

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade



Tese

Controle biológico de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) com *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae): efeitos de iscas tóxicas, temperaturas e dispersão espaço/temporal

Bruna Piovesan

Pelotas, 2022

Bruna Piovesan

Controle biológico de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) com *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae): efeitos de iscas tóxicas, temperaturas e dispersão espaço/temporal

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciências (área do conhecimento: Fitossanidade/Entomologia).

Orientador: Dr. Dori Edson Nava

Coorientador: Dr. Daniel Bernardi

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

P662c Piovesan, Bruna

Controle biológico de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) com *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae) : efeitos de iscas tóxicas, temperaturas e dispersão espaço/temporal / Bruna Piovesan ; Dori Edson Nava, orientador ; Daniel Bernardi, coorientador. — Pelotas, 2022.

133 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Moscas-das-frutas. 2. Iscas-tóxicas. 3. Seletividade. 4. Condições térmicas. 5. Padrão de dispersão. I. Nava, Dori Edson, orient. II. Bernardi, Daniel, coorient. III. Título.

CDD : 595.78

Bruna Piovesan

Controle biológico de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) com *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae): efeitos de iscas tóxicas, temperaturas e dispersão espaço/temporal

Tese aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Ciências (área do conhecimento: Fitossanidade/Entomologia), Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 06 de junho de 2022

Banca examinadora:

Prof. Dr. Dori Edson Nava (Orientador)
Doutor em Entomologia pela Universidade de São Paulo (Esalq/USP)

Prof. Dr. Daniel Bernardi
Doutor em Entomologia pela Universidade de São Paulo (Esalq/USP)

Pesquisadora Dra. Beatriz de Aguiar Giordano Paranhos
Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Prof. Dra. Simone Mundstock Jahnke
Doutora em Fitotecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Pesquisador Dr. Aloisio Coelho Junior
Doutor em Entomologia pela Universidade de São Paulo (USP)

Aos meus pais Luiz Roque e Ivone,
e meu irmão Felipe Piovesan pelo carinho e orientação
desde os primeiros passos;
A Deus, pela saúde e disposição durante
esta caminhada.

DEDICO E OFEREÇO

“O futuro pertence àqueles que acreditam na beleza de seus sonhos”.

(Eleanor Roosevelt)

Agradecimentos

A Deus, pela vida e por ter guiado meus caminhos e decisões para que eu obtivesse sucesso em mais essa etapa da minha vida.

À minha família, pelo apoio, incentivo, compreensão e carinho, durante toda esta caminhada.

À Universidade Federal da Fronteira Sul, que me proporcionou formação educacional e pessoal.

À Universidade Federal de Pelotas, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade pela oportunidade de realização dos cursos de mestrado e doutorado e aos professores que contribuíram para minha formação profissional e pessoal nesta instituição.

Ao Laboratório de Entomologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Clima Temperado) pela disponibilização das instalações para realização dos experimentos.

Ao professor e pesquisador Dr. Dori Edson Nava pela orientação, ensinamentos, conselhos, oportunidades oferecidas e contribuição para meu crescimento acadêmico-científico-humano.

Aos professores e pesquisadores Dr. Daniel Bernardi e Dr. Marcos Botton, pela coorientação, oportunidades oferecidas, incentivo, compreensão e contribuição para meu crescimento pessoal e profissional.

Ao técnico de laboratório Angelo da Silva Lopes e a todos os colegas e estagiários que passaram pelo laboratório de Entomologia da Embrapa Clima Temperado, pelo convívio, amizade e auxílio nas atividades de pesquisa durante este período. Sem vocês, com certeza tudo seria mais difícil, obrigada!

Ao Henrique Noguez da Cunha e ao Dr. José Maria Filippini Alba pelo auxílio no georreferenciamento das áreas de estudo.

Ao meu companheiro Maicon Fernando Schmitz, pelo apoio, incentivo, companheirismo e convivência durante esta caminhada.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado.

A todos, o meu muito obrigada!

Resumo

PIOVESAN, Bruna. **Controle biológico de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) com *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae): efeitos de iscas tóxicas, temperaturas e dispersão espaço/temporal**. 2022. 133f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

Doryctobracon areolatus é um importante agente de controle biológico natural de moscas-das-frutas. Devido a seu potencial e técnicas de criação já estabelecidas, tem sido alvo de estudos para utilização em programas de controle biológico aplicado de *Anastrepha fraterculus*. Os objetivos deste trabalho foram: determinar a toxicidade de formulações de iscas tóxicas utilizadas no manejo de *A. fraterculus* sobre adultos de *D. areolatus*; verificar o efeito da temperatura durante o período de desenvolvimento dos estágios imaturos de *A. fraterculus* parasitados por *D. areolatus*; e conhecer a dispersão espacial e temporal de *D. areolatus* em pomar de frutíferas de clima temperado. No primeiro estudo, a toxicidade letal foi avaliada através da mortalidade observada as 24, 48, 72 e 96 horas após a exposição das iscas tóxicas. Tratamentos com mortalidade $\leq 50\%$ foram utilizados nos testes subletais. A classificação toxicológica seguiu parâmetros estabelecidos pela IOBC. No segundo estudo, larvas de *A. fraterculus* foram expostas ao parasitismo de *D. areolatus* na temperatura de 25°C e após, diariamente, alíquotas de 20 larvas foram acondicionadas nas temperaturas de 10, 15, 20, 25, 30 e 35±2°C. Este procedimento foi realizado até a emergência do primeiro indivíduo da população mantida a 25°C. Os parâmetros analisados foram emergência, tempo para emergência e razão sexual. No terceiro estudo, a dispersão horizontal e temporal foi realizada em dois pomares de pessegueiro identificados com 50 pontos a diferentes distâncias do ponto central (PC). Em cada PC foram liberados 4100 casais de *D. areolatus*. Unidades de parasitismo (UPs) foram colocadas nos 50 pontos, 4 horas após a liberação, no dia seguinte e aos 6 dias após a liberação dos parasitoides (DAL). A dispersão vertical foi avaliada em pomar de oliveira, através da seleção de 6 plantas com cerca de 4 m de altura, divididas em três alturas em relação ao solo (1,17, 2,34 e 3,51 m). Em cada ponto foram liberados 250 fêmeas e 50 machos e, posteriormente, distribuídas UPs nas diferentes alturas. Em todas as avaliações foram realizadas três liberações do parasitoide. A porcentagem de parasitismo (%P) e o número de descendentes (ND) foram determinados. As iscas tóxicas com menor toxicidade letal sobre *D. areolatus* foram, por ordem crescente: isca de pronto uso Success < iscas à base de espinosinas (espinosade e espinetoram) < iscas a base de organofosforados (fosmete e malationa) < isca de pronto uso Gelsura. Quanto aos efeitos subletais, iscas contendo inseticidas

do grupo das espinosinas (espinosade e espinetoram) são preferíveis comparadas a fosmete ou a isca de pronto uso Success. A influência da condição térmica sobre os parâmetros biológicos está relacionada com o estágio de desenvolvimento imaturo de *D. areolatus*. A produção de parasitoides nas temperaturas de 10 e 35°C é inviável, independentemente do período de desenvolvimento, enquanto temperaturas de 15 e 30°C podem ser utilizadas para retardar (cerca de 15 dias) e acelerar (cerca de 3 dias), respectivamente, o tempo de emergência de *D. areolatus*, a partir do 11º dia pós parasitismo, sem comprometer os principais parâmetros biológicos. A temperatura de 20°C pode retardar a emergência (10 a 20 dias) desde o dia do parasitismo, no entanto, com menores prejuízos a emergência e razão sexual a partir do 7º dia pós parasitismo. *D. areolatus* pode se dispersar horizontalmente a cerca de 60 m em relação ao ponto de liberação. As maiores taxas de parasitismo [15 a 45% (área 1); 15 a 27% (área 2)] e ND [20 a 35 (área 1); 15 a 26 (área 2)] foram observados nos pontos mais próximos ao PC, em um raio de \approx 25 metros e até 2 DAL. *D. areolatus* parasitou larvas até a maior altura de fixação das UPs avaliadas (3,51 m), apresentando maior média de parasitismo (1,25 %) e ND (2,5) comparado às demais alturas.

Palavras-chave: Moscas-das-frutas. Iscas-tóxicas. Seletividade. Condições térmicas. Padrão de dispersão.

Abstract

PIOVESAN, Bruna. **Biological control of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) with *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae): effects of toxic baits, temperatures and space/time dispersion.** 2022. 133f. Doctor of Science - Graduate Program in Plant Protection, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2022.

Doryctobracon areolatus is an important natural biological control agent for fruit flies. Due to its potential and established breeding techniques, it has been the subject of studies for use in programs of applied biological control of *Anastrepha fraterculus*. The objectives of this work were: to determine the toxicity of toxic bait formulations used for the management of *A. fraterculus* on *D. areolatus* adults; to verify the effect of temperature during the developmental period of the immature stages of *A. fraterculus* parasitized by *D. areolatus*; and to know the spatial and temporal dispersion of *D. areolatus* in fruit orchards in temperate climates. In the first study, lethal toxicity was assessed through mortality observed at 24, 48, 72 and 96 hours after exposure of the toxic baits. Treatments with mortality $\leq 50\%$ were used in the sublethal tests. The toxicological classification followed parameters established by the IOBC. In the second study, larvae of *A. fraterculus* were exposed to the parasitism of *D. areolatus* at a temperature of 25°C and after, daily, aliquots of 20 larvae were placed at temperatures of 10, 15, 20, 25, 30 and 35± 2°C. This procedure was carried out until the emergence of the first individual from the population maintained at 25°C. The parameters analyzed were emergence, time to emergence and sex ratio. In the third study, horizontal and temporal dispersion was performed in two peach orchards identified with 50 points at different distances from the central point (PC). In each PC, 4100 couples of *D. areolatus* were released. Parasitism units (UPs) were placed at the 50 points, 4 hours after release, on the following day and at 6 days after release of parasitoids (DAL). Vertical dispersion was evaluated in an olive orchard, through the selection of 6 plants with about 4 m in height, divided into three heights in relation to the ground (1.17, 2.34 and 3.51 m). At each point, 250 females and 50 males were released and, later, UPs were distributed at different heights. In all evaluations, three releases of the parasitoid were performed. The percentage of parasitism (%P) and the number of offspring (ND) were determined. The toxic baits with the lowest lethal toxicity on *D. areolatus* were, in ascending order: ready-to-use bait Success < spinosyn-based baits (spinosad and spinetoram) < organophosphate-based baits (phosmet and malathion) < ready-to-use bait Gelsura. As for the sublethal effects, baits containing insecticides from the spinosyn group (spinosad and spinetoram) are preferable compared to phosmet or the

ready-to-use bait Success. The influence of the thermal condition on the biological parameters is related to the immature developmental stage of *D. areolatus*. The production of parasitoids at temperatures of 10 and 35°C is unfeasible, regardless of the period of development, while temperatures of 15 and 30°C can be used to delay (about 15 days) and accelerate (about 3 days), respectively, the period of development. emergence of *D. areolatus*, from the 11th day after parasitism, without compromising the main biological parameters. The temperature of 20°C can delay emergence (10 to 20 days) from the day of parasitism, however, with less damage to emergence and sex ratio from the 7th day after parasitism. *D. areolatus* can disperse horizontally up to 60 m from the release point. The highest parasitism rates [15 to 45% (area 1); 15 to 27% (area 2)] and ND [20 to 35 (area 1); 15 to 26 (area 2)] were observed at points closest to the PC, within a radius of \approx 25 meters and up to 2 DAL. *D. areolatus* parasitized larvae up to the highest attachment height of the evaluated UPs (3.51 m), presenting a higher average of parasitism (1.25%) and ND (2.5) compared to other heights.

Keywords: Fruit flies. Toxic baits. Selectivity. Thermal conditions. Dispersion patterns.

Lista de figuras

Artigo 1

- Figura 1 Número de parasitoides sobreviventes marcados com corante 24 horas após a exposição aos tratamentos com organofosforados, comparados ao controle negativo.....57
- Figura 2 Número de parasitoides sobreviventes marcados com corante 24 horas após a exposição aos tratamentos com espinosinas, comparados ao controle negativo.....58
- Figura 3 Número de parasitoides sobreviventes marcados com corante 24 horas após a exposição aos tratamentos com iscas tóxicas de pronto uso, comparado ao controle negativo.....59

Artigo 2

Figura 1 Tempo para emergência de machos (A) e fêmeas (B) de *D. areolatus* quando larvas de *A. fraterculus* foram submetidas ao parasitismo a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e após expostas, diariamente, a diferentes temperaturas.....82

Artigo 3

- Figura 1 Pomar de pessegueiro com a localização dos 50 pontos da área 1 (0,87 hectares), aonde foram distribuídas as unidades de parasitismo.....113
- Figura 2 Pomar de pessegueiro com a localização dos 50 pontos da área 2 (0,64 hectares), aonde foram distribuídas as unidades de parasitismo.....114
- Figura 3 Número de descendentes e porcentagem de parasitismo de *D. areolatus* em diferentes distâncias e após diferentes tempos da liberação em pomar de pêsego (área 1). Oferta A: dia da liberação (representado pela cor rosa); oferta B: dia seguinte à liberação (representado pela cor verde); e oferta C: seis dias após a liberação (representado pela cor azul).....115
- Figura 4 Número de descendentes e porcentagem de parasitismo de *D. areolatus* em diferentes distâncias e após diferentes tempos da liberação em pomar de pêsego (área 2). Oferta A: dia da liberação (representado pela cor rosa); oferta B: dia seguinte à liberação (representado pela cor verde); e oferta C: seis dias após a liberação (representado pela cor azul)116
- Figura 5 Número de descendentes de *D. areolatus* em diferentes distâncias do ponto de liberação na área de estudo 1 (A1), durante a primeira oferta das unidades de parasitismo. O círculo no centro da imagem representa um raio de 25 metros.....117
- Figura 6 Número de descendentes de *D. areolatus* em diferentes distâncias do ponto de liberação na área de estudo 2 (A2), durante a primeira oferta das unidades de parasitismo. O círculo no centro da imagem representa um raio de 25 metros.....118
- Figura 7 Número médio de descendentes (ND) de *D. areolatus* em diferentes estratos de altura. Inferior= 1,17 m; médio= 2,34 m; e superior= 3,51 m.....119

Figura 8 Porcentagem de parasitismo de *D. areolatus* em diferentes estratos de altura. Inferior= 1,17 m; médio= 2,34 m; e superior= 3,51 m.....120

Lista de Tabelas

Artigo 1

Tabela 1	Atrativos alimentares utilizados no Brasil para formulações de iscas tóxicas visando o controle de moscas-das-frutas.....	52
Tabela 2	Número médio de insetos vivos ($N \pm SE$) e mortalidade corrigida (M%) de <i>D. areolatus</i> quando submetidos à ingestão de iscas tóxicas contendo inseticidas organofosforados e diferentes atrativos alimentares.....	53
Tabela 3	Número médio de insetos vivos ($N \pm SE$) e mortalidade corrigida (M%) de <i>D. areolatus</i> quando submetidos à ingestão de iscas tóxicas contendo inseticidas a base de espinosinas e diferentes atrativos alimentares...	54
Tabela 4	Número médio de insetos vivos ($N \pm SE$) e mortalidade corrigida (M%) de <i>D. areolatus</i> quando submetidos ao tratamento com iscas tóxicas de pronto uso.....	55
Tabela 5	Efeito subletal de atrativos alimentares e iscas tóxicas sobre adultos de <i>D. areolatus</i>	56

Artigo 2

- Tabela 1 Efeito de diferentes temperaturas (°C) e tempos de desenvolvimento (dias) sobre o número médio de larvas de *A. fraterculus* que se transformaram em pupas após parasitismo ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) por *D. areolatus*.....80
- Tabela 2 Porcentagem de emergência e razão sexual (rs) quando larvas de *A. fraterculus* foram submetidas ao parasitismo por *D. areolatus* a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e posteriormente expostas em diferentes tempos de desenvolvimento e temperaturas. Umidade relativa do ar de $65\pm 10\%$ e fotofase de 12h....81

Artigo 3

Tabela 1	Informações meteorológicas registradas nas datas da liberação de <i>D. areolatus</i> em pomares de pessegueiro (avaliação da dispersão horizontal e temporal) e oliveira (dispersão vertical)109
Tabela 2	Modelos de estimativa de distâncias sobre número de parasitoides e porcentagem de parasitismo de <i>D. areolatus</i> liberado em áreas de pêssego.....110
Tabela 3	Número de descendentes e porcentagem de parasitismo de <i>D. areolatus</i> em relação a diferentes dias de oferta de unidades de parasitismo observados na área 1.....111
Tabela 4	Número de descendentes e porcentagem de parasitismo de <i>D. areolatus</i> em relação a diferentes dias de oferta de unidades de parasitismo observados na área 2.....112

Sumário

Introdução Geral.....	20
1 Artigo 1 Toxicidade de formulações de iscas tóxicas sobre <i>Doryctobracon areolatus</i> (Hymenoptera: Braconidae).....	26
Introdução	30
Material e métodos.....	31
Resultados	36
Discussão.....	38
Referências	43
Figuras e tabelas.....	52
2 Artigo 2 Desenvolvimento dos estágios imaturos de <i>Doryctobracon areolatus</i> (Hymenoptera: Braconidae) em função do tempo de exposição a diferentes condições térmicas.....	60
Introdução	64
Material e métodos.....	65
Resultados	68
Discussão.....	71
Referências	75
Figuras e tabelas.....	80
3 Artigo 3 Dispersão espacial e temporal de <i>Doryctobracon areolatus</i> (Szépligeti) (Hymenoptera: Braconidae) em pomares infestados com larvas de <i>Anastrepha fraterculus</i> (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae).....	83
Introdução	89
Material e métodos.....	91
Resultados	95
Discussão.....	97
Referências	103
Figuras e tabelas.....	109
4 Conclusões gerais	121
Referências	123
Apêndices.....	129
Apêndice A.....	130
Apêndice B.....	131
Apêndice C.....	132
Anexos.....	133
Normas publicação periódico Journal of Economic Entomology.....	133
Normas publicação periódico Biocontrol Science and Technology....	133
Normas publicação periódico Biological Control.....	133

Introdução Geral

A fruticultura brasileira está em plena expansão devido à disponibilidade de área e às condições edafoclimáticas favoráveis ao desenvolvimento de diversas espécies frutíferas de clima temperado e tropical (HORTIFRUTI BRASIL, 2021). Com uma produção anual de aproximadamente 45 milhões de toneladas, o país ocupa o terceiro lugar entre os maiores produtores, ficando atrás apenas da China e Índia, o que demonstra a relevância do setor para a economia brasileira (ABF, 2021). A região Sul do Brasil é uma das principais produtoras de frutas do país, destacando-se no cultivo da videira [(*Vitis* sp. Linnaeus) (Vitales: Vitaceae)], macieira [(*Malus domestica* Borkh) (Rosales: Rosaceae)], pessegueiro [(*Prunus persica* Linnaeus) (Rosales: Rosaceae)] e pequenas frutas, como mirtilheiro [(*Vaccinium myrtillus* Linnaeus) (Ericales: Ericaceae)], amoreira [(*Morus* sp. Linnaeus) (Urticales: Moraceae)] e framboeseira [(*Rubus idaeus* Linnaeus) (Rosales: Rosaceae)] (IBGE, 2018). Embora o cultivo de frutíferas ocorra em todo o país, há limitações para a produção, especialmente pelo fato da fruticultura ser praticada em locais de altas temperaturas e umidade o que favorece a ocorrência de doenças e insetos-praga. Dentre os danos por insetos-praga, aqueles causados pelas moscas-das-frutas representam o principal obstáculo a produção (NAVA; BOTTON, 2010).

As moscas-das-frutas do gênero *Anastrepha* Schiner são as responsáveis por grandes perdas na fruticultura (ALUJA, 1994; DIAS et al., 2018). Este gênero compreende cerca de 217 espécies descritas, sendo que destas, 101 estão registradas para o Brasil (ZUCCHI, 2007). A mosca-das-frutas sul-americana *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) é uma das principais pragas, pois além dos danos diretos, reduzindo a quantidade e a qualidade dos frutos, dificulta as exportações devido a restrições quarentenárias imposta pelos países importadores (NAVA; BOTTON, 2010; MACHOTA JÚNIOR et al., 2013a; SANTOS et

al., 2017). Nos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina é considerada predominante, uma vez que representa aproximadamente 95% das espécies de *Anastrepha* coletadas nos pomares (SALLES; KOVALESKI, 1990).

Os danos provocados ocorrem em função da oviposição nos frutos e consequente desenvolvimento larval. A punctura realizada pelas fêmeas e as galerias abertas pelas larvas na polpa do fruto possibilitam a entrada de microrganismos fitopatogênicos (MACHOTA JÚNIOR et al., 2013b; BOTTON et al., 2016). Assim, as perdas diretas são causadas pela diminuição da produção, pois frutos infestados caem precocemente ao chão; aumento no custo da produção, devido a maior frequência de aplicação de inseticidas, ensacamento e monitoramento populacional; além do menor valor da produção, uma vez que frutas de baixa qualidade possuem menor valor comercial e menor durabilidade nas prateleiras dos supermercados (MALAVASI, 2001).

O controle desta e de outras espécies de moscas-das-frutas tem sido por muitos anos realizado com inseticidas fosforados aplicados em cobertura total, visando atingir os adultos e as larvas no interior dos frutos (NAVA; BOTTON, 2010). Na maioria das propriedades, estas aplicações são realizadas com base em calendários pré-estabelecidos sem o emprego de ferramentas para o monitoramento (NAVA; BOTTON, 2010). Este manejo tem sido eficaz, entretanto, estes inseticidas caracterizam-se por apresentar elevada toxicidade, baixa seletividade aos inimigos naturais e grande período de carência, levando a uma preocupação crescente sobre os efeitos tóxicos dos resíduos nos alimentos, no ambiente e na segurança dos trabalhadores (CASTILHOS et al., 2017). Assim, nos últimos anos, novas estratégias de controle têm sido estudadas dentro do contexto do Manejo Integrado de Pragas (MIP), dentre as quais pode-se destacar as iscas tóxicas e o controle biológico (STARK et al., 2004; NAVA; BOTTON, 2010).

A isca tóxica é formada por um atrativo alimentar (carboidrato ou proteína hidrolisada) associado a um agente letal (inseticida), podendo ser formulada na propriedade ou adquirida na forma de formulações de pronto uso (BOTTON et al., 2016). O melaço de cana-de-açúcar é um dos principais atrativos alimentares utilizados pelos produtores para formular iscas tóxicas (HARTER et al., 2010). É amplamente difundido devido ao reduzido custo e a relativa eficácia, porém, é empregado em alta concentração (5 a 7%), não possui padronização e assim, pode

conter contaminantes que reduzem a atratividade e conseqüentemente produzem menor controle, além de exigir o armazenamento de grandes volumes na propriedade (HARTER et al., 2010). Atrativos alimentares produzidos comercialmente podem ser uma alternativa a este problema. Entre as formulações disponíveis no mercado estão Biofruit® [proteína hidrolisada de origem vegetal (milho)], Ceratrap® (proteína hidrolisada de origem animal), Flyral® (proteína hidrolisada animal), Samaritá® [proteína hidrolisada vegetal (milho)], Samaritá Tradicional® (proteína hidrolisada vegetal com açúcares e conservantes reduzidos) e Anamed® [proteína vegetal contendo extratos de fruta e fago estimulantes- tecnologia SPLAT® (*Specialized Pheromone & Lure Application Technology*)]. A formulação Anamed® por conter ceras, apresenta maior resistência à remoção pela chuva e a degradação pela radiação ultravioleta, proporcionando maior eficácia no controle de populações de moscas-das-frutas nos pomares, principalmente em locais com elevada precipitação pluvial, como é o caso da região Sul do Brasil (ZANARDI, 2011; BORGES, 2011).

Dentre os inseticidas, os pertencentes ao grupo dos fosforados são os mais utilizados em iscas tóxicas. No entanto, novos inseticidas têm surgido como alternativa a este grupo, destacando-se o espinosade e o espinetoram (RAGA; SATO, 2005; CHUECA et al., 2007), produtos derivados da fermentação aeróbica do actinomiceto *Saccharopolyspora spinosa* Mertz e Yao, 1990 (SPARKS et al., 1998). Estes inseticidas pertencem ao grupo das espinosinas, as quais são ativas sobre as moscas-das-frutas em baixas doses de aplicação, possuem baixa toxicidade a mamíferos e peixes, além de serem mais seletivos aos insetos benéficos (STARK et al., 2004; RUIZ et al., 2008). O reduzido período de carência, a eficácia em doses reduzidas e a aceitação em sistemas de produção orgânica são algumas das vantagens deste grupo de inseticidas (WANNER et al., 2000). Outras opções de agentes letais são os inseticidas pertencentes aos grupos neonicotinóide e piretróide (RAGA, 2005; NONDILLO et al., 2007), os quais podem ser utilizados como estratégia para rotação de modos de ação.

Em relação as iscas tóxicas de pronto uso, atualmente estão disponíveis no Brasil as formulações comerciais Success 0,02 CB® (espinosade) (Dow AgroSciences) e Gelsura® (alfa-cipermetrina) (BASF) (RAGA; SATO, 2005), sendo esta última composta por uma matriz de polímeros que confere maior resistência a chuva e a degradação pela luz solar (RUIZ, 2013; BARONIO et al., 2019).

As iscas tóxicas são recomendadas para uso em pequeno volume de calda por hectare e a aplicação em pontos específicos do pomar, o que pode causar menor contaminação de insetos não-alvo (CABRERA-MARÍN et al., 2016). Apesar desta vantagem e da eficiência no manejo das moscas-das-frutas, a qual já foi comprovada em diversos trabalhos (RAGA; SATO, 2005; HARTEK et al., 2010; BARONIO et al., 2019; BORGES et al., 2021), muito pouco ainda é conhecido sobre a compatibilidade de iscas tóxicas com o controle biológico. A associação do controle químico com o biológico só é possível se os produtos químicos apresentarem alguma seletividade aos inimigos naturais (RIGITANO; CARVALHO, 2001; EFROM et al., 2011; BUENO et al., 2017). Assim, estudos de seletividade são fundamentais para o sucesso na integração destes métodos de controle.

O controle biológico pode ser classificado em clássico ou inoculativo, natural ou conservativo e aplicado ou aumentativo (PARRA et al., 2021). O primeiro é caracterizado pela importação e colonização de parasitoides ou predadores, onde liberações são realizadas uma ou duas vezes no mesmo local com o intuito que a população de inimigos naturais aumente com o passar do tempo. O segundo refere-se à conservação de predadores ou parasitoides que ocorrem naturalmente, através da manutenção do ambiente de forma favorável à preservação do habitat destes inimigos naturais. O terceiro, por outro lado, envolve a produção massal de parasitoides ou predadores em laboratório para posterior liberação inundativa, visando rápida redução da população da praga até seu nível de equilíbrio (PARRA et al., 2021).

O controle biológico clássico e aplicado com parasitoides tem sido uma importante estratégia de manejo utilizada com sucesso em diversos programas de controle de moscas-das-frutas (MONTROYA et al., 2000; CARVALHO; NASCIMENTO, 2002). Existem diversas espécies de parasitoides que atacam as moscas-das-frutas. No Brasil, as principais pertencem as famílias Braconidae, Figitidae, Pteromalidae e Diapriidae, sendo que as duas primeiras possuem maior número de espécies descritas (CANAL; ZUCCHI, 2000; OVRUSKI et al., 2000; PARANHOS et al., 2019).

Parasitoides nativos, apesar de pouco estudados, apresentam grande potencial para controle das moscas-das-frutas, podendo chegar a 80% de eficiência de parasitismo, conforme relatado para *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti) (Hymenoptera: Braconidae) em seu habitat natural (STUHL; SIVINSKI, 2015). O nível de parasitismo desta espécie, no entanto, pode variar de acordo com a planta

hospedeira (NUNES et al., 2012). Estudos realizados em condições de laboratório demonstram que a taxa média de parasitismo em mamão infestado com larvas de *A. fraterculus* é de cerca de 53% (NUNES et al., 2011) e a campo pode chegar a 40% (NAVA et al., 2019). *Doryctobracon areolatus* é um endoparasitoide coinobionte, nativo da região Neotropical, sendo a espécie mais frequente encontrada parasitando larvas de segundo instar do gênero *Anastrepha* (STUHL; SIVINSKI, 2015). Por ser um parasitoide predominante no Brasil e com técnicas de criação definidas em laboratório (GONÇALVES, 2016), representa uma das espécies mais promissoras para utilização em programas de controle biológico (PARANHOS et al., 2019).

Além da característica potencial da espécie, a qualidade dos insetos produzidos, assim como a otimização da produção massal são essenciais dentro de um programa de controle biológico aplicado (PARRA; COELHO, 2022). Segundo Le Lann et al. (2011), a temperatura pode ser uma ferramenta para a otimização deste processo, uma vez que os insetos, por serem ectotérmicos, regulam sua temperatura corporal pela temperatura ambiente. Estudos neste sentido são importantes, por exemplo, para acelerar ou retardar o ciclo de desenvolvimento do parasitoide, seja por questões de armazenamento, transporte ou de manejo a campo. A escassez dessas informações, somada a poucos estudos sobre o comportamento de dispersão destes inimigos naturais (especialmente os nativos) nas diversas regiões do Brasil, representam alguns dos entraves para o desenvolvimento de programas de controle biológico aplicado com o uso de parasitoides.

A capacidade de dispersão dos parasitoides é importante para a determinação do número de pontos de liberação e, conseqüentemente, para elaboração de metodologias que viabilizem a sua eficiência nas condições de campo, principalmente em liberações inundativas (ZACHRISSON; PARRA, 1998). Segundo Zappala et al. (2012), a eficácia de um inimigo natural no controle de pragas em condições de campo está amplamente correlacionada com sua capacidade de dispersar dentro das culturas infestadas. Diferentes distâncias do local de liberação podem resultar em variabilidade na taxa de parasitismo, como uma consequência das características biológicas do parasitoide, dentre elas sua capacidade de voo, ou mesmo da cultura, uma vez que a arquitetura das plantas pode funcionar como uma barreira física à dispersão do parasitoide (BUENO et al., 2012).

Assim, para que se possa recomendar uma espécie para controle biológico em uma determinada cultura e região é necessário conhecer todos esses fatores, a fim de não comprometer sua atuação no campo (PINTO; PARRA, 2002). Estudos avaliando a seletividade a inseticidas e/ou iscas tóxicas, a influência de fatores abióticos (a exemplo da temperatura), e a capacidade de dispersão têm sido conduzidos com outras espécies de parasitoides da família Braconidae, como é o caso do parasitoide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) (PARANHOS et al., 2007; MONTOYA et al., 2017; CAMARGOS et al., 2018; BALDIN et al., 2018; HARBI et al., 2017; BERNARDI et al., 2019).

No caso de *D. areolatus*, pesquisas vêm sendo desenvolvidas nos últimos 10 anos quando o mesmo foi selecionado para um programa de controle biológico de mosca-das-frutas, especialmente *A. fraterculus*. Estudos visando definir uma técnica de criação, sua bioecologia e a relação com a temperatura e diferentes hospedeiros, foram realizados (GONÇALVES, 2016; GONÇALVES et al., 2018). No entanto, devido à importância de *D. areolatus* como agente de controle biológico de moscas-das-frutas, torna-se essencial dar continuidade ao programa de controle biológico, visando desenvolver estudos relacionados a liberação inundativa, com o intuito de formar bases sustentáveis para o manejo de *A. fraterculus*. Assim, este trabalho teve como objetivos: a) determinar a toxicidade de formulações de iscas tóxicas utilizadas para o manejo de *A. fraterculus* sobre adultos de *D. areolatus*, visando estratégias de conservação e liberação inundativa; b) verificar o efeito da temperatura sobre o desenvolvimento dos estágios imaturos de *D. areolatus*; e c) conhecer a dispersão espaço/temporal de *D. areolatus* em condição de pomar de frutíferas de clima temperado.

1 Artigo 1- Journal of Economic Entomology

Versão em português

**Toxicidade de formulações de iscas tóxicas sobre *Doryctobracon areolatus*
(Hymenoptera: Braconidae)**

Bruna Piovesan; Javier Antonio Contreras Miranda; Rafael da Silva Gonçalves;
Sandro Daniel Nörnberg; Daniel Bernardi; Marcos Botton; Dori Edson Nava

1 Piovesan et al.: Toxicity of toxic bait formulations Bruna Piovesan
2 on *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae) Federal University of Pelotas
3 Entomology
4 96010-900, Pelotas/RS, Brazil
5 Journal of Economic Entomology E-mail: bruna-piovesan@hotmail.com

6

7 **Toxicidade de formulações de iscas tóxicas sobre *Doryctobracon areolatus***
8 **(Hymenoptera: Braconidae)**

9

10 Bruna Piovesan^{1*}; Javier Antonio Contreras Miranda¹; Rafael da Silva Gonçalves²; Sandro
11 Daniel Nörnberg²; Daniel Bernardi¹; Marcos Botton³; Dori Edson Nava⁴

12

13 ¹Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade,
14 Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Campus Universitário, Caixa Postal 354, CEP
15 96010-900, Pelotas, RS, Brasil.

16 ²Partamon, Pelotas, RS, Brasil.

17 ³Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS, Brasil.

18 ⁴ Embrapa Clima Temperado, BR-392, Km 78, 9º Distrito, Monte Bonito, Caixa Postal 403,
19 CEP 96010-971 Pelotas, RS, Brasil.

