

# Processo de domesticação do parasitoide nativo de moscas-das-frutas *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti) em laboratório

*Domestication process of the native parasitoid of fruit flies  
Doryctobracon areolatus (Szépligeti) in laboratory*

Marcelo Mendes **RABELO**<sup>1</sup>; Zenóbia Cardoso dos SANTOS<sup>2</sup>; Carlos Gustavo da **CRUZ**<sup>3</sup>; Teresinha Augusta **GIUSTOLIN**<sup>3</sup> & Clarice Diniz **ALVARENGA**<sup>3,4</sup>

## RESUMO

A domesticação de espécies nativas de parasitoides em laboratório é de grande interesse, pois, como elas já estão adaptadas aos agroecossistemas brasileiros, sua liberação pode resultar em aumento de sua população em campo. Os objetivos da presente pesquisa foram estabelecer um processo de domesticação do parasitoide nativo *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti, 1911) em laboratório e estudar aspectos do comportamento de parasitismo. Para iniciar o processo de domesticação, realizaram-se coletas de frutos em pomares de áreas rurais, para a obtenção de espécimes de *D. areolatus*. A partir dos insetos obtidos em campo, foi iniciada a domesticação do parasitoide em laboratório. O processo de domesticação foi descrito, sendo mantida a criação de *D. areolatus* por cinco gerações. Avaliou-se a idade ideal das larvas hospedeiras para permitir a melhor porcentagem de parasitismo e a proporção de fêmeas na progênie. A maior proporção de larvas parasitadas e superparasitadas e o maior índice de parasitismo foram obtidos quando larvas de *Anastrepha fraterculus* de seis/sete dias de idade foram oferecidas às fêmeas de *D. areolatus*. A razão sexual não foi alterada com a idade da larva hospedeira. Discutiram-se os principais problemas na domesticação de parasitoides a partir de insetos obtidos em campo sobre outros hospedeiros.

**Palavras-chave:** Braconidae; criação; parasitismo; Tephritidae.

## ABSTRACT

The domestication of native species of parasitoids in the laboratory is of great interest because as these species are already adapted in the Brazilian agroecosystems, their release could result in an increase in their population in the field. The objective of this research was to establish a domestication process of the native parasitoid *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti, 1911) in laboratory and study aspects of the parasitism behavior. To begin the process of domestication, fruit collections were performed in rural areas orchards, in order to obtain specimens of *D. areolatus*. From the insects obtained in the field, the domestication of the parasitoid in the laboratory was started. The domestication process was described, the rearing of *D. areolatus* maintained for five generations. The ideal age of the host larvae to allow the better parasitism percentage and proportion of females in the progeny was evaluated. The highest proportion of parasitized and super-parasitized larvae and the highest parasitism rate were obtained when six - seven days old *Anastrepha fraterculus* larvae were offered to the *D. areolatus* females. The sex ratio did not change with the age of the host larvae. The main problems in the domestication of parasitoids from insects obtained in the field on other hosts were discussed.

**Keywords:** Braconidae; parasitism; rearing; Tephritidae.

Recebido em: 14 jul. 2019

Aceito em: 20 jul. 2020

<sup>1</sup> West Florida Research and Education Center – University of Florida, Jay, FL, USA.

<sup>2</sup> Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, BA, Brasil.

<sup>3</sup> Universidade Estadual de Montes Claros, Campus de Janaúba, Caixa Postal 91 – CEP 39448-524, Janaúba, MG, Brasil.

<sup>4</sup> Autor para correspondência: clarice.corsato@unimontes.br.

## INTRODUÇÃO

As moscas-das-frutas infestam centenas de espécies de frutas e vegetais e são responsáveis por restrições comerciais onde quer que elas ocorram (DUARTE & MALAVASI, 2000). No Brasil há quatro gêneros de moscas-das-frutas de importância econômica e/ou quarentenária (ZUCCHI, 2000b). Mais importantes economicamente são as espécies do gênero *Anastrepha*, nativas da região neotropical, e o gênero *Ceratitis*, representado por uma única espécie, *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (ZUCCHI, 2000a). *Anastrepha* é o maior e o mais importante gênero dentre os Tephritidae nas Américas (ZUCCHI, 2007). No Brasil 121 espécies de *Anastrepha* já foram assinaladas, sendo o território nacional a região de maior diversidade (ZUCCHI & MORAES, 2008). As espécies de *Anastrepha*, consideradas pragas no Brasil em geral, são polípagas ou oligófagas e amplamente distribuídas no país, tais como *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (116 espécies hospedeiras), *Anastrepha obliqua* (Macquart, 1835) (49) e *Anastrepha striata* Schiner, 1868 (31) (ZUCCHI & MORAES, 2008; ZUCCHI *et al.*, 2011).

O controle tradicional de *C. capitata* e *Anastrepha* spp. consiste em pulverizações de inseticidas misturados a produtos à base de proteína, como fonte de alimentação e atração (BORGES *et al.*, 2015). No entanto o uso de inseticidas pode, além de reduzir as populações de inimigos naturais e polinizadores, favorecer o surgimento de pragas secundárias, poluir o ambiente e contaminar alimentos (ROHDE *et al.*, 2013).

Nesse contexto e considerando a necessidade de novas alternativas de controle, inócuas ao ambiente e à saúde humana e, principalmente, que suprimam a população da praga, estaria o controle biológico com parasitoides. Nas últimas duas décadas, o uso do controle biológico das moscas-das-frutas tem merecido destaque em nível mundial, e o principal fator motivador de seu emprego tem sido favorecido por causa de três eventos: a) o desenvolvimento de técnicas de criação dos inimigos naturais exóticos e/ou nativos, propiciando o progresso de novas estratégias de controle, como a utilização de liberações inundativas; b) o crescimento, em nível mundial, da rejeição do uso de agroquímicos em pomares, que causam efeitos negativos sobre o ambiente e sobre a saúde humana; e c) a conservação da biodiversidade com a utilização de táticas de controle ecologicamente corretas (OVRUSKI *et al.*, 2000).

O aumento dos programas de controle biológico de moscas-das-frutas está necessariamente relacionado com o desenvolvimento de métodos de criação massal de muitas espécies de parasitoides (OVRUSKI *et al.*, 2000). Dessa forma, liberações inundativas de parasitoides criados massalmente são cada vez mais utilizados como um método ambientalmente correto no controle de tefritídeos (MONTROYA & CANCINO, 2004).

Dentre os principais inimigos naturais de moscas-das-frutas conhecidos no Brasil, a maioria pertence à família Braconidae, sendo 81,5% das espécies pertencentes à subfamília Opiinae, 14,8% à Alysiinae e 3,7% à Helconinae (OVRUSKI *et al.*, 2000). No total, são registradas 15 espécies de Braconidae no Brasil (CANAL & ZUCCHI, 2000; MARINHO *et al.*, 2017). No entanto, para o sucesso de um programa de controle biológico com parasitoides numa região, faz-se necessário primeiro identificar os prováveis candidatos para determinada espécie de moscas-das-frutas, em seguida, adaptar e criar tais candidatos em laboratório para depois fazer os testes de eficiência em laboratório e campo.

