

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade



**Dissertação**

Avaliação de fontes proteicas no desenvolvimento de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) e na qualidade de *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae)

**Sabrina Ongaratto**

Pelotas, 2017

**Sabrina Ongaratto**

**Avaliação de fontes proteicas no desenvolvimento de *Anastrepha fraterculus*  
(Diptera: Tephritidae) e na qualidade de *Doryctobracon areolatus*  
(Hymenoptera: Braconidae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fitossanidade (Área de conhecimento: Entomologia)

Orientador: Dr. Dori Edson Nava

Coorientador: Dr. Mauro Silveira Garcia

Dr. Sandro Daniel Nörnberg

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

O58a Ongaratto, Sabrina

Avaliação de fontes proteicas no desenvolvimento de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) em qualidade de *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae) / Sabrina Ongaratto ; Dori Edson Nava, orientador ; Mauro Silveira Garcia, Sandro Daniel Nörnberg, coorientadores. — Pelotas, 2017.

81 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Mosca-das-frutas sul-americana. 2. Parâmetros biológicos. 3. Parasitoide nativo. 4. Criação massal. I. Nava, Dori Edson, orient. II. Garcia, Mauro Silveira, coorient. III. Nörnberg, Sandro Daniel, coorient. IV. Título.

CDD : 632.9

**Banca examinadora:**

Dr. Dori Edson Nava (Orientador)

Dra. Roberta Mânica-Berto

Dr. Flávio Roberto Mello Garcia

Dra. Adrise Medeiros Nunes

Aos meus pais Selvino e Beatriz e aos meus irmãos Silvonei e Silvanor, pelo carinho, atenção, incentivo e suporte constante.

**DEDICO E OFEREÇO.**

## **Agradecimentos**

A Deus, pela vida pela proteção e por direcionar-me sempre ao melhor caminho.

À minha família, em especial aos meus pais Selvino e Beatriz e os meus irmãos Silvonei e Silvanor, que sempre me apoiaram em todas as minhas escolhas, sempre transmitindo força e coragem. Pelas ligações diárias, cada palavra de carinho e ajuda que, mesmo de longe, sempre me motivaram. Junto a eles, estendo meus sinceros agradecimentos à minha cunhada Valdirene, meu sobrinho Ezequiel e Vanessa.

Ao meu namorado Ciro Pedro e toda sua família, que me acolheram tão bem em sua casa e se tornaram minha segunda família, agradeço por todo carinho e os momentos bons compartilhados.

Ao meu orientador, Dr. Dori Edson Nava, pela confiança, por cada ensinamento, paciência e oportunidade de trabalhar sob sua orientação. Nunca poderei agradecer o suficiente pela chance que me destes!

Ao Prof. Dr. Mauro Silveira Garcia e ao Dr. Sandro Daniel Nörnberg pela disponibilidade e orientação.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Fitossanidade (PPGFs) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) pelos ensinamentos.

Aos colegas de pós-graduação, Ciro Pedro Guidotti Pinto, Inana Xavier Schutze, Morgana Baldin, Aline Costa Padilha, Ronaldo Zantedeschi, Simon Farah Asang, Franciele de Armas, pelo convívio e experiências compartilhadas.

Aos colegas e aos que passaram pelo Laboratório de Entomologia da Embrapa Clima Temperado, Karina Jobim Pinto, Sandro Daniel Nörnberg, Daniel Bernardi, Rafael da Silva Gonçalves, Naymã Pinto Dias, Tiago Scheunemann, Vinicius Soares Sturza, Heitor Lisbôa, Cristiano Lima, Mayara Espinelli, Camila

Neitzke, Amanda Martins, Samuel Braga, Matheus Mendes Pereira, Sônia Poncio, Fernanda Appel Müller, Raul da Cunha Borges Filho, José Cesar Lazzari, Felipe Andreazza, Giovani Smaniotto e Anderson Bolzan, por tornarem o dia-a-dia mais alegre e, e em especial, à colega Karina Jobim Pinto, pelo auxílio na realização dos experimentos.

À Roberta Mânica-Berto, pela disponibilidade e auxílio com as análises estatísticas e além de tudo, pela paciência em esclarecer minhas dúvidas.

À Cassia Stafen por dividir bons momentos diariamente.

Aos membros da banca, pela disponibilidade e por todas as considerações dadas.

À Embrapa Clima Temperado pela disponibilização de estrutura para desenvolvimento dos experimentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho e me incentivaram nesta caminhada.

## Resumo

ONGARATTO, Sabrina. **Avaliação de fontes proteicas no desenvolvimento de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) e na qualidade de *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae)**. 2017. 81f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A mosca-das-frutas sul-americana, *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) é considerada uma das principais pragas da fruticultura. Uma das espécies de parasitoides responsáveis pela regulação populacional desta praga é *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti, 1911) (Hymenoptera: Braconidae). Para que a produção de insetos atenda parâmetros biológicos adequados, é necessária sua multiplicação em um meio artificial que forneça os nutrientes e condições favoráveis. O presente estudo objetivou obter uma dieta artificial para a criação larval de *A. fraterculus*, onde o germe de trigo possa ser substituído por outros ingredientes mas que propicie o desenvolvimento larval e que possibilite a multiplicação do parasitoide *D. areolatus* através de larvas oriundas das diferentes dietas. Na avaliação de dietas, o fator de tratamento A foram os ingredientes (níveis): farinha de arroz, farinha de milho, mistura de farinha de trigo integral + farelo de soja, além do germe de trigo cru, considerado testemunha. O fator de tratamento B foi o número de gerações (seis níveis). Foram avaliados os seguintes parâmetros: a duração dos períodos ovo-larva, pupa, ovo-adulto, pré-oviposição e fecundidade; peso de pupários; razão sexual; viabilidade da fase de ovo e pupa; percentual de insetos do teste de vôo e longevidade sob estresse. Para o estudo da biologia de *D. areolatus*, 20 casais foram formados para determinação do número de descendentes/fêmea; percentual de emergência; razão sexual; duração do período ovo-adulto; comprimento da tibia posterior; peso de adultos e longevidade. Como resultados, observou-se que a dieta padrão a base de germe de trigo gerou maior valor médio para percentual de moscas não emergidas, semi-emergidas, deformadas, viabilidade da fase de ovo, longevidade de fêmeas e machos. A farinha de arroz caracterizou-se por apresentar maior valor médio para fecundidade e menores valores médios para duração dos períodos de pupa e ovo-adulto. A farinha de milho proporcionou maiores valores médios para massa de pupa, adultos voadores, viabilidade da fase de pupa e duração do período de pré-oviposição. No geral, a farinha de trigo + farelo de soja apresentou maiores valores médios para razão sexual, percentuais de emergência de não voadoras, duração dos períodos ovo-larva, pupa e ovo-adulto. Na multiplicação de *D. areolatus*, além do germe de trigo, a dieta com farinha de milho, apresentou maior número de descendentes e menor duração do período de

desenvolvimento ovo-adulto, para machos e fêmeas. As dietas com farinha de arroz e milho forneceram condições para um maior peso e tamanho de tibia de machos e fêmeas e para razão sexual; a dieta contendo farinha de trigo + farelo de soja afetou a geração de descendentes, causando uma maior emergência de machos (menor razão sexual); as fêmeas de *D. areolatus*, no geral, apresentaram maior tempo médio de sobrevivência. Concluiu-se que, a dieta com farinha de arroz apresentou comportamento similar aos parâmetros estudados em relação à dieta com germe de trigo, podendo assim ser substituído na composição da dieta para desenvolvimento larval de *A. fraterculus*. Para a multiplicação do parasitoide, verificou-se que larvas criadas nas dietas com farinha de arroz e milho influenciaram positivamente no desenvolvimento do parasitoide. O custo de produção para a dieta com germe de trigo é aproximadamente 15% maior em relação à dieta com farinha de arroz e farinha de milho, dietas essas que proporcionaram bons resultados para desenvolvimento de *A. fraterculus*. Já para o ingrediente proteico isolado, o germe de trigo tem custo superior de 70% em relação à farinha de arroz.

**Palavras-chave:** Mosca-das-frutas sul-americana. Parasitoide nativo. Parâmetros biológicos. Criação massal.

## Abstract

ONGARATTO, Sabrina. **Evaluation of protein sources for the development of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) and in the quality of *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae)**. 2017. 81f. Dissertation (Master degree) – Post-Graduation Program in Phytossanitary, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The South American fruit fly, *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) is considered one of the main pests of fruit growing. One of the parasitoid species responsible for the population regulation of this pest is *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti, 1911) (Hymenoptera: Braconidae). For the production of insects to meet adequate biological parameters, their multiplication is necessary in an artificial medium that provides the nutrients and favorable conditions. The present study aimed to obtain an artificial diet for larval rearing of *A. fraterculus*, in which the wheat germ can be replaced by other ingredients but which allows the larval development and multiplication of the parasitoid *D. areolatus* through larvae from different diets. In the evaluation of diets, the treatment factor A was the ingredients (levels): rice flour, corn meal, whole wheat flour + soybean meal mixture, as well as the raw wheat germ, considered as control. The treatment factor B were the generations (six levels). The parameters evaluated were: duration of egg-larva, pupa, egg-adult, pre-oviposition and fecundity periods; weight of puparium; sexual reason; viability of the egg and pupal stage; insect percentage of the flight test and longevity under stress. For the study of the biology of *D. areolatus*, 20 couples were formed to determine the number of offspring/female; emergency percentage; sex ratio; duration of the egg-adult period; posterior tibial length; adult weight and longevity. As results, it was observed that the standard diet based on wheat germ generated a higher mean value for percentage of non-emerged, semi-emerged, deformed flies, viability of the egg phase, longevity of females and males. Rice flour was characterized by a higher mean value for fecundity and lower average values for duration of the pupa and egg-adult periods. Corn meal yielded higher mean values for pupal mass, flying adults, pupal phase viability and duration of the pre-oviposition period. In general, wheat flour + soybean meal had higher mean values for sex ratio, emergence percentages of non-flying, duration of egg-larva, pupa and egg-adult periods. In the multiplication of *D. areolatus*, in addition to the wheat germ, the corn flour diet had a higher number of offspring and a shorter egg-adult development period for males and females. Diets with rice flour and corn provided conditions for greater weight and tibia size of males and females and for sexual ratio; the diet containing wheat flour + soybean meal affected the generation of offspring, causing a

greater emergence of males (lower sex ratio); The females of *D. areolatus*, in general, had a longer average survival time. It was concluded that the diet with rice flour presented similar behavior to the studied parameters in relation to the wheat germ diet and could replace it in the composition of the diet for larval development of *A. fraterculus*. For the multiplication of the parasitoid, it was verified that larvae raised in the diets with rice flour and maize had a positive influence on the development of the parasitoid. The production cost for the wheat germ diet is approximately 15% higher in relation to the diet with rice flour and maize flour, which gave good results for the development of *A. fraterculus*. For the protein ingredient alone, wheat germ has a cost of over 70% over rice flour.