20

21 *Autor correspondente: endereço de e-mail: bruna-piovesan@hotmail.com

22

23

24

25

26

27

28 **Resumo.** O manejo populacional de moscas-das-frutas geralmente é realizado com produtos
29 químicos em cobertura total e iscas tóxicas. O controle biológico aplicado com parasitoides é
30 uma alternativa para associação a essas técnicas. A escassez de informações sobre a
31 seletividade de iscas tóxicas para vários agentes de controle biológico ainda é uma realidade.
32 O objetivo deste estudo foi conhecer os efeitos letais e subletais de formulações de iscas
33 tóxicas recomendadas para o manejo de mosca-das-frutas sobre adultos do parasitoide nativo
34 *D. areolatus*. Dez casais foram privados da alimentação por 20 horas e expostos a ingestão de
35 iscas tóxicas por 24 horas. A mortalidade foi avaliada 24, 48, 72 e 96 horas após a exposição
36 (HAE). Tratamentos com mortalidade $\leq 50\%$ foram utilizados nos testes subletais, onde
37 avaliou-se efeitos sobre o parasitismo e emergência. Os atrativos Biofruit 3%, Ceratrap 1,5%,
38 Flyral 1,25%, Isca Samaritá 3%, Isca Samaritá Tradicional 3% e melão de cana-de-açúcar
39 7% associados ao inseticida Malathion 1000 EC e a isca de pronto uso Gelsura foram
40 classificados como nocivos a *D. areolatus* 96 HAE. As formulações contendo fosmete
41 demonstraram menor nocividade letal comparado aquelas com malationa. Iscas a base de
42 espinosinas apresentaram tendência a maior toxicidade letal para tratamentos contendo
43 espinetoram. Flyral 1,25% + espinosade obteve maior número de insetos vivos 96 HAE e
44 assim como Anamed + espinosade e Biofruit 3% + espinosade não causou reduções sobre o
45 parasitismo e emergência, sendo adequadas para o manejo das moscas-das-frutas associado a
46 *D. areolatus*. Success 0,02 CB, apesar de inócuo, demonstrou significativa redução no
47 parasitismo (27,9%). Estes resultados confirmam a importância dos estudos de seletividade
48 dentro do manejo integrado de pragas.

49

50 **Palavras-chave:** seletividade, controle químico, moscas das frutas, parasitoides nativos

51

52 **Toxicity of toxic bait formulations on *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera:**

53 **Braconidae)**

54 **Abstract.** Population management of fruit flies is usually accomplished with full coverage
55 chemicals and toxic baits. Biological control applied with parasitoids is an alternative for
56 association with these techniques. The scarcity of information on the selectivity of toxic baits
57 for various biological control agents is still a reality. The objective of this study was to know
58 the lethal and sublethal effects of toxic bait formulations recommended for the management
59 of fruit flies on adults of the native parasitoid *D. areolatus*. Ten couples were deprived of
60 food for 20 hours and exposed to ingesting toxic baits for 24 hours. Mortality was assessed
61 24, 48, 72 and 96 hours after exposure (HAE). Treatments with mortality $\leq 50\%$ were used in
62 sublethal tests, where effects on parasitism and emergence were evaluated. The attractants 3%
63 Biofruit, 1.5% Ceratrap, 1.25% Flyral, 3% Isca Samaritá, 3% Isca Samaritá Traditional and
64 7% sugarcane molasses associated with the insecticide Malathion 1000 EC and the ready-to-
65 use bait Gelsura were classified as harmful to *D. areolatus* 96 HAE. Formulations containing
66 phosmet demonstrated less lethal harm compared to those with malathion. Spinosyn-based
67 baits tended to have greater lethal toxicity for treatments containing spinetoram. 1.25% Flyral
68 + spinosad obtained the highest number of live insects 96 HAE and like Anamed + spinosad
69 and 3% Biofruit + spinosad did not cause reductions on parasitism and emergence, being
70 suitable for the management of fruit flies associated with *D. areolatus*. Success 0.02 CB,
71 despite being innocuous, showed a significant reduction in parasitism (27.9%). These results
72 confirm the importance of selectivity studies within integrated pest management.

73

74 **Keywords:** selectivity, chemical control, fruit flies, native parasitoids

75 **Introdução**

76 As moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) são consideradas pragas-chave na
77 fruticultura mundial (Urbaneja et al. 2009, López-Arriaga et al. 2022). No Brasil, entre as
78 espécies que causam os maiores danos estão *Anastrepha* spp. e *Ceratitis capitata* (Zucchi 2000,
79 Nava and Botton 2010, Botton et al. 2016). O controle populacional geralmente é realizado com
80 produtos químicos em cobertura total utilizando inseticidas dos grupos químicos piretroides,
81 organofosforados e espinosinas ou em formulações de iscas tóxicas (Härter et al. 2010, Nava
82 and Botton 2010, Borges et al. 2015, Baronio et al. 2019, Nunes et al. 2020).

83 A isca tóxica consiste na associação de um atrativo alimentar com um agente letal
84 (inseticida) (Botton et al. 2016). Os atrativos alimentares geralmente são compostos por
85 açúcares ou proteína hidrolisada, uma vez que adultos de mosca-das-frutas, especialmente as
86 fêmeas, durante o período pós-emergência necessitam ingerir alimentos proteicos e energéticos
87 para atingir a maturação sexual e realizar o acasalamento (Heath et al. 1994). Assim, a isca
88 tóxica atua nesse momento crucial do ciclo da mosca, sendo aplicada em pontos específicos dos
89 pomares, com o objetivo de formar uma barreira protetora entre a cultura e a paisagem do
90 entorno, onde normalmente predomina a fonte de infestações de mosca-das-frutas (Vayssieres
91 et al. 2009, Harter et al. 2015). No contexto do Manejo Integrado de Pragas (MIP), as iscas
92 tóxicas representam uma importante ferramenta de manejo, pois auxiliam na redução das
93 populações de moscas-das-frutas, sem exigir a aplicação de inseticidas em larga escala
94 (Navarro-Llopis et al. 2012, Baronio et al. 2019, Nunes et al. 2020, Borges et al. 2021).

95 No Brasil, inseticidas fosforados são predominantemente usados na formulação de iscas
96 tóxicas (Härter et al. 2010, Raga and Galdino 2018). Este fato ocorre devido a rápida ação e
97 elevada toxicidade sobre os adultos das moscas-das-frutas após a ingestão (Casida and Quistad
98 1998, Raga et al. 2018). Contudo, nos últimos anos, novas moléculas inseticidas e novos
99 atrativos alimentares têm sido avaliados para a formulação de iscas tóxicas, com destaque aos

100 inseticidas a base de espinosinas (Schutze et al. 2018). Além disso, foram disponibilizadas
101 formulações de iscas tóxicas denominadas de pronto uso, como Gelsura e Success (Botton et
102 al. 2016). Entretanto, para agregar essas estratégias de manejo (iscas tóxicas) em programas de
103 MIP, é importante verificar a compatibilidade com outras estratégias de controle, como o
104 controle biológico (Baldin et al. 2018, Bernardi et al. 2019, Farah et al. 2019, Cardoso et al.
105 2021).

106 Diversos estudos têm relatado a presença natural de espécies de parasitoides de moscas-
107 das-frutas a campo, dentre eles: *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti) (Hymenoptera:
108 Braconidae), *Doryctobracon brasiliensis* (Szépligeti) (Hymenoptera: Braconidae), *Opius*
109 *bellus* (Gahan) (Hymenoptera: Braconidae) e *Aganaspis pelleranoi* (Brèthes) (Hymenoptera:
110 Figitidae) (Ovruski et al. 2000, Marsaro Júnior et al. 2011, Nunes et al. 2012). Destes, o
111 parasitoide larval *D. areolatus* tem demonstrado ser um dos inimigos naturais mais promissores
112 para o manejo de *A. fraterculus* e *C. capitata* (Marinho et al. 2009, Garcia and Ricalde 2013,
113 Nunes et al. 2011, Murillo et al. 2015, Gonçalves et al. 2018). Além de ser um parasitoide nativo
114 (Zucchi and Moraes 2008), técnicas de criação já foram desenvolvidas para programas de
115 controle biológico aplicado (Gonçalves 2016). Apesar das vantagens e potenciais, ainda são
116 poucas as informações geradas quanto a seletividade de iscas tóxicas sobre insetos benéficos,
117 especialmente sobre espécies de parasitoides nativos de mosca-das-frutas. Frente a isso, o
118 objetivo do presente estudo foi conhecer os efeitos letais e subletais de formulações de iscas
119 tóxicas recomendadas para o manejo de mosca-das-frutas sobre o parasitoide nativo *D.*
120 *areolatus*.

121

122 **Material e Métodos**

123 **Insetos.** Adultos de *A. fraterculus* e *D. areolatus* foram obtidos da criação de manutenção da
124 Embrapa Clima Temperado, onde foram mantidos em sala climatizada (temperatura: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$,
125 umidade relativa do ar: $70\pm 10\%$ e fotofase: 12 horas).

126 Os adultos de *A. fraterculus* foram estabelecidos em gaiolas plásticas (57 cm x 39 cm x
127 37 cm) e alimentados com dieta sólida à base de açúcar, germe de trigo e levedura de cerveja,
128 na proporção 3:1:1, respectivamente (Nunes et al. 2013). Diariamente, os ovos foram coletados
129 e colocados na aeração por 24 horas (Kamiya 2010) para na sequência serem inoculados em
130 dieta artificial a base de germe de trigo. Após completado o terceiro instar, as larvas foram
131 retiradas da dieta e depositadas em farinha de milho (substrato para pupação). As pupas foram
132 transferidas para as gaiolas de manutenção até a emergência dos adultos.

133 A criação de manutenção de *D. areolatus* foi realizada de acordo com metodologia
134 descrita por Gonçalves (2016). Os adultos foram mantidos em gaiolas plásticas (40 cm x 27 cm
135 x 23 cm) e alimentados com mel. A multiplicação dos parasitoides foi obtida através da oferta
136 diária de larvas de segundo instar de *A. fraterculus* (6 dias de idade) em placa de acrílico (4 cm
137 de diâmetro x 0,2 cm de altura) contendo fibra de trigo hidratada coberta com tecido *voile*. Após
138 12 horas de parasitismo, as larvas foram acondicionadas em dieta artificial de farinha de milho,
139 a fim de completar a fase larval. Em seguida, os insetos foram transferidos para farinha de
140 milho, para pupação e as pupas separadas para posterior emergência dos adultos.

141

142 **Formulações de iscas tóxicas.** Os atrativos alimentares utilizados nas iscas tóxicas foram: a)
143 Anamed™, b) Biofruit™ a 3%; c) CeraTrap™ a 1,5%; d) Flyral™ a 1,25%; e) Isca Samaritá™
144 a 3%; f) Isca Samaritá Tradicional™ a 3% e g) Melaço de cana-de-açúcar a 7% (Tabela 1). Em
145 mistura aos atrativos alimentares foram utilizados os inseticidas: a) Malathion 1000 EC™
146 (malationa 1000 gramas de ingrediente ativo (g.i.a.). L^{-1}) (Cheminova Ltda., São Paulo, Brasil);
147 b) Imidan 500 WP™ (fosmete 500 g i.a. L^{-1}) (Syngenta Crop Protection, São Paulo, Brasil); c)

148 Delegate 250 WG™ (espinetoram 250 g i.a. L⁻¹); e d) Tracer 480 SC™ (espinosade 480 g i.a.
149 L⁻¹) (Dow AgroSciences Industrial Ltda., São Paulo, Brasil) (Agrofit 2022).

150 As formulações de pronto uso utilizadas foram: Success 0,02CB™ (0,24 g i.a de
151 espinosade por L⁻¹) (Dow AgroSciences Industrial Ltda., São Paulo, Brasil) diluído em água na
152 proporção de 1:1,5 volume/volume (v/v) (1 parte de produto comercial para 1,5 partes de água
153 (Agrofit 2022) e Gelsura™ (matriz de polímeros contendo ingrediente ativo alfa-cipermetrina
154 (BASF S.A, SP, Brasil), diluído na proporção de 1:2 e 2:1 (partes de produto comercial: partes
155 de água, respectivamente). Como controle negativo (testemunha) para ambos os tratamentos se
156 utilizou solução de água e mel a 80%. Nos tratamentos foi adicionado corante alimentício
157 líquido na cor azul (2 mL de corante: 100 mL de calda), a fim de confirmar, através da
158 visualização da coloração do abdômen dos insetos, se houve ou não a ingestão dos tratamentos.

159

160 **Bioensaios.** Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Biologia de Insetos da Faculdade
161 de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM) da Universidade Federal de Pelotas/RS. A toxicidade
162 letal e subletal sobre adultos de *D. areolatus* foi verificada mediante testes de ingestão das iscas
163 tóxicas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 10 repetições,
164 considerando atrativo alimentar + inseticida, apenas atrativo alimentar e solução de mel 80%,
165 sendo o mel 80% considerado controle negativo. Em cada repetição foram utilizados 10 casais
166 de *D. areolatus* com idade entre 4 e 6 dias.

167

168 **Toxicidade letal.** Insetos provenientes da criação de manutenção foram acondicionados no
169 interior de gaiolas confeccionadas por recipientes plásticos (500 mL) com a parte superior
170 recortada e revestida com tecido *voile* a fim de permitir a aeração. Após, foram privados da
171 alimentação por um período de 20 horas. Com o auxílio de uma micropipeta (100 µL) foi
172 oferecida uma gota (10 µL) do respectivo tratamento sobre papel Parafilm™ (Bemis Company,

173 Inc, USA). Os tratamentos ficaram à disposição dos insetos para a ingestão durante 24 horas.
174 Após a exposição, os tratamentos foram retirados e foi ofertada uma solução aquosa composta
175 por mel 80%. As 24, 48, 72 e 96 Horas Após a Exposição (HAE) foram avaliados o número de
176 insetos vivos e mortos. Insetos que não apresentaram reação ao toque de um pincel de ponta
177 fina foram considerados mortos. No período de 24 HAE foi contabilizado o número de
178 parasitoides marcados com corante (mortos e vivos), a fim de obter uma estimativa da ingestão
179 dos tratamentos (Apêndice A). O número de insetos sobreviventes marcados também foi
180 computado buscando comprovar os possíveis efeitos de uma posterior toxicidade subletal.

181 Para isolar o efeito de cada atrativo alimentar, a mortalidade ocasionada por cada
182 formulação de isca tóxica (atrativo alimentar + inseticida) foi corrigida com o respectivo
183 atrativo alimentar através da fórmula de Henderson and Tilton (1955). De forma semelhante, a
184 mortalidade ocasionada pelo atrativo alimentar foi corrigida com o controle negativo (solução
185 de água e mel 80%). Com base nos dados de mortalidade (M) na avaliação das 96 HAE, os
186 tratamentos foram classificados de acordo com os critérios definidos pelo IOBC / WPRS:
187 Classe 1 = inócuo ($M < 25\%$), classe 2 = ligeiramente prejudicial ($25\% \leq M \leq 50\%$), classe 3
188 = moderadamente nocivo ($51\% \leq M \leq 75\%$) e classe 4 = nocivo ($M > 75\%$).

189

190 **Toxicidade subletal.** Para avaliar o efeito subletal foram utilizados os tratamentos que
191 apresentaram mortalidade inferior a 50% (Classes 1 e 2). Adultos foram privados de
192 alimentação por um período de 20 horas e acondicionados no interior de gaiolas (conforme
193 descrito acima). Decorrido 24 HAE aos tratamentos, os adultos sobreviventes foram
194 alimentados com solução de água e mel 80% até o fim do bioensaio. Durante 10 dias
195 consecutivos foram oferecidas larvas de segundo instar de *A. fraterculus* (± 10 larvas/fêmea em
196 mistura com dieta de farinha de milho e fibra de trigo), conforme metodologia adaptada de
197 Gonçalves (2016). Decorrido 7 horas de parasitismo diário, as larvas foram retiradas e

198 transferidas para dieta a base de farinha de milho, a fim de completar o desenvolvimento larval.
199 Após 4 dias, as larvas foram transferidas para recipientes plásticos (80 mL) contendo farinha
200 de milho (1 cm) como substrato para a formação das pupas. Na sequência (após cerca de 4 dias),
201 as pupas foram separadas do substrato até a emergência dos adultos. Quando houve a
202 emergência dos insetos (*A. fraterculus* ou *D. areolatus*) estes foram contabilizados. Ao final do
203 bioensaio, os pupários que permaneceram intactos foram dissecados para verificar a presença
204 de moscas ou parasitoides não emergidos, a fim de determinar a taxa real de parasitismo.

205 A redução na capacidade de parasitismo e de insetos emergidos para cada tratamento
206 foi determinada através da comparação com o controle negativo (mel 80%) e calculada por
207 meio da fórmula: $RP = [(1 - T/C) * 100]$, onde: T é o parasitismo médio ou emergência média
208 no tratamento (formulação da isca tóxica ou somente atrativo alimentar) e C é o parasitismo
209 médio ou insetos emergidos observado no controle negativo. Com base nas reduções no
210 parasitismo (%) e emergência (%) de *D. areolatus* os tratamentos foram classificados, segundo
211 a Organização Internacional de Controle Biológico e Integrado de Animais e Plantas Nocivas
212 IOBC (Hassan et al. 2000) em: 1) inócuo (RP ou $RE < 30\%$); 2) levemente nocivo ($30 \leq RP$ ou
213 $RE \leq 79\%$); 3) moderadamente nocivo ($80 \leq RP$ ou $RE \leq 99\%$) e nocivo (RP ou $RE > 99\%$).

214

215 **Análise estatística.** Os dados foram submetidos à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e
216 homocedasticidade por Hartley e Bartlett. Para a toxicidade letal, foi aplicada a análise de
217 variância (ANOVA) usando PROC GLM e as médias comparadas usando o teste de Tukey a
218 5% de significância (SAS Institute 2011). Para avaliar a toxicidade subletal, os dados foram
219 submetidos à ANOVA no PROC GLM usando o teste F ($P < 0,05$). Quando os valores foram
220 estatisticamente significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os
221 dados referentes à marcação dos insetos com corante foram avaliados através do teste de

222 Kruskal-Wallis e comparados por Dunn a 5% de significância, utilizando o software Bioestat
223 5.0.

224

225 **Resultados**

226 **Toxicidade letal em adultos de *D. areolatus*.** De modo geral, foi observado que os parasitoides
227 sobreviventes marcados com corante (24 HAE) em sua maioria pertenceram ao controle
228 negativo, aos tratamentos apenas com atrativo alimentar e aos tratamentos com atrativo
229 alimentar + inseticidas contendo espinosinas ($p < 0,05$) (Figuras 1, 2 e 3).

230 Os atrativos alimentares Anamed, Biofruit 3%, CeraTrap 1,5%, Flyral 1,25%, Isca
231 Samaritá 3%, Isca Samaritá Tradicional 3% e melão de cana-de-açúcar 7% quando fornecidos
232 isoladamente apresentaram baixa toxicidade letal ($M < 25\%$) sobre os adultos de *D. areolatus*
233 96 horas após a exposição (HAE), sendo classificados, segundo a IOBC, como inócuos (classe
234 1) (Tabelas 2 e 3). Quando comparado os efeitos entre eles, verificou-se que não houve
235 diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos quanto ao número de insetos sobreviventes
236 (Tabelas 2 e 3).

237 Com exceção de Anamed + malationa, todos os demais tratamentos combinados ao
238 inseticida malationa foram classificados como nocivos ($M > 75\%$, classe 4), apresentando
239 elevada mortalidade e diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) do respectivo atrativo alimentar 96
240 HAE (Tabela 2). Para a maioria das iscas tóxicas formuladas com o inseticida fosmete, também
241 foi verificada elevada mortalidade após 96 horas ($M > 50\%$), com diferença estatística ($p < 0,05$)
242 em relação aos seus respectivos atrativos alimentares (Tabela 2). A maior porcentagem de
243 mortalidade (72%) de adultos de *D. areolatus* foi verificada com a formulação Isca Samaritá
244 3% + fosmete, sendo classificada como moderadamente nociva (classe 3). Por outro lado, o
245 mesmo não foi observado para o tratamento Isca Samaritá Tradicional 3% + fosmete, sendo
246 classificado como inócuo ($M < 25\%$, classe 1).

247 Quanto ao grupo dos inseticidas a base de espinosinas, verificou-se que 96 HAE
248 Ceratrap 1,5% + espinosade, Isca Samaritá 3% + espinosade e Isca Samaritá Tradicional 3% +
249 espinosade causaram mortalidade intermediária (47,2%, 43,1% e 27,8%, respectivamente), com
250 classificação ligeiramente prejudicial ($25\% \leq M \leq 50\%$, classe 2) (Tabela 3). A isca composta
251 por melão de cana-de-açúcar 7% + espinosade foi considerada moderadamente nociva (classe
252 3), com mortalidade superior a 52% (Tabela 3). Em contraste, os atrativos Anamed, Biofruit
253 3% e Flyral 1,25% associados ao espinosade proporcionaram as menores taxas de mortalidade
254 (23,0%, 20,0% e 7,9%, respectivamente), sendo considerados inócuos ($M < 25\%$, classe 1) a
255 adultos de *D. areolatus*. Em adição, a formulação Flyral 1,25% + espinosade apresentou o maior
256 número médio de insetos sobreviventes após 96 horas de alimentação, não diferindo
257 estatisticamente do respectivo atrativo alimentar e do controle negativo (Tabela 3). Entretanto,
258 melão de cana-de-açúcar 7% + espinetoram e Ceratrap 1,5 % + espinetoram acarretaram a
259 maior mortalidade de *D. areolatus* (acima de 60%) (Tabela 3). Com exceção da isca Anamed
260 + espinetoram, que foi classificada como inócua ($M < 15\%$), as demais contendo Biofruit 3%,
261 Flyral 1,25%, Isca Samaritá 3% e Isca Samaritá Tradicional 3% foram consideradas
262 ligeiramente prejudiciais com mortalidade entre 25 e 50% (classe 2).

263 A isca de pronto uso Success 0,02 CB causou baixa toxicidade ($< 5\%$ de mortalidade 96
264 HAE) aos adultos de *D. areolatus*, sendo classificada como inócua (classe 1). Não houve
265 diferença estatística quanto ao número de insetos vivos para esta formulação e o controle
266 negativo com mel 80% ($p < 0,05$) (Tabela 4). Porém, a exposição dos parasitoides as formulações
267 de Gelsura (2,0 e 4,0 g i.a. L⁻¹ de alfa-cipermetrina) proporcionaram mortalidade acima de 85%
268 após 96 HAE, sendo classificadas como nocivas para o parasitoide (classe 4).

269

270 **Toxicidade subletal em adultos de *D. areolatus*.** Entre as iscas tóxicas analisadas, observou-se
271 se que 16 formulações causaram mortalidade de adultos inferior a 50%, as 96 HAE. Desta

272 forma, foram utilizadas nas avaliações subletais. Os tratamentos que apresentaram efeitos
273 negativos diretos na redução da emergência de *D. areolatus* foram Isca Samaritá Tradicional +
274 fosmete (38,5%) e Isca Samaritá + espinosade (36,6 %), diferindo significativamente do
275 controle negativo e sendo classificados como ligeiramente prejudiciais (classe 2). Em contraste,
276 os tratamentos que não apresentaram efeitos negativos sobre adultos de *D. areolatus* tanto na
277 redução do parasitismo como na redução da emergência (RP ou RE < 30%; classe 1) foram:
278 Anamed + espinosade, Anamed + espinetoram, Biofruit + espinosade, Biofruit + espinetoram,
279 Biofruit + fosmete e Flyral + espinosade ($p < 0,05$). Os inseticidas espinosade, espinetoram e
280 fosmete associados ao atrativo Biofruit, apresentaram as maiores taxas de parasitismo (40,9%,
281 42,5% e 47,8%) e emergência (22,9%, 25,4% e 27,8%), respectivamente (Tabela 5). A
282 formulação de pronto uso Success, apesar de apresentar a maior redução no parasitismo
283 (27,9 %) foi considerada, segundo a IOBC, como inócua (RP ou RE < 30%; classe 1).

284

285 **Discussão**

286 As maiores taxas de mortalidade de adultos de *D. areolatus* foram obtidas com as
287 formulações de iscas tóxicas contendo o inseticida malationa. Esse fato ficou evidente logo nas
288 primeiras 24 horas da exposição dos parasitoides as iscas. Insetos que se alimentaram
289 apresentaram tremores seguido de morte como principais sintomas. Esse comportamento ocorre
290 devido a malationa ser um inseticida de ação rápida, pertencente ao grupo dos
291 organofosforados, que atua sobre o sistema nervoso dos insetos inibindo a enzima
292 acetilcolinesterase (Irac 2022). As colinesterases são essenciais no organismo, pois catalisam a
293 hidrólise do neurotransmissor acetilcolina em colina e ácido acético, uma reação necessária
294 para permitir que o neurônio colinérgico retorne ao seu estado de repouso após a ativação
295 (Casida and Durkin 2013). Assim, os produtos químicos que interferem na ação da colinesterase
296 são potentes neurotóxicos (Michaud 2003, Casida and Durkin 2013). A toxicidade dos

297 organofosforados foi relatada para outras espécies de braconídeos, como *Aphidius gifuensis*
298 Ashmead (Hymenoptera: Braconidae) e *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead)
299 (Hymenoptera: Braconidae) (Ohta and Takeda 2015, Harbi et al. 2017, Bernardi et al. 2019).
300 Baseado nestas informações e nas condições em que foi realizado o presente trabalho, pode-se
301 dizer que independente do atrativo alimentar utilizado na isca tóxica, malationa não é seletivo
302 aos inimigos naturais, e por isso deve ser utilizado com cautela. Pesquisas recentes têm
303 demonstrado que em campo alguns atrativos alimentares apresentam repelência a certas
304 espécies de insetos benéficos, como por exemplo abelhas (Padilha et al., 2019). Assim, a
305 utilização de atrativos alimentares com algum efeito de repelência aos organismos não-alvo
306 poderia ser uma alternativa. Estudos futuros avaliando estes efeitos em condições de campo
307 sobre parasitoides de mosca-das-frutas, incluindo *D. areolatus*, são necessários.

308 Isclas tóxicas a base de fosmete demonstraram menor nocividade letal a *D. areolatus*
309 comparado àquelas contendo malationa, apesar de pertencerem ao mesmo grupo químico
310 (organofosforados). Isso pode ter ocorrido devido a características particulares dos inseticidas,
311 como tipo de formulação e solubilidade em água de cada molécula. A formulação pó molhável
312 (WP) do Imidan 500 WP™, quando diluída em água forma uma suspensão não tão estável
313 quanto a formada pela formulação concentrado emulsionável (EC) do Malathion 1000 EC™, e
314 por isso, necessita de agitação contínua para que a calda se mantenha homogênea (Garrido
315 2003). Eventual sedimentação do ingrediente ativo durante o fornecimento das isclas aos insetos
316 pode ter causado menor toxicidade do fosmete. Além disso, a baixa solubilidade em água da
317 molécula de fosmete (25 mg/L a 25°C) comparada à de malationa (145 mg/L a 25°C) (Pub
318 Chem 2022), somada às características fisiológicas do parasitoide também podem ter
319 influenciado no resultado observado.

320 Apesar da menor toxicidade letal, verificou-se que praticamente todas as isclas contendo
321 fosmete (à exceção de Biofruit 3% + fosmete) causaram pelo menos algum efeito subletal sobre

322 a redução do parasitismo e redução da emergência. Isca Samaritá Tradicional 3% + fosmete,
323 mesmo classificada como inócua na avaliação de toxicidade letal, foi justamente a que
324 apresentou a maior redução na emergência de parasitoides (38,5%) sendo considerada
325 ligeiramente prejudicial. Monteiro (2001) e Ferreira et al. (2006) também observaram moderada
326 toxicidade de fosmete sobre o ácaro predador *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari:
327 Phytoseiidae) e o crisopídeo *Chrysoperla externa* Hagen (Neuroptera: Chrysopidae).

328 Para as iscas a base de espinosinas, a mortalidade variou conforme o inseticida e atrativo
329 alimentar, com tendência a maior toxicidade letal para os tratamentos contendo espinetoram.
330 Isso pode estar relacionado ao fato do espinetoram ser uma molécula semissintética,
331 proveniente da modificação química de espinosinas naturais, o que faz que possua maior ação
332 inseticida comparado ao espinosade, que por sua vez, é derivado da fermentação biológica de
333 *Saccharopolyspora spinosa*, organismo de ocorrência natural no solo (Sparks et al. 2001).
334 Diversos trabalhos têm demonstrado baixa toxicidade deste inseticida a inimigos naturais (Stark
335 et al. 2004, Thomas and Mangan 2005, Miles 2006, Pedroso et al. 2011, Bernardi et al. 2019).

336 Flyral 1,25% + espinosade apresentou o maior número médio de insetos vivos após 96
337 horas de exposição, não diferindo do seu respectivo atrativo alimentar e do controle negativo.
338 Não foram observados efeitos subletais após a ingestão dessa formulação. Isso demonstra alta
339 seletividade de *D. areolatus* a esta isca tóxica. Trabalho realizado com *D. longicaudata* também
340 verificou que o número de insetos sobreviventes com esta isca não diferiu estatisticamente
341 daqueles pertencentes apenas ao atrativo e ao controle negativo (Baldin et al. 2018). Flyral é
342 um atrativo alimentar de origem animal (Bioibérica S.A., Barcelona, Espanha), recentemente
343 introduzido no mercado brasileiro e que possui alto grau de pureza e porcentagem de proteína
344 hidrolisada (36%) (Baronio et al. 2019). O teor de proteína hidrolisada é essencial para a
345 atratividade de adultos de mosca-das-frutas, uma vez que as fêmeas necessitam ingerir
346 aminoácidos para a produção de óvulos (Zucoloto 2000). Assim, a isca tóxica ideal é aquela

347 que atrai com eficiência a praga-alvo e repele o inimigo natural, uma vez que atraído este entra
348 em contato com o agente letal. Vargas et al. (2002) destacam que deve-se priorizar o emprego
349 de proteínas e ingredientes ativos seletivos, evitando aqueles de amplo espectro. Estudo recente
350 realizado em condição de campo com a abelha nativa *Plebeia emerina* (Friese) (Hymenoptera:
351 Apidae) demonstrou que a maioria das iscas tóxicas recomendadas para o manejo das moscas-
352 das-frutas (incluindo as iscas avaliadas no presente trabalho) não foram atrativas a espécie,
353 representando, segundo os autores, uma ferramenta viável e segura a ser utilizada no manejo
354 das populações da praga (Padilha et al., 2019).

355 Outras iscas com resultados promissores que podem ser utilizadas em programas de
356 manejo integrado de moscas foram as misturas Anamed + espinosade e Biofruit 3% +
357 espinosade, pois foram consideradas inócuas para *D. areolatus* em ambas as avaliações (letal e
358 subletal). A formulação Anamed + espinosade, além de proporcionar efeitos na supressão
359 populacional de *A. fraterculus* e *C. capitata*, apresenta elevada resistência à precipitação e à
360 degradação pela luz solar (Mafra-Neto et al. 2013, Borges et al. 2015, Baronio et al. 2019,
361 Borges et al. 2021). Por outro lado, embora a formulação Biofruit 3% + espinosade ocasione
362 elevada toxicidade sobre a praga (Harter et al. 2015, Baldin et al. 2018) e baixa toxicidade a
363 adultos de *D. areolatus*, apresenta baixa resistência a chuva e elevada degradação pela luz solar
364 (Harter et al. 2015, Botton et al. 2016).

365 Apesar de Gelsura ser altamente eficiente e recomendada para o manejo de *A. fraterculus*
366 e *C. capitata* (Baronio et al. 2019, Nunes et al. 2020), apresentou elevada toxicidade
367 (mortalidade > 85%) a adultos de *D. areolatus*. Este efeito pode estar associado principalmente
368 ao efeito knock-down dos piretroides, uma vez que a isca apresenta alfa-cipermetrina como
369 ingrediente ativo (Casida and Durkin 2013). Resultados semelhantes foram observados para
370 espécie *D. longicaudata* (Bernardi et al. 2019). Baseado nestas informações, a associação de

371 Gelsura e *D. areolatus* deve ser realizada com cautela, respeitando o período residual da isca
372 (14 dias) (Baronio et al. 2019) para que não ocorram efeitos negativos sobre o parasitoide.

373 A isca de pronto uso Success 0,02 CB (espinosade) causou baixa toxicidade letal (<5%
374 de mortalidade 96 HAE) aos adultos de *D. areolatus*, porém apesar de inócua, provocou
375 significativa redução no parasitismo (27,9%), ficando próxima a ligeiramente prejudicial. Tal
376 fato pode estar associado a algum constituinte da composição da isca, a qual além do
377 espinosade, da proteína de milho hidrolisada e açúcares invertidos, contém pequenas
378 quantidades de óleo, goma, sorbatos e outros adjuvantes, assim como 1% de acetato de amônio
379 (Moreno and Mangan 2003, Ruiz et al. 2008). Estudo sobre os impactos de inseticidas contendo
380 espinosade, dentre eles Success, para diversas espécies de predadores e parasitoides demonstrou
381 efeitos subletais insignificantes sobre predadores, enquanto para parasitoides estes efeitos
382 foram significativos, incluindo perdas na capacidade reprodutiva e longevidade reduzida
383 (Williams et al. 2003). Segundo Harbi et al. (2017), mesmo classificando Success como uma
384 isca pouco nociva para algumas espécies, as opiniões ainda são divergentes sobre sua
385 compatibilidade com muitos agentes de biocontrole, especialmente em relação aos possíveis
386 efeitos subletais transgeracionais.