Dos braconídeos, *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti, 1911) é a espécie de Opiinae mais largamente distribuída na região neotropical (da Argentina até a Flórida), a mais abundante, frequente e que parasita várias espécies de moscas-das-frutas em diversos hospedeiros, sendo registrada na maioria dos estados da Federação (MARINHO *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2010; NICÁCIO *et al.*, 2011; NUNES *et al.*, 2012; DEUS & ADAIME, 2013). *Doryctobracon areolatus* exibe uma estreita associação com *Anastrepha obliqua* em espécies de frutos nativos de Anacardiaceae (OVRUSKI *et al.*, 2000).

Para a localização de seus hospedeiros, *D. areolatus* apresenta o hábito de forragear frutos maduros ainda fixos na árvore, não apresentando preferência de forragear frutos no solo, ao contrário de algumas espécies de parasitoides de moscas-das-frutas (ALUJA *et al.*, 2009). Em sua busca por larvas, as fêmeas de *D. areolatus* são atraídas pelos voláteis dos frutos infestados (EITAM *et al.*, 2003; MURILLO *et al.*, 2015). Após sua detecção, inicia-se a sondagem, a fêmea de *D. areolatus* tocando

com as antenas o fruto para localizar exatamente a larva e, também, tocando com o ovipositor o fruto, para constatação de possíveis substâncias de hospedeiros (STUHL *et al.*, 2011). A fêmea adulta insere um único ovo dentro do corpo das larvas da mosca; esse ovo permanece incubado até o estágio de pupa do hospedeiro e o tempo de desenvolvimento de ovo a adulto do parasitoide depende da temperatura, mas normalmente demora cerca de duas semanas (STUHL *et al.*, 2011).

Embora já se tenha um conhecimento razoável sobre a distribuição de *D. areolatus* em diferentes hospedeiros e nos diferentes biomas brasileiros (ZUCCHI & MORAES, 2008; MARINHO *et al.*, 2011), são escassos os trabalhos sobre a bioecologia e a capacidade de parasitismo dessa espécie de braconídeo com vistas à sua utilização em programas de controle biológico aplicado (NUNES *et al.*, 2011). Por exemplo, as criações de *Doryctobracon longicaudata* são facilitadas, pois a espécie exibe uma resposta às vibrações provocadas pelas larvas hospedeiras (LAWRENCE, 1981), o que não é observado para *Doryctobracon areolatus*, espécie que necessita sempre da presença de voláteis associados aos frutos hospedeiros de moscas-das-frutas (EITAM *et al.*, 2003).

Alguns esforços têm sido buscados no Brasil visando conhecer a biologia e a capacidade de parasitismo de *D. areolatus*, além dos fatores abióticos que influenciam aspectos biológicos do parasitoide (NUNES *et al.*, 2011; GONÇALVES *et al.*, 2018).

No entanto o sucesso de programas de controle biológico está associado não somente à possibilidade de criação do parasitoide em laboratório, mas, basicamente, à habilidade de tais parasitoides se dispersarem, sobreviverem e encontrarem os seus hospedeiros após serem liberados, o que se traduz na eficiência do parasitismo, que, por sua vez, depende das fêmeas de parasitoides que são liberadas na área a ser controlada (OLIVEIRA *et al.*, 2014; CAMARGOS *et al.*, 2018). Dessa forma, a frequência de fêmeas na população de parasitoides é importante, uma vez que somente as fêmeas são agentes efetivos de controle (MONTROYA *et al.*, 2011). Além disso, o número de fêmeas produzidas por prole é também determinante e essencial para a taxa de crescimento de uma população: quanto mais filhas cada mãe produzir, mais rapidamente a população aumenta e mais eficazmente são suprimidos os hospedeiros (STOUTHAMER *et al.*, 1992). O mesmo vale para as criações massais de parasitoides, pois, quanto mais fêmeas forem produzidas, menor será o custo da criação e, conseqüentemente, do controle (OLIVEIRA *et al.*, 2014). Por essa razão, o conhecimento dos fatores que influenciam a produção de progênie é essencial para o sucesso da criação de parasitoides visando a liberações aumentativas (MONTROYA *et al.*, 2011).

Portanto, os objetivos desta pesquisa foram estabelecer um processo de domesticação do parasitoide nativo *D. areolatus* em laboratório e estudar aspectos do comportamento de parasitismo, com vistas a obter informações úteis para futuros programas de controle biológico de moscas-das-frutas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### OBTENÇÃO DE PARASITOIDES NATIVOS

As coletas de frutos para a obtenção de *Doryctobracon areolatus* foram realizadas em áreas rurais dos municípios de Jaíba, Janaúba e Nova Porteirinha, norte de Minas Gerais, no período de março de 2015 a junho de 2016.

Coletaram-se semanalmente frutos de umbu-cajá, *Spondias tuberosa* x *Spondias mombin*, sendo o tamanho da amostra variável de acordo com a disponibilidade. Frutos maduros e que estavam no chão foram preferidos no momento da coleta. Encaminharam-se as amostras para o laboratório, onde os frutos foram contados, pesados e armazenados em bandejas contendo vermiculita. Os recipientes foram identificados e acondicionados em sala com condições de temperatura e umidade ambientes, por aproximadamente 10 dias.

Após esse período, fez-se o exame cuidadoso da polpa dos frutos e da vermiculita, com o intuito de verificar e contar os pupários e/ou larvas de moscas-das-frutas presentes. Os pupários obtidos foram acondicionados em recipientes de plástico, identificados, contendo uma camada de

vermiculita umedecida, e mantidos em sala sob condições controladas ( $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa  $65 \pm 10\%$  e fotofase de 14 h), até a emergência de adultos.

Os parasitoides emergidos foram transferidos para freezer, onde permaneceram por 1 minuto, visando-se reduzir sua atividade e, então, facilitar a identificação do parasitoide ainda vivo. Os parasitoides pertencentes à espécie *D. areolatus* foram transferidos para gaiolas de acrílico, contendo água e mel a 50%, para iniciar o processo de domesticação. Os indivíduos parasitoides de outras espécies foram acondicionados em álcool 70%, para posterior identificação.

Para a identificação dos parasitoides, foram observadas as características morfológicas presentes no propódeo, asa e mandíbula; elas foram comparadas por meio da chave de identificação para espécies de braconídeos parasitoides de moscas-das-frutas no Brasil (CANAL & ZUCCHI, 2000).