**Keywords:** South-American fruit fly. Native parasitoid. Biological parameters. Massal rearing.

## Lista de Figuras

- Figura 1 Curvas de sobrevivência de fêmeas (A) e machos (B) da primeira, segunda, terceira, quarta, quinta e sexta gerações de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína (A = germe de trigo; B = farinha de arroz; C = farinha de milho; e, D = farinha de trigo + farelo de soja). Temperatura de  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de  $70\pm 20\%$  e fotofase de 12h. Curvas seguidas pelas mesmas letras, para cada sexo, não diferem entre si pelo teste de log-rank. (Tms - tempo médio de sobrevivência).....51
- Figura 2 Plotagem dos escores e das cargas dos PC1-PC2 referente as variáveis dependentes analisadas considerando todas as gerações de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína (Germe: germe de trigo; Arroz: farinha de arroz; Milho: farinha de milho; e, Mistura: farinha de trigo + farelo de soja). Temperatura de  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de  $70\pm 20\%$  e fotofase de 12h. Variáveis dependentes: massa de pupa; percentual de emergência para fêmeas (Fêmeas) e machos (Machos); razão sexual (Raz Sex); percentual de *Anastrepha fraterculus* classificadas como não emergidas, semi-emergidas, deformadas, não voadoras e voadoras; percentual da viabilidade da fase de ovo (Viab ovo) e pupa (Viab Pupa); duração dos períodos ovo-larva (P Ovo Larva), pupa (P Pupa), ovo-adulto (P Ovo adulto), pré-oviposição (P Pre ovip) e fecundidade (Fecund); longevidade de fêmeas (Long Femea) e machos (Long Macho).....55
- Figura 3 Ritmo diário de descendentes gerados por fêmeas de *Doryctobracon areolatus* criadas em larvas de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína. Temperatura de  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de  $70\pm 20\%$  e fotofase de 12h.....65
- Figura 4 Curvas de sobrevivência de machos (A) e fêmeas (B) de *Doryctobracon areolatus* criados em larvas de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína (A = germe de trigo; B = farinha de arroz; C = farinha de milho; e, D = farinha de trigo + farelo de soja). Temperatura de  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de  $70\pm 20\%$  e fotofase de 12h. Curvas seguidas pelas mesmas letras, para cada sexo, não diferem entre si pelo teste de log-rank. (Tms - tempo médio de sobrevivência).....67

## Lista de Tabelas

- Tabela 1 Ingredientes utilizados para o preparo da dieta artificial para o desenvolvimento larval de *Anastrepha fraterculus*. Composição para o preparo de 1,5 litros de dieta artificial.....30
- Tabela 2 Duração (dias) dos períodos ovo-larva, pupa, ovo-adulto e pré-oviposição (dias) e da fecundidade de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína para seis gerações. Temperatura de  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa do ar de  $70\pm 20\%$  e fotofase de 12h.....40
- Tabela 3 Peso de pupários (mg) e razão sexual de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína para seis gerações. Temperatura de  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa do ar de  $70\pm 20\%$  e fotofase de 12h.....42
- Tabela 4 Viabilidade (%) das fases de ovo e pupa de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína para seis gerações. Temperatura de  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa do ar de  $70\pm 20\%$  e fotofase de 12h.....45
- Tabela 5 Percentual de *Anastrepha fraterculus* classificadas como não emergidas, semi-emergidas, deformadas, não voadoras e voadoras oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína para seis gerações. Temperatura de  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de  $70\pm 20\%$  e fotofase de 12h.....49
- Tabela 6 Caracterização nutricional das fontes proteicas utilizadas para desenvolvimento larval de *Anastrepha fraterculus*.....59
- Tabela 7 Custo dos ingredientes utilizados para o preparo da dieta artificial para o desenvolvimento larval de *Anastrepha fraterculus*. Composição para o preparo de 1,5 litros de dieta artificial.....60
- Tabela 8 Número de descendentes por fêmea, emergência (%), razão sexual e duração do período de desenvolvimento ovo-adulto (dias) de machos e fêmeas de *Doryctobracon areolatus* criados em larvas de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína.

Temperatura de  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de  $70\pm 20\%$  e fotofase de 12h.....64

Tabela 9 Comprimento da tíbia posterior (mm) e peso de adultos (mg) para machos e fêmeas de *Doryctobracon areolatus* criados em larvas de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína. Temperatura de  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de  $70\pm 20\%$  e fotofase de 12h.....64

## Sumário

1 Introdução .....	14
2 Revisão de literatura .....	18
2.1 Importância da fruticultura no Brasil .....	18
2.2 Aspectos gerais e danos de <i>Anastrepha fraterculus</i> .....	19
2.3 Manejo e controle .....	20
2.4 Avanços nas técnicas de criação e desenvolvimento de <i>Anastrepha fraterculus</i> em dietas artificiais .....	22
2.5 Avaliação do controle de qualidade das dietas .....	25
3 Material e Métodos .....	27
3.1 Descrição das criações de manutenção .....	27
3.2 Desenvolvimento larval de <i>Anastrepha fraterculus</i> em diferentes dietas artificiais .....	29
3.3 Caracterização nutricional e custo das dietas artificiais .....	32
3.4 Desenvolvimento de <i>Doryctobracon areolatus</i> em larvas de <i>Anastrepha fraterculus</i> oriundas de diferentes dietas artificiais .....	34
3.5 Análise dos dados .....	35
4 Resultados e discussão .....	37
4.1 Desenvolvimento larval de <i>Anastrepha fraterculus</i> em diferentes dietas artificiais .....	37
4.2 Caracterização nutricional e custo das dietas artificiais .....	56
4.3 Desenvolvimento de <i>Doryctobracon areolatus</i> em larvas de <i>Anastrepha fraterculus</i> oriundas de diferentes dietas artificiais .....	60
5 Conclusões .....	68
Referências .....	69

## 1 Introdução

Os dípteros da família Tephritidae, conhecidos como moscas-das-frutas, são considerados as principais pragas das frutíferas a nível mundial, podendo acarretar perdas totais se medidas de controle não forem adotadas. As moscas-das-frutas podem causar danos diretos aos frutos e indiretos, restringindo as exportações. Dentre os principais fatores que contribuem para que os tefritídeos pragas sejam importantes economicamente está o fato de possuírem vários hospedeiros, boa capacidade de adaptação a diferentes ambientes e grande potencial biótico (alta fecundidade e longevidade) (ZUCCHI, 2000; ALUJA; MANGAN, 2008).

No Brasil, as espécies de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) de importância econômica pertencem a quatro gêneros principais: *Anastrepha*, *Bactrocera* e *Ceratitis* (ZUCCHI, 2000). Dentre as espécies que apresentam grandes prejuízos e restrições quarentenárias para os países importadores, estão listadas: *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830), *Anastrepha obliqua* (Macquart, 1835), *Anastrepha grandis* (Macquart, 1846), *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) e *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock, 1994) (MALAVASI; NASCIMENTO, 2003). Destas espécies, *A. fraterculus*, também conhecida por mosca-das-frutas sul-americana é o principal tefritídeo que causa danos na América do Sul. Nativa da região Neotropical pode ser encontrada desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina (MALAVASI; ZUCCHI; SUGAYAMA, 2000). Para a região Sul do Brasil é a espécie que causa as maiores perdas econômicas (SALLES, 1995; GARCIA; CORSEUIL, 1998; NAVA; BOTTON, 2010). A gama de hospedeiros utilizados por *A. fraterculus* inclui cerca de 114 espécies de plantas distribuídas em aproximadamente 48 famílias botânicas (ZUCCHI, 2008).

Dentre os principais hospedeiros de *A. fraterculus* no Sul do Brasil estão relacionadas as espécies nativas da América do Sul, pertencentes à família

Myrtaceae [goiabeira - *Psidium guajava* (L.), pitangueira - *Eugenia uniflora* (L.) e araçazeiro - *Psidium cattleianum* Sabine] (SALLES, 1995; NUNES et al., 2012; BISOGNIN et al., 2013; PEREIRA-RÊGO et al., 2013). Já dentre as frutíferas exóticas pode-se citar o pessegueiro [*Prunus persica* (L.)], macieira (*Malus domestica* Borkh) (Rosaceae) e videira [*Vitis vinifera* (L.)] (Vitaceae) (GARCIA; CORSEUIL, 1998; ZANARDI et al., 2011; ZART; FERNANDES; BOTTON, 2010; DIAS; SILVA, 2014) e espécies do gênero *Citrus* L. (GATELLI et al., 2008; FOFONKA, 2006; SILVA et al., 2006; SILVA et al., 2007).

No Brasil, o manejo de moscas-das-frutas vem sendo feito principalmente pelo controle químico, com o uso de organofosforados em aplicações realizadas por cobertura (área total) e/ou com uso de iscas-tóxicas (NAVA; BOTTON, 2010; HÄRTER et al., 2010; HÄRTER et al., 2015). Mas, atualmente, os programas de manejo de mosca-das-frutas estão sendo direcionados para grandes áreas e os métodos de controle preconizados incluem o uso da Técnica do Inseto Estéril (TIE) e do Controle Biológico, especialmente com parasitoides. Esta estratégia de controle de realizar liberações conjuntas de moscas estéreis e do parasitoide é eficaz e vem sendo utilizada em vários países, destacando-se o México (REYES; SANTIAGO; HERNANDEZ, 2000).

A partir dessa visão, o uso de inimigos naturais tem sido incorporado como alternativa válida dentro de programas de manejo integrado, com destaque para o parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead, 1905) (Hymenoptera: Braconidae) (MONTROYA et al., 2000; MEIRELLES et al., 2016). No Brasil, o manejo de moscas-das-frutas através da utilização de parasitoides em grandes áreas ainda não está sendo feito. Dentre os potenciais parasitoides para serem utilizados em programas de controle biológico no Brasil, destaca-se *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti, 1911) (Hymenoptera: Braconidae), um dos mais frequentes e abundantes inimigos naturais distribuído principalmente nos estados das regiões Sudeste e Sul (SILVA et al. 2010; NUNES et al., 2012; GARCIA; RICALDE, 2013; TAIRA et al., 2013)

Entretanto, para viabilizar a utilização da TIE e do controle biológico nos programas de manejo de mosca-das-frutas, individualmente ou associadas, é necessária a criação massal da praga e do agente de controle biológico em grandes quantidades e para isto estudos têm sido realizados a fim de obter uma dieta com qualidade e custo acessível tanto para o desenvolvimento de larvas como para

adultos. No México, encontra-se o maior número de espécies do gênero *Anastrepha* sendo criadas em laboratório e de maneira massal, como *A. obliqua* e *Anastrepha ludens* (Loew, 1873) (Diptera: Tephritidae), esta criada desde a década de 1950 (SARH, 1985).

Para que a ampliação da produção de insetos aconteça de forma rápida e gradual, dentro dos parâmetros biológicos de qualidade, é necessária sua multiplicação em um meio artificial que forneça os nutrientes essenciais e condições ambientais favoráveis (PARRA, 2009). É imprescindível, então, o aperfeiçoamento de fontes de alimentação alternativas, ricas em nutrientes, que viabilizem a produção de insetos em larga escala, mas que sejam suficientemente eficientes e tenham baixo custo de aquisição.

Neste sentido, várias técnicas de criação de *A. fraterculus* foram desenvolvidas e aprimoradas (GONZÁLEZ, 1971; SALLES, 1992; JALDO; GRAMADO; WILLINK, 2001; BRAGA SOBRINHO et al., 2006; VERA et al., 2007; WALDER et al., 2008; FLORES; HERNÁNDEZ; TOLEDO, 2012; NUNES et al., 2013). As mudanças propostas pelos autores mostram uma evolução das técnicas de criação e apontam para a viabilidade de sua produção massal, desde que algumas adequações sejam feitas e, uma delas, nos remete à utilização de ingredientes de menor custo. A substituição de ingredientes importados, por exemplo, por produtos nacionais pode representar um grande avanço na criação de moscas-das-frutas (SILVA NETO; DIAS; JOACHIM-BRAVO, 2012; MORELLI et al., 2012).

O uso de dietas artificiais constitui um ponto chave para a criação de insetos, pois o desenvolvimento dos mesmos em meio artificial garante a obtenção contínua de indivíduos com uniformidade nutricional e biológica. Com isso, também se torna possível obter um controle mais eficiente de patógenos e possibilidade de automação para eventual criação massal e uso em biofábricas (PARRA et al., 2001). A criação de insetos em dietas artificiais tem gerado grande avanço nas práticas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), ajudando o mesmo a tornar-se cada vez mais difundido e valorizado (KOGAN, 1980).

Na composição de uma dieta artificial é necessário incluir fontes proteicas, lipídeos e esteróis, sais minerais, carboidratos, vitaminas, gelificantes e anticontaminantes (PARRA, 2009). Sabe-se que o tipo de dieta reflete no desenvolvimento de insetos imaturos, com consequências negativas, inclusive na

fase adulta. A fonte de proteína e os aminoácidos relacionados ao ingrediente proteico utilizado, bem como as concentrações de carboidratos e o balanço nutricional da dieta, podem vir, então, a influenciar no desempenho em criações de insetos.

A importância dos aminoácidos justifica-se pelo fato de serem exigidos para produção de proteínas estruturais e enzimas e, conseqüentemente, são sempre essenciais às dietas de insetos em desenvolvimento e exigidos em altas concentrações para um crescimento ótimo. São 20 aminoácidos presentes em vegetais e animais, no entanto, para o crescimento e desenvolvimento, os insetos precisam dos 10 aminoácidos essenciais (arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, e valina), sendo os outros sintetizados a partir desses (PARRA, 2009).

Em função disso, estudos que incluam melhorias em criações massais e o efeito do alimento são necessários para embasar o entendimento sobre os aspectos que podem vir a influenciar na biologia de insetos. É preciso também, avaliar esses efeitos gerados sobre a qualidade de inimigos naturais multiplicados a partir de hospedeiros desenvolvidos em dietas com fontes variadas de alimento. Tudo isso a fim de garantir que os insetos multiplicados em laboratório apresentem qualidade biológica igual ou similar aos insetos encontrados na natureza, devendo haver um controle de qualidade desses insetos com base, principalmente, em parâmetros biológicos (CLARKE; MCKENZIE, 1992; BIGLER, 1991).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi obter uma dieta artificial para a criação larval de *A. fraterculus*, onde o germe de trigo, utilizado como padrão em muitos laboratórios, possa ser substituído por outros ingredientes mas que propicie um adequado desenvolvimento larval, atendendo os parâmetros biológicos de controle de qualidade ao longo de sucessivas gerações e que possibilite o crescimento e a multiplicação do parasitoide *D. areolatus*.