387 Neste estudo, a quantidade ingerida pelos insetos não foi mensurada, porém os adultos
388 de *D. areolatus* de modo geral se alimentaram de todos os tratamentos oferecidos. A
389 visualização da coloração do abdômen dos parasitoides sobreviventes 24 HAE indicou que os
390 efeitos subletais observados sobre a redução do parasitismo e emergência ocorreram em função
391 da alimentação dos tratamentos. Segundo Cruz et al. (1997), o corante pode ser uma ferramenta
392 a auxiliar no entendimento do comportamento de alimentação dos insetos, indicando se houve
393 ou não ingestão dos tratamentos.

394 Diversos fatores podem interferir nos resultados dos testes de toxicidade, dentre eles a
395 espécie, concentração do produto, composição do atrativo, via de exposição (ingestão ou
396 contato) e metodologia empregada.

397 No presente trabalho, os ensaios de toxicidade foram realizados em condições de
398 laboratório, onde os insetos foram submetidos a condições controladas e restritas de
399 alimentação. No entanto, no campo os parasitoides podem se deslocar e utilizar outras fontes
400 de alimento para sobreviver, como substâncias açucaradas presentes nos recursos florais de
401 plantas adjacentes (Lee et al. 2006), não havendo exposição restrita à isca tóxica. Nesse
402 ambiente a presença de radiação solar ou chuva podem ainda acelerar a degradação do
403 ingrediente ativo, causando menor toxicidade da isca (Flores et al. 2011). Assim, estudos
404 futuros procurando avaliar a toxicidade de iscas tóxicas em semi-campo e campo são
405 necessários, a fim de compreender melhor os possíveis efeitos adversos sobre *D. areolatus*.

406 A partir dos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que as
407 formulações de iscas tóxicas com menor toxicidade letal sobre *D. areolatus* foram,
408 respectivamente: isca de pronto uso Success < iscas a base de espinosinas (espinosade e
409 espinetoram) < iscas a base de organofosforados (fosmete e malationa) < isca de pronto uso
410 Gelsura. Quanto aos efeitos subletais, iscas contendo inseticidas do grupo das espinosinas
411 (espinosade e espinetoram) são preferíveis comparadas a fosmete ou a isca de pronto uso
412 Success.

413

414 **Agradecimentos**

415 À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Código de
416 Financiamento 001) pela concessão da bolsa de estudo.

417

418 **Referências**

- 419 **Agrofit, 2022.** Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em:
420 <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>.
- 421 **Baldin, M. M., I. X. Schutze, C. A. Baronio, F. R. M. Garcia, and M. Botton. 2018.**
422 Concentration and lethal time of toxic baits based on spinosyns on *Ceratitis capitata* and
423 *Diachasmimorpha longicaudata*. *Pesqui. Agropecu. Trop.* 48: 323-330.
- 424 **Baronio, C. A., I. X. Schutze, M. Z. Nunes, D. Bernardi, R. Machota Jr., L. C. Bortoli, C.**
425 **J. Arioli, F. R. M. Garcia, and M. Botton. 2019.** Toxicities and residual effect of
426 spinosad and alpha-cypermethrin-based baits to replace malathion for *Ceratitis capitata*
427 (Diptera: Tephritidae) control. *J. Econ. Entomol.* 20: 2-10.
- 428 **Bernardi, D., A. Nondillo, C. A. Baronio, L. C. Bortoli, R. Machota Junior, R. C. B.**
429 **Treptow, F. C. S. Geisler, C. G. Neitzke, D. E. Nava, and M. Botton. 2019.** Side effects
430 of toxic bait formulations on *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera:
431 Braconidae). *Sci. Rep.* 9: 1-8.
- 432 **Borges, R., R. Machota Junior., M. I. C. Boff, and M. Botton. 2015.** Efeito de iscas tóxicas
433 sobre *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). *BioAssay.* 10: 1-8.
- 434 **Borges, R., M. Botton, M. I. C. Boff, C. J. Arioli, R. Machota Junior, and L. C. Bortoli.**
435 **2021.** Use of toxic bait to manage the south American fruit fly in apple orchards in
436 Southern Brazil. *Rev. Bras. Frutic.* 43: 1-11.
- 437 **Botton, M., M. Z. Nunes, and J. M. Da Rosa. 2016.** Moscas-das-frutas na fruticultura de
438 clima temperado: situação atual e perspectivas de controle através do emprego de novas
439 formulações de iscas tóxicas e da captura massal. *Agropecuária Catarinense.* 29: 103-108.
- 440 **Cardoso, T. D. N., P. Stupp, M. B. Martins, J. G. da. Silva Filho, A. D. Grützmacher, D.**
441 **E. Nava, D. Bernardi, and M. Botton. 2021.** Lethal and sublethal toxicity of pesticides
442 used in fruit growing on the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera:

- 443 Braconidae): Implications for integrated fruit fly management. J. Econ. Entomol. 114:
444 2412-2420.
- 445 **Casida, J. E., and G. B. Quistad. 1998.** Golden age of insecticide research: past, present, or
446 future? Annu. Rev. Entomol. 43: 1-16.
- 447 **Casida, J. E., and K. A. Durkin. 2013.** Neuroactive insecticides: targets, selectivity,
448 resistance, and secondary effects. Annu. Rev. Entomol. 58: 99-117.
- 449 **Cruz, I. B. M. da., E. Humeres, and A. K. Oliveira. 1997.** Toxicity of fenthion to *Anastrepha*
450 *fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae): dose response analysis. Anais da Sociedade
451 Entomológica do Brasil. 26: 471-479.
- 452 **Farah, S., M. Rakes, D. Portalanza, D. E. Nava, A. Durigon, A. D. Grützmacher, N. Dias-
453 Pini, and M. Gómez-Torres. 2019.** Effects of toxic baits and food-based attractants for
454 fruit flies on the parasitoid *Fopius arisanus* (Sonan) (Hymenoptera: Braconidae). Bull.
455 Entomol. Res. 110: 1-7.
- 456 **Ferreira, A. J., G. A. Carvalho, M. Botton, and O. Lasmar. 2006.** Seletividade de inseticidas
457 usados na cultura da macieira a duas populações de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861)
458 (Neuroptera: Chrysopidae). Cienc. Rural. 36: 378-384.
- 459 **Flores, S., L. E. Gomez, and P. Montoya. 2011.** Residual control and lethal concentrations of
460 GF-120 (spinosad) for *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. 104:
461 1885-1891.
- 462 **Garcia, F. R. M., and M. P. Ricalde. 2013.** Augmentative biological control using parasitoids
463 for fruit fly management in Brazil. Insects. 4: 55-70.
- 464 **Garrido, L. R. 2003.** Sistema de produção de pêssego de mesa na região da Serra Gaúcha.
465 Embrapa Uva e Vinho. Disponível em: <
466 [https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pessego/PessegoMesaRe
467 giaoSerraGaucha/defensi.htm](https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pessego/PessegoMesaRegiaoSerraGaucha/defensi.htm)>.

- 468 **Gonçalves, R. S. 2016.** Bioecologia e competição interespecífica de parasitoides
469 (Hymenoptera: Braconidae) de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae). Tese
470 (Doutorado) - Programa de pós-graduação em Fitossanidade, Universidade Federal de
471 Pelotas, Pelotas.
- 472 **Gonçalves, R. S., A. M. Nunes, S. Poncio, R. Manica-Berto, S. D. Nörnberg, A. D.**
473 **Grützmacher, and D. E. Nava. 2018.** Bionomics, thermal requirements and life table of
474 the fruit fly parasitoid *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae) under
475 various thermal regimes. *Biol. Control.* 127: 101-108.
- 476 **Harbi, A., K. Abbes, B. Sabater-Muñoz, F. Beitia, and B. Chermiti. 2017.** Residual toxicity
477 of insecticides used in Tunisian citrus orchards on the imported parasitoid
478 *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae): Implications for IPM
479 program of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Span. J. Agric. Res.* 15: 1-10.
- 480 **Harter, W. R., A. D. Grutzmacher, D. E. Nava, R. S. Gonçalves, and M. Botton. 2010.** Isca
481 tóxica e disrupção sexual no controle da mosca-da-fruta sul-americana e da mariposa
482 oriental em pessegueiro. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 45: 229-235.
- 483 **Harter, W. R., M. Botton, D. E. Nava, A. D. Grützmacher, R. S. Gonçalves, R. Machota**
484 **Junior, D. Bernardi, and O. Z. Zanardi. 2015.** Toxicities and residual effects of toxic
485 baits containing spinosad or malathion to control the adult *Anastrepha fraterculus*
486 (Diptera: Tephritidae). *Fla. Entomol.* 98: 202-208.
- 487 **Heath, R. R., N. D. Epsky, S. Bloem, K. Bloem, F. Acajabon, A. Guzman, and D.**
488 **Chambers. 1994.** pH effect on the attractiveness of a corn hydrolysate to the
489 Mediterranean fruit fly and several *Anastrepha* species (Diptera: Tephritidae). *J. Econ.*
490 *Entomol.* 87: 1008–1013.
- 491 **Henderson, C. F., and E. W. Tilton. 1955.** Tests with acaricides against the brow wheat mite.
492 *J. Econ. Entomol.* 48: 157-161.

- 493 **Irac, 2022.** Comitê de ação à resistência a inseticidas. Disponível em: < [https://www.irac-](https://www.irac-br.org/modo-de-acao)
494 [br.org/modo-de-acao](https://www.irac-br.org/modo-de-acao)>.
- 495 **Kamiya, A. C. 2010.** Criação massal em dieta líquida e radioesterilização da mosca-sul-
496 americana *Anastrepha* sp. 1 aff. *fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera: Tephritidae).
497 Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São
498 Paulo, Piracicaba.
- 499 **Lee, J. C., D. A. Andow, and G. E. Heimpel. 2006.** Influence of floral resources on sugar
500 feeding and nutrient dynamics of a parasitoid in the field. *Ecol. Entomol.* 31: 470-480.
- 501 **López-Arriaga, F., C. Pérez-Cruz, P. López, S. Flores, J. Cancino, M. Salvador-Figueroa,**
502 **and P. Montoya. 2022.** Host selection for the rearing of *Doryctobracon areolatus*
503 (Hymenoptera: Braconidae), a fruit fly parasitoid. *Phytoparasitica.* 50: 117-125.
- 504 **Mafra-Neto, A., F. M. C. De Lame, J. Fettig, A. S. Munson, T. M. Perring, L. L. Stelinski,**
505 **L. L. Stoltman, L. E. J. Mafra, R. Borges, and R. I. Vargas. 2013.** Manipulation of
506 insect behavior with Specialized Pheromone and Lure Application Technology
507 (SPLAT®). In: *Pest Management with natural products*, pp. 31-58.
- 508 **Marinho, C. F., M. F. Souza-Filho, A. Raga, and R. A. Zucchi. 2009.** Parasitoides
509 (Hymenoptera: Braconidae) de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) no Estado de
510 São Paulo: plantas associadas e parasitismo. *Neotrop. Entomol.* 38: 321-326.
- 511 **Marsaro-Júnior, A. L., R. Adaime, B. Ronchi-Teles, C. R. Lima, and P. R. V. S. Pereira.**
512 **2011.** *Anastrepha* species (Diptera: Tephritidae), their hosts and parasitoids in the
513 extreme North of Brazil. *Biota Neotrop.* 11: 117-123.
- 514 **Michaud, J. P. 2003.** Toxicity of fruit fly baits to beneficial insects in citrus. *J. Insect Sci.* 3:
515 1-8.
- 516 **Miles, M. 2006.** The effects of Spinosad on beneficial insects and mites used in integrated pest
517 management systems in greenhouses. *IOBC/wprs Bulletin.* 29: 53-59.

- 518 **Monteiro, L. B. 2001.** Seletividade de inseticidas a *Neoseiulus californicus* McGregor (Acari:
519 Phytoseiidae) em macieira, no Rio Grande do Sul. Rev. Bras. Frutic. 23: 589-592.
- 520 **Moreno, D. S., and R. L. Mangan. 2003.** Bait matrix for novel toxicants for use in control of
521 fruit flies (Diptera: Tephritidae). In: Hallman, G. J., Schwalbe, C. (Eds.), Invasive
522 Arthropods in Agriculture: Problems and Solutions. Science Publishers Inc., Enfield, NH,
523 pp. 333–362.
- 524 **Murillo, F. D., H. Cabrera-Mireles, J. F. Barrera, P. Liedo, and P. Montoya. 2015.**
525 *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera, Braconidae) a parasitoid of early developmental
526 stages of *Anastrepha obliqua* (Diptera, Tephritidae). J. Hymenopt. Res. 46: 91-105.
- 527 **Navarro-Llopis, V., J. Primo, and S. Vacas. 2012.** Efficacy of attract-and-kill devices for the
528 control of *Ceratitis capitata*. Pest Manag. Sci. 69: 478-482.
- 529 **Nava, D. E. and M. Botton. 2010.** Bioecologia e controle de *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis*
530 *capitata* em pessegueiro. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. (Documento, 315). pp. 29.
- 531 **Nunes, A. M., D. E., Nava, F. A., Müller, R. S. Gonçalves, and M. S. Garcia. 2011.** Biology
532 and parasitic potential of *Doryctobracon areolatus* on *Anastrepha fraterculus* larvae.
533 Pesqui. Agropecu. Bras. 46: 669- 671.
- 534 **Nunes, A. M., F. A. Müller, R. S. Gonçalves, M. S. Garcia, V. A. Costa, and D. E. Nava.**
535 **2012.** Moscas frugívoras e seus parasitoides nos municípios de Pelotas e Capão do Leão,
536 Rio Grande do Sul, Brasil. Cienc. Rural. 42: 6-12.
- 537 **Nunes, A. M., K. Z. Costa, K. M. Faggione, M. L. Z. Costa, R. S. Gonçalves, J. M. M.**
538 **Walder, M. S. Garcia, and D. E. Nava. 2013.** Dietas artificiais para a criação de larvas
539 e adultos da mosca-das-frutas sul-americana. Pesqui. Agropecu. Bras. 48: 1309-1314.
- 540 **Nunes, M. Z., C. A. Baronio, I. X. Schutze, D. Bernardi, C. J. Arioli, R. Machota Junior,**
541 **and M. Botton. 2020.** Toxicity of baits and their effects on population suppression of

- 542 *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae): implications for field management.
543 Environ. Entomol. 49: 638-644.
- 544 **Ohta, I., and M. Takeda. 2015.** Acute toxicities of 42 pesticides used for green peppers to an
545 aphid parasitoid, *Aphidius gifuensis* (Hymenoptera: Braconidae), in adult and mummy
546 stages. Appl. Entomol. Zool. 50: 207-212.
- 547 **Ovruski, S., M. Aluja, J. Sivinski, and R. Wharton. 2000.** Hymenopteran parasitoids on fruit-
548 infesting Tephritidae (Diptera) in Latin America and the southern United States: diversity,
549 distribution, taxonomic status and their use in fruit fly biological control. J. Integr. Pest.
550 Manag. 5: 81-107.
- 551 **Padilha, A. C., B. Piovesan, M. C. Morais, C. J. Arioli, M. J. Zotti, A. D. Grützmacher,**
552 **and M. Botton. 2019.** Toxicity, attraction, and repellency of toxic baits to stingless bees
553 *Plebeia emerina* (Friese) and *Tetragonisca fiebrigi* (Schwarz) (Hymenoptera: Apidae:
554 Meliponini). Ecotoxicol. Environ. Saf. 183: 1-11.
- 555 **Pedroso, E. C., G. A. Carvalho, M. I. S. Leite, and D. T. Rezende. 2011.** Seletividade de
556 inseticidas utilizados no algodoeiro sobre pupas e adultos da joaninha *Cycloneda*
557 *sanguinea* (Linnaeus, 1763). Arq. Inst. Biol. 78: 537-544.
- 558 **Pub Chem, 2022.** Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>>.
- 559 **Raga, A., and L. T. Galdino. 2018.** Atração fatal. Cultivar HF. 109: 20-23.
- 560 **Raga, A., L. T. Galdino, S. B. Silva, F. B. Baldo, and M. E. Sato. 2018.** Comparison of
561 insecticide toxicity in adults of the fruit flies *Anastrepha fraterculus* (Wied.) and
562 *Anastrepha grandis* (Macquart) (Tephritidae). J. Exp. Agric. Int. 25: 1-8.
- 563 **Ruiz, L., S. Flores, J. Cancino, J. Arredondo, J. Valle, F. Díaz-Fleischer, and Williams, T.**
564 **2008.** Lethal and sublethal effects of spinosad-based GF-120 bait on the tephritid
565 parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). Biol. Control.
566 44: 296-304.

- 567 **SAS Institute. 2011.** SAS System - SAS/STAT. Computer program, version 9.2. By SAS
568 Institute, Cary, NC.
- 569 **Schutze, I. X., C. A. Baronio, M. M. Baldin, A. E. Loeck, and M. Botton. 2018.** Toxicity
570 and residual effects of toxic baits with spinosyns on the South American fruit fly. *Pesqui.*
571 *Agropecu. Bras.* 53: 144-151.
- 572 **Sparks, T. C., G. D. Crouse, and G. Durst. 2001.** Natural products as insecticides: the
573 biology, biochemistry and quantitative structure–activity relationships of spinosyns and
574 spinosoids. *Pest Manag. Sci.* 57: 896-905.
- 575 **Stark, J. D., R. Vargas, and N. Miller. 2004.** Toxicity of spinosad in protein bait to three
576 economically important tephritid fruit fly species (Diptera: Tephritidae) and their
577 parasitoids (Hymenoptera: Braconidae). *J. Econ. Entomol.* 97: 911-915.
- 578 **Thomas, D. B., and R. L. Mangan. 2005.** Nontarget impact of spinosad GF-120 bait sprays
579 for control of the Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Texas citrus. *J. Econ.*
580 *Entomol.* 98: 1950-1956.
- 581 **Urbaneja, A., P. Chueca, H. Montón, H. Pascual-Ruiz, O. Dembilio, P. Vanaclocha, R.**
582 **Abad-Moyano, T. Pina, and P. Castañera. 2009.** Chemical alternatives to malathion
583 for controlling *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae), and their side effects on natural
584 enemies in Spanish citrus orchards. *J. Econ. Entomol.* 102: 144-151.
- 585 **Vargas, R. I., N. W. Miller, and R. J. Prokopy. 2002.** Attraction and feeding responses of
586 Mediterranean fruit fly and a natural enemy to protein baits laced with two novel toxins,
587 phloxine B and spinosad. *Entomol. Exp. Appl.* 102: 273-282.
- 588 **Vayssieres, J-F., A. Sinzogan, S. Korie, I. Ouagoussounon, and A. Thomas-Odjo. 2009.**
589 Effectiveness of Spinosad bait sprays (GF-120) in controlling mango-infesting fruit flies
590 (Diptera: Tephritidae) in Benin. *J. Econ. Entomol.* 102: 515-521.

- 591 **Williams, T., J. Valle, and E. Viñuela. 2003.** Is the naturally derived insecticide Spinosad®
592 compatible with insect natural enemies? *Biocontrol Sci. Technol.* 13: 459-475.
- 593 **Zucchi, R. A. 2000.** Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento
594 básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, pp. 41-48.
- 595 **Zucchi, R. A., and R. C. B. Moraes. 2008.** Fruit flies in Brazil—*Anastrepha* species their host
596 plants and parasitoids. Disponível em: <[http://www. lea.esalq.usp.br/anastrepha/](http://www.lea.esalq.usp.br/anastrepha/)>.
- 597 **Zucoloto, E. S. 2000.** Alimentação e nutrição de moscas-das-frutas. In: Malavasi, A., and R.
598 A. Zucchi (Ed.). Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento
599 básico e aplicado. Ribeirão Preto, SP: Holos, pp. 49-54.

Tabela 1. Atrativos alimentares utilizados no Brasil para formulações de iscas tóxicas visando o controle de moscas-das-frutas.

Atrativo alimentar	Descrição	Concentração testada (%)^a	Origem
Anamed™	Contém extratos vegetais de frutas e fagoestimulantes	SPLAT™40% + atrativo alimentar 24,2%; sem diluição	Isca Tecnologias Ltda., Ijuí, RS, Brasil
Biofruit	Proteína hidrolisada de milho	3	BioControle Métodos de Controle de Pragas Ltda., Indaiatuba, São Paulo, Brasil
CeraTrap™	Proteína hidrolisada enzimática de origem animal	1,5	BioIbérica S.A., Barcelona, Espanha
Flyral™	Proteína hidrolisada enzimática de origem animal	1,25	BioIbérica S.A., Barcelona, Espanha
Isca Samaritá™	Proteína hidrolisada de milho	3	Samaritá Indústria e Comércio Ltda., Artur Nogueira, São Paulo, Brasil
Isca Samaritá Tradicional™	Proteína vegetal, açúcares redutores e conservantes	3	Samaritá Indústria e Comércio Ltda., Artur Nogueira, São Paulo, Brasil
Melaço de cana-de-açúcar	Subproduto que contém açúcares redutores e sacarose não cristalizada	7	Proveniente do processo de fabricação de açúcar pelas indústrias canavieiras

^a Concentração (mL) de atrativo alimentar utilizado para a formulação das iscas tóxicas.

Tabela 2. Número médio de insetos vivos ($N \pm SE$) e mortalidade corrigida (M%) de *D. areolatus* quando submetidos à ingestão de iscas tóxicas contendo inseticidas organofosforados e diferentes atrativos alimentares.

Tratamentos	24 h		48 h		72 h		96 h		IOBC/WPRS Classe ³
	$N \pm SE^1$	M% ²	$N \pm SE$	M%	$N \pm SE$	M%	$N \pm SE$	M%	
Anamed + malationa 2,0 g i.a. L ⁻¹	13,6 ± 0,47Aa*	17,6	8,0 ± 0,80Bb*	49,4	7,5 ± 0,77Bb*	51,9	7,5 ± 0,77Bb*	51,0	3
Anamed + fosmete 1,0 g i.a. Kg ⁻¹	13,8 ± 0,41Aa*	16,7	9,3 ± 0,66Bb*	41,1	9,3 ± 0,66Bb*	40,4	9,3 ± 0,66Bb*	38,4	2
Anamed	16,5 ± 0,52Aa ^{ns}	14,1	15,8 ± 0,44Aa*	15,0	15,6 ± 0,54Aa*	15,2	15,1 ± 0,60Aa*	17,5	1
Biofruit 3% + malationa 2,0 g i.a. L ⁻¹	9,1 ± 0,80Ba*	44,2	3,7 ± 0,65Cb*	75,8	3,6 ± 0,61Cb*	77,2	3,4 ± 0,60Cb*	78,5	4
Biofruit 3% + fosmete 1,0 g i.a. Kg ⁻¹	8,9 ± 0,62Ba*	45,4	8,1 ± 0,67Ba*	47,1	8,0 ± 0,63Ba*	49,4	7,8 ± 0,53Ba*	50,6	2
Biofruit 3%	16,3 ± 0,55Aa ^{ns}	15,1	15,3 ± 0,66Aa*	17,7	15,8 ± 0,78Aa*	14,1	15,8 ± 0,78Aa*	13,7	1
CeraTrap 1,5% + malationa 2,0 g i.a. L ⁻¹	1,8 ± 0,62Ca*	89,8	1,8 ± 0,62Ca*	88,9	1,8 ± 0,62Ca*	88,9	1,6 ± 0,49Ca*	90,1	4
CeraTrap 1,5% + fosmete 1,0 g i.a. Kg ⁻¹	7,0 ± 1,00Ba*	60,2	6,8 ± 1,04Ba*	58,0	6,6 ± 1,03Ba*	59,3	6,6 ± 1,03Ba*	59,3	3
CeraTrap 1,5%	17,6 ± 0,45Aa ^{ns}	8,3	16,2 ± 0,86Aa ^{ns}	12,9	16,2 ± 0,86Aa ^{ns}	12,0	16,2 ± 0,86Aa ^{ns}	11,5	1
Flyral 1,25% + malationa 2,0 g i.a. L ⁻¹	2,2 ± 1,0Ca*	87,0	1,8 ± 1,05Ca*	88,6	1,6 ± 0,93Ca*	89,4	1,6 ± 0,93Ba*	89,4	4
Flyral 1,25% + fosmete 1,0 g i.a. Kg ⁻¹	9,6 ± 1,10Ba*	43,2	8,8 ± 1,08Ba*	44,3	8,8 ± 1,08Ba*	41,7	8,6 ± 0,94Ba*	43,0	2
Flyral 1,25%	16,9 ± 0,84Aa ^{ns}	12,0	15,8 ± 1,05Aa*	15,0	15,1 ± 0,87Aa*	18,0	15,1 ± 0,87Aa*	17,5	1
Isca Samaritá 3% + malationa 2,0 g i.a. L ⁻¹	1,1 ± 0,23Ca*	93,0	0,9 ± 0,23Ca*	93,8	0,9 ± 0,23Ca*	93,7	0,9 ± 0,23Ca*	93,7	4
Isca Samaritá 3%+ fosmete 1,0 g i.a. Kg ⁻¹	5,4 ± 0,85Ba*	65,8	4,5 ± 0,76Ba*	69,2	4,2 ± 0,85Ba*	70,8	4,0 ± 0,93Ba*	72,0	3
Isca Samaritá 3%	15,8 ± 0,77Aa*	17,7	14,6 ± 0,81Aa*	21,5	14,4 ± 0,77Aa*	21,7	14,3 ± 0,80Aa*	21,9	1
Isca Samaritá Tradicional 3% + malationa 2,0 g i.a. L ⁻¹	6,7 ± 0,73Ba*	60,8	2,8 ± 0,59Bb*	82,0	2,8 ± 0,59Bb*	81,9	2,8 ± 0,59Bb*	81,9	4
Isca Samaritá Tradicional 3% + fosmete 1,0 g i.a. Kg ⁻¹	15,9 ± 0,54Aa*	7,0	15,0 ± 0,44Aa*	3,8	15,0 ± 0,44Aa*	3,2	14,9 ± 0,50Aa*	3,9	1
Isca Samaritá Tradicional 3%	17,1 ± 0,67Aa ^{ns}	10,9	15,6 ± 0,87Aa*	16,1	15,5 ± 0,81Aa*	15,8	15,5 ± 0,81Aa*	15,3	1
Melaço de cana-de-açúcar 7% + malationa 2,0 g i.a. L ⁻¹	1,9 ± 0,54Ca*	87,7	1,5 ± 0,58Ca*	89,5	1,4 ± 1,4Ca*	90,2	1,1 ± 0,60Ca*	92,2	4
Melaço de cana-de-açúcar 7% + fosmete 1,0 g i.a. Kg ⁻¹	6,8 ± 1,37Ba*	54,0	5,4 ± 1,40Ba*	62,2	5,4 ± 1,4Ba*	62,2	5,4 ± 1,40Ba*	61,7	3
Melaço de cana-de-açúcar 7%	14,8 ± 0,57Aa*	22,3	14,3 ± 0,59Aa*	23,1	14,3 ± 0,59Aa*	22,3	14,1 ± 0,56Aa*	22,9	1
Mel 80% (controle negativo)	19,2 ± 0,20 a ^{ns}	-	18,6 ± 0,33a ^{ns}	-	18,4 ± 0,30a ^{ns}	-	18,3 ± 0,33a ^{ns}	-	-

¹Média de insetos vivos seguidos de letras maiúsculas iguais na coluna não diferem significativamente entre si quando comparado à formulação de isca tóxica com o respectivo atrativo alimentar e, letras minúsculas na linha, não diferem significativamente entre si ao longo do tempo pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

²Mortalidade corrigida da isca tóxica com o respectivo atrativo alimentar usando a fórmula de Henderson e Tilton (1955).

^{ns}Não significativo quando comparado ao controle negativo na mesma coluna.

*Significativo comparado ao controle negativo na mesma coluna.

³IOBC/WPRS classe: Classe 1 = inócuo ($M < 25\%$), Classe 2 = ligeiramente prejudicial ($25\% \leq M \leq 50\%$), Classe 3 = moderadamente nocivo ($51\% \leq M \leq 75\%$) e Classe 4 = nocivo ($M > 75\%$) 96 horas após a ingestão.

Tabela 3. Número médio de insetos vivos ($N \pm SE$) e mortalidade corrigida (M%) de *D. areolatus* quando submetidos à ingestão de iscas tóxicas contendo inseticidas a base de espinosinas e diferentes atrativos alimentares.

Tratamentos	24 h		48 h		72 h		96 h		IOBC/WPRS Classe ³
	$N \pm SE^1$	M% ²	$N \pm SE$	M%	$N \pm SE$	M%	$N \pm SE$	M%	
Anamed + espinosade 0,096g i.a. L ⁻¹	13,6 ± 0,77Aa*	18,1	12,2 ± 0,96Aa*	22,3	12,2 ± 0,96Ba*	21,8	11,7 ± 0,89Ba*	23,0	1
Anamed + espinetoram 0,075 g i.a. kg ⁻¹	14,7 ± 0,55Aa*	11,4	13,5 ± 0,61Aa*	14,6	13,2 ± 0,57ABa*	15,4	13,2 ± 0,57ABa*	13,2	1
Anamed	16,6 ± 0,52Aa ^{ns}	10,3	15,8 ± 0,48Aa*	12,2	15,6 ± 0,58Aa ^{ns}	8,2	15,2 ± 0,55Aa ^{ns}	9,5	1
Biofruit 3% + espinosade 0,096 g i.a. L ⁻¹	14,6 ± 0,73Aa*	11,0	12,8 ± 0,80Aab*	17,4	12,2 ± 0,62ABb*	18,7	12,0 ± 0,66ABb*	20,0	1
Biofruit 3% + espinetoram 0,075 g i.a. kg ⁻¹	13,3 ± 0,89Aa*	18,9	11,3 ± 1,09Aa*	27,1	11,0 ± 1,09Ba*	26,7	10,6 ± 1,06Ba*	29,3	2
Biofruit 3%	14,4 ± 0,58Aa*	11,3	14,4 ± 0,71Aa*	13,9	14,4 ± 0,81Aa*	11,8	14,4 ± 0,81Aa ^{ns}	10,7	1
CeraTrap 1,5% + espinosade 0,096 g i.a. L ⁻¹	10,8 ± 0,53Ba*	39,0	9,4 ± 0,6Ba*	42,7	9,4 ± 0,60Ba*	42,3	8,6 ± 0,66Ba*	47,2	2
CeraTrap 1,5% + espinetoram 0,075 g i.a. kg ⁻¹	6,7 ± 1,00Ca*	62,1	6,0 ± 0,84Ca*	63,4	5,9 ± 0,82Ca*	63,8	5,8 ± 0,86Ca*	64,4	3
CeraTrap 1,5%	17,7 ± 0,42Aa ^{ns}	4,3	16,4 ± 0,83Aa ^{ns}	8,9	16,3 ± 0,81Aa ^{ns}	4,1	16,3 ± 0,81Aa ^{ns}	3,0	1
Flyral 1,25% + espinosade 0,096 g i.a. L ⁻¹	15,0 ± 0,80Aa*	12,3	14,2 ± 0,86ABa*	11,2	14,0 ± 0,89ABa*	7,9	14,0 ± 0,89ABa ^{ns}	7,9	1
Flyral 1,25% + espinetoram 0,075 g i.a. kg ⁻¹	12,9 ± 1,40Ba*	24,6	11,2 ± 1,28Ba*	30,0	11,2 ± 1,28Ba*	26,3	11,2 ± 1,28Ba*	26,3	2
Flyral 1,25%	17,1 ± 0,84Aa ^{ns}	7,6	16,0 ± 1,03Aab ^{ns}	11,1	15,2 ± 0,86Ab ^{ns}	10,6	15,2 ± 0,86Ab ^{ns}	9,5	1
Isca Samaritá 3% + espinosade 0,096 g i.a. L ⁻¹	10,3 ± 0,36Ba*	35,6	8,7 ± 0,42Bab*	42,0	8,4 ± 0,42Bb*	43,2	8,3 ± 0,42B*	43,1	2
Isca Samaritá 3%+ espinetoram 0,075 g i.a. kg ⁻¹	8,8 ± 0,69Ba*	45,0	7,5 ± 0,65Ba*	50,0	7,4 ± 0,66Ba*	50,0	7,3 ± 0,68Ba*	50,0	2
Isca Samaritá 3%	16,0 ± 0,64Aa ^{ns}	13,5	15,0 ± 0,74Aa*	16,7	14,8 ± 0,71Aa ^{ns}	13,0	14,6 ± 0,73Aa ^{ns}	13,1	1
Isca Samaritá Tradicional 3% + espinosade 0,096 g i.a. L ⁻¹	14,3 ± 0,80Ba*	16,9	11,5 ± 1,07Bb*	27,7	11,4 ± 1,04Bb*	27,9	11,4 ± 1,04Bb*	27,8	2
Isca Samaritá Tradicional 3% + espinetoram 0,075 g i.a. kg ⁻¹	13,3 ± 0,74Ba*	22,7	11,9 ± 0,84Bab*	25,2	11,7 ± 0,70Bb*	25,9	11,4 ± 0,62Bb*	27,8	2
Isca Samaritá Tradicional 3%	17,2 ± 0,64Aa ^{ns}	7,0	15,9 ± 0,76Aa*	11,7	15,8 ± 0,71Aa ^{ns}	7,1	15,8 ± 0,71Aa ^{ns}	5,9	1
Melaço de cana-de-açúcar 7% + espinosade 0,096 g i.a. L ⁻¹	7,8 ± 0,62 Ca*	48,0	7,6 ± 0,93Ba*	47,9	7,0 ± 0,95Ba*	52,0	6,8 ± 0,85Ba*	52,8	3
Melaço de cana-de-açúcar 7% + espinetoram 0,075 g i.a. kg ⁻¹	9,8 ± 0,81Ba*	34,7	4,0 ± 0,57Cb*	72,6	3,7 ± 0,59Cb*	74,7	3,6 ± 0,61Cb*	75,0	3
Melaço de cana-de-açúcar 7%	15,0 ± 0,61Aa*	18,9	14,6 ± 0,61Aa*	18,9	14,6 ± 0,61Aa ^{ns}	14,1	14,4 ± 0,60Aa ^{ns}	14,3	1
Mel 80% (controle negativo)	18,5 ± 0,40a ^{ns}	-	18,0 ± 0,47a ^{ns}	-	17,0 ± 0,55a ^{ns}	-	16,8 ± 0,51a ^{ns}	-	-

¹Média de insetos vivos seguidos de letras maiúsculas iguais na coluna não diferem significativamente entre si quando comparado à formulação de isca tóxica com o respectivo atrativo alimentar e, letras minúsculas na linha, não diferem significativamente entre si ao longo do tempo pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

²Mortalidade corrigida da isca tóxica com o respectivo atrativo alimentar e deste com o controle negativo (mel 80%) usando a fórmula de Henderson e Tilton (1955).