## PROCESSO DE DOMESTICAÇÃO DE *D. AREOLATUS* EM LABORATÓRIO

As fêmeas do parasitoide *D. areolatus*, obtidas das coletas em campo, foram mantidas em gaiolas de acrílico; após cinco dias de vida, ofereceram-se a essas fêmeas larvas de *Anastrepha fraterculus* para parasitar. Empregaram-se duas metodologias de oferta de larvas hospedeiras visando à domesticação do parasitoide em laboratório: uma em frutos infestados artificialmente em laboratório e outra em frutos “recheados” com larvas de moscas-das-frutas.

Para isso, frutos de goiaba, mamão, seriguela e umbu foram coletados no campo e encaminhados ao laboratório. Para a coleta utilizou-se o critério de disponibilidade no momento da infestação. A infestação artificial por *A. fraterculus* foi obtida mantendo-se os frutos no interior de gaiolas (da criação estoque mantida no laboratório), contendo adultos da mosca com oito ou mais dias de idade, durante um período que variou de 6 a 24 h. Após esse período, os frutos infestados foram então transferidos para bandejas contendo uma fina camada de vermiculita e mantidos em sala sob condições controladas ( $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa  $65 \pm 10\%$  e fotofase de 14 h).

Quando as larvas de *A. fraterculus* se encontravam com 5 a 11 dias de idade, considerando-se mais dois dias de incubação da fase de ovo, que corresponde a mais ou menos 7 a 12 dias após a infestação artificial, os frutos foram inseridos no interior da gaiola contendo os parasitoides. No interior das gaiolas, os frutos foram pendurados na tela superior ou mantidos sobre recipientes plásticos, simulando frutos presos à planta. Os frutos permaneceram na gaiola por um período de 24 h para que ocorresse o reconhecimento e parasitismo das larvas da mosca, pelas fêmeas de *D. areolatus*. Os frutos infestados e possivelmente parasitados foram então retirados e acondicionados em recipientes contendo vermiculita umedecida, até as larvas atingirem o 3.º instar, o que ocorreu aproximadamente 15 dias após a infestação dos frutos pelas moscas, quando então foram abertos e cuidadosamente examinados. As larvas obtidas foram transferidas para recipientes plásticos contendo uma fina camada de vermiculita umedecida para permitir a pupação.

Para a metodologia utilizando frutos “recheados”, ofertaram-se aos parasitoides frutos de goiaba, “recheados” com larvas de *A. fraterculus* das mesmas idades citadas anteriormente. Para isso, uma pequena abertura circular foi feita em uma das extremidades do fruto e toda a polpa foi retirada. O interior do fruto foi então preenchido com dieta artificial contendo larvas de *A. fraterculus*, com idade entre 5 e 11 dias, provenientes da criação artificial mantida em laboratório. Os frutos foram fechados novamente e envolvidos por parafilme, para fechamento adequado da abertura. A fim de permitir a aeração do interior dos frutos, estes foram perfurados com uma pinça de ponta fina (metodologia adaptada de Aluja *et al.*, 2009). Os frutos “recheados” foram ofertados aos parasitoides na mesma condição citada para os frutos infestados.

Após esse período, os frutos foram abertos e as larvas retiradas da dieta artificial e transferidas para vermiculita umedecida para pupação e posterior emergência dos adultos. No caso de larvas que ainda não tinham atingido o 3.º instar (larvas com 5 a 10 dias de idade), foi necessário retorná-las para dietas artificiais para que pudessem completar o seu ciclo e, só depois, com 11 ou 12 dias de idade, foram transferidas para vermiculita.

Em caso de parasitismo, os adultos do parasitoide emergidos foram transferidos para gaiolas de acrílico contendo água e mel a 50%. Quando tais adultos atingiram cinco dias de idade, foram-lhes ofertados frutos infestados ou “recheados”, conforme a metodologia citada anteriormente, além de

larvas em “unidades de parasitismo”. Para a confecção das “unidades de parasitismo”, utilizaram-se discos para bordado presos com tecido *voil* contendo, no interior, larvas de *A. fraterculus* com 5 a 11 dias de idade mais dieta para larvas. Sobre a superfície da “unidade de parasitismo”, dispuseram-se raspas de frutos (goiaba, casca de laranja, seriguela e manga) para auxiliar na atração das fêmeas do parasitoide. Após 24 h de exposição, o fruto e a unidade de parasitismo foram removidos da gaiola e suas larvas transferidas para recipientes contendo vermiculita umedecida, devidamente identificados de acordo com a forma de exposição. No caso de larvas que ainda não tinham atingido o 3.º instar (larvas com 5 a 10 dias de idade), foi necessário retorná-las para a dieta para que pudessem completar o seu ciclo, sendo transferidas para vermiculita com 11 ou 12 dias de idade, para ocorrer a pupação.

Após a emergência dos adultos e a transferência para as gaiolas de criação, efetuou-se a exposição das larvas de acordo com o método do qual as fêmeas emergiram. Por exemplo: aos indivíduos provenientes de larvas parasitadas nas “unidades de parasitismo” ofertaram-se apenas larvas em “unidades de parasitismo”; aos indivíduos recuperados dos frutos infestados em laboratório ou recheados com larvas e dieta ofertaram-se frutos infestados e “unidades de parasitismo” contendo raspas de frutos, seguindo a mesma metodologia citada anteriormente.

Registrou-se o número de parasitoides emergidos para cada um dos métodos testados, em função da idade da larva, fruto ou atrativo utilizado na “unidade de parasitismo”.

#### AVALIAÇÃO DA IDADE DAS LARVAS HOSPEDEIRAS SOBRE A PORCENTAGEM DE PARASITISMO E A PROPORÇÃO DE FÊMEAS NA PROGÊNIE

Para este ensaio, foram utilizadas, como hospedeiro, larvas de diferentes idades de *A. fraterculus* obtidas da colônia mantida no laboratório. Compararam-se quatro idades (faixas etárias) de larvas para determinar a idade ótima larval para a exposição dos hospedeiros às fêmeas do parasitoide: 4-5 dias de idade (2.º instar), 6-7 dias de idade (início do 3.º instar), 7-8 dias de idade (meio do 3.º instar) e 8-9 dias de idade (final do 3.º instar).

As larvas foram oferecidas aos parasitoides em “unidades de parasitismo” (larvas + dieta envoltas por tecido *voil*) que foram mantidas em gaiolas adaptadas por 24 horas. As gaiolas foram confeccionadas com recipientes plásticos (11 cm de diâmetro x 8 cm de altura e capacidade para 500 ml). Na tampa recortou-se um círculo (6 cm de diâmetro) sobre o qual foi colado um tecido fino do tipo *voil*, visando permitir a entrada de ar e evitar a fuga dos insetos. Em cada gaiola adicionou-se um casal do parasitoide recém-emergido, ao qual foram fornecidos água e mel a 10%. As larvas hospedeiras foram oferecidas às fêmeas de 5 a 10 dias de idade, na proporção de 10:1 (larvas:fêmeas do parasitoide).