## 2 Revisão de literatura

### 2.1 Importância da fruticultura no Brasil

O Brasil se destaca mundialmente como um importante produtor de frutas tropicais, subtropicais e temperadas, destacando-se mamão [*Carica papaya* (L.)], citros (*Citrus* spp.), manga [*Mangifera indica* (L.)], maracujá (*Passiflora* spp.), abacaxi [*Ananas comosus* (L.) Merrill], banana (*Musa* spp.), goiaba [*Psidium guajava* (L.)], abacate (*Persea americana* Mill.), maçã (*Malus domestica* Borkh) dentre outras espécies (ANDRADE NETO et al., 2011; FIORAVANÇO; LAZZAROTTO, 2012). A produção estimada de frutas para 2017 é de aproximadamente 44 milhões de toneladas (IBGE, 2016). Esse volume mantém o Brasil como terceiro maior produtor de frutas do mundo, atrás apenas da China e da Índia (CNA, 2016).

O segmento frutícola gera, aproximadamente, 5,6 milhões de empregos, em plantações que cobrem mais de 2 milhões de hectares, o que correspondendo a aproximadamente, 2,6% da área total ocupada pela agricultura brasileira (IBRAF, 2016). De acordo com dados do IBGE (2016), os estados da Região Sul são grandes produtores de macieira, pessegueiro e videira. Em conjunto, essas culturas ocupam uma área de aproximadamente 100 mil ha.

A fruticultura de clima temperado, por sua vez, apresenta grande importância para a economia brasileira, sendo responsável por 37% do valor total das exportações de frutas do País. Nesse contexto pode-se destacar a importância do setor na geração de empregos, apresentando índices equivalentes a 27% de toda a mão-de-obra agrícola do País (FACHINELLO et al., 2011).

Porém, a fruticultura em âmbito nacional vem enfrentando ao longo dos anos alguns problemas fitossanitários decorrentes, principalmente, devido à ação de

insetos-praga, com destaque para as moscas-das-frutas (GODOY; PACHECO; MALAVASI, 2011).

De acordo com a FAO (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura, 2016), mundialmente, os prejuízos causados por tefritídeos, totalizam cerca de US\$ 1,7 bilhão anuais. Estudos apontam que poucos insetos têm maior impacto no comércio internacional do que as moscas-das-frutas (IAEA, 2003). No Brasil, as espécies *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* são responsáveis pelas maiores perdas na fruticultura, sendo a primeira a espécie mais importante para as regiões Sul e Sudeste do País (ZUCCHI, 2000; NAVA; BOTTON, 2010).

## **2.2 Aspectos gerais e danos de *Anastrepha fraterculus***

As moscas do gênero *Anastrepha* Schiner (Diptera: Tephritidae) apresentam importância para a fruticultura no continente americano (ALUJA, 1994). O gênero engloba cerca de 217 espécies descritas, sendo que destas, 120 estão registradas para o Brasil (ZUCCHI, 2007). *Anastrepha fraterculus* possui como origem o continente Americano, ocorrendo no Sul dos EUA, México, América Central e toda a América do Sul, exceto no Chile, onde ocorre esporadicamente ao Norte do deserto de Atacama na fronteira com o Peru (MALAVASI; MORGANTE; ZUCCHI, 1980; MALAVASI; ZUCCHI; SUGAYAMA, 2000).

*Anastrepha fraterculus* é uma praga primária que merece destaque, pois sua flutuação populacional frequentemente atinge o nível de controle. A espécie é multivoltina, podendo ter mais de seis gerações ao ano. Além disto, é considerada uma das espécies mais polífagas, causando danos em inúmeras frutíferas (SILVA; SILVEIRA NETO; ZUCCHI, 1996; STECK, 1999).

O ciclo de vida ocorre em três ambientes (vegetação, fruto e solo) e possuem metamorfose completa. Os insetos adultos permanecem nas plantas hospedeiras. As fêmeas depositam seus ovos no interior do fruto, onde as larvas alimentam-se da polpa. As larvas passam por três instares, sendo que no último abandonam os frutos e empupam no solo. Após alguns dias, os adultos emergem do pupário, reiniciando o ciclo (CHRISTENSON; FOOTE, 1960).

No geral, as fêmeas adultas preferem frutos próximos da maturação, provavelmente por serem mais ricos em açúcares e apresentarem teores mais baixos de compostos deletérios como substâncias fenólicas (ZUCOLOTO, 2000). A

duração do ciclo de vida de *A. fraterculus* é dependente de vários fatores, principalmente da temperatura e da planta hospedeira (MALAVASI; ZUCCHI, 2000; NAVA; BOTTON, 2010).

No mundo, estima-se que as moscas-das-frutas causem uma perda anual de aproximadamente, um bilhão de dólares (GODOY; PACHECO; MALAVASI, 2011). Os danos diretos são causados pelas fêmeas por ocasião da oviposição, pois ao colocarem os ovos, ocorre uma abertura da epiderme e este local serve de entrada para microrganismos que acabam deteriorando o fruto (MÜLLER, 2013). Além disto, ao eclodirem, as larvas constroem galerias, inviabilizando totalmente os frutos para consumo e industrialização (CHRISTENSON; FOOTE, 1960). Outro dano ocorre de forma indireta, pois as moscas-das-frutas são consideradas pragas quarentenárias e assim, ocorrem restrições na exportação dos frutos, limitando a exportação para outros países (RUIZ et al., 2014).

### **2.3 Manejo e controle**

Um manejo racional e eficiente das moscas-das-frutas tem como pré-requisito o conhecimento do momento adequado para iniciar a adoção das medidas de controle (NASCIMENTO; CARVALHO; MALAVASI, 2000). Nesse contexto, o monitoramento da população é chave para uma estratégia de manejo, pois permite conhecer a flutuação populacional do inseto em determinada área. Outra vantagem do monitoramento é que o mesmo auxilia na pesquisa científica, identificando a distribuição das espécies além de permitir a certificação de regiões ou países quanto à ausência de determinada espécie praga (área livre), funcionando, assim, como alicerce no manejo integrado (CARVALHO, 2005; ZILLI; GARCIA, 2011).

No Brasil, apesar dos avanços nos últimos anos com o Manejo Integrado de Pragas (MIP) na fruticultura, o controle de moscas-das-frutas ainda é realizado com o uso de inseticidas organofosforados e piretroides, seguindo um calendário predefinido para cada cultura, com aplicações realizadas por cobertura (área total) e/ou com utilização de iscas-tóxicas (NAVA; BOTTON, 2010; HÄRTER et al., 2010; HÄRTER et al., 2015). Embora o controle químico produza resultados satisfatórios no manejo de moscas-das-frutas, o mesmo pode causar desequilíbrios ambientais, danos à saúde humana, à polinizadores e outros insetos benéficos, além de gerar resíduos aos produtos, impossibilitando, em muitas situações, o consumo *in natura*

(FERNANDES; BACCI; FERNANDES, 2010; HERNÁNDEZ et al., 2013; ROHDE et al., 2013).

Neste cenário, há necessidade de buscar novos estudos e, conseqüentemente, alternativas de manejo de moscas-das-frutas. Dentre alguns exemplos que já vem sendo utilizados, pode-se citar o uso de feromônio sexual e a Técnica do Inseto Estéril (TIE) aliada ao uso do controle biológico, sendo que os dois primeiros são utilizados para *C. capitata* (CARVALHO, 2003).

Com relação à utilização da TIE, a mesma atende às exigências atuais da maior parte dos sistemas de produção e do mercado consumidor de frutas, sendo considerada como uma eficiente técnica no controle de moscas-das-frutas em vários países (HENDRICHS et al., 2002). A TIE pode ser inserida como uma técnica nos programas de MIP (KLASSEN; CURTIS, 2005, LANCE; MCINNIS, 2005) e, também, utilizada de forma preventiva ao estabelecimento da praga em áreas livres ou mesmo para erradicar a espécie, dependendo da região e do objetivo do programa (HENDRICHS et al., 2002).

Hoje, vários países possuem programas nacionais da TIE, com biofábricas para criação de *C. capitata* (EUA, México, Guatemala, Argentina, Chile, Peru, Portugal, Tunísia, Tailândia e África do Sul), algumas espécies dos gêneros *Anastrepha* (México e EUA) e *Bactrocera* (EUA, Japão, Malásia) para o controle (supressão) e/ou erradicação (PARANHOS, 2007).

O controle biológico através de parasitoides apresenta vantagens semelhantes à TIE: redução da poluição ao meio ambiente, minimização na utilização de inseticidas, menor risco de intoxicação aos operadores de campo, não deixando resíduos tóxicos nos frutos e menor probabilidade de ocorrência de resistência, sendo que a TIE apresenta grande eficiência em áreas amplas com isolamento geográfico (PARANHOS, 2007).

A aplicação do uso do controle biológico como estratégia de manejo integrado, aparece incluindo o uso de himenópteros parasitoides, considerados por muitos pesquisadores como os mais importantes inimigos naturais das moscas-das-frutas, em diversas partes do mundo (ALUJA et al., 2014).

Estudos referentes ao controle biológico de moscas-das-frutas no Brasil tem demonstrado o parasitismo natural de *A. fraterculus* por espécies nativas de braconídeos (SILVA et al. 2010; NUNES et al., 2012; TAIRA et al., 2013). Para o País, são registradas aproximadamente 13 espécies (CANAL; ZUCCHI, 2000),

dentre elas, *Doryctobracon areolatus* que parasita moscas-das-frutas em 21 espécies de frutíferas (CANAL; ZUCCHI, 2000). Segundo Ovruski et al. (2000) entre as 27 espécies de braconídeos constatadas na América Latina e Sul dos EUA, *D. areolatus* foi a espécie de maior distribuição geográfica.

Com isso, torna-se necessário ampliar, o conhecimento do potencial de controle dos parasitoides nativos, visando sua produção em laboratório para programas de controle biológico aplicado (CARVALHO; NASCIMENTO; MATRANGOLO, 2000). A possibilidade de realizar liberações aumentativas de parasitoides nativos também tem impulsionado os estudos de colonização e criação massal em condições de laboratório (CANCINO et al., 2009; ALUJA et al., 2009; GARCIA; RICALDE, 2013).

Neste contexto, estudos de biologia, fisiologia e comportamento, tanto dos estágios imaturos como dos adultos de parasitoides tem sido investigados para otimizar programas de controle biológico no exterior (LEE; HEIMPEL, 2003) e recentemente, no Brasil (GONÇALVES et al., 2013; GONÇALVES et al., 2014; GONÇALVES et al., 2016; GONÇALVES, 2016; PONCIO, 2015; PONCIO et al., 2016).

#### **2.4 Avanços nas técnicas de criação e desenvolvimento de *Anastrepha fraterculus* em dietas artificiais**

A criação da mosca-das-frutas sul-americana *A. fraterculus*, inicialmente foi realizada em dieta artificial descrita por Finney (1956) para *C. capitata* e também utilizada para a criação de *Anastrepha ludens* no México (GONZÁLEZ, 1971). Os primeiros estudos com dieta artificial para *A. fraterculus* foram realizados por González (1971), mas foi somente com o trabalho de Salles (1992) que houve avanço considerável na criação, com a utilização de fruto artificial para a obtenção dos ovos e o desenvolvimento de uma dieta artificial para o desenvolvimento larval. Embora, a técnica tenha propiciado a criação em média escala, o grande entrave à sua utilização para a produção massal estava relacionado à forma de obtenção e viabilidade dos ovos (SALLES, 1992).

Estudos realizados posteriormente com o uso de painéis para oviposição aumentou a eficiência de obtenção de ovos e, também, propiciou aumento da

viabilidade (JALDO; GRAMADO; WILLINK, 2001). Nesta linha também sucederam-se os trabalhos de Vera et al. (2007). Braga Sobrinho et al. (2006) estudaram diferentes dietas para a criação massal de larvas e adultos de *A. fraterculus* nos Laboratórios de Entomologia, Agricultura e Biotecnologia da Agência Internacional de Energia Atômica e da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação FAO/IAEA em Seibersdorf, Áustria. A dieta mais adequada para adultos foi a combinação de proteína hidrolisada de milho, hidrolisado enzimático de fermento e açúcar cristalizado na proporção de (3:1:3).

No Centro de Energia Atômica para a Agricultura (CENA) da Universidade de São Paulo (USP), foi estabelecida uma colônia de *A. fraterculus*, a partir de frutos de uvaieira (*Eugenia pyriformis* Cambess), espécie frutífera da família Myrtaceae (WALDER et al., 2008), utilizando a dieta larval descrita por Salles (1992). Fazendo algumas modificações na metodologia de criação, foi possível obter ganhos na produção. Para evitar o ressecamento e perda de viabilidade dos ovos, foi colocada uma espuma externa, paralela ao tecido siliconado e presa a uma tampa de PVC transparente, a qual foi umedecida duas vezes ao dia. Durante um período de três anos houve um aumento de 75% na viabilidade dos ovos (WALDER et al., 2008).