^{ns}Não significativo quando comparado ao controle negativo na mesma coluna.

*Significativo comparado ao controle negativo na mesma coluna.

³IOBC/WPRS classe: Classe 1 = inócuo ($M < 25\%$), Classe 2 = ligeiramente prejudicial ($25\% \leq M \leq 50\%$), Classe 3 = moderadamente nocivo ($51\% \leq M \leq 75\%$) e Classe 4 = nocivo ($M > 75\%$) 96 horas após a ingestão.

Tabela 4. Número médio de insetos vivos ($N \pm SE$) e mortalidade corrigida (M %) de *D. areolatus* quando submetidos ao tratamento com iscas tóxicas de pronto uso.

Tratamentos	24 h		48 h		72 h		96 h		IOBC/WPRS Classe ³
	$N \pm SE$ ¹	M% ²	$N \pm SE$	M%	$N \pm SE$	M%	$N \pm SE$	M%	
Success 0,02CB (espinosade 0,133 g i.a. L ⁻¹)	16,8 ± 0,48Aa ^{ns}	0,0	16,1 ± 0,54Aa ^{ns}	2,4	15,9 ± 0,52Aa ^{ns}	3,05	15,8 ± 0,55Aa ^{ns}	3,7	1
Gelsura (alfa-cipermetrina 2,0 g i.a. L ⁻¹)	2,8 ± 0,41Ba*	83,3	2,2 ± 0,38Ba*	86,7	2,0 ± 0,39Ba*	87,8	1,8 ± 0,38Ba*	89,0	4
Gelsura (alfa-cipermetrina 4,0 g i.a. L ⁻¹)	2,3 ± 0,42Ba*	86,3	1,8 ± 0,41Bab*	89,1	1,6 ± 0,37Bab*	90,2	1,4 ± 0,30Bb*	91,5	4
Mel 80% (controle negativo)	16,8 ± 0,29A ^{ns}	-	16,5 ± 0,37A ^{ns}	-	16,4 ± 0,42A ^{ns}	-	16,4 ± 0,42A ^{ns}	-	-

¹Média de insetos vivos seguidos de letras maiúsculas iguais na coluna não diferem significativamente entre si quando comparado à formulação de isca tóxica com o respectivo atrativo alimentar e, letras minúsculas na linha, não diferem significativamente entre si ao longo do tempo pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

² Mortalidade corrigida com o controle negativo usando a fórmula de Henderson e Tilton (1955).

^{ns} Não significativo quando comparado ao controle negativo na mesma coluna.

*Significativo comparado ao controle negativo na mesma coluna.

³IOBC/WPRS classe: Classe 1 = inócuo ($M < 25\%$), Classe 2 = ligeiramente prejudicial ($25\% \leq M \leq 50\%$), Classe 3 = moderadamente nocivo ($51\% \leq M \leq 75\%$) e Classe 4 = nocivo ($M > 75\%$) 96 horas após a ingestão.

Tabela 5. Efeito subletal de atrativos alimentares e iscas tóxicas sobre adultos de *D. areolatus*.

Tratamentos	% Parasitismo ¹	RP	IOBC/WPRS classe	Insetos emergidos ¹	RE	IOBC/WPRS classe
Anamed + espinosade 0,096g i.a. L ⁻¹	41,2 ± 5,71 ^{ns}	-	1	16,1 ± 2,26 ^{ns}	-	1
Anamed + espinetoram 0,075 g i.a. kg ⁻¹	44,5 ± 5,45 ^{ns}	-	1	20,8 ± 2,68 ^{ns}	-	1
Anamed + fosmete 1,0 g i.a. Kg ⁻¹	36,4 ± 4,69 ^{ns}	9,1	1	14,9 ± 1,80 ^{ns}	10,2	1
Anamed	39,0 ± 6,73 ^{ns}	2,7	1	14,8 ± 2,34 ^{ns}	10,2	1
Biofruit 3% + espinosade 0,096g i.a. L ⁻¹	40,9 ± 3,94 ^{ns}	-	1	22,9 ± 2,15*	-	1
Biofruit 3% + espinetoram 0,075 g i.a. kg ⁻¹	42,5 ± 6,19 ^{ns}	-	1	25,4 ± 3,67*	-	1
Biofruit 3%+ fosmete 1,0 g i.a. Kg ⁻¹	47,8 ± 7,20 ^{ns}	-	1	27,8 ± 4,17*	-	1
Biofruit 3%	44,5 ± 3,54 ^{ns}	-	1	25,7 ± 2,25*	-	1
CeraTrap 1,5% + espinosade 0,096g i.a. L ⁻¹	38,6 ± 3,48 ^{ns}	3,7	1	17,5 ± 1,50 ^{ns}	-	1
CeraTrap 1,5%	42,8 ± 3,26 ^{ns}	-	1	20,5 ± 1,20 ^{ns}	-	1
Flyral 1,25% +espinosade 0,096g i.a. L ⁻¹	42,5 ± 3,33 ^{ns}	-	1	20,7 ± 2,26 ^{ns}	-	1
Flyral 1,25% + espinetoram 0,075 g i.a. kg ⁻¹	37,8 ± 5,80 ^{ns}	5,7	1	18,2 ± 1,63 ^{ns}	-	1
Flyral 1,25% + fosmete 1,0 g i.a. Kg ⁻¹	39,2 ± 2,12 ^{ns}	2,2	1	23,8 ± 1,70*	-	1
Flyral 1,25%	38,2 ± 2,99 ^{ns}	4,7	1	18,2 ± 1,26 ^{ns}	-	1
Isca Samaritá 3% + espinosade 0,096g i.a. L ⁻¹	37,6 ± 6,09 ^{ns}	5,7	1	10,5 ± 2,26*	36,6	2
Isca Samaritá 3% + espinetoram 0,075 g i.a. kg ⁻¹	38,4 ± 6,29 ^{ns}	3,6	1	14,2 ± 2,00 ^{ns}	14,4	1
Isca Samaritá 3%	41,3 ± 2,03 ^{ns}	-	1	16,0 ± 1,11 ^{ns}	3,6	1
Isca Samaritá Tradicional 3% + espinosade 0,096g i.a. L ⁻¹	39,3 ± 5,75 ^{ns}	2,8	1	14,5 ± 2,29 ^{ns}	12,6	1
Isca Samaritá Tradicional 3% + espinetoram 0,075 g i.a. kg ⁻¹	36,0 ± 3,06 ^{ns}	10,2	1	12,3 ± 1,71*	25,9	1
Isca Samaritá Tradicional 3% + fosmete 1,0 g i.a. Kg ⁻¹	37,3 ± 4,71 ^{ns}	6,9	1	10,2 ± 2,32*	38,5	2
Isca Samaritá Tradicional 3%	39,9 ± 1,86 ^{ns}	0,5	1	18,5 ± 1,68 ^{ns}	-	1
Success 0,02CB (espinosade 0,133 g i.a. L ⁻¹)	28,9 ± 0,49*	27,9	1	14,8 ± 2,21 ^{ns}	10,8	1
Mel 80% (controle negativo)	40,1 ± 2,92 ^{ns}	-	-	16,6 ± 1,29 ^{ns}	-	-

¹Número médio de insetos vivos (N ± SE).

* Significativamente diferentes em relação ao controle negativo e entre si de acordo com o teste de Tukey ($P < 0,05$).

ns= não significativo em relação ao controle negativo e entre si de acordo com o teste de Tukey ($P < 0,05$).

RP = Redução do parasitismo e RE = Redução da emergência em relação ao controle negativo.

OBC/WPRS classe: 1) inócuo (RP ou RE < 30%); 2) ligeiramente prejudicial ($30 \leq RP$ ou $RE \leq 79\%$); 3) moderadamente nocivo ($80 \leq RP$ ou $RE \leq 99\%$), e 4) nocivo (RP ou RE > 99%).

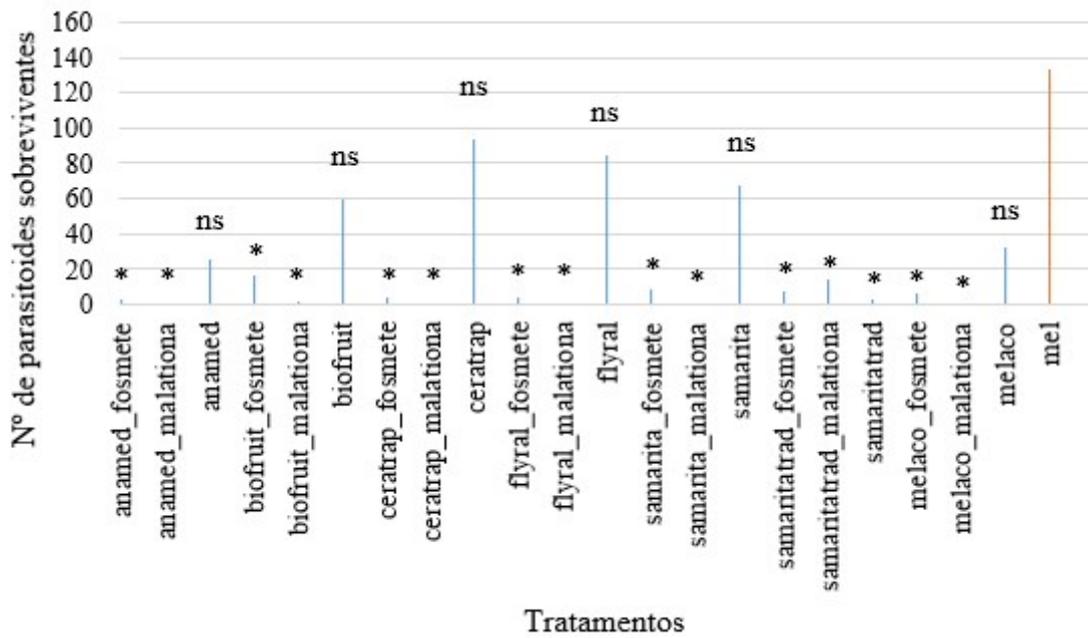


Figura 1. Número de parasitoides sobreviventes marcados com corante 24 horas após a exposição aos tratamentos com organofosforados quando comparados ao controle negativo.

* Diferença significativa em relação ao controle negativo (mel) de acordo com o teste de Dunn a 5% de probabilidade.

^{ns} Não significativo em relação ao controle negativo de acordo com o teste de Dunn a 5% de probabilidade.

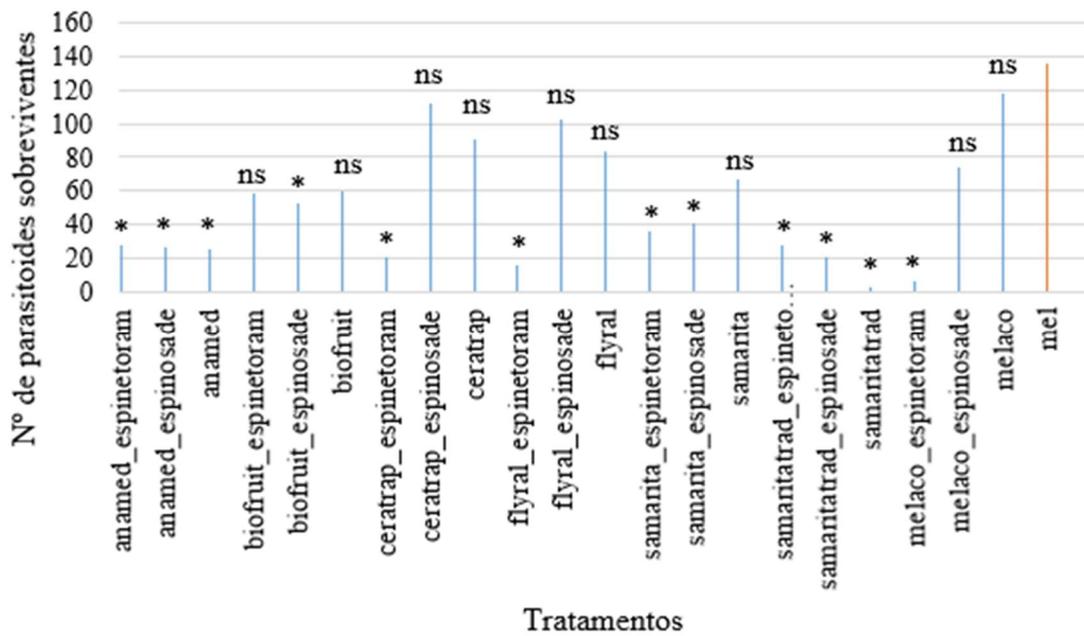


Figura 2. Número de parasitoides sobreviventes marcados com corante 24 horas após a exposição aos tratamentos com espinosinas quando comparados ao controle negativo.

* Diferença significativa em relação ao controle negativo (mel) de acordo com o teste de Dunn a 5% de probabilidade.

^{ns} Não significativo em relação ao controle negativo de acordo com o teste de Dunn a 5% de probabilidade.

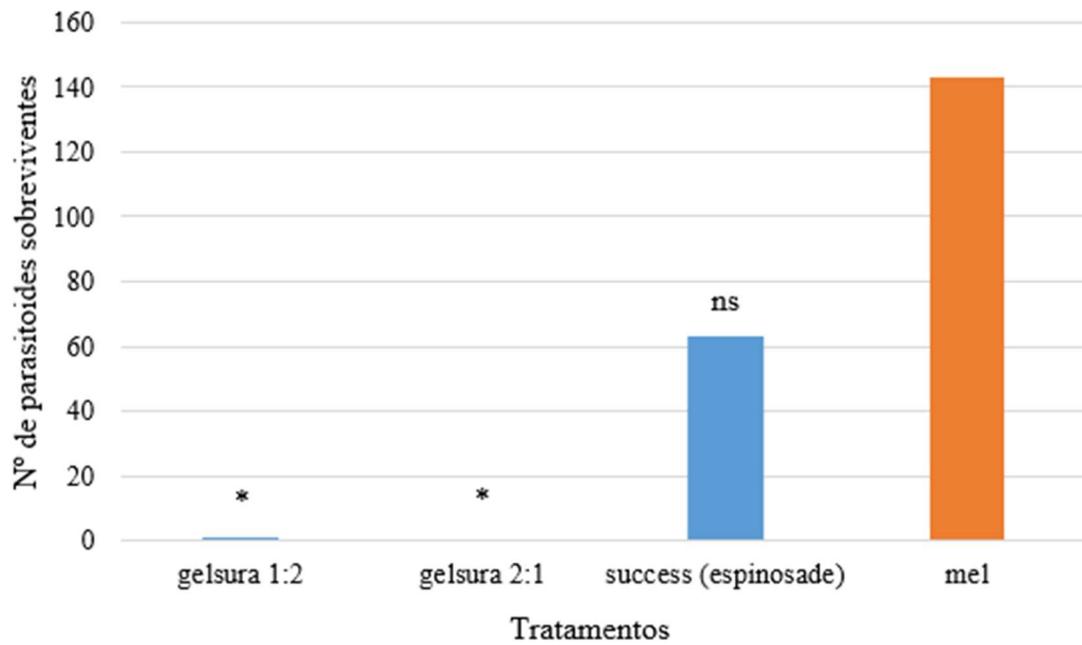


Figura 3. Número de parasitoides sobreviventes marcados com corante 24 horas após a exposição aos tratamentos com iscas tóxicas de pronto uso comparado ao controle negativo.

* Diferença significativa em relação ao controle negativo (mel) de acordo com o teste de Dunn a 5% de probabilidade.

^{ns} Não significativo em relação ao controle negativo de acordo com o teste de Dunn a 5% de probabilidade.

2 Artigo 2- Biocontrol Science and Technology

Versão em português

Desenvolvimento dos estágios imaturos de *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae) em função do tempo de exposição a diferentes condições térmicas

Bruna Piovesan; Javier Antonio Contreras Miranda; Jesus Hernando Gómez Llano; Sandro Daniel Nörnberg; Rafael da Silva Gonçalves; Ricardo Alexandre Valgas; Daniel Bernardi; Dori Edson Nava

1 **Desenvolvimento dos estágios imaturos de *Doryctobracon areolatus***
2 **(Hymenoptera: Braconidae) em função do tempo de exposição a diferentes**
3 **condições térmicas**

4
5 Bruna Piovesan¹; Javier Antonio Contreras Miranda¹; Jesus Hernando Gómez Llano¹;
6 Sandro Daniel Nörnberg²; Rafael da Silva Gonçalves²; Ricardo Alexandre Valgas³;
7 Daniel Bernardi¹; Dori Edson Nava³

8
9 ¹Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Programa de Pós-Graduação em
10 Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Campus Universitário, Caixa
11 Postal 354, CEP 96010-900, Pelotas, RS, Brasil; bruna-piovesan@hotmail.com;

12 ²Partamon, Pelotas, RS, Brasil.

13 ³ Embrapa Clima Temperado, BR-392, Km 78, 9º Distrito, Monte Bonito, Caixa Postal
14 403, CEP 96010-971 Pelotas, RS, Brasil.

15
16 **Resumo**

17 *Doryctobracon areolatus* é um parasitoide nativo com potencial para ser utilizado no
18 controle biológico aplicado de mosca-das-frutas. Apesar de estudos já terem elucidado
19 importantes informações sobre a biologia e exigências térmicas, ainda é desconhecido o
20 impacto de diferentes condições térmicas sobre o desenvolvimento da fase imatura desta
21 espécie. Assim, com o intuito de otimizar a produção massal de *D. areolatus* para o
22 controle biológico aplicado de *A. fraterculus*, o objetivo deste trabalho foi avaliar o
23 desenvolvimento dos estágios imaturos de *D. areolatus* em função do tempo de exposição
24 a diferentes condições térmicas. Larvas de segundo instar de *A. fraterculus* foram
25 expostas por cinco horas ao parasitismo de *D. areolatus* a 25°C. Após o parasitismo, as

26 larvas foram inoculadas em dieta artificial e mantidas a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ (temperatura padrão de
27 criação). Diariamente, a partir do dia de parasitismo (dia 0), alíquotas de 20 larvas
28 (parasitadas e mantidas a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$) foram acondicionadas nas temperaturas constantes de
29 10, 15, 20, 25, 30 e $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ em câmaras climatizadas. Este procedimento foi realizado até
30 a emergência do primeiro inseto no material mantido a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$. Foram avaliados a
31 duração, a porcentagem de emergência e a razão sexual de *D. areolatus*. A influência da
32 condição térmica sobre os parâmetros biológicos está relacionada com o estágio de
33 desenvolvimento imaturo de *D. areolatus*. A produção de parasitoides em temperaturas
34 extremas de 10 e 35°C é inviável, em qualquer estágio de desenvolvimento imaturo. Por
35 outro lado, as temperaturas de 15 e 30°C tem efeito sobre o desenvolvimento somente nos
36 estágios imaturos iniciais, sendo assim, podem ser utilizadas para retardar (cerca de 15
37 dias) e acelerar (cerca de 3 dias), respectivamente, o tempo de emergência de *D.*
38 *areolatus*, a partir do 11^o dia pós parasitismo, sem comprometer os principais parâmetros
39 biológicos da espécie. A temperatura de 20°C pode retardar a emergência de adultos (entre
40 10 a 20 dias) desde o dia do parasitismo, no entanto, menores prejuízos aos indivíduos
41 (quanto a porcentagem de emergência e razão sexual) ocorrem a partir do 7^o dia pós
42 parasitismo.

43

44 **Palavras-chave:** parasitoide, tolerância térmica, criação massal

45

46 **Abstract**

47 *Doryctobracon areolatus* is a native parasitoid with potential to be used in the applied
48 biological control of fruit flies. Although studies have already elucidated important
49 information about the biology and thermal requirements, the impact of different thermal
50 conditions on the development of the immature phase of this species is still unknown.

51 Thus, in order to optimize the mass production of *D. areolatus* for the applied biological
52 control of *A. fraterculus*, the objective of this work was to evaluate the development of
53 immature stages of *D. areolatus* as a function of exposure time to different thermal
54 conditions. Second instar larvae of *A. fraterculus* were exposed for five hours to
55 parasitism of *D. areolatus* at 25°C. After parasitism, the larvae were inoculated in an
56 artificial diet and kept at 25±2°C (standard rearing temperature). Daily, from the day of
57 parasitism (day 0), aliquots of 20 larvae (parasitized and kept at 25±2°C) were placed at
58 constant temperatures of 10, 15, 20, 25, 30 and 35±2°C in climatized chambers. This
59 procedure was carried out until the emergence of the first insect in the material kept at
60 25±2°C. Duration, emergence percentage and sex ratio of *D. areolatus* were evaluated.
61 The influence of the thermal condition on the biological parameters is related to the
62 immature developmental stage of *D. areolatus*. The production of parasitoids at extreme
63 temperatures of 10 and 35°C is unfeasible at any stage of immature development. On the
64 other hand, temperatures of 15 and 30°C have an effect on development only in the early
65 immature stages, so they can be used to delay (about 15 days) and accelerate (about 3
66 days), respectively, the emergence time of *D. areolatus*, from the 11th day after
67 parasitism, without compromising the main biological parameters of the species. The
68 temperature of 20°C can delay the emergence of adults (between 10 and 20 days) from
69 the day of parasitism, however, less damage to individuals (in terms of percentage of
70 emergence and sex ratio) occurs from the 7th day after parasitism.

71

72 **Keywords:** parasitoid, thermal tolerance, mass rearing

73

74

75

76 **Introdução**

77 *Doryctobracon areolatus* Szépligeti (Hymenoptera: Braconidae) é um
78 endoparasitoide nativo de moscas-das-frutas distribuído do Sul dos Estados Unidos à
79 Argentina (Ovruski et al., 2000). A ampla distribuição geográfica, associada a registros
80 de altas porcentagens de parasitismo natural de moscas-das-frutas, fazem desta espécie
81 uma das mais promissoras a ser usada em programas de controle biológico de *Anastrepha*
82 *fraterculus* (Montoya et al., 2017; Paranhos et al., 2019; López-Arriaga et al., 2022).

83 Neste sentido, a produção massal e a qualidade dos insetos produzidos em
84 laboratório são fundamentais para o sucesso do controle biológico inundativo no campo
85 (Parra & Jr. Coelho, 2022). Quando se pensa em larga escala, a maximização do processo
86 de produção é essencial. A temperatura pode ser uma importante ferramenta para a
87 otimização deste processo, uma vez que os insetos, por serem ectotérmicos, regulam sua
88 temperatura corporal pela temperatura ambiente (Le Lann et al., 2011). Determinada faixa
89 de temperatura pode ser favorável e acelerar o ciclo de desenvolvimento do inseto,
90 resultando em menor tempo de produção massal deste agente. De forma semelhante, o
91 contrário pode acontecer, onde faixas de temperatura podem retardar o ciclo de
92 desenvolvimento do inseto, neste caso, sendo interessante quando se deseja atrasar a
93 liberação no campo, seja por questões de manejo, logística ou transporte.

94 No entanto, apesar das vantagens, diversos aspectos da biologia dos insetos
95 também podem ser alterados em função da temperatura, incluindo a fertilidade, razão
96 sexual, longevidade e ciclo de vida (Bale et al., 2002; Poncio et al., 2016). Segundo
97 Colinet & Boivin (2011), cada espécie tem uma história evolutiva particular que molda
98 sua adaptação atual, o que torna necessária a realização de estudos neste sentido, a fim de
99 não comprometer a posterior eficácia do agente de controle biológico.

100 As condições térmicas ideais para o desenvolvimento de diversas espécies de
101 parasitoides de mosca-das-frutas já foram determinadas (Gonçalves et al., 2014; Poncio
102 et al., 2016; Gonçalves et al., 2018). *D. areolatus* apresentou melhor estabelecimento da
103 população entre 22 e 25°C, com valor de razão sexual mais elevado nesta última
104 temperatura (0,67) (Gonçalves et al., 2018). Para *Aganaspis pelleranoi* (Brèthes)
105 (Hymenoptera: Figitidae), temperaturas constantes entre 20 e 25°C são preferíveis para
106 criação de adultos, enquanto que no caso de imaturos, temperaturas entre 28 e 30° devem
107 ser evitadas para não comprometer o desenvolvimento (Gonçalves et al., 2014).

108 Apesar da importância do conhecimento das temperaturas constantes ideais para
109 o desenvolvimento dos parasitoides, poucos estudos têm focado nos impactos de
110 temperaturas variáveis em diferentes fases da vida destes insetos (Zhang et al., 2019).
111 Para algumas espécies é conhecido que pequenas mudanças em condições térmicas
112 durante a criação de laboratório podem otimizar o desempenho de campo dos insetos
113 liberados para fins de controle biológico (Thomson et al., 2001; Chidawanyika;
114 Terblanche, 2011; Castellanos et al., 2019). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o
115 desenvolvimento dos estágios imaturos de *D. areolatus* em função do tempo de exposição
116 a diferentes condições térmicas.

117

118 **Material e Métodos**

119 ***Criação de manutenção de A. fraterculus***

120 Insetos adultos foram mantidos em sala climatizada (temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$,
121 umidade relativa do ar: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 12 horas) e alimentados com dieta sólida à
122 base de açúcar, germe de trigo e levedura de cerveja na proporção de 3:1:1,
123 respectivamente (Nunes et al., 2013). Ovos foram inoculados, após 24 horas de aeração,
124 em dieta artificial de germe de trigo conforme técnica descrita por Nunes et al. (2013).

125 Após o desenvolvimento larval, os insetos foram retirados da dieta utilizando-se água
126 corrente e depositados em bandejas contendo farinha de milho como substrato para
127 pupação. Em seguida, as pupas foram transferidas para gaiolas de manutenção até a
128 emergência dos adultos.

129

130 ***Criação de manutenção de D. areolatus***

131 Adultos de *D. areolatus* foram alimentados com mel e mantidos em gaiolas
132 plásticas (40 cm x 27 cm x 23 cm). Para multiplicação, foram ofertadas diariamente larvas
133 de segundo instar de *A. fraterculus* em placa de acrílico (4 cm de diâmetro x 0,2 cm de
134 altura) coberta com tecido *voile*. Após 12h de parasitismo, as larvas foram acondicionadas
135 em dieta artificial de farinha de milho a fim de completar o terceiro instar (Gonçalves,
136 2016). Quando houve a formação das primeiras pupas, o material foi então transferido
137 para bandejas e posteriormente para gaiolas até a emergência dos adultos, conforme
138 descrito para a criação de *A. fraterculus*.

139

140 ***Bioensaio***

141 Larvas de segundo instar de *A. fraterculus*, obtidas da criação de manutenção,
142 foram expostas durante cinco horas ao parasitismo de *D. areolatus* em condições
143 controladas de temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) e umidade relativa do ar ($65 \pm 10\%$). Após o
144 parasitismo, as larvas foram mantidas nessa condição ambiental (temperatura padrão).
145 Diariamente, a partir do primeiro dia do parasitismo (dia 0), 20 larvas foram
146 contabilizadas e inoculadas em dieta artificial à base de farinha de milho (potes contendo
147 20 mL de dieta) e em seguida foram acondicionadas em diferentes temperaturas
148 constantes de 10, 15, 20, 25, 30 e $35 \pm 2^\circ\text{C}$ no interior de câmaras climatizadas. Ao longo
149 do desenvolvimento imaturo, diariamente novos indivíduos (larvas ou pupas) foram

150 distribuídos nas diferentes temperaturas até ocorrer a emergência do primeiro inseto
151 (mosca ou parasitoide) no material mantido na sala com temperatura padrão (17 dias após
152 a data do parasitismo) (Apêndice B).

153 Em cada tratamento (temperatura e tempo de desenvolvimento) foram avaliadas
154 larvas do hospedeiro parasitadas e larvas não parasitadas (controle). Os tratamentos foram
155 corrigidos em relação ao controle utilizando a equação de Henderson & Tilton (1955). O
156 experimento foi realizado em blocos ao acaso, com 3 repetições ao longo do tempo.

157 Diariamente as amostras acondicionadas nas diferentes condições térmicas foram
158 avaliadas, a fim de realizar a manutenção dos insetos e avaliar os parâmetros biológicos
159 para cada fase de desenvolvimento. Os parâmetros biológicos avaliados foram: número
160 de larvas que se transformaram em pupas e tempo para atingir este estágio, porcentagem
161 de emergência de adultos de *D. areolatus* e tempo de emergência, razão sexual (rs); e
162 número de parasitoides não emergidos dos pupários. A porcentagem de emergência foi
163 calculada através da equação $% E = NE \times 100 / ND$, onde NE: número de parasitoides
164 emergidos, ND: número total de descendentes (parasitoides emergidos e não emergidos). A
165 razão sexual foi determinada pela equação $rs = (\text{número de fêmeas}) / (\text{número de fêmeas}$
166 $+ \text{números de machos})$. O número de parasitoides não emergidos foi avaliado após o
167 término do ensaio, a fim de confirmar o parasitismo, mesmo não havendo emergência.
168 Para isso, os pupários de *A. fraterculus* foram dissecados e quando houve a presença de
169 adultos de *D. areolatus* no seu interior, estes foram contabilizados.

170

171 *Análise estatística*

172 Os dados foram inicialmente avaliados quanto à normalidade, através do teste de
173 Shapiro-Wilk. Aqueles que seguiram distribuição normal e atenderam os pressupostos da
174 análise da variância foram submetidos ao teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para a

175 análise dos dados que seguiram distribuição Poisson (tempo de desenvolvimento) foram
176 aplicados modelos lineares generalizados (GLM), utilizando o procedimento GENMOD
177 do software estatístico SAS (SAS Institute, 2011).

178

179 **Resultados**

180 O número médio de larvas de *A. fraterculus* sobreviventes que atingiram o estágio
181 de pupa após o parasitismo por *D. areolatus* foi influenciado pela temperatura,
182 independente do dia de início da exposição à condição abiótica ($p \leq 0,05$) (Tabela 1). Nos
183 primeiros dias após o parasitismo, quando o hospedeiro ainda se encontrava na fase de
184 larva, os extremos de temperatura (10 e 35 °C) tiveram efeito na viabilidade larval,
185 resultando na menor quantidade de larvas que atingiram o estágio de pupa ($<6,0$ e $<11,0$,
186 respectivamente), em comparação com a temperatura padrão (25°C). As temperaturas de
187 20 e 25 °C propiciaram a maior quantidade de pupas, não apresentando diferença
188 significativa entre os dias, exceto para o dia 1 (temperatura de 25°C) (Tabela 1).

189 Em relação ao tempo médio para as larvas atingirem o estágio de pupa, foi
190 verificada diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as temperaturas apenas nos dias 3 e 4,
191 com maior tempo para completar o desenvolvimento larval observado na temperatura de
192 10 °C (média de 9,8 dias para o dia 3 e 10,5 dias para o dia 4). O menor tempo de
193 desenvolvimento larval foi verificado nas temperaturas de 20 e 25°C (média de 4 dias).
194 Larvas com 4 dias após parasitismo, na temperatura padrão (25°C), quando expostas as
195 temperaturas de 15 e 30 °C levaram em média 5,5 a 4,7 dias, respectivamente, para atingir
196 o estágio de pupa. Não houve diferença significativa no tempo de desenvolvimento
197 quando comparado os dias dentro de cada temperatura ($p \geq 0,05$).

198 Em função deste trabalho também objetivar compreender o comportamento
199 biológico de *D. areolatus* não apenas quanto as condições abióticas de temperatura, mas

200 também sua relação quanto aos tempos de exposição, as variáveis porcentagem de
201 emergência e razão sexual foram apresentadas neste trabalho apenas através das médias
202 dos tratamentos, devido não ter sido encontrado modelos estatísticos que descrevessem a
203 relação entre estas variáveis (Tabela 2).

204 Para porcentagem de emergência foi identificado que assim como 25°C
205 (temperatura padrão), a temperatura de 20°C apresentou emergência de parasitoides em
206 praticamente todos os dias avaliados (dia 0 até dia 17 pós parasitismo), com maiores
207 porcentagens de indivíduos emergidos observados a partir do 7º dia (em média 68,5%)
208 (Tabela 2). Para 15 e 30°C, maiores emergências foram verificadas após o 11º dia do
209 parasitismo (38,9 e 45,5%, respectivamente). Larvas de *A. fraterculus* parasitadas e
210 expostas a 15 e 30°C em dias anteriores ao 11º dia, de modo geral não resultaram na
211 emergência de *D. areolatus*.