Após o parasitismo, as larvas foram retiradas das unidades e transferidas para recipientes contendo dieta para completar a fase de desenvolvimento larval. Após esse período, analisaram-se os pupários sob microscópio estereoscópico, a fim de observar e contabilizar as cicatrizes (marcas deixadas pelas fêmeas ao realizarem a postura nas larvas). Os pupários foram separados pelo número de cicatrizes e transferidos para recipientes contendo vermiculita umedecida, onde foram mantidos, sob condições controladas, até a emergência dos adultos (moscas e/ou parasitoides).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 10 repetições. As porcentagens de emergência de parasitoides e de moscas foram baseadas no número total de pupários recuperados em cada amostra. A porcentagem de parasitismo foi calculada pela razão: parasitoides emergidos/parasitoides + moscas emergidos. A intensidade de parasitismo foi calculada pela proporção de pupários parasitados (presença de uma cicatriz) e/ou superparasitados (duas ou mais cicatrizes). A razão sexual da progênie do parasitoide foi calculada por meio do número de descendentes do sexo feminino dividido pelo número total de parasitoides na progênie.

Averiguaram-se as variáveis intensidade de parasitismo e frequência de cicatrizes quanto à distribuição de frequência, utilizando-se o teste de Qui-quadrado. Os resultados da razão sexual e da porcentagem de parasitismo foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste F. Todas as análises foram feitas pelo software estatístico R 3.5 package “agricolae”.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período de 16 meses, obtiveram-se, em frutos de umbu-cajá de pomares domésticos de áreas rurais, 1.641 parasitoides. O parasitismo natural foi de 15,03%, e todos os parasitoides obtidos nas coletas pertenciam à espécie *Doryctobracon areolatus*.

### DOMESTICAÇÃO DE *D. AREOLATUS* EM LABORATÓRIO

Dos parasitoides que emergiram dos frutos coletados em campo e mantidos em laboratório, foram obtidos 97 descendentes parasitoides, pertencentes à primeira geração de laboratório. Desses descendentes, 77 foram obtidos a partir de larvas de *Anastrepha fraterculus* em frutos infestados artificialmente e 20 a partir de larvas inseridas em frutos (frutos recheados com dieta artificial mais larvas de *A. fraterculus*) (tabelas 1 e 2). Dos frutos utilizados para infestação (mamão, seriguela, umbu e goiaba), 62,34% dos parasitoides emergiram das larvas presentes em seriguela (*Spondias purpurea*, Anacardiaceae). Em goiaba, não foi observada nenhuma larva, já que tais frutos, após serem infestados em laboratório, se encontravam em deterioração antes mesmo de serem oferecidos aos parasitoides.

Emergiram mais machos que fêmeas, o que sugere que pode ter ocorrido pouco acasalamento das fêmeas progenitoras. Aluja et al. (2009), trabalhando com domesticação de sete espécies de parasitoides (*Doryctobracon areolatus*, *Doryctobracon crawfordi* (Viereck, 1911), *Opius hirtus* (Fischer, 1963), *Utetes anastrephae* (Viereck, 1913), *Aganaspis pelleranoi* (Bréthes, 1924), *Odontosema anastrephae* Borgmeier, 1935 e *Coptera haywardi* (Oglobin) Loiácono 1981), sugeriram que a razão sexual tendendo à superação de machos provavelmente ocorreu por falta de acasalamento. Outra hipótese para explicar o ocorrido é a saturação de feromônio masculino, aparentemente porque as gaiolas de criação eram pequenas, o que pode ter levado as fêmeas a não acasalarem ou a fazê-lo com relutância (AGOSTA, 1990).

**Tabela 1** – Indivíduos de *Doryctobracon areolatus* obtidos a partir de frutos infestados artificialmente em laboratório (primeira geração).

Fruto infestado	Idade da larva	Emergência de <i>D. areolatus</i>	
		Macho	Fêmea
Mamão (Caricaceae)	5	1	1
	6	0	0
	7	11	8
	8	2	0
	9	0	0
	10	0	0
Seriguela (Anacardiaceae)	11	0	0
	5	24	1
	6	15	8
Umbu (Anacardiaceae)	9	0	0
	7	0	0
Total	8	5	1
		58	19

O maior número de machos observado no presente trabalho pode ter ocorrido em função do fenômeno da competição local pela cópula (LMC – *local mate competition*), conhecido como um fenômeno específico, que envolve a competição e a capacidade de alterar a razão sexual da prole (HAMILTON, 1967). Nesse sentido, Tagawa (2002) afirma que o superparasitismo em campo é bastante comum para alguns braconídeos parasitoides, a exemplo de *Cotesia glomerata* (Linnaeus, 1758), cujas fêmeas produzem proles com maior proporção de ovos haploides quando existe competição.

Outro fator que explica o maior número de machos pode ser a opção das fêmeas em depositar nas larvas ovos que originarão machos, já que as fêmeas parecem poder determinar a escolha do sexo de seus descendentes no momento da postura (OLIVEIRA *et al.*, 2014). As vespas parasitoides estão incluídas no grupo dos insetos Hymenoptera que, usualmente, têm o sistema de determinação do sexo por haplodiploidia, o que permite a seleção do sexo dos ovos pelo controle do acesso do esperma (GODFRAY, 1994). Um dos motivos para essa seleção é o tamanho da larva hospedeira, sugerindo que larvas menores impulsionam as fêmeas a colocar ovos que originarão machos, ao passo que larvas maiores estimulam a oviposição de ovos que originarão fêmeas (OLIVEIRA *et al.*, 2014; SÁ *et al.*, 2018).

Na fruta seriguela, quando infestada artificialmente, as larvas ficaram muito pequenas. A seriguela é um fruto pequeno e permaneceu no interior de gaiolas de *A. fraterculus* para infestação por um período, o qual se acredita que foi superior ao necessário (6 a 12 horas). Dessa forma, em virtude da alta infestação nas seriguelas, provavelmente ocorreu a competição das larvas por alimento, reduzindo o seu tamanho. Assim, as fêmeas de *D. areolatus* podem ter sido induzidas a ovipositem ovos que originarão machos (não fecundados). Em umbu e mamão, tal fato não foi observado, pois os frutos eram maiores e, conseqüentemente, permitiram a manutenção de um maior número de larvas sem que houvesse a competição. Segundo Charnov (1979), as vespas parasitoides poderiam determinar o número de machos e fêmeas de suas progênes, levando em consideração uma avaliação dos hospedeiros, a fim de maximizar o “*fitness*” da prole. No entanto, para *D. areolatus*, ainda não existem relatos desse comportamento.