Flores, Hernández e Toledo (2012) propuseram mudanças nas técnicas, visando dispor de melhorias em relação à tecnologia utilizada para a criação massal tais como a seleção de painéis de oviposição (diferentes cores e texturas) além do aperfeiçoamento de dieta larval por 16 gerações.

Nunes et al. (2013) e Morelli (2013) também aperfeiçoaram a dieta de Salles (1992), obtendo sucesso na redução da quantidade de gelificante que, junto com o germe de trigo (muitas vezes importado) constituem os grandes entraves da utilização da dieta proposta por Salles (1992). Embora a dieta proporcione bom desenvolvimento larval, traz consigo altos custos de produção, o que muitas vezes pode inviabilizar a criação, dependendo da proporção com que se trabalha.

Há ainda, estudos que vêm tentando definir fontes de alimentação mais adequadas para moscas-das-frutas através do balanço nutricional, especialmente de proteínas (OVIEDO et al., 2011) e, de forma ainda mais específica, na influência de aminoácidos (CHANG, 2004). Este último autor afirma que o valor nutricional das proteínas é dependente do conteúdo dos aminoácidos essenciais.

Para a multiplicação de moscas-das-frutas e demais insetos em laboratório, é importante que se tenha uma dieta equilibrada nutricionalmente, tanto para

desenvolvimento de imaturos como para adultos. Do ponto de vista alimentar e nutricional, as substâncias normalmente requeridas pelo inseto podem ser divididas em primárias e secundárias. As primárias são aquelas que participam diretamente do metabolismo, influenciando diretamente a sobrevivência, o desenvolvimento, a reprodução e o comportamento (HSIAO, 1985). Estas substâncias são as proteínas, os carboidratos, os lipídeos, as vitaminas, os sais minerais, e para muitos autores a água.

As substâncias secundárias ou aleloquímicos, não participam do metabolismo, mas influenciam a fagoestimulação, e o aproveitamento das substâncias primárias (DADD, 1985). De acordo com Bernays (1985) para se conhecer as necessidades nutritivas de uma espécie, é importante conhecer o comportamento alimentar da mesma. Isto se deve ao fato de que os estímulos externos, e presentes nos alimentos, muitas vezes não têm relação com os aspectos nutritivos, mas são de extrema importância para que a ingestão aconteça e a maior parte dos nutrientes ofertados na alimentação sejam de fato assimilados pelo inseto.

Tendo em vista que as necessidades nutricionais dos insetos variam de acordo com a fase da vida e com fatores abióticos, se as necessidades nutricionais dos insetos não forem satisfeitas pelo alimento utilizado, eles sofrerão danos em suas atividades biológicas (CHAPMAN, 1998).

Na fase imatura, a quantidade e a qualidade dos nutrientes consumidos implicam em parâmetros como o peso de pupa, o tempo de desenvolvimento larval que tende a aumentar quando do uso de ingredientes com baixo valor nutricional para a espécie que se está trabalhando, além de afetar a sobrevivência, implicando no tamanho do adulto e a produção de óvulos nas fêmeas, em alguns casos. Na fase adulta, a nutrição é importante principalmente na produção de ovos, habilidade de cópula, sobrevivência, capacidade de dispersão e renovação cuticular (SLANSKY JUNIOR; SCRIBER, 1985; CRESONI-PEREIRA; ZUCOLOTO, 2009).

Em relação à dieta larval, os diferentes ingredientes, bem como as proporções utilizadas são decisivos no momento da sua elaboração (FLORES; HERNÁNDEZ; TOLEDO, 2012). Além desses fatores, é importante levar em consideração a consistência e palatabilidade obtidos a partir da mistura dos ingredientes, que tem impacto sobre a textura final de dieta e, finalmente, sobre o desenvolvimento larval (SINGH, 1984), pois muitas vezes o ingrediente pode afetar a locomoção das larvas e dificultar na ingestão.

## 2.5 Avaliação do controle de qualidade das dietas

O sucesso na utilização de insetos em programas de liberação à campo, constitui ponto fundamental para que técnicas de controle biológico e a TIE se difundam entre os produtores (CLARKE; MCKENZIE, 1992; PREZOTTI; PARRA, 2002). É fundamental que as atividades de produção e comercialização de insetos para programas de manejo de praga mantenham o respaldo técnico para ter credibilidade junto aos clientes e à comunidade, que ainda têm pouco acesso a essas formas de controle de pragas (PARRA, 2002).

Com isso, a criação massal de tefritídeos em uma dieta artificial é fator crítico para a posterior aplicação de programas de MIP, como a técnica do inseto estéril (GUTIÉRREZ-RUELAS et al., 2013) e também parasitoides usados para controle biológico (MONTROYA et al., 2000; ZAMEK et al., 2012; GUTIÉRREZ-RUELAS et al., 2013).

Leepla e Ashley (1989) definiram o controle de qualidade como o monitoramento e controle satisfatório do complexo processo de produção para programas de criação massal, os quais assegurem que o produto tenha qualidade razoavelmente consistente e alcance o desempenho desejado no campo. Nesse contexto, não é estritamente necessário idealizar uma qualidade máxima ou ótima, mas sim, qualidade aceitável (PREZOTTI; PARRA, 2002).

Nas criações, um dos pontos cruciais é a elaboração de dietas artificiais e as mesmas, portanto, precisam ser testadas para verificação da qualidade dos insetos, tanto em relação aos hospedeiros como aos inimigos naturais, pois a criação do hospedeiro em diferentes dietas pode afetar a qualidade do inimigo natural produzido (PARRA, 2002).

Outro fator determinante para a implementação de um programa de controle que envolva a criação de insetos é o custo, determinando a viabilidade ou não da criação de muitas espécies. Os custos elevados para implantação das biofábricas de produção massal e a baixa qualidade dos insetos produzidos são as principais limitações do controle biológico aplicado (CARVALHO; NASCIMENTO, 2002).

Para inimigos naturais, além das biofábricas avaliarem as características biológicas dos agentes de controle biológico, é importante que também seja feito, em laboratório, o controle de qualidade destes organismos produzidos massalmente.

O principal objetivo de qualquer laboratório de criação massal é a produção de um grande número de inimigos naturais para subseqüentes liberações em programas de controle biológico, o que exige um rigoroso controle com relação ao número, mas principalmente, à qualidade dos insetos liberados para que se obtenha êxito (CLARKE; MCKENZIE, 1992).

Em relação à multiplicação de parasitoides, os mesmos devem ter qualidade comparável aos insetos selvagens, tendo igual ou similar capacidade em localizar seus hospedeiros e efetuar o parasitismo, ainda que a população das moscas esteja em baixas densidades (PARRA, 2002).

A maior parte dos parâmetros de controle de qualidade utilizados para criação massal de moscas-das-frutas e parasitoides é baseada no protocolo da FAO/IAEA/USDA (2003), porém principalmente com vistas à irradiação e utilização em programas de aplicação da Técnica do Inseto Estéril, tendo em vista a larga utilização da técnica em biofábricas e laboratórios espalhados pelo mundo.

### **3 Material e métodos**

#### **3.1 Descrição das criações de manutenção**

Para o estabelecimento da criação de manutenção de *Anastrepha fraterculus* em condições de laboratório, foram coletados frutos de araçá infestados, provenientes do pomar de frutíferas nativas pertencente à Embrapa Clima Temperado (Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil), sendo anualmente introduzidos insetos selvagens na população de laboratório.

No Laboratório de Entomologia da Embrapa Clima Temperado, os frutos foram acondicionados em bandejas plásticas (19 x 13,5 x 3,5 cm) contendo vermiculita fina, os quais foram cobertos com tecido *voile* e mantidos em sala climatizada, sob condições controladas de temperatura. Com o início da pupação, diariamente, a vermiculita foi peneirada e os pupários foram transferidos para placas de Petri (9 cm de diâmetro), onde permaneceram até a emergência. Os insetos foram colocados em gaiolas de plástico (50 x 40 x 40 cm) e transferidos para sala de criação.

Nas gaiolas foram colocados frutos para obtenção de ovos e desenvolvimento larval, os quais foram deixados durante 24 horas. Logo após, foram retirados e acondicionados em recipientes plásticos (11 x 12 x 19 cm) com tampa telada para permitir aeração. Nos recipientes foi colocada uma camada de vermiculita fina para absorver o excesso de umidade, evitando contaminações e perda de insetos, além de servir como local de pupação. Por ocasião da pupação, os insetos foram retirados dos recipientes de desenvolvimento larval e colocados em placas de Petri (9 cm de diâmetro), contendo vermiculita umedecida, onde permaneceram até a emergência. Sendo assim, as primeiras gerações ocorreram em frutos de manga e mamão.

Após, os insetos foram desenvolvidos com base em técnicas padronizadas em dieta artificial para desenvolvimento larval (SALLES, 1992; NUNES et al., 2013).

A colônia de manutenção de *Doryctobracon areolatus* teve início com a coleta de frutos de araçá infestados com larvas de *A. fraterculus*, nos pomares de frutíferas nativas da Embrapa Clima Temperado. Os adultos foram mantidos em gaiolas de criação (40 x 27 x 23 cm) e alimentados com mel e água. Para a multiplicação dos parasitoides foram ofertadas larvas de segundo instar de *A. fraterculus* (6 dias de idade).

Para a multiplicação dos parasitoides para o experimento, foram ofertadas larvas de segundo instar de *A. fraterculus* (seis dias de idade) conforme metodologia de Gonçalves (2016), oriundas das diferentes dietas artificiais com modificação na fonte de proteína (moscas provenientes da 6ª geração multiplicadas nas diferentes dietas).

As larvas foram oferecidas aos parasitoides em unidade de parasitismo, composta por uma placa de acrílico (4 cm de diâmetro x 0,2 cm de altura) envolta em tecido *voile*, ajustado de tal forma que as larvas permanecessem presas. As larvas foram expostas à fêmeas de *D. areolatus* pelo período de oito horas. Em seguida foram transferidas para dieta artificial com as modificações nas fontes de proteína e, quando da formação dos primeiros pupários, procedeu-se a transferência destes para vermiculita, juntamente com as larvas que se encontravam em terceiro instar de desenvolvimento.

As criações de manutenção de *A. fraterculus* e de *D. areolatus*, bem como os experimentos foram realizados no Laboratório de Entomologia da Embrapa Clima Temperado (Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil), em salas climatizadas, com temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa do ar de  $70 \pm 20\%$  e fotofase de 12 horas. Para *A. fraterculus*, os ovos utilizados para dar início aos experimentos foram obtidos da criação realizada em dieta artificial por mais de quatro anos com base em técnicas padronizadas, conforme metodologia descrita por Salles (1992). Após, foram mantidas populações de manutenção com moscas provenientes de cada dieta, já com as alterações nas quantidades de proteína testada.

### 3.2 Desenvolvimento larval de *Anastrepha fraterculus* em diferentes dietas artificiais

Para avaliar o efeito do ingrediente proteico sobre a biologia de *Anastrepha fraterculus* foi testada uma modificação na dieta artificial para larvas apresentada por Salles (1992), correspondendo à substituição do germe de trigo (uma das fontes de proteína da dieta), utilizado como padrão na dieta, por outros ingredientes.

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, em esquema bifatorial. O fator de tratamento A foi a fonte de proteína utilizada em substituição ao germe de trigo, com três níveis [farinha de arroz integral (Volkman®), farinha de milho (Tordilho®), mistura de farinha de trigo integral (Panfácil®) + farelo de soja (Walmon®)], além do germe de trigo cru (Walmon®) considerado como testemunha, por ser a fonte de proteína padrão usada na dieta artificial do laboratório. O fator de tratamento B foram as gerações, com seis níveis. Optou-se por trabalhar com estes ingredientes após *screening* inicial realizado no laboratório de Entomologia. A quantidade de cada ingrediente foi calculada em função do balanceamento nutricional entre proteínas e carboidratos (valores apresentados nos rótulos das embalagens), tendo como base a dieta de germe de trigo, a fim de manter quantidades aproximadas dos macronutrientes nas 4 dietas, bem como a mesma quantidade total dos demais ingredientes sólidos (Tabela 1).

Tabela 1 – Ingredientes utilizados para o preparo da dieta artificial para o desenvolvimento larval de *Anastrepha fraterculus*. Composição para o preparo de 1,5 litros de dieta artificial.