212 Melhores resultados de razão sexual para os insetos expostos na temperatura de
213 20°C foram observados a partir do 7º dia do parasitismo ($r_s=0,8$), apesar da presença de
214 fêmeas ter sido verificada nesta temperatura desde o dia do parasitismo (dia 0) ($r_s=0,3$)
215 (Tabela 2). Insetos expostos nas temperaturas de 15 e 30 °C apresentaram melhores
216 resultados quanto a razão sexual do 11º dia em diante ($r_s= 0,7$ e $0,4$, respectivamente).

217 As temperaturas de 10 e 35 °C não foram incluídas nas análises da avaliação da
218 emergência e razão sexual, pois não houve emergência de nenhum indivíduo em nenhum
219 dia avaliado, nem mesmo do hospedeiro (*A. fraterculus*). Não foi observada diferença na
220 emergência do hospedeiro e do parasitoide para todos os tratamentos avaliados.

221 Foi observada diferença estatística significativa para tempo de emergência de
222 machos e fêmeas de *D. areolatus* quando as temperaturas foram comparadas para cada
223 dia pós parasitismo ($p \leq 0,05$) (Figura 1). Por outro lado, quando comparado os intervalos
224 de dia para cada temperatura não foi observada diferença significativa ($p \geq 0,05$).

225 Em relação à emergência dos parasitoides machos, a única temperatura que
226 apresentou menores médias de tempo de emergência para todos os dias avaliados foi a
227 temperatura de 25°C (variação média de 19,3 a 21 dias) (Figura 1). Entretanto, insetos
228 alocados na temperatura de 30°C após 10 a 11 dias do parasitismo apresentaram o menor
229 tempo de desenvolvimento (18 dias). Por outro lado, aqueles expostos na temperatura de
230 20 °C já no dia do parasitismo (dia 0) até o 12º dia, levaram entre 10 a 20 dias para
231 emergirem, quando comparado a temperatura de 25°C (padrão). Insetos alocados em 15°C
232 após 11 a 12 dias do parasitismo apresentaram cerca de 15 dias de atraso na emergência
233 de machos em relação a temperatura de 25°C. A partir do 12º dia pós parasitismo não foi
234 verificada diferença significativa no tempo de emergência dos machos de *D. areolatus*
235 entre as temperaturas de 15, 20, 25 e 30°C (Figura 1).

236 Quanto à emergência das fêmeas, de modo geral, a temperatura de 25°C também
237 apresentou as menores médias de tempo de emergência para todos os dias avaliados
238 (variação média de 21,3 a 23 dias) (Figura 1). Insetos submetidos a temperatura de 30°C
239 a partir do 7º dia após o parasitismo, apresentaram as menores médias de tempo de
240 emergência (19,7 dias), sem diferir significativamente daqueles alocados na temperatura
241 de 25°C (22,3 dias) (Figura 1). Indivíduos expostos na temperatura de 20 °C no dia do
242 parasitismo (dia 0) até cerca de 14 dias, apresentaram comportamento de emergência
243 semelhante ao observado para machos nesta condição, demorando entre 10 a 20 dias para
244 emergirem, quando comparado a temperatura de 25°C (padrão). A partir deste intervalo,
245 o tempo necessário para emergência de fêmeas não diferiu entre as temperaturas (15, 20,
246 25 e 30°C). A exposição na temperatura de 15°C do dia 8 pós parasitismo até cerca de 14
247 dias retardou a emergência das fêmeas em cerca de 25 a 15 dias, respectivamente,
248 comparada a temperatura de 25°C.

249

250 **Discussão**

251 Os resultados deste estudo indicam que a fase inicial de desenvolvimento do
252 hospedeiro (larvas de *A. fraterculus* com até 4 dias) após parasitismo por *D. areolatus*,
253 de modo geral, é mais influenciada pela temperatura do que pelo tempo de
254 desenvolvimento o qual foi exposto a esta condição. O reduzido número médio de larvas
255 que se transformaram em pupas nas temperaturas extremas (10 e 35°C) e o maior tempo
256 para completar esta fase, demonstram a inviabilidade destas condições térmicas para
257 utilização na otimização da produção massal de *D. areolatus*. Por outro lado, temperaturas
258 de 15, 20, 25 e 30°C parecem não afetar o hospedeiro quanto a viabilidade de larvas,
259 independente do período de exposição. Baseado nesta informação e no tempo necessário
260 para as larvas atingirem o estágio de pupa na temperatura de 15°C (em média 5,5 dias)
261 pode-se dizer que a partir do 4º dia pós parasitismo, esta temperatura poderia ser utilizada
262 para retardar o ciclo do hospedeiro, uma vez que na temperatura padrão (25°C) o tempo
263 para completar o estágio de pupa é de aproximadamente 4,0 dias. Isto pode ser explicado
264 em função de que larvas mantidas na temperatura de 25°C até o 4º dia de vida estão
265 praticamente formadas (fim do 3º instar) e a temperatura de 15°C não representa uma
266 condição extrema, estando inclusive acima da temperatura base do hospedeiro *A.*
267 *fraterculus* (10,7 °C) (Salles, 2000). Entretanto, alguns estudos têm demonstrado que a
268 exposição a longo prazo do hospedeiro na fase imatura pode acarretar efeitos não
269 desejáveis sobre o parasitoide na fase adulta, incluindo mortalidade, redução da
270 porcentagem de emergência e razão sexual (Chen et al., 2008), efeitos observados no
271 presente trabalho quando o hospedeiro foi exposto nos primeiros 11 dias após o
272 parasitismo na temperatura de 15°C. Períodos prolongados em temperaturas baixas nas
273 fases iniciais podem ter comprometido tanto o desenvolvimento da fase imatura do
274 parasitoide quanto do hospedeiro. Parasitoides cenobiontes têm uma relação íntima com

275 seus hospedeiros a partir do momento da deposição do ovo pela fêmea até a emergência
276 do parasitoide adulto, e, portanto, o efeito da temperatura ambiente sobre o hospedeiro
277 consequentemente afeta a fisiologia do parasitoide (Colinet et al. 2007; Gonçalves et al.,
278 2014). Segundo Chown & Nicolson (2004), o estresse pelo frio causa várias disfunções
279 fisiológicas no inseto, podendo não ser imediatamente detectável, mas transferido para
280 outro estágio, influenciando negativamente o desenvolvimento, a fecundidade,
281 sobrevivência ou a combinação dos mesmos.

282 O aumento considerável na emergência e razão sexual de parasitoides a partir de
283 hospedeiros expostos após o 7º dia do parasitismo a 20°C e após o 11º dia a 15 e 30°C,
284 provavelmente está associado as exigências térmicas demandadas pelo hospedeiro e
285 parasitoide nestas condições. Além disso, pode estar relacionado a idade do parasitoide,
286 onde estágios iniciais (ovo e larva) podem ter sido mais susceptíveis que o estágio de
287 pupa. Para algumas espécies de parasitoides [*Trichogramma* spp. (Hymenoptera:
288 Trichogrammatidae), *Trissolcus basal* (Wollaston) e *Telenomus podissi* Ashmead
289 (Hymenoptera: Scelionidae)] existem evidências demonstrando que em relação a baixas
290 temperaturas, pupas são mais tolerantes ao frio do que ovos, larvas ou adultos (Jalali &
291 Singh, 1992; Nakama & Foerster, 2001).

292 O semelhante tempo de emergência de *D. areolatus* alocados nas temperaturas de
293 15, 20, 25 e 30°C a partir do 12º (machos) e 14º dias (fêmeas) após o parasitismo a 25°C
294 pode ter ocorrido em função de que até estes respectivos dias o parasitoide já estava
295 próximo de atingir a soma térmica necessária e se encontrava praticamente formado no
296 interior do pupario do hospedeiro. Segundo Gonçalves et al. (2018), a duração média do
297 período ovo-adulto na temperatura de 25°C é de cerca de 19 a 22 dias.

298 As informações relacionadas ao tempo para atingir a fase adulta (em dias e graus-
299 dia) de *D. areolatus* à 25°C, tanto de machos (19,3 dias; 330,1 GD) quanto de fêmeas

300 (21,3 dias; 361,2 GD) foram próximos aos obtidos em trabalhos anteriores, onde foi
301 observado 19,2 dias e 358,05 GD para machos e 21,8 dias e 399,97 GD para fêmeas,
302 confirmando o modelo de exigência térmica obtido para o parasitoide (Gonçalves et al.,
303 2018). Período semelhante para emergência dos adultos foi observado quando *D.*
304 *areolatus* foi criado em larvas do hospedeiro *Anastrepha suspensa* (Loew) (Diptera:
305 Tephritidae) (machos: 20,6 dias e fêmeas: 22,1 dias) (Eitam et al., 2003). Informações
306 sobre constantes térmicas para diversas espécies de parasitoides de moscas-das-frutas
307 (especialmente *A. fraterculus*) já foram descritas, dentre as quais para *Doryctobracon*
308 *brasiliensis* (Szépligeti) (Hymenoptera: Braconidae) (303,21 GD), *A. pelleranoi* (391,70
309 GD) e *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) (222,27
310 GD) (Gonçalves et al., 2014; Meirelles et al., 2015; Poncio et al., 2016).

311 O conhecimento das exigências térmicas é importante para o controle da produção
312 de inimigos naturais em laboratório (Parra, 1997). A partir destas informações é possível
313 manejar a escala de produção, principalmente quando se pensa na produção em larga
314 escala, para fins de liberação inundativa de parasitoides (Parra & Jr. Coelho, 2022). No
315 entanto, dentro deste objetivo, apenas as informações referentes a constante térmica e
316 tempo de emergência não são suficientes para identificar comportamentos específicos da
317 biologia do inseto, para fins de acelerar ou retardar o desenvolvimento do parasitoide, o
318 que evidencia a relevância do presente trabalho, ao avaliar parâmetros relacionados, por
319 exemplo, a emergência e razão sexual.

320 Condições extremas de temperatura, como foram os casos de 10 e 35°C,
321 prejudicam severamente o desenvolvimento do hospedeiro, muitas vezes chegando ao
322 ponto de não ocorrer emergência, fato observado no presente trabalho. No caso da
323 exposição a baixas temperaturas (entre 0 e 10 °C) é relatado que a maioria dos insetos
324 terrestres são imobilizados e entram em uma espécie de “coma frio” que só é reversível

325 se a duração da exposição não for prolongada (Lee & Denlinger, 1991). Moscas da
326 espécie *Sarcophaga crassipalpis* Macquart (Diptera: Sarcophagidae) não emergiram do
327 pupário após exposição a baixa temperatura (2°C) durante a fase de pupa por 10 a 40 dias
328 (Yocum et al., 1994). Segundo Kostál et al. (2006), quando a “dose de exposição ao frio”,
329 a qual corresponde a uma combinação de tempo de exposição e temperatura, excede um
330 determinado limiar, ocorrem lesões indiretas pelo frio, que se acumulam tornando-se
331 progressivamente irreversível e eventualmente letal. Temperaturas elevadas também
332 exercem efeitos que podem comprometer diversas funções vitais dos insetos, incluindo
333 efeitos sobre os sistemas reprodutivo, nervoso, endócrino e imunológico (Du et al., 2007;
334 Karl et al., 2011). O aumento da temperatura (34 °C) para *Eretmocerus hayati*
335 Zolnerowich & Rose (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitoide de *Bemisia tabaci*
336 (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) durante a fase imatura causou redução acentuada
337 de vários parâmetros biológicos (Zhang et al., 2019). Segundo Zhang et al. (2019), dois
338 fenômenos podem explicar esse comportamento, o primeiro é que temperaturas elevadas
339 resultam em taxas metabólicas mais altas, o que custa mais em termos de requisitos
340 energéticos, e o segundo é que temperaturas estressantes podem alterar o comportamento
341 de exploração do sistema do inseto, de modo que eles passam mais tempo preservando
342 seu metabolismo e menos tempo alimentando-se do hospedeiro, investindo pouco em
343 reprodução.

344 A partir dos resultados, pode-se concluir que a influência da condição térmica
345 sobre os parâmetros biológicos está relacionada com o estágio de desenvolvimento
346 imaturo de *D. areolatus*, com efeitos que variam de acordo com os dias de exposição após
347 parasitismo a 25°C. Assim, as temperaturas de 15 e 30°C podem ser utilizadas para
348 retardar (cerca de 15 dias) e acelerar (cerca de 3 dias), respectivamente, o tempo de
349 emergência de adultos de *D. areolatus*, a partir do 11^o dia pós parasitismo, sem

350 comprometer os principais parâmetros biológicos da espécie. A temperatura de 20°C pode
351 ser usada para retardar a emergência de adultos (cerca de 10 a 20 dias) desde o dia do
352 parasitismo, no entanto com menores prejuízos aos indivíduos (quanto a emergência e
353 razão sexual) a partir do 7º dia pós parasitismo (atraso de cerca de 15 dias). Estudos
354 avaliando os efeitos destes intervalos de tempo e temperatura sobre as gerações seguintes
355 de descendentes de *D. areolatus* são necessários.

356

357 **Agradecimentos**

358 À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES,
359 Código de Financiamento 001) pela concessão da bolsa de estudo.

360

361 **Referências**

- 362 Bale, J., Masters, G. J., Hodkinson, I. D., Awmack, C., Bezemer, T. M., Brown, V. K.,
363 Butterfield, J., Buse, A., Coulson, J. C., Farrar, J., Good, J. E. G., Harrington, R.,
364 Hartley, S., Jones, T. H., Lindroth, R. L., Press, M. C., Symrnioudis, I., Watt, A. D.,
365 & Whittaker, J. B. (2002). Herbivory in global climate change research: direct effects
366 of rising temperature on insect herbivores. *Global Change Biology*, 8 (1), 1-16.
- 367 Castellanos, N. L., Bueno, A. F., Haddi, K., Silveira, E. C., Rodrigues, H. S., Hirose, E.,
368 Smagghe, G., & Oliveira, E. E. (2019). The fitness and economic benefits of rearing
369 the parasitoid *Telenomus podisi* under fluctuating temperature regime. *Neotropical*
370 *Entomology*, 48 (6), 934-948.
- 371 Chen, W-L., Leopold, R.A., & Harris, M.O. (2008). Cold storage effects on maternal and
372 progeny quality of *Gonatocerus ashmeadi* Girault (Hymenoptera: Mymaridae).
373 *Biological Control*, 46 (2), 122-132.

- 374 Chidawanyika, F., & Terblanche, J. S. (2011). Costs and benefits of thermal acclimation
375 for codling moth, *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae): implications for pest
376 control and the sterile insect release programme. *Evolutionary Applications*, 4 (4),
377 534-544.
- 378 Chown, S.L., & Nicolson, S.W. (2004). *Insect Physiological Ecology: Mechanisms and*
379 *Patterns*. Oxford University Press, Oxford.
- 380 Colinet, H., G. Boivin, & Hance, T. H. (2007). Manipulation of parasitoid size using the
381 temperature-size rule: Fitness consequences. *Oecologia*, 152 (1), 425-433.
- 382 Colinet, H., & Boivin, G. (2011). Insect parasitoids cold storage: a comprehensive review
383 of factors of variability and consequences. *Biological Control*, 58 (2), 83-95.
- 384 Du, Y., Ma, C. S., Zhao, Q. H., Ma, G., & Yang, H. (2007). Effects of heat stress on
385 physiological and biochemical mechanisms of insects: a literature review. *Acta*
386 *Ecologica Sinica*, 27 (1), 1565-1572.
- 387 Eitam, A., Holler, T., Sivinski, J., & Aluja, M. (2003). Use of host fruit chemical cues for
388 laboratory rearing of *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae), a
389 parasitoid of *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist*, 86 (2),
390 211-216.
- 391 Gonçalves, R. S., Nava, D. E., Andreazza, F., Lisboa, H., Nunes, A. M., Grutzmacher, A.
392 D., Valgas. R. A., Maia, A. H. N., & Pazianotto, R. A. A. (2014). Effect of constant
393 temperatures on the biology, life table, and thermal requirements of *Aganaspis*
394 *pelleranoi* (Hymenoptera: Figitidae), a parasitoid of *Anastrepha fraterculus* (Diptera:
395 Tephritidae). *Environmental Entomology*, 43 (2), 491-500.
- 396 Gonçalves, R. S. (2016). *Bioecologia e competição interespecífica de parasitoides*
397 *(Hymenoptera: Braconidae) de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae)*. Tese

- 398 (Doutorado) - Programa de pós-graduação em Fitossanidade, Universidade Federal
399 de Pelotas, Pelotas.
- 400 Gonçalves, R. S., Nunes, A. M.; Poncio, S., Manica-Berto, R., Nornberg, S. D.,
401 Grutzmacher, A. D., & Nava, D. E. (2018). Bionomics, thermal requirements and life
402 table of the fruit fly parasitoid *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae)
403 under various thermal regimes. *Biological Control*, 127 (1) 101-108.
- 404 Henderson, C. F., & Tilton, E. W. (1955). Tests with acaricides against the brow wheat
405 mite. *Journal of Economic Entomology*, 48 (2), 157-161.
- 406 Jalali, S. K., & Singh, S. P. (1992). Differential response of four *Trichogramma* species
407 to low temperatures for short term storage. *BioControl*, 37 (1), 159-165.
- 408 Karl, I., Stoks, R., Block, M., Janowitzs, S. A., & Fischer, K. (2011). Temperature
409 extremes and butterfly fitness: conflicting evidence from life history and immune
410 function. *Global Change Biology*, 17 (1), 676-687.
- 411 Le Lann, C., Wardziak, T., Baaren, J. V., & Alphen, J. J. M. V. (2011). Thermal plasticity
412 of metabolic rates linked to life history traits and foraging behaviour in a parasitic
413 wasp. *Functional Ecology*, 25 (3), 641-651.
- 414 Lee, R. E., Denlinger, D. L. (1991). *Insects at low temperature*. Springer, Boston, MA,
415 513p.
- 416 López-Arriaga, F., Pérez-Cruz, C., López, P., Flores, S., Cancino, J., Salvador-Figueroa,
417 M., & Montoya, P. (2021). Host selection for the rearing of *Doryctobracon areolatus*
418 (Hymenoptera: Braconidae), a fruit fly parasitoid. *Phytoparasitica*, 50 (6), 1-9.
- 419 Meirelles, R. N., Redaelli, L. R., & Ourique, C. B. (2015). Thermal requirements and
420 annual number of generations of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera:
421 Braconidae) reared in the South American fruit fly and the Mediterranean fruit fly
422 (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist*, 98 (4), 1223-1226.

- 423 Montoya, P., López, P., Cruz, J., López, F., Cadena, C., Cancino, J., & Liedo, P. (2017).
424 Effect of *Diachasmimorpha longicaudata* releases on the native parasitoid guild
425 attacking *Anastrepha* spp. larvae in disturbed zones of Chiapas, Mexico. *BioControl*,
426 62 (5), 581-593.
- 427 Nakama, P. A., & Foerster, L. A. (2001). Efeito da alternância de temperaturas no
428 desenvolvimento e emergência de *Trissolcus basalis* (Wollaston) e *Telenomus podisi*
429 Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). *Neotropical Entomology*, 30 (2), 269- 275.
- 430 Nunes, A. M., Costa, K. Z., Faggione, K. M., Costa, M. L. Z., Gonçalves, R. S., Walder,
431 J. M. M., Garcia, M. S. & Nava, D. E. (2013). Dietas artificiais para a criação de
432 larvas e adultos da mosca-das-frutas sul-americana. *Pesquisa Agropecuária*
433 *Brasileira*, 48 (10), 1309-1314.
- 434 Ovruski, S., Aluja, M., Sivinski, J., & Wharton, R. (2000). Hymenopteran parasitoids on
435 fruit-infesting Tephritidae (Diptera) in Latin America and the southern United States:
436 diversity, distribution, taxonomic status and their use in fruit fly biological control.
437 *Integrated Pest Management Reviews*, 5 (1), 81-107.
- 438 Paranhos, B. J., Nava, D. E., & Malavasi, A. (2019). Biological control of fruit flies in
439 Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 54 (26037), 1-14.
- 440 Parra, J. R. P. (1997). *Técnicas de criação de Anagasta kuehniella, hospedeiro alternativo*
441 *para produção de Trichogramma*. In Parra, J. R. P. & Zucchi, R. A. (eds.),
442 *Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado*, FEALQ, Piracicaba, p.324.
- 443 Parra, J. R. P., & Coelho Junior, A. (2022). Insect rearing techniques for biological control
444 programs, a component of sustainable agriculture in Brazil. *Insects*, 13 (1), 1-18.
- 445 Poncio, S., Nunes, A. M., Gonçalves, R. S., Lisboa, H., Manica-Berto, R., Garcia, M. S.,
446 & Nava, D. E. (2016). Biology of *Doryctobracon brasiliensis* at different

- 447 temperatures: development of life table and determining thermal requirements.
448 *Journal of Applied Entomology*, 140 (10), 775-785.
- 449 Salles, L. A. B. (2000). *Bioecologia e ciclo de vida de Anastrepha fraterculus*, pp. 81-86.
450 *In* Malavasi, A., & Zucchi, R. A. *Moscas-das-frutas de importância econômica no*
451 *Brasil: conhecimento básico e aplicado*, Holos Editora, Ribeirão Preto.
- 452 SAS Institute. (2011). *SAS System - SAS/STAT*. Computer program, version 9.2. By SAS
453 Institute, Cary, NC.
- 454 Thomson, L. J., Robinson, M., & Hoffmann, A. A. (2001). Field and laboratory evidence
455 for acclimation without costs in an egg parasitoid. *Functional Ecology*, 15 (2), 217-
456 221.
- 457 Yocum, G. D., Zdareck, J., Joplin, K. H., Lee, R. E., Smith, D. C., Manter, K. D., &
458 Denlinger, D. L. (1994). Alteration of the eclosion rhythm and eclosion behavior in
459 the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*, by low and high temperature stress. *Journal*
460 *of Insect Physiology*, 40 (1), 13-21.
- 461 Zhang, Y. B., Zhang, G. F., Liu, W. X., & Wan, F. H. (2019). Variable temperatures
462 across different stages have novel effects on behavioral response and population
463 viability in a host-feeding parasitoid. *Scientific Reports*, 9 (1), 1-10.
- 464
- 465
- 466
- 467
- 468
- 469
- 470
- 471
- 472
- 473

Tabela 1- Efeito de diferentes temperaturas (°C) e tempos de desenvolvimento (dias) sobre o número médio de larvas de *A. fraterculus* que se transformaram em pupas após parasitismo de *D. areolatus* a 25 ± 2 °C. Umidade relativa do ar de $65 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Tempo (dias)	Temperatura (°C)					
	10	15	20	25	30	35
0	0,0 ± 0,0**	13,7 ± 0,33 ABa	14,7 ± 0,88 Aa	17,3 ± 0,67 Aa	12,7 ± 1,20 Aa	11,0 ± 2,89 Aa
1	1,0 ± 0,01 Bc*	9,0 ± 1,15 Bab	13,0 ± 1,53 Aa	10,3 ± 0,33 Bab	10,7 ± 0,88 Aab	7,7 ± 4,41 Ab
2	6,0 ± 0,01 Ac	15,0 ± 2,00 Aab	17,3 ± 1,67 Aa	18,3 ± 0,88 Aa	17,0 ± 0,58 Aa	10,0 ± 2,64 Ab
3	2,0 ± 0,58 ABc	18,3 ± 1,20 Aa	18,7 ± 0,33 Aa	16,3 ± 2,03 Aa	18,0 ± 0,58 Aa	5,3 ± 0,89 Ab
4	6,0 ± 3,00 ABb	17,7 ± 1,85 Aa	18,3 ± 1,20 Aa	19,7 ± 0,33 Aa	15,3 ± 2,60 Aa	8,3 ± 3,28 Ab

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de significância.

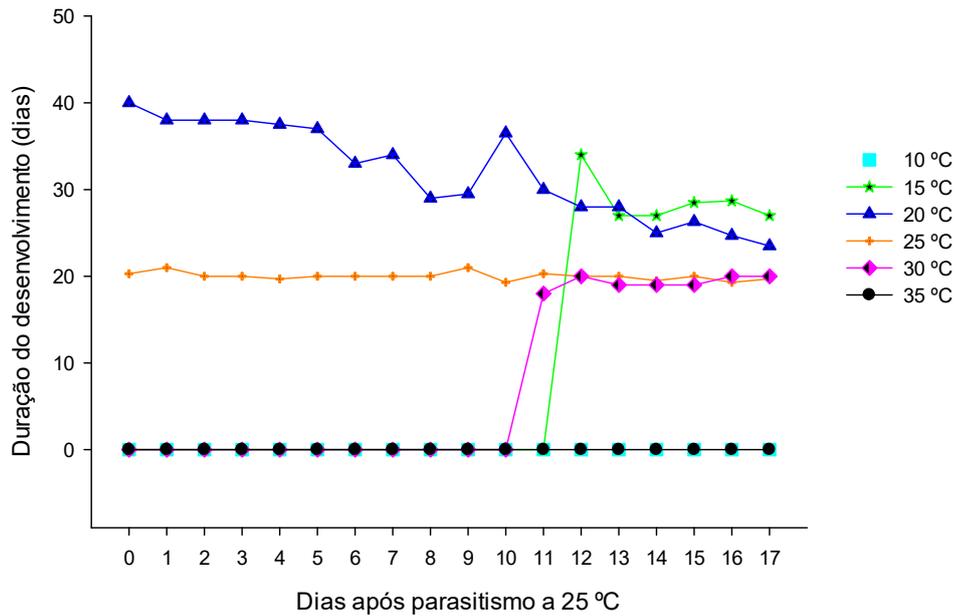
**Não houve desenvolvimento.

Tabela 2. Porcentagem de emergência e razão sexual (rs) quando larvas de *A. fraterculus* foram submetidas ao parasitismo de *D. areolatus* a $25\pm 2^\circ\text{C}$ e posteriormente expostas em diferentes tempos de desenvolvimento e temperaturas. Umidade relativa do ar de $65\pm 10\%$ e fotofase de 12h.

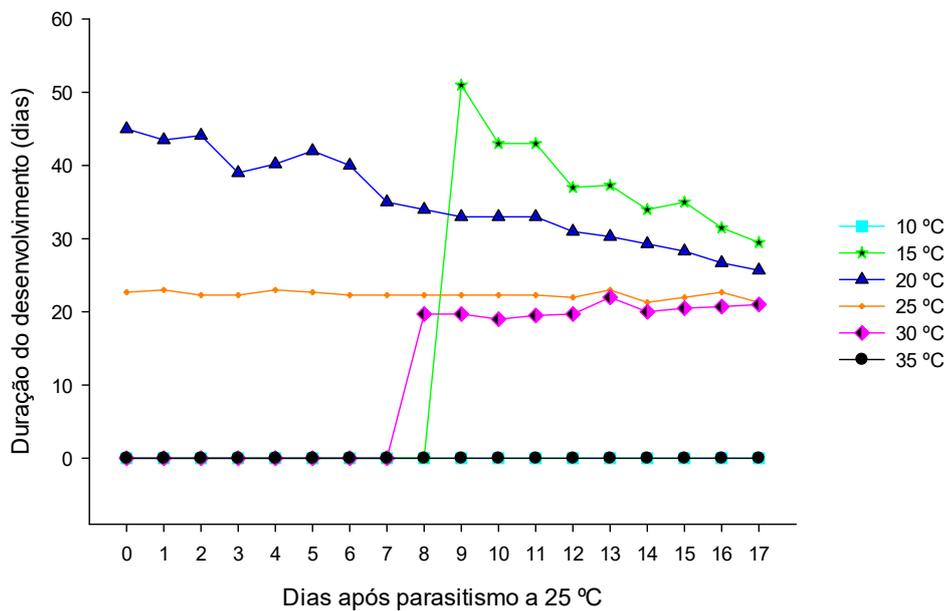
Tempo após parasitismo (dias)	Temperatura ($^\circ\text{C}$)							
	Emergência (%)				Razão sexual (rs)			
	15 ^b	20	25	30	15	20	25	30
0	0,0 ^a	41,7	100	0,0	0,0	0,3	0,8	0,0
1	0,0	33,3	96,7	0,0	0,0	0,2	0,7	0,0
2	0,0	33,3	100	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0
3	0,0	13,1	85,2	0,0	0,0	0,7	0,5	0,0
4	0,0	0,0	100	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0
5	0,0	4,2	100	0,0	0,0	0,3	0,6	0,0
6	0,0	12,1	95,5	0,0	0,0	0,2	0,7	0,0
7	0,0	68,5	100	0,0	0,0	0,8	0,5	0,0
8	0,0	34,9	97,0	11,1	0,0	0,5	0,7	0,3
9	2,6	25,9	85,5	0,0	0,3	0,1	0,7	0,0
10	0,0	33,3	100	14,8	0,0	0,6	0,3	0,3
11	38,9	78,6	100	45,5	0,7	0,6	0,4	0,4
12	18,5	35,7	100	35,5	0,3	0,4	0,7	0,9
13	47,0	95,8	100	40,0	0,8	0,9	0,5	0,2
14	40,0	72,2	100	52,2	0,3	0,9	0,6	0,3
15	53,3	96,3	100	54,5	0,5	0,6	0,8	0,4
16	70,2	94,4	100	72,2	0,2	0,6	0,5	0,7
17	63,0	88,3	83,8	91,7	0,3	0,8	0,6	0,6

^a Valores referentes a média dos tratamentos.

^b As temperaturas de 10 e 35°C não apresentaram emergência em nenhum dos dias avaliados, por isso não estão demonstradas na tabela.



(A)



(B)

Figura 1. Tempo para emergência de machos (A) e fêmeas (B) de *D. areolatus* quando larvas de *A. fraterculus* foram submetidas ao parasitismo a $25\pm 2^\circ\text{C}$ e após expostas, diariamente, a diferentes temperaturas.

3 Artigo 3- Biological Control

Versão em português

**Dispersão espacial e temporal de *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti)
(Hymenoptera: Braconidae) em pomares infestados com larvas de *Anastrepha
fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)**

Bruna Piovesan; Rafael da Silva Gonçalves; Sandro Daniel Nörnberg; Jesus
Hernando Gómez Llano; Javier Antonio Contreras Miranda; Daniel Bernardi; Dori
Edson Nava

26 Destques

- 27 • *D. areolatus* pode atingir distâncias > 60 m do ponto de liberação.
- 28 • Maior número de parasitoides é observado em raio de ≈ 25 m do local de liberação.
- 29 • 6 DAL de *D. areolatus* há significativa redução no número de insetos recuperados.
- 30 • *D. areolatus* chegou a parasitar larvas de *A. fraterculus* a 3,51 m de altura.

31

32 Resumo

33 *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae) é um endoparasitóide e promissor agente
34 de controle de moscas-das-frutas no Brasil, especialmente, para o gênero *Anastrepha*. Embora
35 seja uma espécie nativa da região Neotropical, há carência de informações sobre sua dispersão
36 a campo. O objetivo do estudo foi determinar a dispersão espacial (horizontal e vertical) e
37 temporal de *D. areolatus* em pomares de frutíferas de clima temperado. Para a avaliação da
38 dispersão horizontal e temporal foram selecionados dois pomares de pessegueiros (0,87 e 0,64
39 ha). Em cada pomar foram marcados 50 pontos com diferentes distâncias em relação ao ponto
40 central (PC), de onde foram liberados 4100 casais de *D. areolatus* com idade entre seis a dez
41 dias. Quatro horas após a liberação foram fixadas nas plantas, unidades de parasitismo (UP) (3
42 por ponto) a uma altura de 1,5 m do solo. As UPs foram compostas por frutos de maçã maduros
43 infestados artificialmente com larvas de segundo instar de *A. fraterculus* (30 larvas/fruto). Para
44 a avaliação da dispersão vertical, em um pomar de oliveira (0,96 ha) foram selecionados seis
45 pontos (plantas com ≈ 4 metros de altura). Cada planta foi dividida em três alturas em relação
46 ao solo (1,17, 2,34 e 3,51m). Em cada altura foram fixadas UPs (nove UPs por planta) conforme
47 descrito anteriormente e liberados 250 fêmeas e 50 machos de *D. areolatus* (seis a dez dias de
48 idade). Para ambos os estudos foram realizadas três liberações do parasitoide, mantendo a
49 mesma densidade de parasitoides e UPs por ponto. Decorrido 24 horas após as liberações
50 (DAL), as UPs foram retiradas e em laboratório foi determinado o parasitismo (%P) e o número

51 de descendentes (ND). Foi verificado que *D. areolatus* apresentou capacidade de dispersar
52 horizontalmente a uma distância > 60 m em relação ao ponto de liberação. Porém, as maiores
53 taxas de parasitismo [15 a 45% (área 1); 15 a 27% (área 2)] e ND [20 a 35 (área 1); 15 a 26
54 (área 2)] foram observados nos pontos mais próximos ao centro, em um raio de \approx 25 metros e
55 até 2 DAL. Aos 6 DAL ocorreu redução significativa na taxa de parasitismo e ND. Em relação
56 à dispersão vertical, *D. areolatus* parasitou larvas de *A. fraterculus* até a maior altura de fixação
57 das UPs avaliadas (3,51 m), apresentando maior taxa média de parasitismo (1,25 %) e média
58 de ND (2,5) comparado às demais alturas. Os resultados demonstram a dispersão de *D.*
59 *areolatus* e busca pelo hospedeiro a campo, o que evidencia a potencialidade de uso da espécie
60 em programas de controle biológico de moscas-das-frutas.