Em frutos “recheados”, houve parasitismo apenas em goiaba. Dos 20 espécimes de *D. areolatus* emergidos, todos eram machos (tabela 2). Como esses frutos foram ofertados ao mesmo tempo em que os frutos infestados, observou-se uma preferência das fêmeas parasitoides pelas larvas da mosca que se desenvolveram desde a fase de ovo dentro do fruto, em detrimento daquelas que se desenvolveram em dieta artificial e depois foram inseridas dentro do fruto. A frugivoria larval associada ao início da deterioração do fruto pode liberar odores atrativos às fêmeas do parasitoide (SEGURA *et al.*, 2012), e como os frutos utilizados para serem recheados ainda se encontravam sadios, não ofereceram pistas olfativas para os parasitoides.

**Tabela 2** – Indivíduos de *Doryctobracon areolatus* obtidos a partir de larvas expostas dentro de frutos “recheados” (primeira geração).

Fruto	Idade da larva	Emergência de <i>D. areolatus</i>	
		Macho	Fêmea
Goiaba (Myrtaceae)	7	20	0
	8	0	0
Seriguela (Anacardiaceae)	6	0	0
	7	0	0
	8	0	0
Umbu (Anacardiaceae)	7	0	0
Total		20	0

A idade da larva variou nas duas situações, pois nem sempre havia disponibilidade do fruto para estudo ou a larva para exposição, ou havia assincronia entre as fêmeas de *D. areolatus* aptas ao parasitismo e larvas com idade ideal. Independentemente da forma de ofertar as larvas da mosca, o maior parasitismo ocorreu em larvas ainda jovens, com 5 a 8 dias de desenvolvimento após a eclosão. De acordo com Wharton & Marsh (1978), *D. areolatus* é um endoparasitoide coinobionte que se desenvolve em larvas de 2.º instar.

Os insetos que emergiram (tabelas 1 e 2) foram transferidos para gaiolas onde foram ofertadas larvas de *A. fraterculus* a partir de frutos infestados artificialmente e de “unidades de parasitismo” contendo raspas dos mesmos frutos utilizados nas etapas de domesticação anterior. No entanto nenhum parasitoide foi obtido a partir do parasitismo em laboratório. Isso pode indicar que somente os sinais de vibração da larva da mosca não foram suficientes para provocar uma resposta em *D. areolatus* para ovipositar, diferentemente do que ocorre com o parasitoide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead, 1905), que parasita larvas nuas em “unidades de parasitismo”. Provavelmente o atrativo gerado pelas raspas dos frutos também não tenha sido suficiente para a resposta positiva das fêmeas.

A utilização de dieta de *A. fraterculus* para a confecção das “unidades de parasitismo” não resultou em parasitismo. Como a dieta é pastosa e líquida, seu uso nas “unidades de parasitismo” foi dificultado, além da impossibilidade de fixar as “unidades de parasitismo” na parte superior da gaiola.

A dieta de *Ceratitis capitata* foi mais adequada para a confecção das “unidades de parasitismo”, já que se apresenta mais sólida. No entanto essa dieta não se mostrou eficiente para a atração das fêmeas do parasitoide para efetuar o parasitismo. Além do mais, as larvas de *A. fraterculus* não se desenvolveram bem nessa dieta, sendo necessária a remoção das larvas para a dieta adequada após a retirada do parasitismo, visando completarem seu desenvolvimento.

As dificuldades e os esforços para o processo de domesticação e formação de colônias de *D. areolatus* já haviam sido relatados por outros autores como Aluja *et al.* (2009). Semelhantemente ao descrito por esses autores, no presente trabalho os obstáculos já começaram com a baixa disponibilidade do parasitoide em campo para iniciar uma colônia. Em regiões de semiárido, onde a produção de frutos se concentra em poucos meses do ano, no período chuvoso capturar tais insetos é ainda mais crítico. A disponibilidade de abastecimento de larvas *A. fraterculus* (hospedeiro utilizado para a criação do parasitoide nativo) de alta qualidade e de forma contínua também é um ponto negativo. Outro problema encontrado foi a obtenção de parasitoides, quase que exclusivamente, em frutos de umbu-cajá infestados por *Anastrepha obliqua*, os quais, quando mantidos em laboratório, foram criados sobre *A. fraterculus*. Isso pode ter influenciado no processo de domesticação, visto que os indivíduos que iniciaram a colônia já estavam adaptados a forragear e parasitar larvas dessa espécie e não da espécie criada em laboratório. Encontrar uma espécie de fruta disponível para ser utilizada no processo de domesticação do parasitoide em laboratório e que emita voláteis atraentes para as fêmeas nem sempre é possível. Outros pontos que dificultam a estabilização das colônias em laboratório são: superar a tendência da razão sexual para machos, os problemas com o baixo acasalamento, a alta mortalidade (sobretudo de machos) e a sensibilidade em responder aos estímulos pelo parasitoide.

Para contornar esses problemas iniciais enfrentados com o processo de domesticação, novas coletas foram realizadas para reiniciar a colônia. As coletas foram feitas em um pomar de umbu-cajá infestado por *A. obliqua*. Dessas coletas, obtiveram-se 107 parasitoides (73 machos e 34 fêmeas), que deram início à nova colônia. A metodologia de criação foi alterada, sendo oferecidas, aos parasitoides, as larvas hospedeiras de 6 a 7 dias de idade, em unidades de parasitismo (larvas mais dieta, envoltas por tecido *voil* preso por um disco para bordado) dispostas no chão da gaiola (GONÇALVES *et al.*, 2018). A colônia constituída por esses parasitoides, obtidos do parasitismo de moscas-das-frutas em frutos provenientes do campo, foi considerada a geração parental. A primeira geração de laboratório foi constituída por aqueles parasitoides que emergiram dos pupários cujas larvas foram parasitadas pela geração parental. Nas gerações seguintes, houve a emergência de parasitoides machos e fêmeas, evidenciando-se que houve a cópula entre os parasitoides parentais

e também houve emergência de machos e fêmeas até a quinta geração. A partir daí, a colônia foi se deteriorando, não tendo sido obtido nenhum adulto do parasitismo pelas fêmeas da sexta geração.

Apesar do baixo número de indivíduos obtidos e da dificuldade em se manter a colônia em laboratório, acredita-se que esse parasitoide possui alto potencial para utilização em programas de controle biológico aplicado. Assim, são necessários mais estudos sobre o comportamento reprodutivo de *D. areolatus*, que revelem a condição ideal para o acasalamento em condições artificiais, além da definição do fruto que tenha a maior atratividade e a melhor forma de exposição da larva da mosca ao parasitismo. Além disso, a espécie da larva hospedeira pode ter influenciado no desenvolvimento de *D. areolatus* em laboratório, já que foi coletado em campo parasitando larvas de *A. obliqua* e no laboratório foram oferecidas larvas de *A. fraterculus*. Conforme Ovruski *et al.* (2000), *D. areolatus* exibe uma forte associação com *A. obliqua* em espécies de frutos nativos da família Anacardiaceae, também observada na região norte de Minas Gerais, o que pode ter contribuído para as dificuldades no seu processo de domesticação em laboratório, sobre larvas de *A. fraterculus*.