Ingrediente	Quantidade			
	Germe de trigo	Farinha de arroz	Farinha de milho de milho	Farinha de trigo + Farelo de soja
Levedura de cerveja	90g	130g	130g	100g
Açúcar refinado	90g	30g	40g	40g
Ágar	4,5g	4,5g	4,5g	4,5g
Benzoato de sódio	1,5g	1,5g	1,5g	1,5g
Nipagin (metilparahidroxibenzoato)	12mL	12mL	12mL	12mL
Ácido clorídrico (37%)	10mL	10mL	10mL	10mL
Água destilada	1000mL	1000mL	1000mL	1000mL
Germe de trigo cru	90g	-	-	-
Farinha de arroz	-	110g	-	-
Farinha de milho	-	-	100g	-
Farinha de trigo + Farelo de soja	-	-	-	100 + 30g

Para o preparo da dieta artificial foram colocados em liquidificador os ingredientes sólidos, tais como o açúcar refinado, levedura de cerveja Brewcell™ (Biorigin), fonte proteica correspondente a cada tratamento e benzoato de sódio (Synth®) (1,5 g), com 1000 mL de água destilada, 12 mL de Nipagin™ (metilparahidroxibenzoato) (Synth®), diluído a 10% em álcool etílico e 10 mL de ácido clorídrico concentrado a 37% (Vetec®). Em seguida, os ingredientes foram homogeneizados por 30 segundos. O ágar bacteriológico (Vetec®) (4,5 g) foi dissolvido em 200 mL de água destilada e levado ao fogo, sendo homogeneizado constantemente até levantar fervura. Esse foi acrescentado aos demais ingredientes no liquidificador e agitado por mais dois minutos, até a homogeneização final (SALLES, 1992).

Após o preparo da dieta, a mesma foi distribuída em recipientes plásticos (400 mL) com tampa perfurada. Em cada recipiente foram colocados 150 mL de dieta e após 24 horas foram inoculados, separadamente, 0,2 mL de uma mistura homogênea de água e ovos de *A. fraterculus* ( $\pm 2.340$  ovos) sobre papel filtro, com 10 repetições. Os recipientes foram acondicionados em sala climatizada, observados diariamente e, no momento da formação dos primeiros pupários, as larvas de terceiro instar foram separadas da dieta por lavagem em água corrente,

utilizando-se uma peneira para retenção das mesmas. Estas foram transferidas para recipientes contendo vermiculita fina. Após 24 horas, 100 pupários de cada repetição foram separados. Estes foram retirados por peneiramento e pesados em balança analítica de precisão (Shimadzu do Brasil, modelo AUY 220). Em seguida foram acondicionados em novos recipientes a fim de avaliar o percentual de emergência, permitindo assim, calcular a viabilidade de pupa (%). A razão sexual (rs) foi calculada através da fórmula descrita por Silveira Neto et al. (1976).

O teste de vôo seguiu os critérios propostos pela FAO/IAEA/USDA (2003). Sendo assim, 300 pupários foram separados (24 horas antes da emergência), totalizando três repetições com 100 pupários a fim de avaliar a habilidade de vôo. Esses pupários foram colocados em uma placa de Petri, no interior de um tubo preto (9 cm de diâmetro x 10 cm de altura). A parte interna do tubo, lisa, foi revestida com uma fina camada de talco neutro, com distância de aproximadamente 1,5 cm acima da parte inferior do tubo também para fornecer local de repouso para moscas recém-emergidas. Os tubos foram colocados individualmente dentro de gaiolas plásticas (45,7 x 32,6 x 28 cm) com tecido *voile* nas laterais. Após o início da emergência, as gaiolas foram mantidas próximas a lâmpadas para estimular as moscas a voarem. No interior das gaiolas foram colocadas tiras amarelas com adesivo para atrair e capturar as moscas voadoras e, com isto, evitar que retornassem ou caíssem dentro dos tubos novamente. As moscas que saíram dos tubos foram contadas como voadoras e o material que permaneceu no interior dos tubos, foi classificado de acordo as seguintes categorias: 1) não emergidas (pupas cheias); 2) semi-emergidas (parte do adulto preso ao pupário); 3) deformadas (moscas com asas deformadas); e, 4) não voadoras (moscas que parecem normais, mas não são capazes de voar). Os resultados foram expressos em percentual.

Também foram avaliadas as durações dos períodos ovo-larva, pupa e ovo-adulto e os resultados expressos em dias. Para determinar os parâmetros biológicos correspondentes aos adultos, oito repetições (gaiolas) com 50 casais de cada tratamento foram montadas. Estes casais foram colocados em gaiolas de plástico transparente (26,2 x 17,7 x 14,7 cm), possuindo um painel de tecido *voile* vermelho em uma das partes, coberto com fina camada de silicone para estimular a oviposição.

Os insetos adultos foram alimentados com dieta sólida composta por açúcar, germe de trigo e levedura (Bionys YEMF e YENS), na proporção de 3:1:1,

respectivamente, disponibilizada em recipientes de plástico (80 mL). Também foi fornecida água por capilaridade em recipientes semelhantes, por meio de algodão hidrófilo.

Diariamente, foram realizadas coletas de ovos por um período de 10 dias, contados a partir do período de pré-oviposição. Após as coletas, os ovos foram dispostos em papel filtro com auxílio de uma pipeta de Pasteur e registrados digitalmente por meio de fotografias para posterior contagem no programa *Paint*, visando determinar a fecundidade e conseqüentemente o período de pré-oviposição, expresso em dias.

Para a avaliação da viabilidade de ovos foi retirada uma amostra de 50 ovos da quinta postura de cada gaiola, com auxílio de pincel. Estes ovos foram colocados sobre papel filtro previamente disposto sobre pano esponja vegetal umedecido, no interior de placas de acrílico, as quais foram mantidas em câmara climatizada, com temperatura de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  até a eclosão, onde foi registrado o número de larvas. Nesse mesmo período e seguindo até o sétimo dia de oviposição, tanto os ovos provenientes das gaiolas do experimento quanto das gaiolas da criação de manutenção, foram coletados e inoculados nas dietas artificiais correspondentes para dar seqüência às próximas gerações (criação de manutenção).

Para avaliar a longevidade sob estresse, foram montadas quatro gaiolas (copos de 1000 mL possuindo na parte superior orifícios cobertos por tecido *voile*) contendo 20 machos (com 24 horas de idade) e, igualmente, quatro gaiolas contendo 20 fêmeas na mesma condição para cada tratamento. Os insetos foram mantidos sem alimento e sem água. Diariamente foi avaliada a mortalidade para determinar a longevidade de machos e fêmeas.

### **3.3 Caracterização nutricional e custo das dietas artificiais**

As amostras para a caracterização nutricional das dietas com alterações nas fontes proteicas foram obtidas de dietas artificiais preparadas conforme descrito por Nunes et al. (2013). Amostras das quatro dietas compostas por farinha de arroz integral (Volkman®), farinha de milho (Tordilho®), farinha de trigo (Panfácil®) + farelo de soja (Walmon®) e também da dieta padrão com germe de trigo (Walmon®) foram acondicionadas em tubos tipo falcon (50 mL) em duas repetições para cada

tratamento e encaminhadas ao Laboratório de Cromatografia Líquida da Embrapa Agroindústria de Alimentos (Rio de Janeiro, Brasil).

A caracterização nutricional das dietas artificiais utilizadas neste trabalho foi proveniente das informações obtidas sobre a composição centesimal e perfil de aminoácidos das amostras. A análise centesimal foi composta por teor de proteína, umidade, cinzas, gordura e carboidratos. A determinação da taxa de umidade foi realizada pelo método gravimétrico. As amostras foram pesadas em pesa filtro tarado e levado à estufa a 100°C por no mínimo 4h. Após este tempo, as amostras foram retiradas da estufa, colocadas em dessecador para resfriamento e posterior pesagem. A operação foi repetida por aproximadamente 1h, até ser alcançado o peso constante. O método utilizado foi 931.04, AOAC - Association of Official Analytical Chemists, 18 ed., 3ª rev, 2010.

O resíduo mineral fixo ou cinzas, por sua vez, consistiu na destruição da matéria orgânica por queima em Mufla a temperatura de 550°C, com posterior pesagem do resíduo obtido. Método utilizado: 923.03, AOAC.

A quantificação da proteína foi obtida através da determinação do nitrogênio total. O método utilizado foi o Kjeldahl, que se baseia na digestão da amostra com ácido sulfúrico concentrado até que o carbono e o hidrogênio sejam oxidados. O nitrogênio da proteína foi reduzido e transformado em sulfato de amônia. Adicionou-se hidróxido de sódio e aqueceu-se para a liberação da amônia dentro de um volume conhecido de solução de ácido bórico. O borato de amônia formado foi, por sua vez, dosado com ácido sulfúrico 0,05M. O valor de nitrogênio obtido precisou ser multiplicado por fator específico da matriz para transformação no valor da respectiva proteína. O método utilizado foi: 2001.11 modificado, AOAC.

A gordura foi determinada por equipamento automático que realiza a extração da gordura da amostra por solvente (éter de petróleo). Esta determinação foi baseada conforme descrito no Método oficial da AOCS Am 5-04 (Extrator automático de gordura).

O valor do carboidrato foi calculado por diferença:  $100 - (\text{proteína} + \text{umidade} + \text{cinzas} + \text{gordura})$  resultando nos carboidratos totais.

Em relação ao perfil de aminoácidos, a análise foi realizada de acordo com o método AOAC 994.12/2000 e Liu et al. (1995).

Para a análise de custo dos ingredientes utilizados para o preparo de 1,5 litros da dieta artificial para o desenvolvimento larval de *A. fraterculus* foi realizado

mediante contato com os fornecedores de cada produto e fazendo relação do preço com a quantidade de cada ingrediente.

### **3.4 Desenvolvimento de *Doryctobracon areolatus* em larvas de *Anastrepha fraterculus* oriundas de diferentes dietas artificiais**

Para o estudo da qualidade de *Doryctobracon areolatus*, emergidos das larvas de *Anastrepha fraterculus* criadas em dietas artificiais com diferentes fontes proteicas, foram utilizados 20 casais com 24 horas de idade. Os insetos foram mantidos em gaiolas de copos plásticos (300 mL) revestidas na parte superior com tecido *voile*. Os parasitoides foram alimentados com mel, disposto sob a forma de uma gotícula sobre Parafilm®. Também foi fornecida água por capilaridade em tubos de vidro (5 mL), por meio de roletes de algodão hidrófilo.

Um dia após a formação dos casais e, por um período de 12 dias (maior período de parasitismo) (GONÇALVES, 2016), foram oferecidas 30 larvas de segundo instar de *A. fraterculus* para cada fêmea de *D. areolatus*. As larvas foram oferecidas em uma unidade de parasitismo composta por uma placa de acrílico (1,7 cm de diâmetro x 0,1 cm de altura) contendo dieta à base de polpa de goiaba, água e ágar, envolta por tecido *voile*. As mesmas foram colocadas no piso interior das gaiolas, permitindo assim o parasitismo. Diariamente, uma unidade de parasitismo foi preparada, da mesma forma às anteriores e mantida nas mesmas condições, porém não ofertada às fêmeas, servindo como controle.

Após 24 horas de exposição, as larvas foram transferidas, com auxílio de pincel, para frascos de acrílico (4 cm de diâmetro x 4,5 cm de altura) contendo 20 mL de dieta artificial (NUNES et al., 2013) com as respectivas alterações de ingredientes, onde permaneceram até a formação dos primeiros pupários. As larvas foram separadas da dieta artificial por lavagem em água corrente, com auxílio de uma peneira para sua retenção e, posteriormente, transferidas para frascos de acrílico (2,5 cm de diâmetro x 4,5 cm de altura) contendo uma fina camada de vermiculita para absorver a umidade. Os pupários permaneceram nestes frascos, em salas climatizadas, até a emergência e caso a mesma não tenha ocorrido, os pupários foram dissecados para verificar a presença de parasitoides e/ou moscas.

O experimento foi conduzido em delineamento completamente casualizado, em esquema unifatorial com 20 repetições. O fator de tratamento foi larvas de *A.*

*fraterculus* criadas em dieta artificial com diferentes fontes de proteínas, com três níveis (farinha de arroz integral (Volkman®), farinha de milho (Tordilho®), farinha de trigo integral (Panfácil®) + farelo de soja (Walmon®), além do germe de trigo cru (Walmon®) considerado como testemunha, por ser a fonte de proteína padrão usada na dieta artificial do laboratório. Cada unidade experimental foi caracterizada por um casal de *D. areolatus*.

Os parâmetros biológicos avaliados foram número de descendentes/fêmea, percentual de emergência, razão sexual, duração do período ovo-adulto, comprimento da tibia posterior, peso de adultos e longevidade de machos e fêmeas.

O número de descendentes (ND) foi obtido pela equação:

$$ND = \text{número de parasitoides emergidos} + \text{número de parasitoides não emergidos}$$

Para a determinação do percentual de emergência foi utilizada a seguinte equação:

$$E\% = \frac{\text{número de parasitoides emergidos} \times 100}{\text{número total de descendentes}}$$

A razão sexual (rs) foi calculada através da fórmula descrita por Silveira Neto et al. (1976). Diariamente foram realizadas observações para determinar a data de emergência dos parasitoides, registrando assim, a duração do período ovo-adulto, porém esse valor foi contabilizado a partir da inoculação dos ovos na dieta. Assim que iniciaram as emergências, os frascos foram vistoriados, sendo que 50 adultos de cada sexo para cada tratamento foram separados e pesados com 48 horas. Para determinar o peso corporal utilizou-se balança de precisão (Shimadzu, AUY 220). Também foi aferido o tamanho da tibia dos parasitoides, utilizando microscópio estereoscópio Zeiss com ocular graduada e aumento de 4x. Para determinação da longevidade, foi registrada a mortalidade diariamente, dos 20 casais formados.