61

62 **Palavras-chave:** mosca-das-frutas, controle biológico, liberação de parasitoides

63

64

65

66

67

68

69

70

71

72

73

74 **Spatial and temporal dispersion of *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti) (Hymenoptera:**
75 **Braconidae) in orchards infested with *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) larvae**
76 **(Diptera: Tephritidae)**

77

78 **Highlights**

- 79 • *D. areolatus* can reach distances > 60 m from the release point.
- 80 • Higher numbers of parasitoids are observed within a radius of ≈ 25 m from the release
- 81 site.
- 82 • Seis DAL of *D. areolatus* there is a significant reduction in the number of insects
- 83 recovered.
- 84 • *D. areolatus* even parasitized *A. fraterculus* larvae at a height of 3.51 m.

85

86 **Abstract**

87 *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae) is an endoparasitoid and promising fruit
88 fly control agent in Brazil, especially for the genus *Anastrepha*. Although it is a native species
89 of the Neotropical region, there is a lack of information about its dispersion in the field. The
90 objective of the study was to determine the spatial (horizontal and vertical) and temporal
91 dispersion of *D. areolatus* in fruit orchards in temperate climates. For the evaluation of
92 horizontal and temporal dispersion, two peach orchards (0.87 and 0.64 ha) were selected. In
93 each orchard, 50 points were marked with different distances from the central point (PC), from
94 where 4100 couples of *D. areolatus* aged between six and ten days were released. Four hours
95 after release, parasitism units (UP) (3 per point) were fixed on the plants at a height of 1.5 m
96 from the ground. The UPs were composed of ripe apple fruits artificially infested with second
97 instar larvae of *A. fraterculus* (30 larvae/fruit). For the evaluation of vertical dispersion, in an
98 olive orchard (0.96 ha) six points were selected (plants with ≈ 4 meters in height). Each plant

99 was divided into three heights in relation to the ground (1.17, 2.34 and 3.51 m). UPs were fixed
100 at each height (nine UPs per plant) as described above and 250 females and 50 males of *D.*
101 *areolatus* (six to ten days old) were released. For both studies, three parasitoid releases were
102 performed, maintaining the same density of parasitoids and UPs per point. After 24 hours after
103 the releases (DAL), the UPs were removed and the parasitism (%P) and the number of offspring
104 (ND) were determined in the laboratory. It was verified that *D. areolatus* was able to disperse
105 horizontally at a distance > 60 m from the release point. However, the highest parasitism rates
106 [15 to 45% (area 1); 15 to 27% (area 2)] and ND [20 to 35 (area 1); 15 to 26 (area 2)] were
107 observed at points closest to the center, within a radius of \approx 25 meters and up to 2 DAL. At 6
108 DAL, there was a significant reduction in the rate of parasitism and ND. In relation to vertical
109 dispersion, *D. areolatus* parasitized *A. fraterculus* larvae up to the highest attachment height of
110 the evaluated UPs (3.51 m), showing the highest average rate of parasitism (1.25 %) and
111 average ND (2.5) compared to other heights. The results demonstrate the dispersion of *D.*
112 *areolatus* and the search for the host in the field, which highlights the potential use of the species
113 in biological control programs for fruit flies.

114

115 **Keywords:** fruit fly, biological control, parasitoid release

116

117

118

119

120

121

122

123

124 1. Introdução

125 A busca por métodos de controle que causem o menor impacto possível sobre o
126 ambiente vem crescendo nas últimas décadas. Neste contexto, o controle biológico assumiu
127 relevante importância como estratégia de manejo associado a outras técnicas de controle de
128 pragas (Paranhos et al., 2021). O mercado global de agentes biológicos alcançou US\$ 3,4
129 bilhões em 2016, com estimativa de US\$ 7,6 bilhões até o fim de 2022 (Research e Markets,
130 2016).

131 O Brasil está na liderança mundial do uso do controle biológico nas lavouras, com
132 aplicação em mais de 23 milhões de hectares (Embrapa, 2019). Apenas em 2020 foram
133 registrados no país 95 produtos com esta finalidade (Mapa, 2021). Embora o país seja um dos
134 líderes na utilização do controle biológico, ainda há dificuldades em relação a sua aplicação no
135 manejo de tefritídeos praga (Diptera: Tephritidae), principalmente, para as principais espécies
136 que ocorrem no Brasil *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) e *Ceratitis capitata* (Wiedemann)
137 (Zucchi, 2000). Os danos nas frutas são ocasionados pelas fêmeas mediante a oviposição e,
138 posteriormente, pela alimentação das larvas, que destroem a polpa dos frutos, aceleram o
139 amadurecimento e levam a queda prematura (Botton et al., 2016; Zart et al., 2011; Zucchi,
140 2015). Anualmente, os prejuízos estimados com estas pragas representam cerca de R\$ 180
141 milhões, incluindo perdas na produção, comercialização e custos de controle (Mapa, 2015).

142 Entre a grande diversidade de espécies potenciais de parasitoides que podem ser
143 utilizados no manejo de tefritídeos está *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti) (Hymenoptera:
144 Braconidae) (Paranhos et al., 2019; Zucchi e Moraes, 2008), endoparasitoide nativo da região
145 Neotropical que parasita os estágios iniciais do desenvolvimento das moscas-das-frutas,
146 especialmente, do gênero *Anastrepha* (Murillo et al., 2015; Paranhos et al., 2021). Diversos
147 trabalhos já elucidaram aspectos referentes a taxonomia, técnicas de criação e biologia desta

148 espécie (Gonçalves et al., 2018; López-Arriaga et al., 2021; Paranhos et al., 2019; Paranhos et
149 al., 2021; Sthul e Sivinski, 2015).

150 Por ser uma espécie nativa, *D. areolatus* possui vantagens quanto a sua interação
151 evolutiva com os hospedeiros e maior adaptação as condições ambientais locais, comparado a
152 espécies exóticas (Eitam et al., 2004). Como exemplo, pode-se citar a introdução e liberação do
153 parasitoide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae)
154 para o manejo de moscas-das-frutas. Apesar da eficiência de controle, o parasitoide não se
155 estabeleceu nas liberações realizadas no Brasil (Paranhos et al., 2019). Este fato pode
156 desencadear um manejo ineficiente da praga em regiões com predominância de temperaturas
157 baixas, como ocorre no Sul do Brasil (Sugayama, 2000), região onde encontram-se as maiores
158 áreas produtoras de frutíferas de clima temperado do país, como a maçã (*Malus domestica*
159 Borkh.) e o pêssigo (*Prunus persicae* (Linnaeus)) (Rosales: Rosaceae) (IBGE, 2020).

160 Desta forma, a ampla distribuição geográfica e a abundância de *D. areolatus*, em
161 praticamente todos os estados brasileiros, associado as características biológicas, fazem desta
162 espécie uma das mais promissoras para uso em programas de controle biológico de moscas-
163 das-frutas (Paranhos et al., 2019). Embora as técnicas de criação em laboratório já tenham sido
164 estabelecidas (Gonçalves, 2016; Gonçalves et al., 2018) e verificado o elevado potencial de
165 parasitismo sobre larvas de *A. fraterculus* e *C. capitata* (Nunes et al., 2011; Nava et al., 2019),
166 ainda há falta de informações sobre o comportamento de dispersão a campo. Segundo Hougardy
167 e Mills (2006), a escassez de informações neste sentido para a maioria dos agentes de controle
168 biológico ocorre principalmente devido à dificuldade de avaliar a habilidade de dispersão de
169 pequenos insetos. O conhecimento da capacidade de dispersão da espécie é primordial para
170 estabelecer estratégias bem-sucedidas de controle biológico inundativo (Montoya et al., 2000;
171 Paranhos et al., 2007; Zappala et al., 2012). Em adição, informações relacionadas a capacidade
172 de dispersão da espécie, tanto no sentido espacial (distância e altura) quanto temporal

173 (sobrevivência do parasitoide no pomar) são essenciais para definir o número de pontos de
174 liberação do inseto a fim de obter os melhores resultados de manejo (Oliveira et al., 2020).

175 Frente a isso, o trabalho teve como objetivo conhecer a dispersão espacial e temporal
176 do parasitoide *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae) em pomares de frutíferas
177 de clima temperado.

178

179 2. Material e métodos

180 2.1. Caracterização dos locais de estudo

181 Os experimentos foram realizados em pomares de pessegueiro (0,87 e 0,64 hectares) e
182 oliveira [*Olea europaea* Linnaeus (Lamiales: Oleaceae)] (0,96 hectares), localizados na área
183 experimental da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil (latitude 31° 41'S, longitude
184 52° 26'O, altitude 57 m). Para ambas as áreas de estudo (pomares), a paisagem adjacente é
185 formada por remanescentes de floresta, além da ocorrência esporádica de espécies frutíferas,
186 tanto nativas [(pitanga - *Eugenia uniflora* Linnaeus), (araçá - *Psidium cattleianum* Sabine)
187 (Myrtales: Myrtaceae)], quanto exóticas [(pêssego e ameixa - *Prunus* spp. Linnaeus) (Rosales:
188 Rosaceae), (citros - *Citrus* spp. Linnaeus) (Sapindales: Rutaceae)]. Foram realizados dois
189 experimentos, durante o período de ausência de frutos nas plantas. Este critério foi estabelecido
190 para não haver sobreposição de frutos de pêssego com as unidades de parasitismo (UPs),
191 constituídas por frutos de maçã infestados artificialmente com larvas de segundo instar. Para
192 tanto, o primeiro experimento teve como finalidade conhecer a capacidade de dispersão
193 horizontal e temporal de *D. areolatus* após a liberação. Já o segundo experimento teve por
194 objetivo conhecer a capacidade de dispersão vertical, através da avaliação de diferentes alturas
195 de busca por parasitismo em larvas de *A. fraterculus*.

196 Para ambos os experimentos, previamente a liberação dos parasitoides foram
197 distribuídos aleatoriamente em cada pomar 25 unidades de parasitismo (UP), compostas por

198 frutos de maçã maduros infestados artificialmente em laboratório com larvas de *A. fraterculus*
199 de segundo instar (30 larvas por fruto). Este procedimento teve como objetivo verificar a
200 existência ou não de parasitismo natural. Segundo Harbi et al. (2015), o parasitismo observado
201 em armadilhas com frutas representa o movimento da fêmea e, portanto, pode ser usado como
202 um método indireto para detectar a dispersão de adultos. As UPs foram elaboradas através da
203 realização de um corte horizontal no fruto, seguido da abertura de duas cavidades na polpa
204 (parte superior e inferior) (Apêndice C). Com o auxílio de uma espátula (inox com micro colher
205 3 mm), as larvas foram adicionadas no interior dos frutos em conjunto com fibra de trigo e dieta
206 artificial larval de farinha de milho.

207 Nos pomares, as UPs foram fixadas nas plantas a 1,5 m do solo e acondicionadas
208 individualmente no interior de rede plástica (polietileno) para frutas (1 Kg) permanecendo neste
209 local por um período de 24 horas. Para cada experimento instalado no campo, três UPs foram
210 mantidas como controle em condições controladas de laboratório (temperatura: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$,
211 umidade relativa do ar: $70\pm 10\%$ e fotofase: 12 horas) a fim de verificar a mortalidade natural
212 da população de insetos e realizar a correção por Abbott (1925).

213 Durante a condução dos experimentos, as condições climáticas locais como
214 temperatura, umidade relativa do ar, precipitação, velocidade e direção do vento foram
215 monitoradas por meio dos dados obtidos da estação meteorológica instalada na Embrapa Clima
216 Temperado, Sede, Pelotas, RS a uma distância de cerca de 1 quilômetro das áreas experimentais
217 (Tabela 1).

218

219 2.2. Criação e multiplicação de *D. areolatus*

220 Os parasitoides utilizados nos experimentos foram provenientes da criação do
221 Laboratório de Entomologia, onde os adultos foram criados no interior de gaiolas plásticas (40
222 cm x 27 cm x 23 cm), alimentados com mel e mantidos em sala climatizada (temperatura de

223 25±2°C, umidade relativa do ar de 70±10% e fotofase de 12 horas). A multiplicação de *D.*
224 *areolatus* foi realizada em larvas de segundo instar de *A. fraterculus* criadas em dieta artificial
225 conforme metodologia proposta por Gonçalves (2016). Após o período de exposição ao
226 parasitismo (12 horas), as larvas em mistura com germe de trigo hidratado, foram transferidas
227 para dieta artificial de farinha de milho, onde permaneceram até a formação das primeiras
228 pupas. Para a pupação foi utilizado farinha de milho como substrato. Em seguida, as pupas
229 foram separadas e acondicionadas nas gaiolas de emergência.

230

231 2.3. Capacidade de dispersão horizontal e temporal

232 Foram selecionados dois pomares de pessegueiro, área 1 (A1- 0,87 hectares) e área 2
233 (A2- 0,64 hectares) e realizado o georreferenciamento utilizando GPS topográfico (Leica™,
234 modelo GS20 PDM) e drone (DJI™, modelo Phantom 4 PRO) para captar as imagens aéreas e
235 gerar mapas georreferenciados (Figs. 1 e 2). Posteriormente, em cada pomar foram
236 identificados 50 pontos (com fitas de tecido napa amarelo), além de um ponto central
237 (representados por plantas de pessegueiro). A distância entre pontos e em relação ao ponto
238 central foi definida através dos mapas georreferenciados das áreas, gerados no software
239 ArcGIS™. Feito isso, no ponto central de cada área foi liberada uma densidade de
240 aproximadamente 4100 casais de *D. areolatus* (≈5800 fêmeas/ha) com seis a dez dias de idade,
241 provenientes da criação de manutenção. A densidade de parasitoides liberados foi estabelecida
242 com base em estudos prévios.

243 Foram realizadas três liberações de *D. areolatus* nos meses de janeiro, fevereiro e abril
244 de 2021 e em cada liberação foram ofertadas UPs em três oportunidades (oferta A: no dia da
245 liberação (1 DAL); oferta B: 2 DAL; e oferta C: 6 DAL). As liberações foram realizadas nas
246 primeiras horas do dia, entre as 7 e 8 horas do período da manhã (UTC-3, horário de Brasília).
247 Decorrido 4h da liberação, foram fixadas as UPs, compostas por frutos de maçã, conforme

248 descrito anteriormente, nos 50 pontos previamente marcados. Para cada ponto foram fixadas
249 três UPs, a uma altura de 1,5 m do solo, compreendendo todo o entorno da planta de
250 pessegueiro. Após 24 horas de exposição a campo, as UPs foram removidas e, em laboratório,
251 as larvas de segundo instar foram retiradas dos frutos por meio da lavagem em água corrente e
252 com auxílio de uma peneira de malha fina. Posteriormente, as larvas foram acondicionadas em
253 recipientes plásticos (80 mL) (uma UP por recipiente) contendo dieta artificial (20 mL)
254 composta por farinha de milho para completar o desenvolvimento larval e foram mantidas em
255 sala climatizada. No final do terceiro instar (aproximadamente 4 dias), as larvas foram
256 transferidas para potes plásticos (80 mL) contendo farinha de milho média (1 cm) como
257 substrato para pupação. Posteriormente, os pupários foram separados da farinha com auxílio de
258 uma peneira (malha grossa) para posterior emergência (moscas e/ou parasitoides). Ao atingirem
259 a emergência, os parasitoides de cada UP foram retirados, contabilizados e transferidos para
260 recipientes (10 mL) contendo álcool 70%, para a identificação em chave específica de
261 braconídeos para fins de comprovação da espécie (Canal e Zucchi, 2000; Marinho et al., 2018).
262 Os pupários que permaneceram intactos foram dissecados para verificar a presença de moscas
263 ou parasitoides não emergidos, a fim de determinar a taxa real de parasitismo.

264 Os parâmetros avaliados foram: número de descendentes (ND), calculado por $ND =$
265 número de parasitoides emergidos + número de parasitoides não emergidos (presentes no
266 interior das pupas) e percentual de parasitismo (%P), calculado por $P (\%) = [(\text{número de}$
267 descendentes) / (número total de adultos emergidos (parasitoides e moscas)] X 100.

268

269 *2.4. Capacidade de dispersão vertical*

270 De forma aleatória foram marcados seis pontos (plantas com aproximadamente 4 metros
271 de altura) no interior de um pomar de oliveira (0,96 ha). Cada planta foi considerada uma
272 repetição e dividida em três estratos de altura em relação ao solo, sendo: inferior (1,17 m),

273 mediano (2,34 m) e superior (3,51m). Em cada altura foram fixados três frutos de maçã
274 infestados com larvas de segundo instar de *A. fraterculus* (30 larvas/fruto) na parte externa da
275 planta, conforme descrito anteriormente, totalizando nove UPs por planta. Após a fixação das
276 UPs nas árvores, foram liberados 250 fêmeas e 50 machos (≈ 1562 fêmeas/ha) com seis a dez
277 dias de idade na entrelinha de cada ponto. Decorrido 24 horas da exposição a campo, as UPs
278 foram retiradas e transportadas ao laboratório para posterior avaliação do número de
279 descendentes (ND) e porcentagem de parasitismo (%P), seguindo os procedimentos descritos
280 anteriormente. Neste estudo foram realizadas três liberações do parasitoide durante três
281 semanas consecutivas (novembro de 2021), mantendo a mesma densidade de parasitoides por
282 ponto. A cada dia de liberação foi feita uma nova oferta de UPs.

283

284 2.5. *Análise estatística*

285 Inicialmente, todos os dados obtidos foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk a fim
286 de verificar a normalidade. Não apresentando distribuição normal utilizaram-se testes não
287 paramétricos, uma vez que variável número de descendentes (ND) seguiu distribuição de Poisson
288 e a variável percentual de parasitismo (P%) distribuição binomial. Os dados de dispersão
289 horizontal para a estimativa das distâncias e os dados de dispersão temporal para avaliação dos
290 dias após a liberação foram submetidos a análise da variância através de modelos lineares
291 generalizados (GLM) no software estatístico R Studio (RStudio Team, 2021). Os dados de
292 dispersão vertical para a avaliação das alturas foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis e
293 quando a estatística obteve um valor de p significativo ($p \leq 0,05$) foi aplicado o teste de Dunn a
294 95% de probabilidade no software estatístico Bioestat (versão 5.0).

295

296 3. Resultados

297 A avaliação prévia dos pomares, através da distribuição de UPs infestadas com larvas
298 de segundo instar de *A. fraterculus* indicou a ausência de parasitismo natural nas áreas onde o
299 estudo foi realizado. Em todas as UPs avaliadas, nenhum espécime de parasitoide foi
300 recuperado. Não foi observada diferença entre UPs mantidas em laboratório (controle) e àquelas
301 levadas ao campo, quanto ao número de insetos sobreviventes.

302

303 3.1. Dispersão horizontal e temporal

304 Foi observado que adultos de *D. areolatus* conseguiram parasitar larvas de *A.*
305 *fraterculus* localizadas a 68,5 m (área 1) e 64,8 m (área 2) do ponto de liberação central (Figs.
306 3 e 4, respectivamente). Contudo, as maiores taxas de parasitismo [15 a 45% (área 1); 15 a 27%
307 (área 2)] e descendentes recuperados [20 a 35 (área 1); 15 a 26 (área 2)] em larvas de *A.*
308 *fraterculus* localizadas nas UPs foram observados nos pontos mais próximos ao ponto de
309 liberação em um raio de até 25 metros (Figs. 5 e 6).

310 Em adição, foi verificada uma tendência de direcionamento de dispersão dos
311 parasitoides para o sentido oeste do ponto de liberação (Tabela 1; Figs. 5 e 6). Mediante os
312 modelos matemáticos ficou evidenciado um efeito da distância ($p \leq 0,05$) sobre as variáveis
313 avaliadas (porcentagem de parasitismo e número de parasitoides recuperados), demonstrando
314 que quanto maior a distância do ponto de liberação central, menores são as taxas de parasitismo
315 e o número de insetos recuperados em larvas de *A. fraterculus* (Tabela 2).

316 Em relação à dispersão temporal, houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) quando foi
317 comparado a taxa de parasitismo e o número de descendentes em relação as ofertas das UPs
318 após a liberação dos parasitoides nos pomares (Tabelas 3 e 4). Para ambos os locais de estudo
319 (Área 1 e Área 2), foram observados os maiores números de descendentes de *D. areolatus* até
320 2 DAL [oferta A (total: A1= 262; A2= 443) e oferta B (total: A1= 229; A2= 587)]. Enquanto

321 que, aos 6 DAL (oferta C) o ND do parasitoide foi significativamente ($p \leq 0,05$) inferior as
322 demais ofertas (total: A1= 6; A2= 29) (Tabelas 3 e 4; Figs. 3 e 4).

323

324 3.2. *Dispersão vertical*

325 Foram observadas diferenças significativas em relação a porcentagem de parasitismo
326 ($H= 10,89$; $GL= 2$; $p= 0,0043$) e número médio de descendentes ($H= 11,62$; $GL= 2$; $p= 0,0030$)
327 ao avaliar as três alturas de fixação das UPs nas árvores (Figs. 7 e 8). O parasitoide *D. areolatus*
328 conseguiu se dispersar verticalmente até a maior altura de fixação das UPs (3,51 m). Neste
329 ponto, a média de descendentes (2,5) e a taxa média de parasitismo (1,25%) foram sempre
330 superiores comparada com as alturas de 1,17 e 2,34 m, cujas médias foram inferiores a 0,5
331 insetos e menos de 0,2% de parasitismo (Figs. 7 e 8).

332

333 4. **Discussão**

334 Os resultados demonstraram que o parasitoide *D. areolatus* alcançou distâncias acima
335 de 60 metros em relação ao ponto central de liberação, apesar de os maiores números de
336 descendentes recuperados terem sido observados nos pontos mais próximos ao local de liberação,
337 em um raio de até 25 metros. Este fato evidencia a capacidade de deslocamento no sentido
338 horizontal do parasitoide em busca pelo hospedeiro.

339 A diminuição da taxa de parasitismo com o aumento da distância do ponto de liberação
340 pode ocorrer devido a uma maior demanda energética exigida pelo inimigo natural na busca
341 pelo hospedeiro (Bueno et al., 2012), uma vez que as fêmeas direcionam os gastos energéticos
342 para fins de garantir sua progênie (Jervis et al., 2008). Além disso, ao percorrer distâncias
343 maiores aumenta a chance de mortalidade natural, tanto por fatores bióticos como abióticos
344 (Geremias e Parra, 2014). De acordo com Camargos et al. (2018), devido a pequena
345 possibilidade de encontro entre o parasitoide e o hospedeiro durante a busca pelo parasitismo e

346 ao curto tempo de vida do parasitoide (média de 16 dias) (Nunes et al., 2011), o inimigo natural
347 tende a ovipositar em local próximo de onde foi liberado. Para Paranhos et al. (2007), a
348 probabilidade de capturar um adulto de *D. longicaudata* em pomar de citros a uma distância
349 maior que 40m foi muito baixa (praticamente nula). Entretanto, Harbi et al. (2015) observaram
350 que *D. longicaudata* liberado em pomares de citros apresentou capacidade de parasitismo de
351 larvas de *C. capitata* em até 75 m do ponto de liberação. Em pomar de goiabeira, *D.*
352 *longicaudata* ocasionou parasitismo em larvas de *A. fraterculus* e *C. capitata* localizadas a uma
353 distância de 220 m do ponto de liberação (Camargos et al., 2018). Porém, nesse mesmo estudo,
354 a maior taxa de parasitismo (90% das larvas) de *A. fraterculus* foi observado em um raio de até
355 22,20 m de distância do ponto de liberação, reduzindo drasticamente à medida que a distância
356 aumentou. Comportamento similar foi observado no presente estudo, o qual foi validado através
357 dos modelos de estimativa das distâncias. Em estudos desenvolvidos por Leal et al. (2008),
358 ficou evidenciado que *D. longicaudata* alcançou larvas distanciadas até 20 m do ponto de
359 liberação. Contudo, este fato pode ter ocorrido devido ser a maior distância avaliada no
360 trabalho. Dados de dispersão avaliando outras espécies de himenópteros, como *Aphytis melinus*
361 DeBach (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitoide da cochonilha *Aonidiella aurantii* (Maskell)
362 (Hemiptera: Diaspididae) demonstraram capacidade de deslocamento em distâncias inferiores
363 a 40 m em pomar de citros (Zappala et al., 2012).

364 A variação de resultados em trabalhos de dispersão de parasitoides em culturas
365 diferentes pode estar associado a diversos fatores bióticos e abióticos que podem atuar no
366 comportamento dos inimigos naturais. Dentre os fatores bióticos estão hospedeiro, densidade
367 de parasitoides liberados na área, adaptabilidade da espécie no local e capacidade de voo do
368 parasitoide avaliado (Pratissoli et al., 2002). No caso dos fatores abióticos, as condições
369 climáticas locais no momento da liberação, as características dos ambientes de cultivo, como
370 por exemplo, diferenças na arquitetura e altura das plantas, espaçamentos de plantio e tamanho

371 dos pomares podem influenciar direta ou indiretamente na dispersão horizontal (deslocamento)
372 e na busca pelo hospedeiro (Camargos et al., 2018; Pinto e Parra, 2002; Pratisoli et al., 2002).
373 De acordo com Hougardy e Mills (2006), a distância deve ser grande o suficiente para atingir
374 os possíveis hospedeiros, mas limitada o bastante para evitar que os parasitoides dispersem para
375 fora da área de interesse.

376 Nas duas áreas de estudo de dispersão horizontal (Áreas 1 e 2), os adultos de *D.*
377 *areolatus* dispersaram-se em todas as direções monitoradas. Embora apresentaram uma
378 tendência de direcionamento para o sentido oeste do pomar. Tal fato pode ser explicado devido
379 à maior predominância do vento oriundo do sentido leste-oeste observado nos dias da liberação.
380 O vento é um agente regulador da dispersão de parasitoides, uma vez que a dispersão passiva é
381 controlada por ele (Harbi et al., 2015; Silva, 2007). Em adição, a direção oeste encontra-se na
382 mesma orientação das linhas de cultivo da cultura a partir do ponto central de liberação. A
383 menor presença de obstáculos (vegetação) na linha de liberação pode ter favorecido o
384 deslocamento dos insetos para esta direção. Fato também observado para *D. longicaudata* após
385 a liberação na cultura da goiabeira (Camargos et al., 2018).

386 Em relação à dispersão temporal de *D. areolatus*, foi verificado que as maiores taxas de
387 parasitismo e de descendentes recuperados ocorrem nos primeiros dias após a liberação do
388 parasitoide (2 DAL), enquanto aproximadamente após uma semana (6 DAL) esses valores são
389 significativamente reduzidos. Este fato demonstra que a frequência de liberação de *D. areolatus*
390 no campo deve ser realizada em intervalos inferiores a seis dias (preferencialmente a cada 3 a
391 5 dias). Uma possível explicação para a redução da presença do inseto nas áreas a partir de 6
392 DAL pode estar associada a migração dos parasitoides para a mata nativa do entorno do pomar.
393 Os parasitoides são guiados para os sítios de parasitismo por meio de substâncias voláteis
394 liberadas pelos frutos, assim como, na busca de alternativas de alimentação (Leyva et al., 1991;
395 Messing e Jang, 1992). Sendo assim, a possibilidade de busca por alimento, abrigo e

396 hospedeiros em áreas adjacentes durante o período de ausência de UPs (entre 3 e 5 DAL) pode
397 ter desencadeado a migração dos parasitoides para fora da área de estudo, diminuindo assim,
398 conseqüentemente, a taxa de permanência dos insetos na área de liberação.

399 Vários estudos têm demonstrado que parasitoides, como exemplo da espécie *Diadegma*
400 *insulare* (Cresson) (Hymenoptera: Ichneumonidae) parasita da traça-das-crucíferas [*Plutella*
401 *xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Plutellidae)] comumente se alimentam de substâncias
402 açucaradas no campo, o que sugere que os recursos florais presentes em plantas adjacentes
403 provavelmente são utilizados como alimento pelos parasitoides (Lee et al., 2006). Outra
404 hipótese é a não sobrevivência, devido a condições adversas do próprio ambiente, incluindo
405 presença de predadores. *Diachasmimorpha longicaudata* também apresentou as maiores taxas
406 de parasitismo em larvas de *A. fraterculus* nos primeiros dias após a liberação em pomar de
407 goiaba, mais especificamente nas primeiras 48 horas, mantendo-se ativo até sete dias (168
408 horas) pós liberação (Camargos et al., 2018). De acordo com esses autores, 44 espécimes foram
409 recuperados após 15 dias de liberação. Entretanto, apresentaram baixa taxa de parasitismo (<
410 2,0 %). Este fato evidencia que apesar de reduzir a eficiência de parasitismo ao longo dos dias,
411 a espécie foi capaz de sobreviver durante este período (15 dias). No presente estudo, porém,
412 não foi realizada avaliação aos 15 dias, uma vez que aos 6 DAL baixa quantidade de *D.*
413 *areolatus* foi recuperada.

414 O parasitoide *D. areolatus* conseguiu se dispersar até a maior altura considerada (3,51
415 metros). Houve registro de parasitismo em todas as alturas das plantas, não ocorrendo diferença
416 entre os níveis inferior e mediano. Contudo, no estrato superior (3,51 metros) foram verificados
417 os maiores números médios de descendentes e porcentagens de parasitismo, o que demonstra boa
418 capacidade de dispersão vertical. Essa característica é importante quando se pensa na escolha
419 da espécie de parasitoide, pois além da eficiência como agente de controle biológico o inseto
420 precisa apresentar adequada capacidade de dispersão, tanto horizontal quanto vertical.

421 Ao contrário de algumas espécies, como *Aganaspis pelleranoi* (Brèthes) (Hymenoptera:
422 Figitidae), *D. areolatus* raramente investiga frutos caídos no solo, pois têm preferência por
423 larvas de primeiros instares, as quais ficam localizadas nos frutos presentes nas árvores (Sthul
424 e Sivinski, 2015). Segundo Salles (1995), *A. fraterculus* infesta de forma uniforme frutos
425 localizados entre 2 a 10 m de altura, o que faz que o parasitoide precise explorar as plantas para
426 obter sucesso na busca do hospedeiro. Ao avaliar o comportamento de dispersão de parasitoides
427 das famílias Tachinidae, Ichneumonidae, Braconidae e Chalcidoidea foi observado que a taxa
428 de parasitismo nos diversos hospedeiros (pertencentes as famílias Geometridae, Noctuidae,
429 Tortricidae, Bucculatricidae, Tenthredinidae e Lymantriidae) diminuiu do primeiro (próximo
430 ao solo) para o terceiro nível de altura e diferiu significativamente entre as espécies de árvores
431 [*Acer campestre* Linnaeus (Sapindales: Sapindaceae), *Carpinus betulus* Linnaeus (Fagales:
432 Betulaceae), *Fraxinus* spp. Linnaeus (Lamiales: Oleaceae), *Quercus cerris* (Fagaceae),
433 *Quercus robur* Linnaeus (Fagales: Fagaceae), *Tilia cordata* Linnaeus (Malvales: Malvaceae) e
434 *Ulmus laevis* Linnaeus (Rosales: Ulmaceae)] (Sigut et al., 2018). Em adição, esses autores
435 verificaram que a estratificação vertical da densidade de insetos, a diversidade e taxa de
436 parasitismo foram mais pronunciadas nas espécies de árvores mais altas.

437 Além da capacidade de voo do próprio parasitoide, a estrutura da vegetação de cada
438 espécie de planta pode influenciar no deslocamento vertical dos insetos (Smith, 1988). A altura
439 média de dispersão de fêmeas de *D. longicaudata* em plantas de goiabeira foi de
440 aproximadamente 2,0 m durante o período em que o dossel das plantas estava no ápice da
441 produção de frutos maduros (Messing et al., 1994).

442 As baixas taxas de parasitismo de *D. areolatus* observadas no presente trabalho podem
443 estar associadas a metodologia utilizada. Em função da necessidade de manipulação frequente
444 das UPs e possível perda (mortalidade) das unidades experimentais, o número de larvas foi
445 superestimado (30 larvas por UP). Em laboratório, geralmente a proporção entre larvas do

446 hospedeiro *A. fraterculus* e fêmeas de *D. areolatus* é de 10 para 1 (10 larvas: 1 fêmea)
447 (Gonçalves, 2016).

448 De acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que *D. areolatus* apresenta ampla
449 capacidade de dispersão horizontal, conseguindo atingir distâncias superiores a 60 metros do
450 ponto de liberação nas condições onde o estudo foi realizado. As maiores taxas de parasitismo
451 e número de descendentes são observados em um raio de aproximadamente 25 metros a partir do
452 ponto de liberação. Assim, considerando este raio de dispersão e a fim de obter uma rápida,
453 uniforme e eficiente dispersão dos parasitoides ao longo de toda a área de cultivo, é
454 recomendado que o espaçamento entre os pontos de liberação seja de 50 m (5 pontos/ha). A
455 frequência de liberação de *D. areolatus* no campo necessita ser realizada semanalmente (em
456 intervalos de 3 a 5 dias, preferencialmente). *Doryctobracon areolatus* possui capacidade para
457 atingir hospedeiros acima de 3 m de altura. Estes resultados fornecem diretrizes para futuros
458 estudos de validação a campo da eficiência de *D. areolatus* no manejo de moscas-das-frutas.