### AValiação DA IDADE DAS LARVAS HOSPEDEIRAS SOBRE A PORCENTAGEM DE PARASITISMO E A PROPORÇÃO DE FÊMEAS NA PROGÊNIE

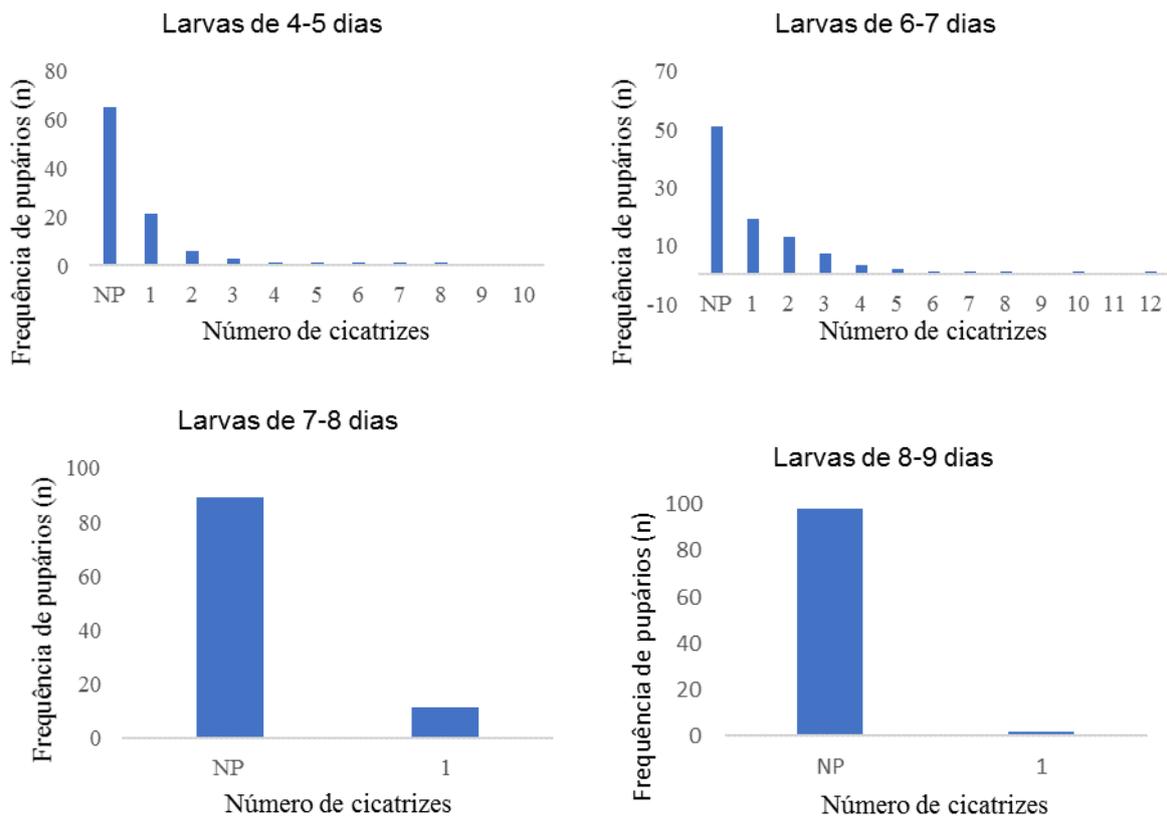
*Doryctobracon areolatus* parasitou as larvas de *A. fraterculus* das quatro idades avaliadas, mas o parasitismo apresentou diferentes proporções ( $P < 0,001$ ) (tabela 3). No geral, a proporção de pupários não parasitados foi maior que aqueles parasitados ou superparasitados. As fêmeas do parasitoide preferiram não parasitar principalmente em larvas de 7 a 8 e 8 a 9 dias (89% e 98%, respectivamente), não sendo observado nenhum pupário superparasitado. Em contrapartida, em larvas de 6 a 7 dias de idade, menor frequência de pupários não parasitados e maior proporção de pupários superparasitados (30%) foram observados. Tais resultados indicam que as fêmeas de *D. areolatus* preferem superparasitar as larvas médias, do início do 3.º instar, e parasitar uma única vez larvas muito pequenas, de 2.º instar. Murillo *et al.* (2015) afirmam que, embora esse parasitoide prefira larvas de 2.º instar, tem a capacidade de parasitar embriões nos ovos e também larvas recém-nascidas.

**Tabela 3** – Frequência de pupários não parasitados, parasitados e superparasitados, provenientes de larvas de *Anastrepha fraterculus* de diferentes idades e expostas a fêmeas de *Doryctobracon areolatus*.

Idade das larvas	Não parasitados <sup>1</sup> (%)	Parasitados <sup>1</sup> (%)	Superparasitados <sup>1</sup> (%)	N
4-5	65	21	14	100
6-7	51	19	30	100
7-8	89	11	0	100
8-9	98	2	0	100
N	303	53	44	400

<sup>1</sup> Teste de Qui-quadrado significativo a 1% de probabilidade.

A frequência de pupários em relação ao número de cicatrizes deixadas pelas fêmeas de *D. areolatus*, foi significativamente influenciada pelo tamanho (idade) da larva hospedeira ( $P < 0,001$ ) (figura 1). Nas larvas de 6 a 7 dias, os parasitoides superparasitaram mais, com um maior número de cicatrizes observadas por pupário.



**Figura 1** – Frequência de pupários de *Anastrepha fraterculus* em relação ao número de cicatrizes deixadas por fêmeas de *Doryctobracon areolatus* em larvas hospedeiras de diferentes idades.

Das larvas parasitadas de 7 a 9 dias de idade, não emergiu nenhum parasitoide, mesmo daquelas com a presença de cicatriz de ovoposição (tabela 4). O parasitismo foi diferente entre as larvas mais novas (4 a 5 dias) e as de 6 a 7 dias de idade. O parasitismo foi de 49% quando as fêmeas utilizaram larvas de 6 a 7 dias como hospedeiras. No entanto a razão sexual não diferiu com o tamanho da larva hospedeira, sendo de aproximadamente 0,5 nos dois casos onde se obtiveram descendentes.

Diferentemente do observado em *D. longicaudata*, em que o superparasitismo está relacionado à maior razão sexual da progênie (GONZÁLEZ *et al.*, 2007), em *D. areolatus* o mesmo não ocorreu. Ainda que uma maior porcentagem de larvas de 6 a 7 dias tenha sido superparasitada, a razão sexual foi a mesma daquela observada nas larvas menores, indicando que, no caso de *D. areolatus*, provavelmente não exista essa relação. Tal resultado mostra que o superparasitismo não foi o maior responsável pela frequência de fêmeas na progênie, mas sim o tamanho da larva hospedeira, o qual influenciou no aumento na frequência de fêmeas na progênie. Em *D. longicaudata* já se comprovou que a maior frequência de fêmeas na progênie está mais relacionada ao superparasitismo e, em segundo plano, ao tamanho do hospedeiro (WANG & MESSING 2003; GONZÁLEZ *et al.*, 2007; VAN NIEUWENHOVE & OVRUSKI, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2014, ALVARENGA *et al.*, 2016).