### 3.5 Análise dos dados

Os dados relacionados ao desenvolvimento de *A. fraterculus* foram testados quanto a normalidade pelo teste de Shapiro Wilk; à homocedasticidade pelo teste de Hartley e a independência dos resíduos por análise gráfica. Na sequência, os dados

foram submetidos à análise de variância através do teste F ( $p \leq 0,05$ ). Constatando-se significância estatística, os efeitos das fontes de proteínas e das gerações foram avaliados pelo teste de Waller-Duncan ( $p \leq 0,05$ ) e a comparação com a testemunha (germe de trigo) foi realizada pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ). A longevidade dos adultos de *A. fraterculus* foi analisada por meio da construção das curvas de sobrevivência utilizando o estimador de Kaplan-Meier, as quais foram comparadas pelo teste de log-rank (R Development Core Team, 2015).

Análise conjunta com todas as avaliações foi realizada por análise multivariada com o uso do método de componentes principais objetivando comparar o desempenho das fontes proteicas. A análise de componentes principais (PCA) foi extraída a partir de uma matriz de correlação dos grupos de variáveis dependentes. Dessa forma, a informação contida nas variáveis originais foi projetada em número menor de variáveis subjacentes chamadas de Componentes Principais (PCs). O critério para descarte de variáveis (PCs) utilizado foi recomendado por Jolliffe (2002), esse critério estabelece que se deve reter um número de componentes principais que contemple pelo menos, entre 70 e 90% da variação total. Após a seleção do número de PCs, foram obtidos os seus respectivos autovalores, com seus correspondentes autovetores. O procedimento gráfico adotado foi o *biplot*, a partir dos escores e das cargas dos componentes principais selecionados. A presença de correlações entre as variáveis dependentes do estudo foi analisada através do coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ) ( $p \leq 0,05$ ).

Da mesma forma os dados dos parasitoides foram verificados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk; à homocedasticidade pelo teste de Hartley e a independência dos resíduos por análise gráfica. Na sequência, os dados foram submetidos à análise de variância através do teste F ( $p \leq 0,05$ ). Constatando-se significância estatística, os efeitos das fontes de proteínas foram avaliados pelo teste de Waller-Duncan ( $p \leq 0,05$ ) e a comparação com a testemunha (germe de trigo) foi realizada pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ). A longevidade dos parasitoides foi analisada por meio da construção das curvas de sobrevivência utilizando o estimador de Kaplan-Meier, as quais foram comparadas pelo teste de log-rank (R Development Core Team, 2015).

## 4 Resultados e discussão

### 4.1 Desenvolvimento larval de *Anastrepha fraterculus* em diferentes dietas artificiais

Para os períodos ovo-larva ( $F = 9,84$ ;  $GL = 15$ ;  $p < 0,0001$ ), pupa ( $F = 18,65$ ;  $GL = 15$ ;  $p < 0,0001$ ), ovo-adulto ( $F = 21,46$ ;  $GL = 15$ ;  $p < 0,0001$ ), pré-oviposição ( $F = 6,23$ ;  $GL = 15$ ;  $p < 0,0001$ ) e fecundidade ( $F = 4,25$ ;  $GL = 15$ ;  $p < 0,0001$ ) foi verificada significância para interação entre os fatores de tratamento testados (fonte de proteína e gerações) (Tabela 2).

No período que compreende o desenvolvimento ovo-larva, a maior duração foi obtida quando utilizada a dieta contendo farinha de trigo + farelo de soja, para as seis gerações. Comparando com a testemunha, as dietas que foram elaboradas com farinha de arroz e milho, não diferiram do germe de trigo nas gerações 1, 2, 5 e 6; enquanto que, para a quarta geração apenas a farinha de milho não apresentou diferença considerada significativa. Para o fator geração, observou-se que os maiores valores de duração do período ovo-larva foram registrados na quinta geração quando se utilizou farinhas de arroz e milho e na quarta e quinta gerações quando a dieta foi elaborada com a mistura de farinha de trigo + farelo de soja (Tabela 2).

De acordo com Chapman, Simpson e Douglas (2013), a fase larval, representa uma fase de crescimento definida onde 90% da massa corporal adulta é acumulada. Isso permite que a duração do desenvolvimento seja adaptada para otimizar o progresso ao longo de um padrão nutricional (SIMPSON; RAUBENHEIMER, 2007) para alcançar um fenótipo adulto estável. Isso sugere que a proteína é nutriente-chave durante a fase larval (NASH; CHAPMAN, 2014), uma vez que a duração do desenvolvimento aumentou em larvas criadas em dietas com farinha de trigo + farelo de soja, o que remete à uma fonte de nutriente que

possivelmente apresenta difícil assimilação pelo inseto na fase imatura. Esses resultados estão de acordo com estudos anteriores que manipularam proteínas para otimizar o processo de criação em massa de diferentes espécies de Tephritidae (NESTEL; NEMNY-LAVY, 2008; OVIEDO et al., 2011; NASH; CHAPMAN, 2014).

Para o estágio de pupa de *A. fraterculus*, a dieta contendo farinha de trigo + farelo de soja apresentou novamente os maiores valores de duração, não diferindo das demais dietas, com exceção da sexta geração. A dieta com farinha de trigo + farelo de soja diferiu da testemunha nas gerações 1 a 5. Considerando o efeito das gerações dentro das dietas testadas, a geração 2 diferiu das demais quando utilizada a dieta com farinha de arroz e, na farinha de milho, as gerações 3 e 4 não diferiram entre si, mas caracterizaram diferenças em relação às gerações 1, 2, 5 e 6. (Tabela 2).

A maior duração para o período ovo-adulto foi observada quando as larvas de *A. fraterculus* se desenvolveram em dietas contendo a combinação farinha de trigo + farelo de soja, em todas as gerações avaliadas. Quando comparado com a testemunha, as dietas com farinha de arroz e farinha de milho apenas diferiram significativamente na geração 2. A dieta contendo farinha de trigo + farelo de soja diferiu da testemunha em todas as gerações. A quarta geração diferiu das demais com o uso desta mesma dieta. Entretanto, na quinta geração, os valores que diferiram foram os relacionados à dieta com farinha de arroz e farinha de milho (Tabela 2).

Nunes et al. (2013), trabalhando com a dieta larval contendo germe de trigo obtiveram valores inferiores (23,80 dias) para a duração do período ovo-adulto. Os mesmos autores utilizando extrato de soja para dieta de adultos reportaram valores (24,33 dias) novamente inferiores para esse parâmetro.

Fêmeas de *A. fraterculus* mantidas durante a fase larval em dieta artificial com farinha de milho apresentaram maior período de pré-oviposição nas gerações 1 e 4, além das gerações 5 e 6, porém nestas duas últimas não diferindo da farinha de arroz. Na geração 2 não foram verificadas diferenças significativas entre as fontes de proteína e, na terceira geração, o maior valor esteve associado à dieta contendo farinha de trigo + farelo de soja. Fazendo um comparativo com o germe de trigo (testemunha), foram verificadas diferenças significativas para as dietas com farinha de arroz na primeira geração; a farinha de milho apresentou diferença significativa apenas na quarta geração e a mistura farinha de trigo + farelo de soja apontou

diferenças nas gerações 1, 3, 5 e 6. O uso da farinha de arroz na composição da dieta larval não demonstrou diferenças entre as gerações. As gerações 1 e 4 obtiveram o mesmo comportamento para farinha de milho. (Tabela 2).

A dieta contendo farelo de soja como um dos componentes neste trabalho apresentou valores médios para o período de pré-oviposição (intervalo de 7,37 a 9,62 dias) próximos ao relatado por González (1971) com adultos alimentados com dieta composta por extrato de soja, onde o período de pré-oviposição foi de 8,0 dias. Esse valor também é próximo aos obtidos nas demais dietas deste trabalho, com exceção de algumas situações onde a duração desse período se estendeu até os 10,37 e 11,12 dias. Flores, Hernández e Toledo (2012) trabalhando com a dieta de *A. ludens* contendo farinha de milho para *A. fraterculus* em 16 gerações, reportaram que as fêmeas começaram a oviposição aos oito dias de idade, aproximadamente, valor próximo em algumas situações, mas inferior em outras gerações para esse mesmo ingrediente neste trabalho.

Ao analisar os dados de fecundidade, levando-se em consideração os tratamentos sem a testemunha, observou-se que de uma maneira geral, as fêmeas oriundas da dieta contendo farinha de arroz foram mais fecundas em relação aos demais, com exceção para as duas últimas gerações, onde não se verificou diferença significativa para as dietas. Em relação à testemunha, foram verificadas diferenças significativas para a mistura de ingredientes na terceira geração e, para todas as dietas testadas nas gerações 4 e 6. Na comparação entre as gerações, a segunda geração diferiu das demais com o uso das dietas a base de farinha de arroz e milho; a mistura farinha de trigo + farelo de soja caracterizou os maiores valores nas gerações 5 e 6 (Tabela 2).

Braga Sobrinho et al. (2009), trabalhando com dietas para adultos, obteve praticamente o dobro do valor de fecundidade (ovo/fêmea/dia) para a dieta contendo proteína hidrolisada de milho em comparação à presença de soja na dieta. Nunes et al. (2013), utilizando germe de trigo na dieta de adultos, reportaram valores três vezes maiores para fecundidade diária e total em relação à utilização de extrato de soja.

Tabela 2 - Duração (dias) dos períodos ovo-larva, pupa, ovo-adulto e pré-oviposição (dias) e da fecundidade de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína para seis gerações. Temperatura de 25±1°C, umidade relativa do ar de 70±20% e fotofase de 12h.

Fonte de proteína	Gerações					
	1	2	3	4	5	6
	Ovo-larva (dias)					
Germe de trigo (testemunha)	13,00±0,001	14,00±0,001	12,00±0,001	15,00±0,001	15,50±0,224	14,70±0,213
Farinha de arroz	13,00±0,001 bD <sup>1/</sup> ns	14,00±0,001 bC ns	13,00±0,001 cD *	14,00±0,002 cC *	15,80±0,290 bA ns	14,40±0,163 bB ns
Farinha de milho	13,00±0,002 bD ns	14,00±0,002 bC ns	14,00±0,002 bC *	15,00±0,001 bB ns	15,70±0,213 bA ns	14,30±0,260 bC ns
Farinha de trigo + farelo de soja	15,00±0,002 aC *	15,60±0,163 aC *	16,50±0,341 aB *	18,50±0,167 aA *	18,00±0,394 aA *	16,80±0,467 aB *
	Pupa (dias)					
Germe de trigo (testemunha)	15,60±0,163	14,40±0,163	16,30±0,153	14,00±0,298	15,90±0,348	15,30±0,335
Farinha de arroz	15,40±0,162 bA ns	13,70±0,153 cB *	15,30±0,153 bA *	15,30±0,153 bA *	14,90±0,378 bA ns	15,10±0,378 aA ns
Farinha de milho	15,60±0,163 bA ns	15,80±0,133 bA *	14,40±0,163 cB *	14,40±0,163 cB ns	15,60±0,427 bA ns	15,50±0,224 aA ns
Farinha de trigo + farelo de soja	17,00±0,001 aC *	20,00±0,001 aA *	18,20±0,133 aB *	18,50±0,167 aB *	17,90±0,407 aB *	15,60±0,400 aD ns
	Ovo-adulto (dias)					
Germe de trigo (testemunha)	28,60±0,163	28,40±0,163	28,30±0,153	29,00±0,298	31,40±0,221	30,00±0,298
Farinha de arroz	28,40±0,163 bC ns	27,70±0,153 cD *	28,30±0,153 bC ns	29,30±0,153 bB ns	30,70±0,213 bA ns	29,50±0,341 bB ns
Farinha de milho	28,60±0,163 bC ns	29,80±0,133 bB *	28,40±0,163 bC ns	29,40±0,163 bB ns	31,30±0,300 bA ns	29,80±0,200 bB ns
Farinha de trigo + farelo de soja	32,00±0,001 aD *	35,60±0,163 aB *	34,70±0,335 aC *	37,00±0,001 aA *	35,90±0,433 aB *	32,40±0,427 aD *
	Pré-oviposição (dias)					
Germe de trigo (testemunha)	11,12±0,693	8,57±0,428	8,38±0,263	8,87±0,350	8,50±0,189	8,12±0,125
Farinha de arroz	8,50±0,380 bA *	8,00±0,189 aA ns	8,12±0,125 bA ns	8,00±0,267 cA ns	8,50±0,189 aA ns	8,37±0,183 aA ns
Farinha de milho	11,12±0,934 aA ns	8,38±0,183 aB ns	8,25±0,164 bB ns	10,37±0,183 aA *	8,38±0,183 aB ns	8,50±0,189 aB ns
Farinha de trigo + farelo de soja	8,00±0,267 bC *	7,62±0,375 aC ns	9,62±0,263 aA *	8,75±0,164 bB ns	7,62±0,183 bC *	7,37±0,183 bC *
	Fecundidade (10 dias)					
Germe de trigo (testemunha)	369,07±49,50	717,29±123,29	433,17±15,47	731,01±28,61	641,07±41,74	835,99±47,00
Farinha de arroz	509,26±66,99 aB ns	977,15±104,26 aA ns	521,20±58,92 aB ns	638,79±17,95 aB *	660,87±13,67 aB ns	628,54±39,65 aB *
Farinha de milho	358,11±76,65 abC ns	710,42±63,74 bA ns	345,44±45,08 bC ns	569,02±21,16 bB *	558,16±44,68 aB ns	533,41±32,25 aB *
Farinha de trigo + farelo de soja	284,97±35,81 bC ns	423,61±56,06 cB ns	188,34±10,89 cD *	349,64±19,20 cBC *	647,58±37,07 aA ns	624,47±29,33 aA *

<sup>1/</sup> Médias (± erro padrão) seguidas por mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Waller-Duncan (p≤0,05) comparando as fontes de proteína em cada geração e as gerações em cada fonte de proteína, respectivamente. \*, ns Significativo e não significativo, respectivamente, em relação à testemunha (germe de trigo) pelo teste de Dunnett (p≤0,05).