459

460 **Financiamento**

461 Este trabalho foi apoiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
462 Superior (CAPES, código de financiamento 001), pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento
463 Científico e Tecnológico (CNPQ, código de financiamento 310233/2020-8), pela Empresa
464 Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Empresa Partamon e FAPERGS/FINEP
465 (Projeto de Subvenção Econômica TECNOVAR S).

466

467 **Agradecimentos**

468 Os autores agradecem ao doutorando Henrique Noguez da Cunha, à Dr. Daiane Hellnig
469 Zarnott e ao Dr. José Maria Filippini Alba pelo auxílio no georreferenciamento das áreas de
470 estudo.

471

472 **Referências**

473 Abbott, W.S., 1925. A method of computing the effectiveness insecticides. Journal of
474 Economic Entomology 18 (1), 265-267.

475 Botton, M., Nunes, M. Z., Da Rosa, J. M., 2016. Moscas-das-frutas na fruticultura de clima
476 temperado: situação atual e perspectivas de controle através do emprego de novas
477 formulações de iscas tóxicas e da captura massal. Agropecuária Catarinense. 29 (2), 103-
478 108.

479 Bueno, R.C.O.F., Parra, J.R.P., Bueno, A.D.F., 2012. *Trichogramma pretiosum* parasitism and
480 dispersal capacity: a basis for developing biological control programs for soybean
481 caterpillars. Bulletin of entomological research 102 (1), 1-8.

482 Camargos, M.G., Alvarenga, C.D., Reis Júnior, R., Walder, J.M.M., Novais, J.C., 2018. Spatial
483 and temporal dispersal patterns of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera:
484 Braconidae) reared on *Ceratitis capitata* and *Anastrepha fraterculus* (Diptera:
485 Tephritidae). Biological Control 122 (1), 84-92.

486 Canal, M.A., Zucchi, R.A., 2000. Parasitoides-Braconidae. In: Malavasi, A.; Zucchi, R.A.
487 (Ed.). Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e
488 aplicado. Ribeirão Preto: Holos, pp.119-126.

489 Eitam, A., Sivinski, J., Holler, T., Aluja, M., 2004. Biogeography of Braconid parasitoids of
490 the Caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Florida. Annals of the Entomological
491 Society of America 97 (5), 928-939.

492 Embrapa, 2019. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.
493 [https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/46366490/brasil-e-lider-](https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/46366490/brasil-e-lider-mundial-em-tecnologias-de-controle-biologico)
494 [mundial-em-tecnologias-de-controle-biologico](https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/46366490/brasil-e-lider-mundial-em-tecnologias-de-controle-biologico) (acessado em: 10 mar. 2022).

- 495 Geremias, L.D., Parra, J.R.P., 2014. Dispersal of *Trichogramma galloi* in corn for the control
496 of *Diatraea saccharalis*. *Biocontrol Science and Technology* 24 (1), 751-762.
- 497 Gonçalves, R.S., 2016. Bioecologia e competição interespecífica de parasitoides
498 (Hymenoptera: Braconidae) de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) (Tese).
499 Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- 500 Gonçalves, R.S., Nunes, A.M., Poncio, S., Manica-Berto, R., Nornberg, S.D., Grutzmacher,
501 A.D., Nava, D.E., 2018. Bionomics, thermal requirements and life table of the fruit fly
502 parasitoid *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae) under various thermal
503 regimes. *Biological Control* 127 (1), 101-108.
- 504 Harbi, A., Beitia, F.J., Tur, C., Chermiti, B., Verdú, M.J., Sabater-Muñoz, B., 2015. Field
505 releases of the larval parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* in Spain: First results on
506 dispersal pattern. *Acta Horticulturae* 1065 (1), 1057-1062.
- 507 Hougardy, E., Mills, N.J., 2006. The influence of host deprivation and egg expenditure on the
508 rate of dispersal of a parasitoid following field release. *Biological Control* 37 (1), 206-
509 213.
- 510 IBGE, 2020. <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/> (acessado em: 11 abr.
511 2022).
- 512 Jervis, M.A., Ellers, J., Harvey, J.A., 2008. Resource acquisition, allocation, and utilization in
513 parasitoid reproductive strategies. *Annual Review of Entomology* 53 (1), 361-385.
- 514 Leal, M.R., Aguiar-Menezes, E.L., Lima Filho, M., Ribeiro, J.C.R., Menezes, E.B., 2008.
515 Capacidade de sobrevivência e dispersão de *Diachasmimorpha longicaudata*, um
516 parasitoide exótico de larva de moscas-das-frutas. *Documentos/ Embrapa Agrobiologia*,
517 33p.

- 518 Lee, J.C., Andow, D.A., Heimpel, G.E., 2006. Influence of floral resources on sugar feeding
519 and nutrient dynamics of a parasitoid in the field. *Ecological Entomology* 31 (1), 470-
520 480.
- 521 Leyva, J.L., Browning, H.W., Gilstrap, F.E., 1991. Effect of host fruit species, size and color
522 on parasitization of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) by *Diachasmimorpha*
523 *longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). *Environmental Entomology*, 20 (5), 1469-
524 1474.
- 525 López-Arriaga, F., Pérez-Cruz, C., López, P., Flores, S., Cancino, J., Salvador-Figueroa, M.,
526 Montoya, P., 2021. Host selection for the rearing of *Doryctobracon areolatus*
527 (Hymenoptera: Braconidae), a fruit fly parasitoid. *Phytoparasitica*, 50 (6), 1-9.
- 528 Mapa, 2015. Nota técnica para divulgação de investimento no controle de moscas-das-frutas de
529 2015. In: Programa Nacional de Combate às Moscas-das-Frutas – Ministério da
530 Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
531 [http://www.agricultura.gov.br/comunicacao/noticias/2015/09/ministra-anuncia-rs128-](http://www.agricultura.gov.br/comunicacao/noticias/2015/09/ministra-anuncia-rs128-milhoes-para-combate-asmoscas-das-frutas)
532 [milhoes-para-combate-asmoscas-das-frutas](http://www.agricultura.gov.br/comunicacao/noticias/2015/09/ministra-anuncia-rs128-milhoes-para-combate-asmoscas-das-frutas) (acessado em: 10 mar. 2022).
- 533 Mapa, 2021. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
534 [https://www.gov.br/agricultura/pt](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/Mapa-registra-recorde-de-95-defensivos-biologicos-em-2020)
535 [br/assuntos/noticias/Mapa-registra-recorde-de-95-](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/Mapa-registra-recorde-de-95-defensivos-biologicos-em-2020)
[defensivos-biologicos-em 2020](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/Mapa-registra-recorde-de-95-defensivos-biologicos-em-2020) (acessado em: 10 mar. 2022).
- 536 Marinho, C.F., Costa, V.A., Zucchi, R.A., 2018. Annotated checklist and illustrated key to
537 braconid parasitoids (Hymenoptera, Braconidae) of economically important fruit flies
538 (Diptera, Tephritidae) in Brazil. *Zootaxa* 4527 (1), 21-36.
- 539 Messing, R.H., Jang, E.B., 1992. Response of the fruit by parasitoid *Diachasmimorpha*
540 *longicaudata* to host-fruit stimuli. *Environmental Entomology* 21 (1), 1189-1195.

- 541 Messing, R.H., Klungness, L.M., Purcelu, M.F., 1994. Short-range dispersal of mass-reared
542 *Diachasmimorpha longicaudata* and *D. tryoni* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoids
543 of tephritid fruit flies. *Journal of Economic Entomology* 87 (4), 975-985.
- 544 Montoya, P., Liedo, P., Benrey, B., Barrera, J. F., Cancino, J., Sivinski, J., Aluja, M., 2000.
545 Biological control of *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) in mango orchards through
546 augmentative releases of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera:
547 Braconidae). *Biological Control* 18 (1), 216-224.
- 548 Murillo, F. D., Cabrera-Mireles, H., Barrera, J. F., Liedo, P., Montoya, P., 2015.
549 *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera, Braconidae) a parasitoid of early developmental
550 stages of *Anastrepha obliqua* (Diptera, Tephritidae). *Journal of Hymenoptera Research*
551 46 (1), 91-105.
- 552 Nava, D.E., Gonçalves, R.S., Nörnberg, S.D., Scheunemann, T., Grützmacher, A.D., 2019.
553 Avaliação preliminar da seletividade de inseticidas e do parasitismo de *Doryctobracon*
554 *areolatus* (Hymenoptera: Braconidae) em moscas-das-frutas. *Boletim de Pesquisa e*
555 *Desenvolvimento, Pelotas: Embrapa Clima Temperado*, 13p.
- 556 Nunes, A.M., nava, D.E., Müller, F.A., Gonçalves, R.S., Garcia, M.S., 2011. Biology and
557 parasitic potential of *Doryctobracon areolatus* on *Anastrepha fraterculus* larvae.
558 *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 46 (1), 669–671.
- 559 Oliveira, R.C.M., Pastori, P.L., Barbosa, M.G., Pereira, F.F., Melo, J.W.S., André, T.P.P., 2020.
560 Dispersal of *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae)
561 in cabbage, cucumber, and sweet corn. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 92 (1),
562 2020.
- 563 Paranhos, B.A.J., Mendes, P.C.D., Papadopoulos, N.T., Walder, J.M.M., 2007. Dispersion
564 patterns of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) in citrus
565 orchards in southeast Brazil. *Biocontrol Science and Technology* 17 (4), 375-385.

- 566 Paranhos, B.J., Nava, D.E., Malavasi, A., 2019. Biological control of fruit flies in Brazil.
567 Pesquisa Agropecuária Brasileira 54 (26037), 1-14.
- 568 Paranhos, B.A.G., Poncio, S., Morelli, R., Nava, D.E., De Sá, L.A.N., Manoukis, N., 2021.
569 Non-target effects of the exotic generalist parasitoid wasp *Fopius arisanus* (Sonan)
570 estimated via competition assays against *Doryctobracon areolatus* (Szepliget) on both
571 native and exotic fruit fly hosts. BioControl 66 (1), 83-96.
- 572 Pinto, A.S., Parra, J.R.P., 2002. Liberações de inimigos naturais. In: Parra, J.R.P., Botelho,
573 P.S.M., Corrêa-Ferreira, B.S., Bento, J.M.S. (Ed.). Controle biológico no Brasil:
574 parasitoides e predadores. São Paulo: Manole, pp. 325-342.
- 575 Pratisoli, D., Fornazier, M.J., Holtz, A.M., Gonçalves, J.R., Chioramital, A.B., Zago, H., 2002.
576 Occurrence of *Trichogramma pretiosum* in commercial areas of tomato, in Espírito Santo,
577 in regions of different altitudes. Horticultura Brasileira 21 (1), 73-76.
- 578 Research, Markets., 2016. Biopesticides - global strategic business report.
579 [https://www.yumpu.com/en/document/view/7588602/biopesticides-global-strategic-](https://www.yumpu.com/en/document/view/7588602/biopesticides-global-strategic-business-report-research-and-)
580 [business-report-research-and-](https://www.yumpu.com/en/document/view/7588602/biopesticides-global-strategic-business-report-research-and-) (acessado em: 13 out. 2017).
- 581 RStudio Team, 2021. RStudio: Integrated Development Environment for R. RStudio, PBC,
582 Boston, MA. <http://www.rstudio.com/>.
- 583 Salles, L.A.B., 1995. Estratificação vertical da incidência de *Anastrepha fraterculus* (Wied.)
584 em fruteiras no Sul do Brasil. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 24 (3), 423-
585 428.
- 586 Sigut, M., Sigutová, H., Sipos, J., Pyszko, P., Kotásková, N., Drozd, P., 2018. Vertical canopy
587 gradient shaping the stratification of leaf-chewer–parasitoid interactions in a temperate
588 forest. Ecology and Evolution 8 (15), 7297-7311.

- 589 Silva, J.W.P., Bento, J.M.S., Zucchi, R.A., 2007. Olfactory response of three parasitoid species
590 (Hymenoptera: Braconidae) to volatiles of guavas infested or not with fruit fly larvae
591 (Diptera: Tephritidae). *BioControl* 41 (1), 304-311.
- 592 Smith, S.M., 1988. Pattern of attack on spruce budworm egg masses by *Trichogramma minutum*
593 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) released in forest stands. *Environmental*
594 *Entomology* 17 (6), 1009-1015.
- 595 Stuhl, C., Sivinski, J., 2015. Wasp parasitoid *Doryctobracon areolatus* (Szépliget) (Insecta:
596 Hymenoptera: Braconidae). UF/IFAS Extension University of Florida.
- 597 Sugayama, R.L., 2000. *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) na região
598 produtora de maçãs do Rio Grande do Sul: relação com seus inimigos naturais e potencial
599 para o controle biológico (Tese). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- 600 Zappala, L., Campolo, O., Grande, S.B., Saraceno, F., Biondi, A., Siscaro, G., Palmeri, V.,
601 2012. Dispersal of *Aphytis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae) after augmentative
602 releases in citrus orchards. *European Journal of Entomology* 109 (1), 561-568.
- 603 Zart, M., Botton, M., Fernandes O.A., 2011. Injúrias causadas por mosca-das-frutas sul-
604 americana em cultivares de videira. *Bragantia* 70 (1), 64-71.
- 605 Zucchi, R. A., 2000. Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento
606 básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, pp. 41-48.
- 607 Zucchi, R.A., Moraes, R.C.B., 2008. Fruit flies in Brazil—*Anastrepha* species their host plants
608 and parasitoids. <http://www.lea.esalq.usp.br/anastrepha/> (acessado em: jan. 2022).
- 609 Zucchi, R.A., 2015. Mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Wiedemann). In.: Vilela, E.F.,
610 Zucchi, R.A. (Ed.). Pragas introduzidas no Brasil: insetos e ácaros. Piracicaba: FEALQ,
611 pp.153-172.
- 612
- 613

Tabela 1

Informações meteorológicas registradas nas datas da liberação de *D. areolatus* em pomares de pessegueiro (avaliação da dispersão horizontal e temporal) e oliveira (dispersão vertical).

Pomar de pessegueiro					
Data da liberação	Temperatura média (°C)*	Umidade relativa (%)	Chuva (mm)	Direção do vento	Velocidade do vento (m/s)
19/01/21	20,6	81,1	0,0	ESE	5,1
23/02/21	23,0	84,8	3,8	NNW	5,4
06/04/21	22,5	89,0	0,2	NNE	5,1
Pomar de oliveira					
Data da liberação	Temperatura média (°C)*	Umidade relativa (%)	Chuva (mm)	Direção do vento	Velocidade do vento (m/s)
18/11/21	15,8	76,0	15,4	ESE	5,0
23/11/21	20,3	72,4	0,0	SE	10,7
01/12/21	19,7	79,2	0,0	E	8,8

*Dados referentes a média do dia.

Fonte: Embrapa Clima Temperado (Sede) - Pelotas – RS/Brasil.

Tabela 2

Modelos de estimativa de distâncias sobre número de parasitoides e porcentagem de parasitismo de *D. areolatus* liberado em áreas de pêssego.

Variáveis	Área			
	Área 1		Área 2	
	Modelo ¹	p valor	Modelo ¹	p valor
Nº parasitoides	$\exp(1,983103 + (-0,040624) * \text{distância})$	$2,00 \times 10^{-16}$	$\exp(2,026920 + (-0,029291) * \text{distância})$	$2,00 \times 10^{-16}$
% parasitismo	$\text{logit-1}(-1,569427 + (-0,054876) * \text{distância})$	$2,12 \times 10^{-8}$	$\text{logit-1}(-2,064378 + (-0,033218) * \text{distância})$	$1,31 \times 10^{-15}$

¹Modelos significativos referentes a data da liberação de *D. areolatus* ($p \leq 0,05$).

Tabela 3

Número de descendentes e porcentagem de parasitismo de *D. areolatus* em relação aos diferentes dias de oferta de unidades de parasitismo observados na área 1.

	Nº parasitoides		
	Oferta A	Oferta B	Oferta C
Intercepto	1,7456*	1,5267	0,04
p valor	$2,00 \times 10^{-16}$	$1,53 \times 10^{-10}$	$3,15 \times 10^{-15}$
Erro padrão	0,0618	0,0661	0,4082
Dif letra	a	a	b

	% parasitismo		
	Oferta A	Oferta B	Oferta C
Intercepto	0,0314*	0,0167	0,0004
p valor	$2,00 \times 10^{-16}$	$2,00 \times 10^{-16}$	$2,62 \times 10^{-12}$
Erro padrão	0,134	0,1826	1,0598
Dif letra	a	b	c

*Valores de intercepto seguidos de mesma letra não diferem significativamente entre si ($p \leq 0,05$).

Tabela 4

Número de descendentes e porcentagem de parasitismo de *D. areolatus* em relação aos diferentes dias de oferta de unidades de parasitismo observados na área 2.

	N° parasitoides		
	Oferta A	Oferta B	Oferta C
Intercepto	2,9533*	3,91	0,1933
p valor	$2,00 \times 10^{-16}$	$7,75 \times 10^{-6}$	$2,00 \times 10^{-16}$
Erro padrão	0,0475	0,0413	0,1857
Dif letra	b	a	c
% parasitismo			
	Oferta A	Oferta B	Oferta C
Intercepto	0,0418*	0,0353	0,0025
p valor	$2,00 \times 10^{-16}$	$2,26 \times 10^{-1}$	$1,02 \times 10^{-11}$
Erro padrão	0,0995	0,1076	0,3947
Dif letra	a	a	b

*Valores de intercepto seguidos de mesma letra não diferem significativamente entre si ($p \leq 0,05$).

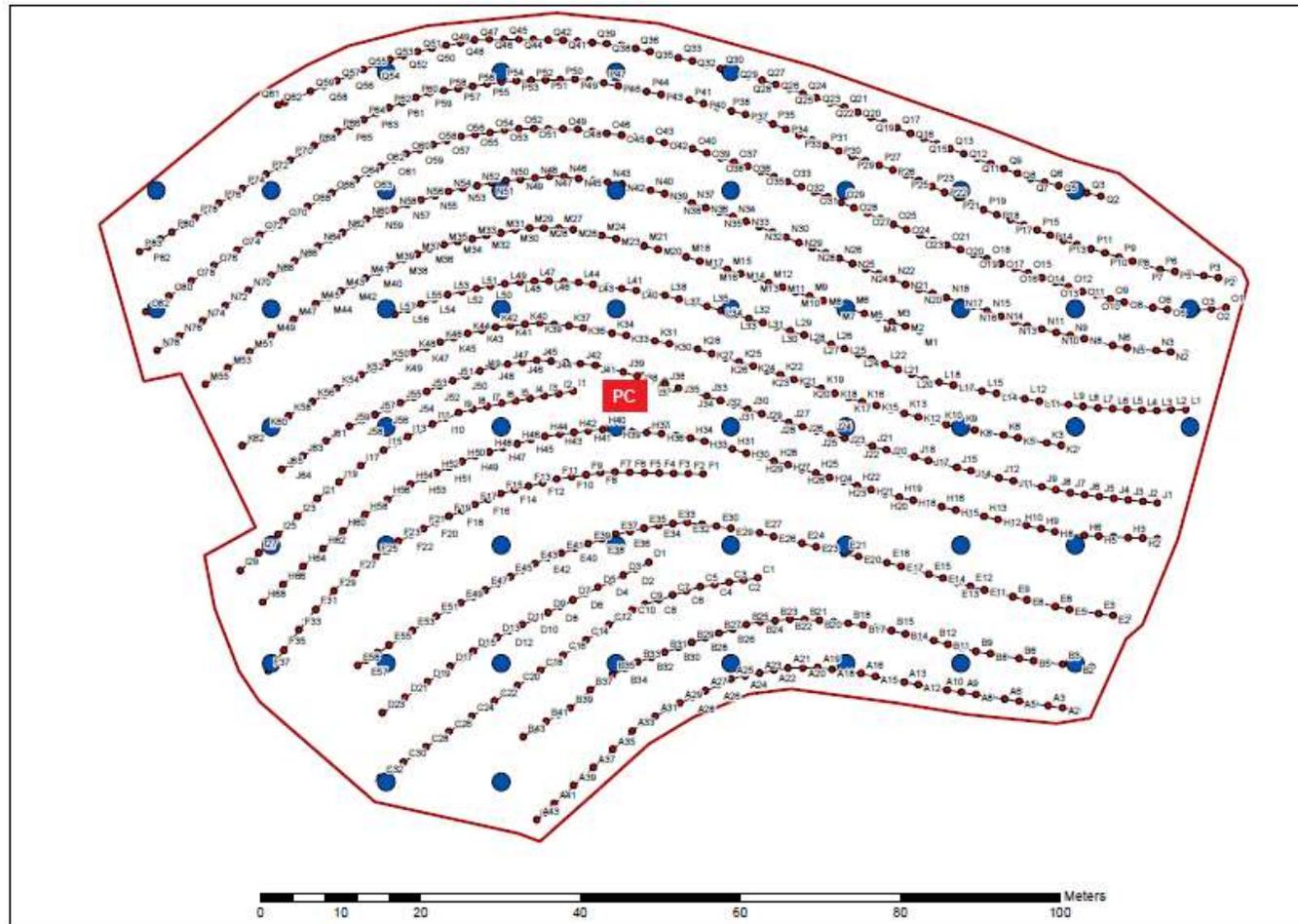


Fig. 1. Pomar de pessegueiro com a localização dos 50 pontos da área 1 (0,87 hectares), aonde foram distribuídas as unidades de parasitismo.

Os pontos estão representados pela cor azul. O ponto central (PC), em vermelho, corresponde ao local de liberação dos parasitoides e os demais pontos correspondem aos locais de avaliação do parasitismo, a diferentes distâncias (m) do PC, sendo: A19= 39,4; A25= 34,5; B3= 60,6; B9= 51,4; B35= 33,3; B43= 51,5; C32= 58,2; D15= 38,2; E14= 42,4; E21= 30,3; E29= 20,0; E38= 18,2; E45= 23,3; E58= 48,5; F25= 39,4; F37= 58,5; H8= 54,5; H40= 6,7; H48= 20,6; I27= 51,5; J24= 24,2; J31= 9,0; J58= 34,5; K2= 51,5; K9= 37,6; K42= 23,0; K60= 49,7; L1= 66,7; L35= 14,5; L41= 13,3; L58= 36,7; M7= 24,8; M49= 50,3; N17= 39,4; N36= 25,4; N43= 25,4; N51= 33,3; N60= 42,4; O5= 66,7; O13= 52,7; O29= 34,5; O82= 63,6; P22= 45,4; P47= 40,6; P55= 45,4; P74= 55,7; P80= 68,5; Q5= 57,6; Q30= 41,2; Q54= 53,3.

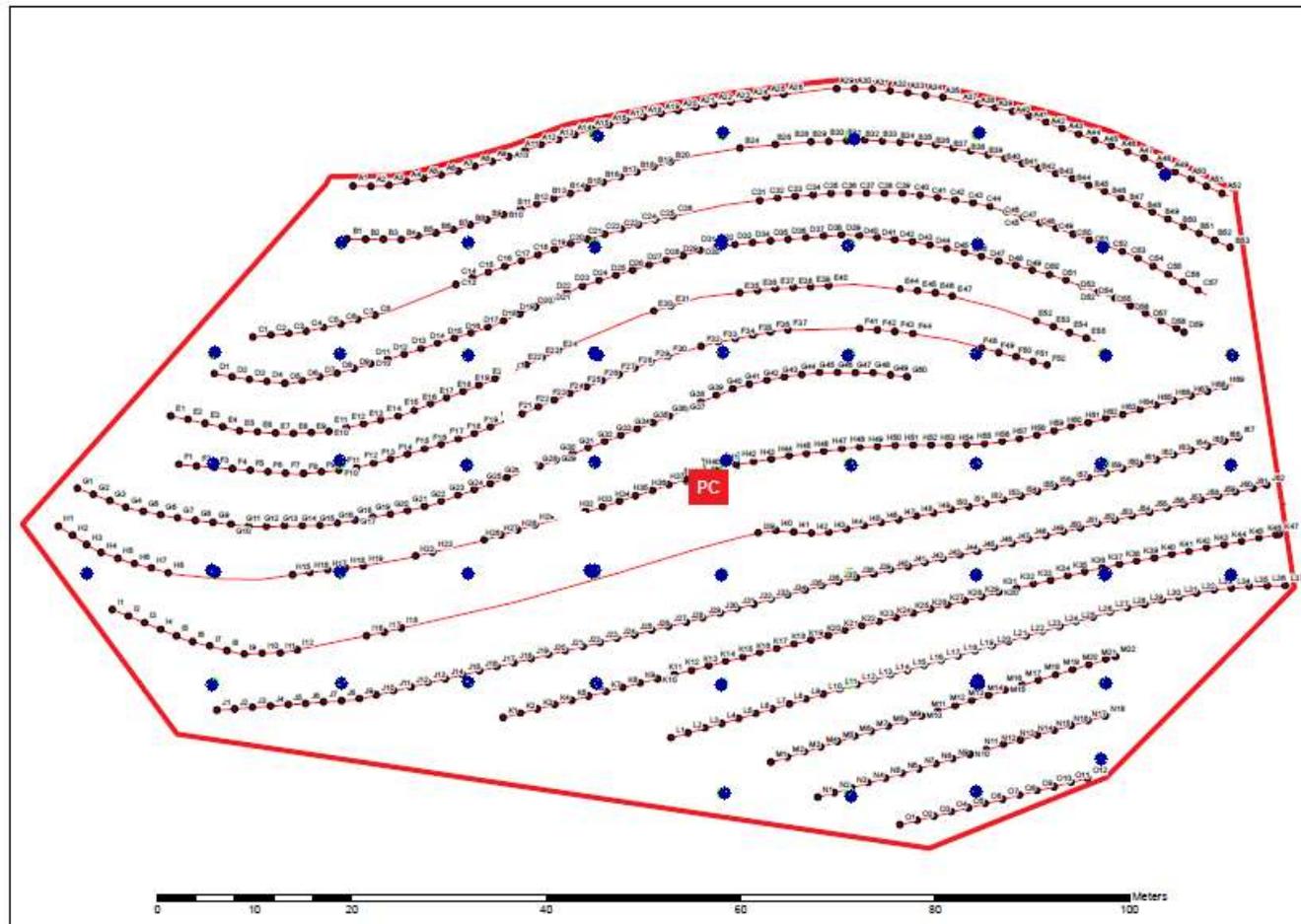


Fig. 2. Pomar de pessegueiro com a localização dos 50 pontos da área 2 (0,64 hectares), aonde foram distribuídas as unidades de parasitismo.

Os pontos estão representados pela cor azul. O ponto central (PC), em vermelho, corresponde ao local de liberação dos parasitoides e os demais pontos correspondem aos locais de avaliação do parasitismo, a diferentes distâncias (m) do PC, sendo: A14= 35,7; A48= 53,8; B1=45,2; B7= 33,3; B24= 36,2; B31= 37,1; B38= 44,3; C21= 25,7; C51= 46,2; D1= 52,4; D8= 40,5; D15= 27, 6; D32= 22,8; D39= 26,2; D46= 35,7; E24= 16,7; E55= 41,4; F2= 52,4; F10= 38,1; F32= 11,9; F48= 29,5; G24= 25,2; G31= 11,9; G46= 19,0; H4= 64,8; H8= 52,4; H17= 39,5; H23= 27,6; H42= 1,4; H47= 14,3; H55= 27,1; H69= 54,8; I39= 10,9; I58= 40,5; J1= 55,2; J7= 43,8; J14= 33,3; J23= 16,7; J60= 52,8; K6= 25,2; K14= 21,4; K28= 29,5; K36= 41,4; L33= 54,8; M1= 33,3; M13= 34,8; M21= 45,7; N2= 35,7; O5= 42,8; O12= 47,6.

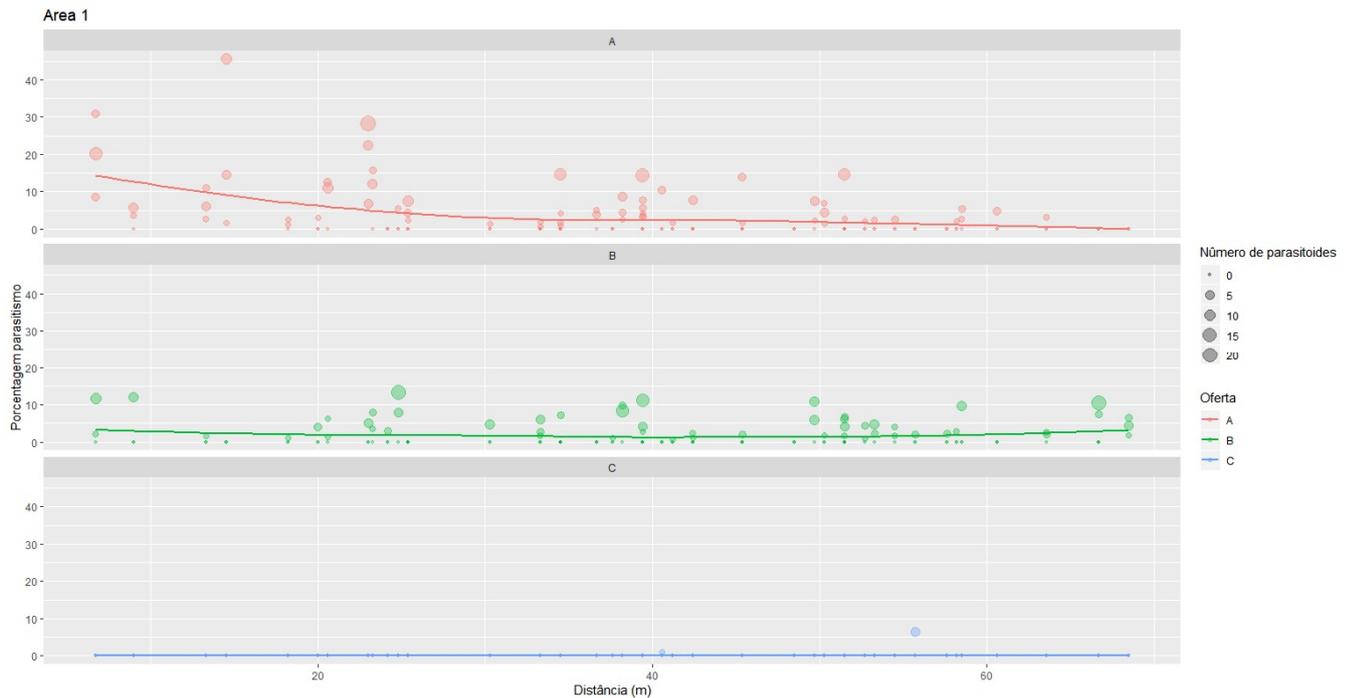


Fig. 3. Número de descidas e porcentagem de parasitismo de *D. areolatus* em diferentes distâncias e após diferentes tempos da liberação em pomar de pêsego (área 1). Oferta A: dia da liberação (representado pela cor rosa); oferta B: dia seguinte à liberação (representado pela cor verde); e oferta C: seis dias após a liberação (representado pela cor azul).

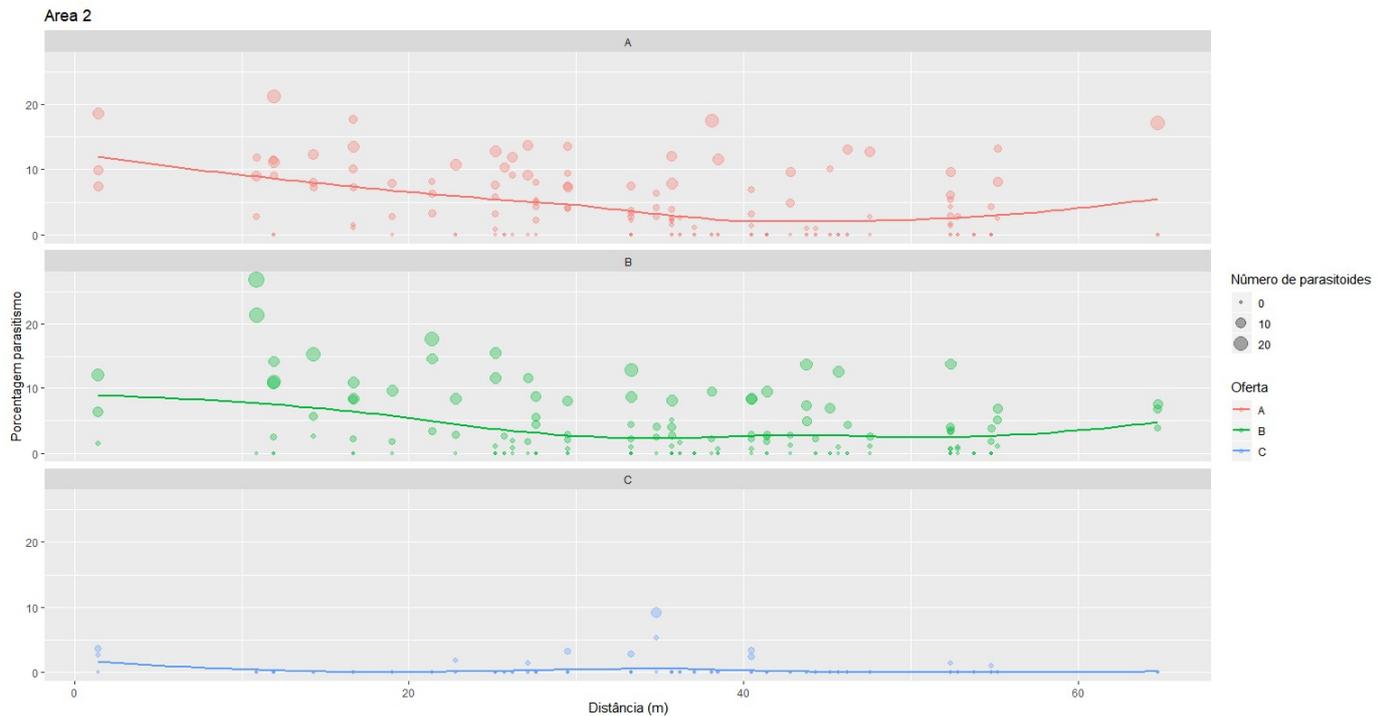


Fig. 4. Número de descendentes e porcentagem de parasitismo de *D. areolatus* em diferentes distâncias e após diferentes tempos da liberação em pomar de pêsego (área 2). Oferta A: dia da liberação (representado pela cor rosa); oferta B: dia seguinte à liberação (representado pela cor verde); e oferta C: seis dias após a liberação (representado pela cor azul).