**Tabela 4** – Índice de parasitismo e razão sexual da progênie de *Doryctobracon areolatus* em larvas de *Anastrepha fraterculus* de diferentes idades.

Idade das larvas	Parasitismo (%)	Razão sexual
4-5	0,20±0,05	0,54±0,14
6-7	0,49±0,15	0,50±0,16
7-8	0	0
8-9	0	0
	*	NS

\* Médias na coluna diferem entre si pelo teste F, a 5% de significância. <sup>NS</sup> Médias na coluna não diferem entre si pelo teste F, a 5% de significância.

Uma das dificuldades na criação de *D. areolatus* tem sido, aparentemente, o estímulo de oviposição nas unidades de parasitismo (EITAM *et al.*, 2003), o que não é um problema no caso de *D. longicaudata*, já que essa espécie detecta seu hospedeiro pelas vibrações das larvas ao se alimentarem ou se moverem (LAWRENCE, 1981). No entanto muitos autores afirmam que as dificuldades estão no tamanho da larva (idade) a oferecer às fêmeas. Mais recentemente, Murillo *et al.* (2015) observaram o desenvolvimento de *D. areolatus* em ovos e larvas recém-eclodidas de *A. obliqua* coletadas em frutos de *Spondias mombin* Linnaeus, 1753. No referido trabalho, as fêmeas do parasitoide preferiram ovipositar nas larvas mais novas (de 4 e 7 dias de idade) de *A. fraterculus*, superparasitando mais aquelas com idade entre 6 e 7 dias. Todavia, nesse caso, o parasitoide pode já ter se adaptado às larvas dessa idade, já que a colônia é criada normalmente com larvas de 2.º instar de *A. fraterculus*. A mesma tendência foi notada por Gonçalves (2016), que estudou a biologia de *D. areolatus* proveniente de frutos de araçá (*Psidium cattleianum* Sabine 1821) infestados por *A. fraterculus*, no sul do país. O mencionado autor avaliou, em testes de confinamento e de livre escolha, larvas de diferentes tamanhos (instares) para o parasitismo e concluiu que as larvas de 2.º instar (6 dias de idade) foram as mais adequadas para o parasitismo de *D. areolatus* em comparação com as larvas de 1.º e 3.º instar.

Os resultados obtidos até aqui demonstram que *D. areolatus* tem potencial para ser utilizado em programas de controle biológico, seja natural ou aplicado, desde que mais estudos sejam desenvolvidos para melhorar a viabilidade das colônias de laboratório. Além disso, esforços devem ser aplicados na criação de *A. obliqua* como hospedeiro de *D. areolatus*, espécie mais relacionada ao parasitoide nas condições do norte de Minas Gerais.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) o apoio financeiro à pesquisa (DEG-00001/16).

## REFERÊNCIAS

- Agosta, W. C. Chemical communication: the language of pheromones. New York: Scientific American Library; 1990. 179 p.
- 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*. 2009; 19(1): 49-79. doi: <https://doi.org/10.1080/09583150802377373>

- Alvarenga, C. D., Dias, V., Stuhl, C. & Sivinski, J. Contrasting brood-sex ratio flexibility in two Opiine (Hymenoptera: Braconidae) parasitoids of tephritid (Diptera) fruit flies. *Journal of Insect Behavior*. 2016; 29(1): 25-36.  
doi: <https://doi.org/10.1007/s10905-015-9532-2>
- Borges, R., Machota Junior, R., Boff, M. I. C. & Botton, M. Efeito de iscas tóxicas sobre *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). *BioAssay*. 2015; 10: 1-8.  
doi: <https://doi.org/10.14295/BA.v10.134>
- Camargos, M. G., Alvarenga, C. D., Reis Júnior, R., Walder, J. M. M. & Novais, J. C. Spatial and temporal dispersal patterns of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) reared on *Ceratitis capitata* and *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). *Biological Control*. 2018; 122: 84-92.  
doi: [doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.04.007](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.04.007)
- Canal, N. A. & Zucchi, R. A. Parasitoides-Braconidae. In: Malavasi, A. & Zucchi, R. A. (ed.). *Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado*. Ribeirão Preto: Holos Editora; 2000. p. 119-126.
- Charnov, E. L. The genetical evolution of patterns of sexuality: Darwinian fitness. *American Naturalist*. 1979; 113: 465-480.
- Deus, E. G. & Adaime, R. Dez anos de pesquisas sobre moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) no estado do Amapá: avanços obtidos e desafios futuros. *Biota Amazônia*. 2013; 3:157-168.
- Duarte, A. L. & Malavasi, A. Tratamentos quarentenários. In: Malavasi, A. & Zucchi, R. A. (ed.). *Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil (conhecimento básico e aplicado)*. Ribeirão Preto: Fapesp/Holos; 2000. p. 187-192.
- Eitam, A., Holler, T., Sivinski, J. & Aluja, M. Use of host fruit chemical cues for laboratory rearing of *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist*. 2003; 86(2): 211-216.
- Godfray, H. C. J. *Parasitoids behavioral and evolutionary ecology*. New Jersey: Princeton University Press; 1994. 474 p.
- Gonçalves, R. S. *Bioecologia e competição interespecífica de parasitoides (Hymenoptera: Braconidae) de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) [Tese de Doutorado]*. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas; 2016.
- Gonçalves, R. S., Nunes, A. M., Poncio, S., Manica-Berto, R., Nörnberg, S. D., Grützmacher, A. D. & Nava, D. E. Bionomics, thermal requirements and life table of the fruit fly parasitoid *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae) under various thermal regimes. *Biological Control*. 2018; 127: 101-108.  
doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.08.025>
- González, P., Montoya, P., Perez-Lachaud, G., Cancino, J. & Liedo, P. Superparasitism in mass reared *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Biological Control*. 2007; 40(3): 320-326.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.11.009>
- Hamilton, W. D. Extraordinary sex ratios. *Science*. 1967; 156: 477-488.
- Lawrence, P. O. Host vibration – a cue to host location by the parasite, *Biosteres longicaudatus*. *Oecologia*. 1981; 48: 249-251.
- Marinho, C. F., Cônsoli, F. L., Penteado-Dias, A. M. & Zucchi, R. A. Description of two new species closely related to *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti, 1911) (Hymenoptera, Braconidae), based on morphometric and molecular analyses. *Zootaxa*. 2017; 4353: 467-484.  
doi: <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.4353.3.4>
- Marinho, C. F., De Souza-Filho, M. F., Raga, A. & Zucchi, R. A. Parasitoides (Hymenoptera: Braconidae) de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) no estado de São Paulo: plantas associadas e parasitismo. *Neotropical Entomology*. 2009; 38(3): 321-326.