Para peso de pupários ( $F = 31,96$ ;  $GL = 15$ ;  $p < 0,0001$ ) foi verificada significância para interação entre os fatores de tratamento testados (fonte de proteína e gerações). Diferenças significativas foram observadas entre os tratamentos, sem a testemunha, em todas as gerações, com exceção da primeira geração, onde a farinha de arroz e a farinha de milho não diferiram entre si e, assim, caracterizaram os maiores pesos. Nas demais gerações, o maior peso esteve associado à dieta a base de farinha de milho. Em relação à dieta testemunha contendo germe de trigo, não foram observadas diferenças com a dieta de farinha de trigo + farelo de soja na terceira geração; na quarta e sexta gerações para farinha de milho e, na quinta geração, para a farinha de arroz. Na comparação entre as gerações, a terceira geração proporcionou os maiores valores para todas as dietas testadas, não diferindo da quinta e sexta gerações para farinha de milho e da sexta geração para farinha de arroz (Tabela 3).

Silva Neto, Dias e Joachim-Bravo (2012) verificaram que fêmeas de *C. capitata* apresentaram preferência para cópula com machos maiores, indicando que o tamanho pode refletir na competitividade reprodutiva do adulto. A faixa de valores obtidos para peso de pupários oriundos de dieta contendo farinha de trigo + farelo de soja corroboram aos valores encontrados por Dias (2015) e Nunes et al. (2013) (15, 74 e 15, 33 mg, respectivamente) utilizando a dieta artificial com germe de trigo para desenvolvimento larval de *A. fraterculus*. Já González (1971) relatou valores na faixa de 18,0 mg, próximos aos encontrados neste trabalho para as dietas com farinha de arroz e farinha de milho. Flores, Hernández e Toledo (2012), trabalhando com dieta adaptada de *A. ludens* e *A. obliqua* contendo proporções diferentes de farinha de milho para *A. fraterculus* obtiveram valores de peso de pupa de 16,7 e 14,2, respectivamente, valores esses inferiores aos obtidos para a dieta contendo farinha de milho neste trabalho (Tabela 3).

Para razão sexual não ocorreu significância para interação entre os fatores de tratamento ( $F = 1,38$ ;  $GL = 15$ ;  $p = 0,1618$ ), nem para os efeitos de fonte de proteína ( $F = 0,33$ ;  $GL = 3$ ;  $p = 0,8059$ ) e gerações ( $F = 0,63$ ;  $GL = 5$ ;  $p = 0,6755$ ) (Tabela 3), mostrando que as dietas não influenciaram a sobrevivência de machos e fêmeas. Para a mesma espécie e para outras como *C. capitata* e *A. grandis*, a razão sexual também é próxima de 0,5 (SILVA et al., 2007; NUNES et al., 2013; BOLZAN et al., 2015), demonstrando que a proporção sexual deste grupo de insetos é de uma fêmea para um macho, aproximadamente.

Tabela 3 - Peso de pupários (mg) e razão sexual de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína para seis gerações. Temperatura de 25±1°C, umidade relativa do ar de 70±20% e fotofase de 12h.

Fonte de proteína	Gerações					
	1	2	3	4	5	6
	Peso de pupários (mg)					
Germe de trigo (testemunha)	18,55±0,08	17,42±0,06	16,78±0,06	17,95±0,06	18,36±0,19	19,30±0,17
Farinha de arroz	18,13±0,06 aB <sup>1/</sup> *	18,01±0,06 bBC *	18,73±0,06 bA *	17,35±0,06 bD *	17,91±0,06 bC <sup>ns</sup>	18,64±0,06 bA *
Farinha de milho	18,09±0,06 aC *	18,65±0,05 aB *	19,04±0,05 aA *	17,95±0,09 aC <sup>ns</sup>	18,95±0,05 aA *	19,14±0,23 aA <sup>ns</sup>
Farinha de trigo + farelo de soja	16,05±0,08 bB *	15,11±0,06 cCD *	16,68±0,13 cA <sup>ns</sup>	14,95±0,07 cD *	15,26±0,22 cCD *	15,45±0,16 cC *
	Razão sexual <sup>NS</sup>					
Germe de trigo (testemunha)	0,56±0,01	0,52±0,10	0,51±0,09	0,53±0,03	0,57±0,02	0,58±0,02
Farinha de arroz	0,53±0,02	0,54±0,03	0,65±0,05	0,54±0,02	0,53±0,01	0,52±0,03
Farinha de milho	0,54±0,01	0,61±0,07	0,52±0,02	0,52±0,02	0,53±0,01	0,58±0,02
Farinha de trigo + farelo de soja	0,49±0,03	0,52±0,14	0,55±0,02	0,61±0,02	0,58±0,02	0,64±0,01

<sup>1/</sup> Médias (± erro padrão) seguidas por mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Waller-Duncan ( $p \leq 0,05$ ) comparando as fontes de proteína em cada geração e as gerações em cada fonte de proteína, respectivamente. \*, <sup>ns</sup> Significativo e não significativo, respectivamente, em relação à testemunha (germe de trigo) pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ). <sup>NS</sup>: não significância pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ) da análise de variância.

Para viabilidade das fases de ovo ( $F = 4,00$ ;  $GL = 15$ ;  $p < 0,0001$ ) e de pupa ( $F = 8,64$ ;  $GL = 15$ ;  $p < 0,0001$ ) foi verificada significância para interação entre os fatores de tratamento testados (fonte de proteína e gerações) (Tabela 4).

Para viabilidade de ovo (taxa de eclosão), na comparação entre as fontes de proteína, em todas as gerações, as dietas a base de farinha de arroz e milho apresentaram os maiores percentuais de sobrevivência. Apenas na sexta geração, não foram observadas diferenças significativas para as dietas testadas. Com relação à comparação com o germe de trigo (testemunha), as dietas com farinha de arroz e farinha de milho não diferiram significativamente ao longo das gerações, com exceção da farinha de arroz na sexta geração. A dieta com farinha de trigo + farelo de soja apenas não diferiu da testemunha apenas na sexta geração. Na comparação entre gerações, a quinta geração apresentou os maiores percentuais de viabilidade de ovos para a farinha de milho, não diferindo das gerações 3 e 4 (Tabela 4).

De acordo com Morelli (2013), a viabilidade de ovos de *A. fraterculus* apresentou dois aumentos significativos ao longo de várias gerações de estudo: um entre a 13<sup>a</sup> e 18<sup>a</sup> gerações e outro entre a 25<sup>a</sup> e 30<sup>a</sup>. O primeiro aumento foi obtido pelo acréscimo do germe de trigo cru na dieta de adultos, e o segundo pela substituição da fonte proteica na dieta dos adultos. Somente a partir da 43<sup>a</sup> geração, atingiu-se um valor médio acima de 75%. Resilva, Obra e Chang (2014) trabalhando com *Bactrocera philippinensis* Drew e Hancock (Diptera: Tephritidae) em dieta líquida por 12 gerações também relataram amplas faixas de variações, entorno de 41,6 e 86,6% para percentual de eclosão de ovos.

Para viabilidade de pupa (percentual de emergência), na segunda e quarta gerações os maiores valores de emergência caracterizaram as farinhas de arroz e milho; a farinha de milho também proporcionou maior percentual na quinta geração. Fazendo a comparação com a testemunha, na quarta e sexta gerações, não foram verificadas diferenças significativas entre as fontes de proteína sobre a emergência dos insetos; na primeira e quinta gerações apenas a farinha de arroz não apresentou diferença significativa. A primeira geração obteve os maiores percentuais na dieta com farinha de arroz, bem como a quinta geração na dieta com farinha de milho e a sexta geração com a dieta de farinha de trigo + farelo de soja (Tabela 4).

O fato de todos os tratamentos inclusive o controle apresentarem valores baixos de emergência descarta a possibilidade deste, estar relacionado à fonte de proteína. O mesmo fato também pode ser visualizado nos ensaios para teste de vôo,

onde o percentual de insetos voadores foi baixo na segunda geração (Tabela 5). Porém, os valores obtidos para viabilidade da fase de pupa nesse trabalho são, em algumas situações, próximos aos reportados por Vera et al. (2007) e Walder et al. (2008), onde os autores obtiveram uma taxa de emergência de insetos acima de 80%.

Tabela 4 - Viabilidade (%) das fases de ovo e pupa de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína para seis gerações. Temperatura de 25±1°C, umidade relativa do ar de 70±20% e fotofase de 12h.

Fonte de proteína	Gerações					
	1	2	3	4	5	6
	Fase de ovo (%)					
Germe de trigo (testemunha)	66,25±1,91	53,71±5,80	65,75±6,72	69,75±4,06	68,00±2,56	51,25±4,31
Farinha de arroz	62,50±3,20 aB <sup>1/</sup> ns	48,00±3,85 aC ns	71,50±4,15 aA ns	66,75±3,42 aAB ns	65,25±2,10 aAB ns	37,25±2,03 aD *
Farinha de milho	56,50±2,94 aB ns	44,25±2,52 aC ns	68,25±3,73 aA ns	68,75±2,33 aA ns	69,00±4,84 aA ns	48,25±5,31 aBC ns
Farinha de trigo + farelo de soja	27,00±4,28 bC *	29,25±6,14 bC *	31,00±2,85 bBC *	31,00±4,90 bBC *	50,00±3,07 bA *	43,25±3,14 aAB ns
	Fase de pupa (%)					
Germe de trigo (testemunha)	83,60±1,89	8,20±3,76	6,60±2,78	48,90±6,75	57,30±6,02	77,20±2,41
Farinha de arroz	77,40±1,23 aA ns	17,60±2,99 aD *	21,90±4,83 cD *	54,70±2,64 abC ns	58,00±3,18 cBC ns	65,60±5,74 bB ns
Farinha de milho	63,70±2,22 bC *	11,90±2,15 aE ns	38,60±2,49 bD *	66,20±2,48 aC ns	82,70±1,62 aA *	73,30±2,44 bB ns
Farinha de trigo + farelo de soja	68,70±6,87 abB *	1,60±0,58 bD ns	52,40±6,36 aC *	46,80±7,99 bC ns	74,10±3,42 bB *	87,90±2,16 aA ns

<sup>1/</sup> Médias (± erro padrão) seguidas por mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Waller-Duncan (p≤0,05) comparando as fontes de proteína em cada geração e as gerações em cada fonte de proteína, respectivamente. \*, ns Significativo e não significativo, respectivamente, em relação à testemunha (germe de trigo) pelo teste de Dunnett (p≤0,05).

Para o percentual de *A. fraterculus* classificadas como não emergidas ( $F = 23,31$ ;  $GL = 15$ ;  $p < 0,0001$ ), semi-emergidas ( $F = 2,89$ ;  $GL = 15$ ;  $p = 0,0027$ ), deformadas ( $F = 22,23$ ;  $GL = 15$ ;  $p < 0,0001$ ), não voadoras ( $F = 4,19$ ;  $GL = 15$ ;  $p < 0,0001$ ), e voadoras ( $F = 26,73$ ;  $GL = 15$ ;  $p < 0,0001$ ) foi verificada significância para interação entre os fatores de tratamento testados (fonte de proteína e gerações) (Tabela 5).

