



Domesticação do parasitoide de moscas-das-frutas *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae) em laboratório

Marcos Vinicius Alves Nogueira, Zenóbia Cardoso dos Santos, Carlos Gustavo da Cruz, Anne Karoline Mendes da Silva, Danilo Marques Rodrigues Lima, Clarice Diniz Alvarenga, Teresinha Augusta Giustolin

Introdução

A mosca-das-frutas (Diptera: Tephritidae) é uma praga de grande importância devido as grandes perdas que causam na produtividade, principalmente em regiões onde a produção rural se baseia na fruticultura. No mundo são perdidos anualmente aproximadamente 1 bilhão de dólares devido aos danos causados por esses insetos [1]. São muitos os meios de controle utilizados, como a fiscalização de possíveis entradas de pragas do estrangeiro, a utilização de inseticidas, o controle biológico, dentre outros. No controle biológico o inimigo natural é utilizado vantajosamente para o controle dos dípteros de forma mais econômica e sustentável, não agredindo o meio ambiente e reduzindo a utilização de agroquímicos. O uso de parasitoides tem sido difundido principalmente com a liberação de espécies exóticas, como o parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata*, que já possui tecnologia de produção em laboratório. No entanto, existe certa dificuldade em multiplicar os parasitoides nativos em meios artificiais ou essas técnicas ainda não se encontram bem difundidas [2].

Doryctobracon areolatus (Hymenoptera: Braconidae) é um endoparasitoide coinobionte e se desenvolve em larvas de segundo instar de moscas das frutas [3]. As fêmeas de *D. areolatus* apresentam ovipositor comprido, quando comparado com outras espécies do mesmo gênero, aproximadamente 3,8 mm, o que a coloca em vantagem sobre as demais [4]. Desta forma, o desenvolvimento de uma tecnologia de criação deste parasitoide visando sua multiplicação e liberação em campo pode incrementar os índices de parasitismo em áreas de produção de fruteiras e reduzir as populações de tefritídeos sem agredir o meio ambiente.

O objetivo deste trabalho foi domesticar e estabelecer uma colônia em laboratório de *D. areolatus* obtido em habitat natural.

Material e métodos

Para obter os parasitoides frutos maduros e recém-caídos ao solo foram coletados em pomares na região de Janaúba, norte de Minas Gerais. Os frutos coletados foram contabilizados, pesados e identificados (local de coleta, data, número da amostra e peso) e colocados em recipientes de plástico com uma camada de vermiculita, coberto com *voil*. Os recipientes foram armazenados em ambiente controlado de temperatura 27°C e umidade 60 a 70% no Laboratório de Entomologia da Universidade Estadual de Montes Claros. Após sete dias as larvas e/ou pupários foram retirados dos frutos, contabilizados e transferidos para recipientes plásticos com uma camada de vermiculita umedecida. Após a emergência das moscas e/ou parasitoides as moscas foram contabilizadas e mantidas em álcool 70% para posterior identificação e os parasitoides transferidos para gaiolas (30x30x30cm) de acrílico cobertas com *voil*. Antes da transferência para as gaiolas foram contabilizados número de machos e fêmeas e quantificados. Neste momento os parasitoides foram mantidos por 30 segundos em freezer para reduzir sua atividade e facilitar a identificação, realizada sob microscópio estereoscópio. Aqueles identificados como *D. areolatus* foram transferidos para a gaiola para dar início ao processo de domesticação em laboratório. No laboratório foi fornecido aos parasitoides água deionizada e dieta (mel a 50%), dispostos nas gaiolas em recipientes próprios. Além de água e alimento foi colocado dentro das gaiolas um recipiente contendo um ramo vegetativo de goiabeira, visando simular o ambiente natural e liberar voláteis, para estimular a cópula entre os parasitoides e o parasitismo.

Para ocorrer o parasitismo larvas de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) obtidas da criação mantida no Laboratório de Controle Biológico da Universidade Estadual de Montes Claros foram oferecidas aos parasitoides nas gaiolas, por meio de "unidades de parasitismo". As "unidades de parasitismo" consistiam de larvas mais dieta envoltos por um tecido fino tipo *voil*, preso por um aro de plástico (o mesmo utilizado para bordar) e envolvido por um parafilme. Este parafilme foi previamente mantido sobre frutos de goiaba durante 24 horas em gaiolas de criação de *A. fraterculus* visando aderir voláteis emitidos pelos frutos e pelas moscas que pousaram sobre ele. Com o intuito de aumentar a atratividade da "unidade de parasitismo" às fêmeas do parasitoide, foram adicionados, na superfície coberta com o parafilme, pedaços finos da casca do fruto que permaneceu na gaiola de moscas. As "unidades de parasitismo" permaneceram nas gaiolas durante 24h quando então foram retiradas. As larvas parasitadas foram lavadas para a retirada da dieta e transferidas para recipientes com dieta nova visando completar o período larval. Após este período as larvas



FEPEG

FÓRUM DE ENSINO,
PESQUISA, EXTENSÃO
E GESTÃO

TRABALHOS CIENTÍFICOS APRESENTAÇÕES ARTÍSTICAS E CULTURAIS DEBATES MINICURSOS E PALESTRAS

23 A 26 SETEMBRO DE 2015
Campus Universitário Professor Darcy Ribeiro

ISSN 1806-549X

A HUMANIZAÇÃO NA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO

REALIZAÇÃO



APOIO



foram lavadas e colocadas em recipientes de plástico contendo uma fina camada de vermiculita umedecida para ocorrer a pupação. Após a emergência dos parasitoides, estes foram novamente identificados e transferidos para as gaiolas de criação, estabelecendo-se, desta forma, a primeira geração de laboratório. A mesma metodologia foi utilizada para a obtenção da segunda geração do parasitoide em laboratório.