- Marinho, C. F., Silva, R. A. & Zucchi, R. A. Chave de identificação de Braconidae (Alysiinae e Opiinae) parasitoides de larvas frugívoras na região Amazônica. In: Silva, R. A., Lemos, W. P. & Zucchi, R. A. (ed.). Moscas-das-frutas na Amazônia brasileira: diversidade, hospedeiros e inimigos naturais. Macapá: Embrapa Amapá; 2011. p. 92-101.
- Montoya, P. & Cancino, J. Control biológico por aumento en moscas de la fruta (Diptera: Tephritidae). Folia Entomológica Mexicana. 2004; 43: 257-270.
- Montoya, P., Cancino, J., Pérez-Lachaud, G. & Liedo, P. Host size, superparasitism and sex ratio in mass-reared *Diachasmimorpha longicaudata*, a fruit fly parasitoid. BioControl. 2011; 56: 11-17.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s10526-010-9307-9>
- 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. 2015; 46: 91-105.  
doi: <http://dx.doi.org/10.3897/JHR.46.5586>
- Nicácio J. N., Uchôa, M. A. F., Faccenda, O. A., Guimarães, J. A. & Marinho, C. F. Native larval parasitoids (Hymenoptera) of frugivorous Tephritoidea (Diptera) in South Pantanal Region, Brazil. Florida Entomologist. 2011; 94:407-419.  
doi: <https://doi.org/10.1653/024.094.0305>
- Nunes, A. M., Müller, F. A., Gonçalves, 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. 2012; 42: 6-12.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782012000100002>
- Nunes, A. M., Nava, D. E., Muller, F. A., Gonçalves, R. S. & Garcia, M. S. Biology and parasitic potential of *Doryctobracon areolatus* on *Anastrepha fraterculus* larvae. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 2011; 46(6): 669-671.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2011000600014>
- Oliveira, P. C. C., Fonseca, E. D., Alvarenga, C. D., Giustolin, T. A., Rabelo, M. M. & Coutinho, C. R. Efeito da idade das larvas de *Ceratitis capitata* (Wied.) sobre a qualidade biológica do parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead). Arquivos do Instituto Biológico. 2014; 81(3): 244-249.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657001262012>
- 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. 2000; 5: 81-107.
- Rohde, C., Moino Junior, A., Silva, P. K. & Ramalho, K. R. O. Efeito de extratos vegetais aquosos sobre a mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). Arquivos do Instituto Biológico. 2013; 80: 407-415.  
doi: <https://doi.org/10.1590/S1808-16572013000400006>
- Sá, L. P., Alvarenga, C. D., Santos, Z. C., Souza, M. D. C., Cruz, C. G., Camargos, M. G. & Giustolin, T. A. Parasitism of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) on two fruit fly species. Arquivos do Instituto Biológico. 2018; 85: 1-5.  
doi: <https://doi.org/10.1590/1808-1657000172017>
- Segura, D. F., Viscarret, M. M., Ovruski, S. M. & Cladera, J. L. Response of the fruit fly parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* to host and host-habitat volatile cues. Entomologia Experimentalis et Applicata. 2012; 143: 164-176.  
doi: <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2012.01246.x>
- Silva, J. G., Dutra, V. S., Santos, M. S., Silva, N. M. O., Vidal, D. B., Guimarães, J. A. & Araujo, E. L. Diversity of *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) and associated Braconid parasitoids from native and exotic hosts in Southeastern Bahia, Brazil. Environmental Entomology. 2010; 39: 1457-1465.  
doi: <https://doi.org/10.1603/EN10079>
- Stouthamer, R., Luck, R. F. & Werren, J. H. Genetics of sex determination and the improvement of biological control using parasitoids. Environmental Entomology. 1992; 21: 427-435.
- Stuhl, C., Sivinski, J., Teal, P., Paranhos, B. & Aluja, M. A compound produced by frugivorous Tephritidae (Diptera) larvae promotes oviposition behavior by the biological control agent *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). Environmental Entomology. 2011; 40: 727-736.  
doi: <https://doi.org/10.1603/EN10198>

- Tagawa, J. Male insemination capability in the parasitoid wasp, *Cotesia glomerata*. L. (Hymenoptera: Braconidae). *Netherlands Journal of Zoology*. 2002; 52(1): 1-10.
- Van Nieuwenhove, G. A. & Ovruski, S. M. Influence of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) larval instars on the production of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) progeny and their sex ratio. *Florida Entomologist*. 2011; 94: 863-868.  
doi: <https://doi.org/10.1653/024.094.0421>
- Wang, X. G. & Messing, R. H. Intra- and interspecific competition by *Fopius arisanus* (Hymenoptera: Braconidae) and *Diachasmimorpha tryoni* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoids of the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Biological Control*. 2003; 27: 251-259.  
doi: [https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(03\)00027-6](https://doi.org/10.1016/S1049-9644(03)00027-6)
- Wharton, R. A. & Marsh, P. M. Piinae New World (Hymenoptera: Braconidae) parasites of Tephritidae (Diptera). *Journal of the Washington Academy of Sciences*. 1978; 68: 147-167.
- Zucchi, R. A. Diversidad, distribución y hospederos del género *Anastrepha* en Brasil. In: Hernandez-Ortiz, V. (ed.). *Moscas de la fruta en Latinoamérica (Diptera: Tephritidae): diversidad, biología y manejo*. Distrito Federal, México: S y G Editores; 2007. p. 77-100.
- Zucchi, R. A. Espécies de *Anastrepha*, sinónímias, plantas hospedeiras e parasitóides. In: Malavasi, A. & Zucchi, R. A. (ed.). *Moscas-das frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado*. Ribeirão Preto: Holos; 2000a. p. 41-48.
- Zucchi, R. A. Taxonomia. In: Malavasi, A. & Zucchi, R. A. (ed.). *Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado*. Ribeirão Preto: Holos; 2000b. p. 13-24.
- Zucchi, R. A., Deus, E. G. & Silva, R. A. Espécies de *Anastrepha* e seus hospedeiros na Amazônia brasileira. In: Silva, R. A., Lemos, W. P. & Zucchi, R. A. (Eds.). *Moscas-das-frutas na Amazônia brasileira: diversidade, hospedeiros e inimigos naturais*. Macapá: Embrapa Amapá; 2011. p. 51-70.
- Zucchi, R. A. & Moraes, R. C. B. Fruit flies in Brazil – *Anastrepha* species their host plants and parasitoids. 2008. [Acesso em: 14 jul. 2019]. Disponível em: <http://www.lea.esalq.usp.br/anastrepha/>.