University Press, Iowa. 1966.

PONCIO, S.; NUNES, A.M.; GONÇALVES, R.S.; LISBOA, H.; MANICA-BERTO, R.; GARCIA, M.S.; NAVA, D.E. Biology of *Doryctobracon brasiliensis* at different temperatures: development of life table and determineng thermal requirements. **Journal of Applied Entomology**, v. 140, n. 10, p. 775-785, 2016.

PURCELL, M.F.; VAN NIEUWENHOVEN, A.; BATCHELOR, M.A. Bionomics of *Tetrastichus giffardianus* (Hymenoptera: Eulophidae): an endoparasitóide of tephritid flies. **Environmental Entomology**, v. 25, n. 1, p. 198-206, 1996.

RICALDE MP, NAVA DE, LOECK AE, DONATTI MG. Temperature-dependent development and survival of Brazilian populations of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*, from tropical, subtropical and temperate regions. **Journal of Insect Science**, v. 12, n. 33, p. 1-11, 2012.

RIS N, ALLEMAND R, FOUILLET P, FLEURY F. The joint effect of temperature and host species induce complex genotype-by-environment interactions in the larval parasitoid of *Drosophila*, *Leptopilina heterotoma* (Hymenoptera: Figitidae). **Oikos**, v. 106, n. 3, p. 451–56, 2004.

RIVERO, A.; WEST, S.A. The physiological costs of being small in a parasitic wasp. **Evolutionary Ecology Research**, v. 4, p. 407–420, 2002.

SAGARRA, L.A.; VINCENT, C.; STEWART, R.K. Body size as an indicator of parasitoid quality in male and female *Anagyrus kamali* (Hymenoptera: Encyrtidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 91, n. 5, p. 363–367, 2001.

SIME, K.R.; DAANE, K.M.; NADEL, H.; FUNK, C.S.; MESSING, R.H.; ANDREWS, J.W.; JOHNSON, M.W.; PICKETT, C.H. *Diachasmimorpha longicaudata* and *D. kraussii* (Hymenoptera: Braconidae), potential parasitoids of the olive fruit fly. **Biocontrol Science and Technology**, v. 16, n. 2, p. 169-179, 2006.

SNART, C.J.P.; KAPRANAS, A.; WILLIAMS, H.; BARRETT, D.A.; HARDY, I.C.W. Sustenance and performance: nutritional reserves, longevity, and contest outcomes of fed and starved adult parasitoid wasps. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 6, n. 12, p. 1-12, 2018.

STACCONI, M.V.R.; PANEL, A.; NURAY, B.; IORIATTI, C.; PANTEZZI, T.; ANFORA, G. Comparative life history traits of indigenous Italian parasitoids of *Drosophila suzukii* and their effectiveness at different temperatures. **Biological Control**, v. 112, n. 6, p. 20-27, 2017.

SZYNISZEWSKA, A.M.; TATEM, A.J. Global assessment of seasonal potential distribution of Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **PLoS One**, v. 9, n. 11, p. 1- 13, 2014.

VARGAS, R.I.; RAMADAN, M.; HUSSAIN, T.; MOCHIZUKI, N.; BAUTISTA, R.C.; STARK, J.D. Comparative demography of six fruit fly (Diptera: Tephritidae) parasitoids (Hymenoptera: Braconidae). **Biological Control**, v. 25, p. 30-40, 2002.

WANG, X.G.; KAÇAR, G.; BIONDI, A.; DAANE, K.M. Life-history and host preference of *Trichopria drosophilae*, a pupal parasitoid of spotted wing drosophila. **Biological Control**, v. 61, n.4, p. 387-397, 2016.

WIMAN, N.G.; WALTON, V.M.; DALTON, D.T.; ANFORA, G.; BURRACK, H.J.; CHIU, J.C.; DAANE, K.M.; GRASSI, A.; MILLER, B.; TOCHEN, S.; WANG, X.; IORIATTI, C. Integrating Temperature-Dependent Life Table Data into a Matrix Projection Model for *Drosophila suzukii* Population Estimation. **PLoS ONE**, v. 9, n. 9, p. 1-14, 2014.

ZUO, W.; MOSES, M.E.; WEST, G.B.; CHEN HOU, C., J.H. A general model for effects of temperature on ectotherm ontogenetic growth and development. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 279, 1734, p. 1840-1846, 2012.