Resultados e Discussão

Foram obtidos 1.592 parasitoides (604 machos e 988 fêmeas) a partir das coletas de frutas realizadas em campo, entre os meses de março e maio de 2015. A colônia constituída por estes parasitoides, obtidos do parasitismo de moscas-das-frutas em frutos, foi considerada como a geração parental. A primeira geração de laboratório foi constituída por aqueles parasitoides que emergiram dos pupários cuja as larvas foram parasitadas pela geração parental. Nesta geração houve a emergência de parasitoides machos e fêmeas, evidenciando-se que houve a cópula entre os parasitoides parentais.

A determinação sexual em parasitoides tais como a espécie *D. areolatus* é do tipo haplodiplóide, o que confere às fêmeas a capacidade para determinar o sexo de sua progênie por meio do controle da fertilização dos ovos. Desta forma, os machos se desenvolvem a partir dos ovos não fertilizados e as fêmeas a partir de ovos fertilizados [5,6]. Assim, quando não ocorre a cópula os óvulos não são fecundados e a fêmea gera a progênie apenas de machos. Quando a fêmea é copulada e os óvulos são fecundados a progênie será de fêmeas. Em alguns casos as fêmeas de parasitoides podem decidir por colocarem ovos fecundados ou não, mesmo que tenham sido copuladas pelos machos [7, 8].

Quando foram oferecidas as larvas hospedeiras nas "unidades de parasitismo" aos parasitoides da primeira geração, observou-se que as fêmeas não foram muito atraídas e quando foram, poucas foram as inserções do ovipositor nas larvas. Isto resultou em um baixo parasitismo e uma alta taxa de emergência de parasitoides machos, emergindo somente duas fêmeas na segunda geração de laboratório. As fêmeas da segunda geração não realizaram o parasitismo nas larvas hospedeiras, não sendo possível obter a próxima geração. Este fato pode sugerir que não houve a cópula de todas as fêmeas progenitoras [9]. Outro motivo pode ter sido a idade das larvas oferecidas ao parasitismo, pois segundo Godfray [7], a qualidade do hospedeiro pode induzir a fêmea a colocar mais ovos machos que fêmeas. Outros fatores, como a disposição da "unidade de parasitismo" e os estímulos disponibilizados aos parasitoides podem ter sido mal dimensionados ou falhos, o que sugere mais pesquisas visando completar o processo de domesticação desta espécie em laboratório.

Conclusão

É possível criar o parasitoide *Doryctobracon areolatus* em laboratório, porem são necessários mais estudos com relação aos fatores que influenciam no comportamento do parasitoide sobre o hospedeiro e, desta forma desenvolver uma técnica viável para sua criação em massa.

AGRADECIMENTOS

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG pela concessão de bolsas de estudo e ao CNPq pela concessão de bolsa de PIBIC/CNPq e Produtividade em Pesquisa aos autores.

Referências

- [1] ARAÚJO, E. L. **Dípteros frugívoros (Tephritidae e Lonchaeidae) na Região de Mossoró/Assu, Estado do Rio Grande do Norte**. 2002. 112p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.
- [2] PARANHOS, B. A. J.; WALDER, J. M. M.; ALVARENGA, C. D. Parasitismo de larvas da mosca-do-mediterrâneo por *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) em diferentes cultivares de goiaba. **Neotropical Entomology**, v.36, n.2, p. 243-246. 2007.
- [3] WHARTON, R. A.; MARSH, P. M. Piinae New World (Hymenoptera: Braconidae) parasites of Tephritidae (Diptera). **Journal of the Washington Academy of Sciences**, v. 68, p.147-167. 1978
- [4] SIVINSKI, J.; ALUJA, M. The evolution of ovipositor length in the parasitic Hymenoptera and the search for predictability in biological control. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 86, p.143-150. 2003.
- [5] WYLIE, H.G. Control of egg fertilization by *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae) when laying on parasitized house fly pupae. **Canadian Entomology**, v. 105, P. 709-718, 1973.
- [6] KING, B.H. Sequence of offspring sex production in the parasitoid wasp, *Nasonia vitripennis*, in response to unparasitized versus parasitized hosts. **Animal Behavior**, v.45, p. 1236-1238, 1993.
- [7] GODFRAY, HCJ. **Parasitoids behavioral and evolutionary ecology**. Princeton University Press, Princeton. 1994.
- [8] HAMILTON, W.D. Extraordinary sex ratios. **Science**, v.156, p. 477-488, 1967.
- [9] ALUJA, M. *et al.* Colonization and domestication of seven species of native New World hymenopterous larval-prepupal and pupal fruit fly (Diptera: Tephritidae) parasitoids **Biocontrol Science and Technology**, v. 19, n1, p. 49-79, 2009.