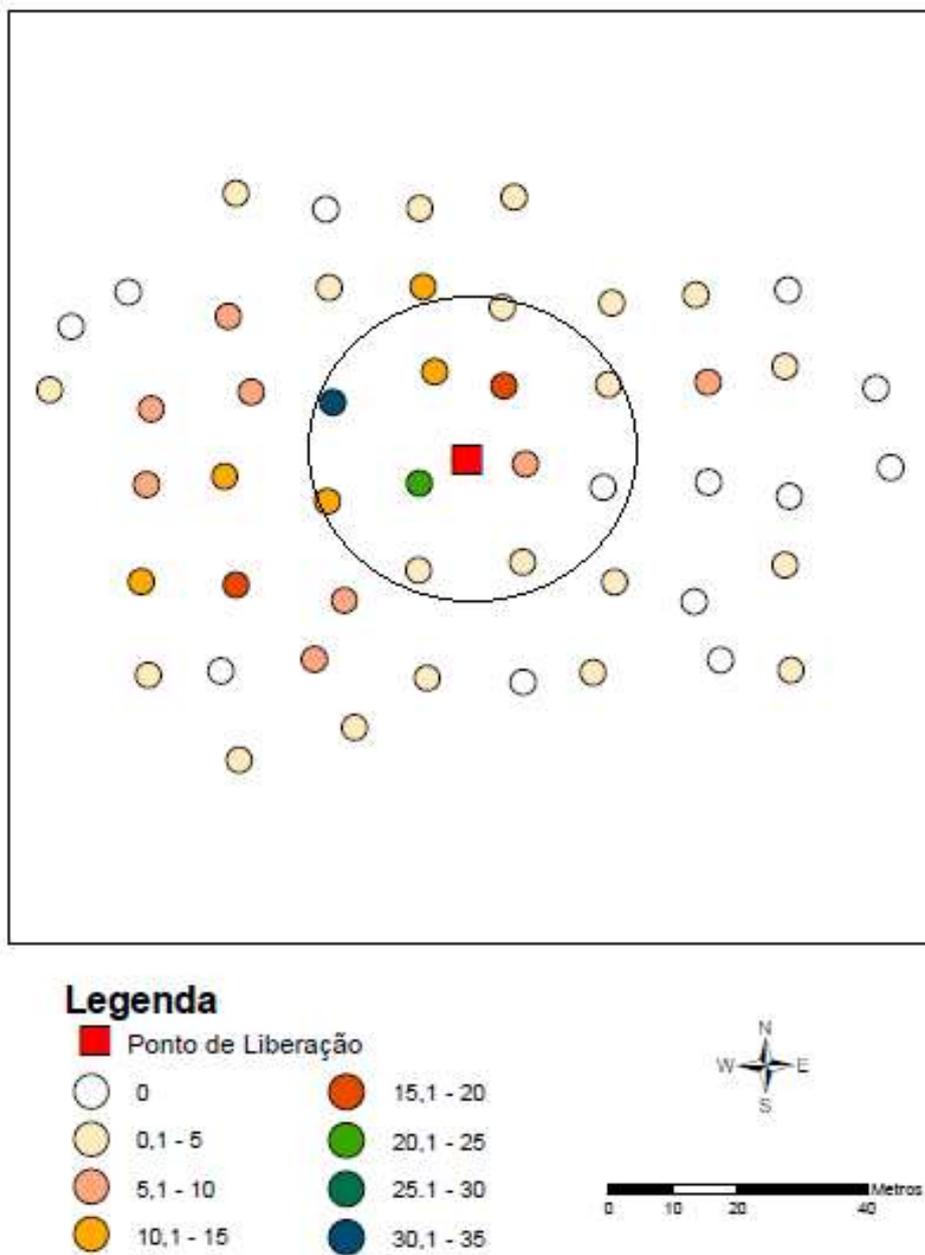


Fig. 5. Número de descendentes de *D. areolatus* em diferentes distâncias do ponto de liberação na área de estudo 1 (A1), durante a primeira oferta das unidades de parasitismo. O círculo no centro da imagem representa um raio de 25 metros.

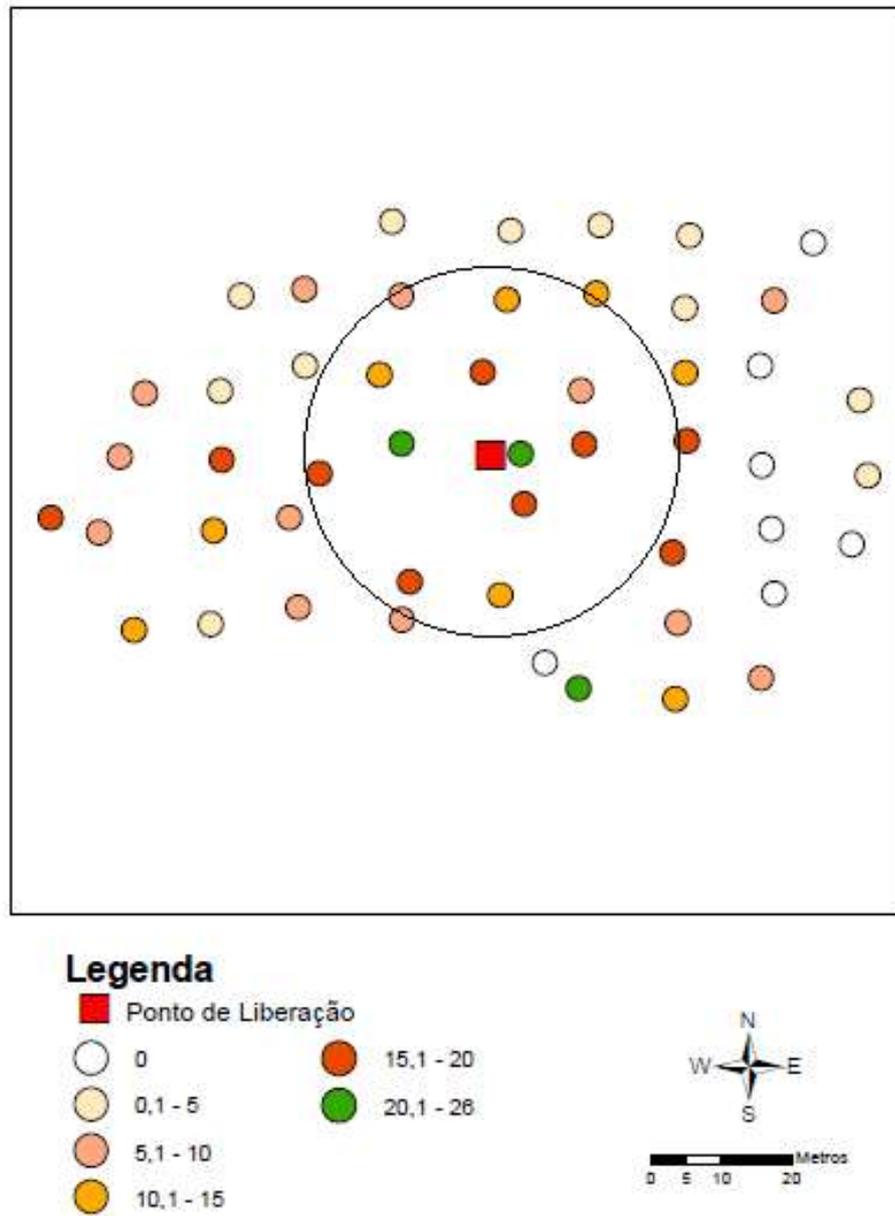


Fig. 6. Número de descendentes de *D. areolatus* em diferentes distâncias do ponto de liberação na área de estudo 2 (A2), durante a primeira oferta das unidades de parasitismo. O círculo no centro da imagem representa um raio de 25 metros.

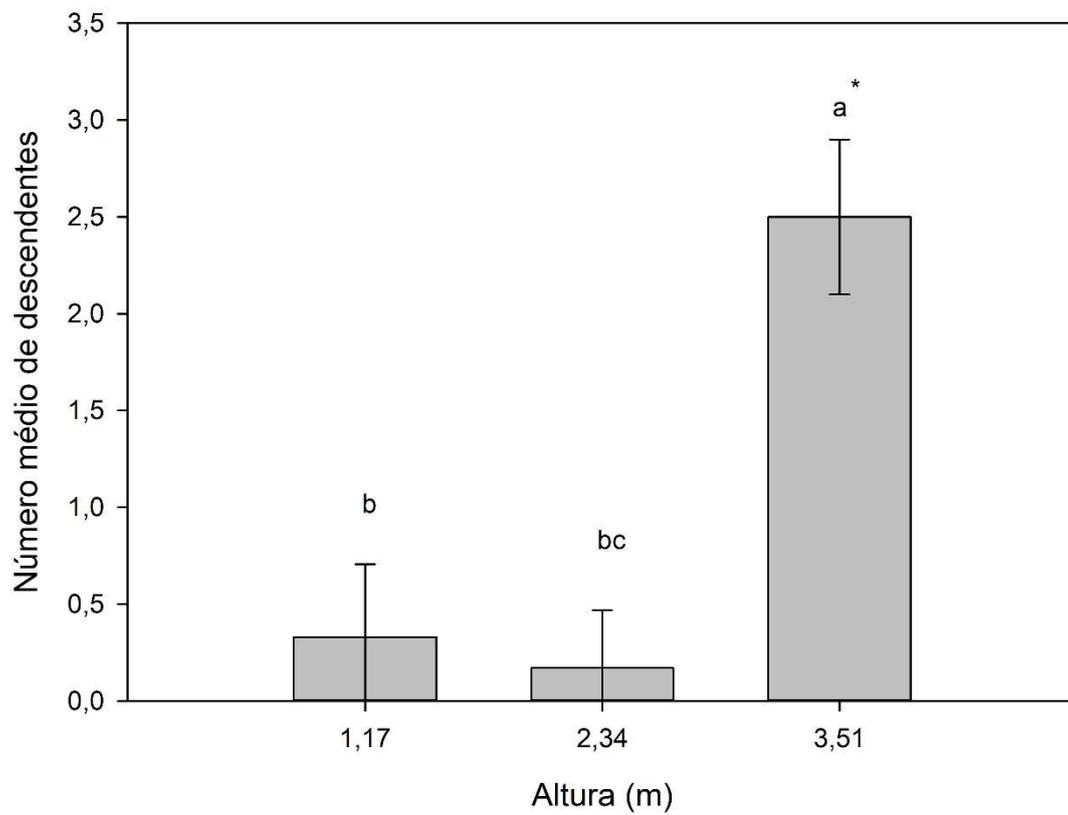


Fig. 7. Número médio de descendentes (ND) de *D. areolatus* em diferentes estratos de altura.

Inferior= 1,17 m; médio= 2,34 m; e superior= 3,51 m.

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunn a 5% de probabilidade.

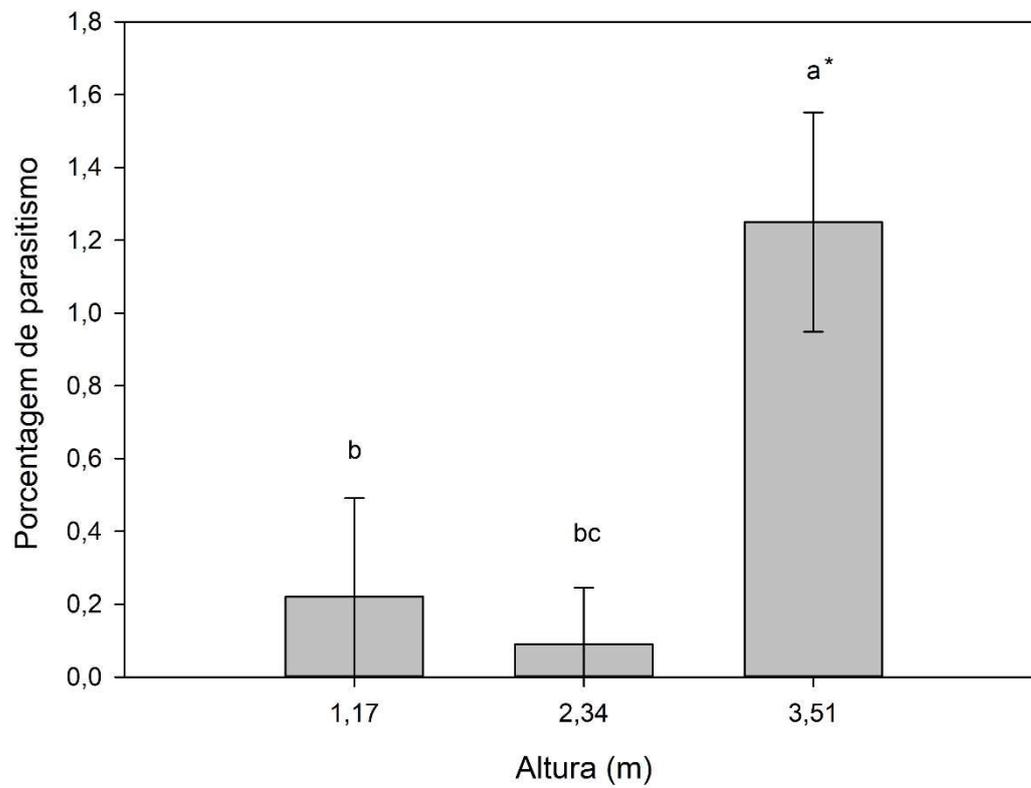


Fig. 8. Porcentagem de parasitismo de *D. areolatus* em diferentes estratos de altura. Inferior= 1,17 m; médio= 2,34 m; e superior= 3,51 m.

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunn a 5% de probabilidade.

4 Conclusões Gerais

Com base nos resultados obtidos a partir do presente trabalho, conclui-se que:

As formulações de iscas tóxicas com menor toxicidade letal sobre *D. areolatus* são, da menor para maior letalidade: isca de pronto uso Success, iscas a base de espinosinas (espinosade e espinetoram), iscas a base de organofosforados (fosmete e malationa) e isca de pronto uso Gelsura.

Iscas tóxicas contendo inseticidas do grupo das espinosinas (espinosade e espinetoram) apresentam menor toxicidade subletal comparadas as formulações a base de fosmete ou a isca de pronto uso Success.

A influência da condição térmica sobre os parâmetros biológicos de *D. areolatus* está relacionada com o estágio de desenvolvimento imaturo do parasitoide.

As temperaturas de 15 e 30°C podem ser utilizadas para retardar (cerca de 15 dias) e acelerar (cerca de 3 dias), respectivamente, o tempo de emergência de *D. areolatus*, a partir do 11º dia pós parasitismo, sem comprometer a porcentagem de emergência e a razão sexual.

A temperatura de 20°C pode ser usada para retardar a emergência (cerca de 10 a 20 dias) desde o dia do parasitismo, com menores prejuízos aos indivíduos a partir do 7º dia pós parasitismo (atraso de cerca de 15 dias).

Estudos avaliando os efeitos destes intervalos de tempo e temperatura sobre as gerações seguintes de descendentes de *D. areolatus* são necessários.

Doryctobracon areolatus pode atingir distâncias próximas de 60 m do ponto de liberação em condições de pomar de frutíferas de clima temperado, embora o maior número de parasitoides e taxa de parasitismo seja observado em raio de \approx 25 m do local de liberação.

Maior parasitismo ocorre nos primeiros dias após a liberação de *D. areolatus*, sendo que após 6 dias há significativa redução no número de insetos recuperados nos pomares.

Doryctobracon areolatus possui capacidade para atingir hospedeiros de *A. fraterculus* acima de 3 m de altura.

Referências

ALUJA, M. Bionomics and management of *Anastrepha*. **Annual Review of Entomology**, v.39, n.1, p.155-178, 1994.

ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA (ABF) 2021. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 104p.

BALDIN, M. M.; SCHUTZE, I. X.; BARONIO, C. A.; GARCIA, F. R. M.; BOTTON, M. Concentration and lethal time of toxic baits based on spinosyns on *Ceratitis capitata* and *Diachasmimorpha longicaudata*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.48, n.1, p.323-330, 2018.

BARONIO, C. A.; SCHUTZE, I. X.; NUNES, M. Z.; BERNARDI, D.; MACHOTA JR., R.; BORTOLI, L. C.; ARIOLI, C. J.; GARCIA, F. R. M.; BOTTON, M. Toxicities and residual effect of spinosad and alpha-cypermethrin-based baits to replace malathion for *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) control. **Journal of Economic Entomology**, v.20, n.1, p.2-10, 2019.

BERNARDI, D.; NONDILLO, A.; BARONIO, C. A.; BORTOLI, L. C.; MACHOTA JUNIOR, R.; TREPTOW, R. C. B.; GEISLER, F. C. S.; NEITZKE, C. G.; NAVA, D. E.; BOTTON, M. Side effects of toxic bait formulations on *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). **Scientific Reports**, v.9, n.1, p.1-8, 2019.

BORGES, R. **Seleção e avaliação de novas formulações de iscas tóxicas para o manejo de *Anastrepha fraterculus* em pomares de macieira**. 2011. 76 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages.

BORGES, R.; BOTTON, M.; BOFF, M. I. C.; ARIOLI, C. J.; MACHOTA JUNIOR, R.; BORTOLI, L. C. Use of toxic bait to manage the south American fruit fly in apple orchards in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.43, n.1, p.1-11, 2021.

BOTTON, M.; NUNES, M. Z.; DA ROSA, J. M. Moscas-das-frutas na fruticultura de clima temperado: situação atual e perspectivas de controle através do emprego de

novas formulações de iscas tóxicas e da captura massal. **Agropecuária Catarinense**, v.29, n.2, p.103-108, 2016.

BUENO, R. C. O. F.; PARRA, J. R. P.; BUENO, F.A. *Trichogramma pretiosum* parasitism and dispersal capacity: a basis for developing biological control programs for soybean caterpillars. **Bulletin of Entomological Research**, v.102, n.1, p.1-8, 2012.

BUENO, A. F.; CARVALHO, G. A.; SANTOS, A. C.; SOSA GÓMEZ, D. R.; SILVA, D. M. Pesticide selectivity to natural enemies: challenges and constraints for research and field recommendation. **Ciência Rural**, v.47, n.6, p.1-10, 2017.

CABRERA-MARÍN, N. V.; LIEDO, P.; SÁNCHEZ, D. The effect of application rate of GF-120 (spinosad) and malathion on the mortality of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) foragers. **Journal of Economic Entomology**, v.1, n.1, p.1-5, 2016.

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**, v.122, n.1, p.84-92, 2018.

CANAL, D. 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, 2000. p.119-126.

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

CASTILHOS, R. V.; GRÜTZMACHER, A. D.; NEVES, M. B.; MORAES, I. L.; GAUER, C. J. Selectivity of insecticides used in peach farming to larvae of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) in semi-field conditions. **Revista Caatinga**, v.30, n.1, p.109-115, 2017.

CHUECA, P.; MONTÓN, H.; RIPOLLÉS, J. L.; CASTAÑERA, P.; MOLTÓ, E.; URBANEJA, A. Spinosad bait treatments as alternative to malathion to control the mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in the Mediterranean Basin. **Journal of Pesticide Science**, v.32, n.4, p.407-411, 2007.

DIAS, N. P.; ZOTTI, M. J.; MONTOYA, P.; CARVALHO, I. R.; NAVA, D. E. Fruit fly management research: A systematic review of monitoring and control tactics in the world. **Crop Protection**, v.112, n.1, p.187-200, 2018.

EFROM, C. F. S.; REDAELLI, L. R.; MEIRELLES, R. N.; OURIQUE, C. B. Selectivity of phytosanitary products used in organic farming on adult of *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera, Coccinellidae) under laboratory conditions. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, n.4, p.1429-1438, 2011.

GONÇALVES, R. S. **Bioecologia e competição interespecífica de parasitoides (Hymenoptera: Braconidae) de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae)**. 2016. 184f. Tese (Doutorado) - Programa de pós-graduação em Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

GONÇALVES, R. S.; NUNES, A. M.; PONCIO, S.; MANICA-BERTO, R.; NORBERG, S. D.; GRUTZMACHER, 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**, v. 127, n.1, p. 101-108, 2018.

HARBI, A.; ABBES, K.; SABATER-MUÑOZ, B.; BEITIA, F.; CHERMITI, B. Residual toxicity of insecticides used in Tunisian citrus orchards on the imported parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae): Implications for IPM program of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Spanish Journal of Agricultural Research**, v.15, n.1, p.1-10, 2017.

HARTER, W. R.; GRUTZMACHER, A. D.; NAVA, D. E.; GONCALVES, R. S.; BOTTON, M. Isca tóxica e disrupção sexual no controle da mosca-da-fruta sul-americana e da mariposa oriental em pessegueiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.1, p. 229-235, 2010.

HORTIFRUTI BRASIL- Especial frutas, 2021. Disponível em: <<https://www.hfbrasil.org.br/br/revista/acessar/completo/exportacoes-de-frutas-podem-finalmente-atingir-us-1-bi-em-2021.aspx>>. Acesso em: 07 abr. 2022.

IBGE- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA- IBGE, 2018. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 20 jan. 2022.

LE LANN, C.; WARDZIAK, T.; BAAREN, J. V.; ALPHEN, J. J. M. V. Thermal plasticity of metabolic rates linked to life history traits and foraging behaviour in a parasitic wasp. **Functional Ecology**, v.25, n.1, p.641-651, 2011.

MACHOTA JÚNIOR, R.; FORMOLO, R.; BERNARDI, D.; BOTTON, M.; RUFALO, L. Effect of inseticides on *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) in 'Italy' table grape under plastic cover. **Investigación Agrária**. v. 15, n. 2, p. 113-120, 2013a.

MACHOTA JÚNIOR, R.; BORTOLI, L.C.; LOECK, A.E.; GARCIA, F.R.M.; BOTTON, M. Estratégia atrativa. **Cultivar Hortaliças e Frutas**, v.11, n.81, p.20-23, 2013b.

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

MONTOYA, P.; LIEDO, P.; BENREY, B.; BARRERA, J. F.; CANCINO, J.; SIVINSKI, J.; ALUJA, M. Biological control of *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) in mango orchards through aumentative releases of *Diachasmimorpha longicaudata*

(Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). **Biological Control**, v.18, n.1, p.216-224, 2000.

MONTOYA, P.; LÓPEZ, P.; CRUZ, J.; LÓPEZ, F.; CADENA, C.; CANCINO, J.; LIEDO, P. Effect of *Diachasmimorpha longicaudata* releases on the native parasitoid guild attacking *Anastrepha* spp. larvae in disturbed zones of Chiapas, Mexico. **Bio Control**, v.62, n.5, p.581-593, 2017.

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, n.1, p.91-105, 2015.

NAVA, D. E.; BOTTON, M. **Bioecologia e controle de *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitidis capitata* em pessegueiro**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 29p. (Documento, 315).

NAVA, D. E.; GONÇALVES, R. S.; NÖRNBERG, S. D.; SCHEUNEMANN, T.; GRÜTZMACHER, A. D. **Avaliação preliminar da seletividade de inseticidas e do parasitismo de *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae) em moscas-das-frutas**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 13p, 2019.

NONDILLO, A.; ZANARDI, O. Z.; AFONSO, A. P.; BENEDETTI, A. J.; BOTTON, M. Efeito de inseticidas neonicotinóides sobre a mosca-das-frutas sul-americana *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) na cultura da videira. **BioAssay**, v.2, n.9, p.1-9, 2007.

NUNES, A. M.; NAVA, D. E.; MÜLLER, F. A.; GONÇALVES, R. S.; GARCIA, M. S. Biology and parasitic potential of *Doryctobracon areolatus* on *Anastrepha fraterculus* larvae. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.1, p. 669–671, 2011.

NUNES, A. M.; MÜLLER, F. A.; GONÇALVES, R. DA 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. **Revista Ciência Rural**, v.42, n.1, p.6–12, 2012.

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. **Journal of Integrated Pest Management**, v.5, n.1, p.81-107, 2000.

PARANHOS, B. A. J.; MENDES, P. C. D.; PAPADOPOULOS, N. T.; WALDER, J. M. M. Dispersion patterns of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) in citrus orchards in southeast Brazil. **Biocontrol Science and Technology**, v.17, n.4, p.375-385, 2007.

PARANHOS, B. J.; NAVA, D. E.; MALAVASI, A. Biological control of fruit flies in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.54, n.26037, p.1-14, 2019.

PARRA, J. R. P.; PINTO, A. S.; NAVA, D. E.; OLIVEIRA, R. C.; DINIZ, A. J. F. Conceitos e evolução do controle biológico, 17-38. *In*: PARRA, J. R. P.; PINTO, A. S.; NAVA, D. E.; OLIVEIRA, R. C.; DINIZ, A. J. F. (Org.), **Controle Biológico com Parasitoide e Predadores na Agricultura Brasileira**. Piracicaba: Fealq, 2021. 592p.

PARRA, J. R. P.; COELHO JR., A. Insect rearing techniques for biological control programs, a component of sustainable agriculture in Brazil. **Insects**, v.13, n.105, p.1-18, 2022.

PINTO, A. S.; PARRA, J. R. P. Liberações de inimigos naturais. *In*: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002.p. 325-342.

RAGA, A. Incidência, monitoramento e controle de moscas-das-frutas na citricultura paulista. **Laranja**, v.26, n.1, p.307-322, 2005.

RAGA, A.; SATO, M. E. Effect of spinosad bait against *Ceratitidis capitata* (Wied.) and *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) in laboratory. **Neotropical Entomology**, v.34, n.5, p.815-822, 2005.

RIGITANO, R. L. O.; CARVALHO, G. A. **Toxicologia e seletividade de inseticidas**. UFLA: FAEPE, Lavras, 2001. 72 p.

RUIZ, L.; FLORES, S.; CANCINO, J.; ARREDONDO, J.; VALLE, J.; DÍAZ-FLEISCHER, F.; WILLIAMS T. Lethal and sublethal effects of spinosad-based GF-120 bait on the tephritid parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). **Biological Control**, v. 44, n.1, p. 296-304, 2008.

RUIZ, C. B. Experiencias en el control de "*Batrocera oleae*, *Ceratitidis capitata*" y otras plagas emergentes, en la zona mediterránea, mediante técnicas de "Atract and Kill". **Phytoma España**, v.1, n.254, p.50, 2013.

SALLES, L. A. B.; KOVALESKI, A. Mosca-das-frutas em macieira e pessegueiro no Rio Grande do Sul. **Hortisul**, v.1, n.1, p.5-9, 1990.

SANTOS, J. P.; REDAELLI, L. R.; SANT'ANA, J.; HICKEL, E. R. Flutuação populacional e estimativa do número de gerações de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) em pomar de macieira em Caçador, Santa Catarina, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.84, n.1, p.1-7, 2017.

SPARKS, T. C.; THOMPSON, G. D.; KIRST, H. A.; HERTLEIN, M. B.; LARSON, L. L.; WORDEN, T. V.; THIBAUT, S. T. Biological activity of the spinosyns, new fermentation derived insect control agents, on tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **Journal of Economic Entomology**, v. 91, n.6, p.1277-1283, 1998.

STARK, J. D.; VARGAS, R.; MILLER, N. Toxicity of spinosad in protein bait to three economically important tephritid fruit fly species (Diptera: Tephritidae) and their parasitoids (Hymenoptera: Braconidae). **Journal of Economic Entomology**, v.97, n.3, p.911-915, 2004.

STUHL, C.; SIVINSKI, J. Wasp parasitoid *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti) (Insecta: Hymenoptera: Braconidae). **UF/IFAS** Extension Universit of Florida, 2015.

WANNER, K. W.; HELSON, B. V.; HARRIS, B. J. Laboratory and field evaluation of spinosad against the gypsy moth, *Lymantria dispar*. **Pest Management Science**, v.56, n.1, p.855-860, 2000.

ZACHRISSON, B.; PARRA, J. R. P. Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 para o controle de *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818 em soja. **Scientia Agricola**, v.55, n.1, p.133–137, 1998.

ZAPPALA, L., CAMPOLO, O., GRANDE, S. B., SARACENO, F., BIONDI, A., SISCARO, G., PALMERI, V. Dispersal of *Aphytis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae) after augmentative releases in citrus orchards. **European Journal of Entomology**, v.109, n.1, p.561-568, 2012.

ZANARDI, O. Z. **Biologia de *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae) em frutos de caqui, macieira e videira e efeito de iscas tóxicas para o seu controle e sobre o parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead, 1905) (Hymenoptera: Braconidae) em laboratório.** 2011. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

ZUCCHI, R. A. Diversidad, distribución y hospederos del género *Anastrepha* en Brasil. In: HERNÁNDEZ-ORTIZ, V. (Ed.). **Moscas de la fruta em Latinoamérica (Diptera: Tephritidae): Diversidad, biología y manejo.** Distrito Federal, México: S y G, 2007. p.77-100.

Apêndices

Apêndice A- Adultos de *Doryctobracon areolatus* marcados com corante após a ingestão de iscas tóxicas (24 HAE)



Apêndice B- Etapas do processo de inoculação e armazenamento de larvas/pupas de *Anastrepha fraterculus* parasitadas por *Doryctobracon areolatus*



Parasitismo a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$
durante 5 horas

Temperaturas constantes
(10, 15, 20, 25, 30, $35\pm 2^{\circ}\text{C}$)



20 larvas/pupas de *A. fraterculus*

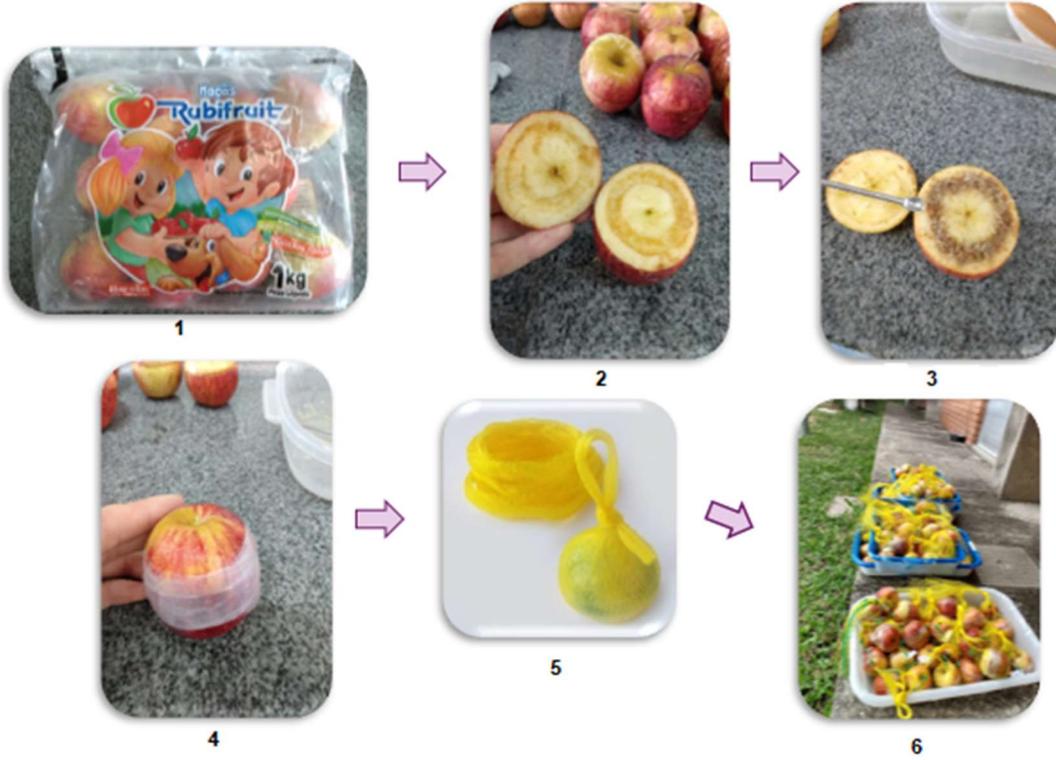


Larvas



Pupas

Apêndice C- Preparação das Unidades de Parasitismo (UPs) oferecidas a *Doryctobracon areolatus* no campo



7

Anexos

Normas publicação periódico *Journal of Economic Entomology*-

Disponível em:

<[https://academic.oup.com/jee/pages/Manuscript_Preparation#New Submissions](https://academic.oup.com/jee/pages/Manuscript_Preparation#New_Submissions)>.

Normas publicação periódico *Biocontrol Science and Technology*- Disponível em:

<<https://www.tandfonline.com/action/authorSubmission?show=instructions&journalCode=cbst20#formatting>>.

Normas publicação periódico *Biological Control*-

Disponível em:

<<https://www.elsevier.com/journals/biological-control/1049-9644/guide-for-authors>>.