Quando analisado o percentual de *A. fraterculus* não emergidas, na primeira, quinta e sexta gerações, não foram verificadas diferenças significativas entre as fontes de proteína. Na segunda e quarta gerações, na dieta com farinha de trigo + farelo de soja ocorreu o maior percentual de moscas não emergidas, diferindo das demais dietas enquanto que, na terceira geração, o maior percentual caracterizou a dieta com farinha de arroz. Em relação à testemunha (germe de trigo) somente foram verificadas diferenças significativas para a mistura farinha de trigo + farelo de soja na primeira, segunda e terceira gerações; na farinha de milho para a segunda, terceira e quarta gerações; e, para a farinha de arroz na quarta geração. Na comparação entre gerações, a terceira geração diferiu das demais gerações com o uso da dieta a base de farinha de arroz. Entretanto, na farinha de milho e mistura farinha de trigo + farelo de soja, a segunda geração caracterizou o maior percentual de moscas não emergidas (Tabela 5).

Para a classe de moscas semi-emergidas, na comparação entre as fontes de proteínas, não foram observadas diferenças significativas entre as dietas ao longo das gerações, com exceção da dieta com farinha de trigo + farelo de soja na terceira geração e da farinha de arroz na quarta geração que não gerou insetos que pudessem se enquadrar nessa categoria. Com relação à testemunha, não houveram diferenças significativas. Para farinha de milho não foram verificadas diferenças significativas entre as gerações (Tabela 5).

Para percentual de moscas deformadas, não foram verificadas diferenças significativas entre as fontes de proteína nas gerações 1, 4, 5 e 6. No comparativo com a testemunha germe de trigo, apenas a dieta contendo farinha de milho na terceira geração diferiu significativamente. Em relação ao fator geração, os maiores percentuais caracterizaram a primeira geração (Tabela 5).

Com relação aos insetos não voadores, na primeira, quarta, quinta e sexta gerações, não foram verificadas diferenças significativas entre as fontes de proteína. Levando-se em consideração a testemunha (germe de trigo), diferiram desta, a

mistura de farinhas nas gerações 2, 3 e 4, bem como a farinha de arroz na quarta geração. Na comparação entre as gerações, a primeira geração resultou em maiores percentuais para não voadores não diferindo significativamente da geração 4 na dieta com farinha de arroz; das gerações 3, 4 e 6 para a dieta com farinha de milho e da geração 3 para a dieta com farinha de trigo + farelo de soja (Tabela 5).

Finalizando as categorias do teste de vôo, na classe dos insetos voadores, na quinta e sexta geração, não foram observadas diferenças significativas entre as dietas. Nas gerações 2 e 4, a farinha de arroz propiciou maior percentual de adultos voadores, bem como na primeira geração, não diferindo da farinha de milho. Apenas na terceira geração a dieta contendo farinha de trigo + farelo de soja caracterizou um maior percentual de moscas voadoras. Comparando com o germe de trigo (testemunha), não observaram-se diferenças significativas na geração 6, além da farinha de arroz e milho nas gerações 1 e 2. Na geração 3, apenas a dieta com farinha de arroz não diferiu da testemunha. Levando em consideração o efeito das gerações sobre o percentual de insetos voadores, a geração 6 caracterizou os maiores valores em todas as dietas, porém não diferindo da geração 4 na farinha de arroz; gerações 4 e 5 na farinha de milho e na geração 5 na dieta com farinha de trigo + farelo de soja (Tabela 5).

A categoria de insetos voadores apresentou grandes variações entre os valores ao longo das gerações. A segunda geração apresentou valores baixos para percentual de voadores, em função da redução no percentual de emergência dos insetos, conforme já discutido, por outro lado, em outras gerações alcançando valores superiores a 70% (Tabela 5). Resilva, Obra e Chang (2014) trabalhando com *B. philippinensis* por 12 gerações em dieta líquida, também obtiveram elevadas taxas de variações no percentual de insetos voadores, de 40,2 até 93,2 %.

Segundo a FAO/IAEA/USDA (2003), as porcentagens mínimas pós-irradiação que são aceitáveis para habilidade de vôo são de 60% de voadoras para *genetic sexing strains* (GSS) de *C. capitata*, 80% para *A. suspensa*, e 72% para *A. obliqua*, enquanto que para *A. fraterculus* não há relatos no manual da FAO. Kamiya (2010), testando diferentes doses de irradiação para *A. fraterculus* encontrou valores entre 48,8 e 57,8%, próximos em algumas situações e inferiores para a classe de insetos voadores quando comparados à várias gerações de desenvolvimento deste trabalho.

Estimativas precisas da porcentagem de pupas que originarão adultos com capacidade mínima de voar servem como indicativo do desempenho destes quando se trabalha com criação de insetos visando à liberação de machos estéreis em condições de campo, permitindo assim avaliar a competitividade destes frente aos insetos selvagens. Assim, os dados demonstraram que os insetos produzidos são capazes de voar e dispersar-se, fator importante na busca de local para acasalamento.

Tabela 5 - Percentual de *Anastrepha fraterculus* classificadas como não emergidas, semi-emergidas, deformadas, não voadoras e voadoras oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína para seis gerações. Temperatura de 25±1°C, umidade relativa de 70±20% e fotofase de 12h.

Fonte de proteína	Gerações					
	1	2	3	4	5	6
Não emergidas (%)						
Germe de trigo (testemunha)	10,33±0,88	77,33±0,88	84,67±2,03	36,67±2,96	27,67±3,84	11,00±3,21
Farinha de arroz	16,67±1,76 aCD <sup>1/</sup> ns	75,00±1,53 cB ns	89,33±2,03 aA ns	18,00±2,08 cCD *	20,00±1,53 aC ns	13,00±1,73 aD ns
Farinha de milho	29,67±3,84 aC ns	83,33±0,88 bA *	48,33±2,18 bB *	23,67±1,45 bCD *	17,67±3,33 aD ns	15,67±4,48 aD ns
Farinha de trigo + farelo de soja	35,67±9,61 aB *	96,33±0,33 aA *	18,00±6,35 cC *	44,33±1,20 aB ns	14,33±7,69 aC ns	12,00±1,73 aC ns
Semi-emergidas (%)						
Germe de trigo (testemunha)	0,33±0,33	6,33±0,67	4,00±1,15	3,33±0,88	4,33±1,33	0,33±0,33
Farinha de arroz	2,33±0,33 aAB ns	6,67±2,73 aA ns	2,67±1,33 abAB ns	0,00±0,00 bB ns	2,00±1,00 aAB ns	1,00±0,58 aB ns
Farinha de milho	1,67±0,88 aA ns	4,67±1,76 aA ns	3,33±0,33 aA ns	1,33±0,33 abA ns	2,33±0,88 aA ns	2,00±0,00 aA ns
Farinha de trigo + farelo de soja	1,00±0,58 aB ns	0,67±0,67 aB ns	0,33±0,33 bB ns	4,67±1,85 aA ns	1,67±0,88 aAB ns	2,33±0,88 aAB ns
Deformadas (%)						
Germe de trigo (testemunha)	10,00±0,00	1,67±0,88	0,67±0,33	2,67±0,88	3,67±0,33	4,67±1,76
Farinha de arroz	10,33±2,40 aA ns	0,67±0,67 abC ns	0,00±0,00 cC ns	1,00±0,58 aC ns	3,33±1,20 aBC ns	5,33±0,88 aB ns
Farinha de milho	7,33±2,33 aA ns	2,00±0,58 aB ns	2,33±0,33 aB *	3,33±0,33 aAB ns	2,67±1,33 aB ns	4,33±1,45 aAB ns
Farinha de trigo + farelo de soja	5,00±1,00 aA ns	0,00±0,00 bC ns	1,00±0,00 BBC ns	4,00±2,08 aAB ns	3,67±0,88 aAB ns	2,00±0,58 aABC <sup>ns</sup>
Não voadoras						
Germe de trigo (testemunha)	25,00±1,15	5,33±2,03	2,67±0,33	4,00±1,15	13,33±2,90	4,67±0,33
Farinha de arroz	17,67±4,18 aA ns	7,33±0,33 aBC ns	2,33±1,20 bC ns	12,67±1,76 aAB *	9,67±1,20 aB ns	7,00±1,15 aBC ns
Farinha de milho	13,68±1,85 aA ns	4,67±0,88 bB ns	10,00±2,00 bAB ns	8,33±2,03 aAB ns	6,67±3,18 aB ns	7,67±0,33 aAB ns
Farinha de trigo + farelo de soja	23,33±11,35 aAB ns	0,67±0,33 cC *	35,67±5,33 aA *	11,00±1,15 aBC *	14,33±6,57 aBC ns	11,00±3,60 aBC ns
Voadoras (%)						
Germe de trigo (testemunha)	54,33±1,20	9,33±1,45	8,00±1,15	53,33±2,02	51,00±1,15	79,33±4,05
Farinha de arroz	53,00±3,51 aC ns	10,33±1,45 aD ns	5,67±0,88 cD ns	68,33±0,88 aAB *	65,00±1,73 aB *	73,67±2,33 aA ns
Farinha de milho	47,67±4,18 aB ns	5,33±0,33 bD ns	36,00±3,46 bC *	63,33±0,88 bA *	70,67±0,67 aA *	70,33±3,18 aA ns
Farinha de trigo + farelo de soja	35,00±2,31 bC *	2,33±0,67 bD *	45,00±2,89 aB *	36,00±0,58 cC *	66,00±2,31 aA *	72,67±4,18 aA ns

<sup>1/</sup> Médias (± erro padrão) seguidas por mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Waller-Duncan (p≤0,05) comparando as fontes de proteína em cada geração e gerações em cada fonte de proteína, respectivamente. \*, <sup>ns</sup> Significativo e não significativo, respectivamente, em relação à testemunha (germe de trigo) pelo teste de Dunnett (p≤0,05).

Para o parâmetro longevidade de adultos, na primeira, segunda e terceira gerações, a longevidade tanto de fêmeas ( $X^2 = 196$ ; GL = 3;  $p = 0,00$ ;  $X^2 = 50,2$ ; GL = 3;  $p = 0,00$ ;  $X^2 = 79,20$ ; GL = 3;  $p = 0,00$ ) quanto dos machos ( $X^2 = 117$ ; GL = 3;  $p = 0,00$ ;  $X^2 = 61,6$ ; GL = 3;  $p = 0,00$ ;  $X^2 = 86$ ; GL = 3;  $p = 0,00$ ) foi significativamente afetada pelas diferentes fontes de proteína (Figura 1). Na quarta, quinta e sexta gerações, da mesma forma, a longevidade tanto de fêmeas ( $X^2 = 159$ ; GL = 3;  $p = 0,00$ ;  $X^2 = 170$ ; GL = 3;  $p = 0,00$ ;  $X^2 = 127$ ; GL = 3;  $p = 0,00$ ) quanto dos machos ( $X^2 = 144$ ; GL = 3;  $p = 0,00$ ;  $X^2 = 91,2$ ; GL = 3;  $p = 0,00$ ;  $X^2 = 70,3$ ; GL = 3;  $p = 0,00$ ) foi significativamente afetada pelas diferentes fontes de proteína (cont. Figura 1).

Os machos de *A. fraterculus* apresentaram maior tempo médio de sobrevivência ou valores muito próximos em relação às fêmeas em todas as gerações e, para todas as dietas avaliadas. Na primeira e quinta gerações, machos oriundos de dieta com farinha de arroz e, na quarta geração, machos e fêmeas nessa mesma situação, não apresentaram diferença significativa quando comparados à dieta considerada testemunha (germe de trigo).

Neste trabalho, mesmo não tendo testado doses de radiação e sim diferentes dietas artificiais para desenvolvimento larval, é possível extrair resultados que poderiam ser utilizados para criação de insetos visando a TIE. Assim, tanto machos como fêmeas apresentaram tempo médio de sobrevivência superior a 48 horas. Para a TIE, as porcentagens mínimas pós-irradiação de sobreviventes aceitáveis segundo a FAO/IAEA/USDA (2003) para *A. ludens* é de 55% e para *A. obliqua* de 40% após 72 h. Para *A. fraterculus*, Kamiya (2010) encontrou porcentagens acima de 55% de indivíduos vivos após 48h para todos os tratamentos testados (doses de radiação).

Quando se trabalha com criação de insetos visando a TIE, os resultados do teste de longevidade sob estresse expressam uma medida relativa das reservas nutricionais disponíveis para o macho adulto no momento da emergência, e proporciona informação sobre a qualidade dos insetos a serem liberados no campo. Portanto, esse parâmetro torna-se um indicador dos elementos gerais associados ao processo de criação de larvas, conteúdo nutricional da dieta larval, densidade de larvas por quilograma de dieta, condições ambientais, entre outros fatores que podem afetar a capacidade da mosca em armazenar nutrientes durante o período larval e, assim, prolongar a longevidade da mosca adulta.

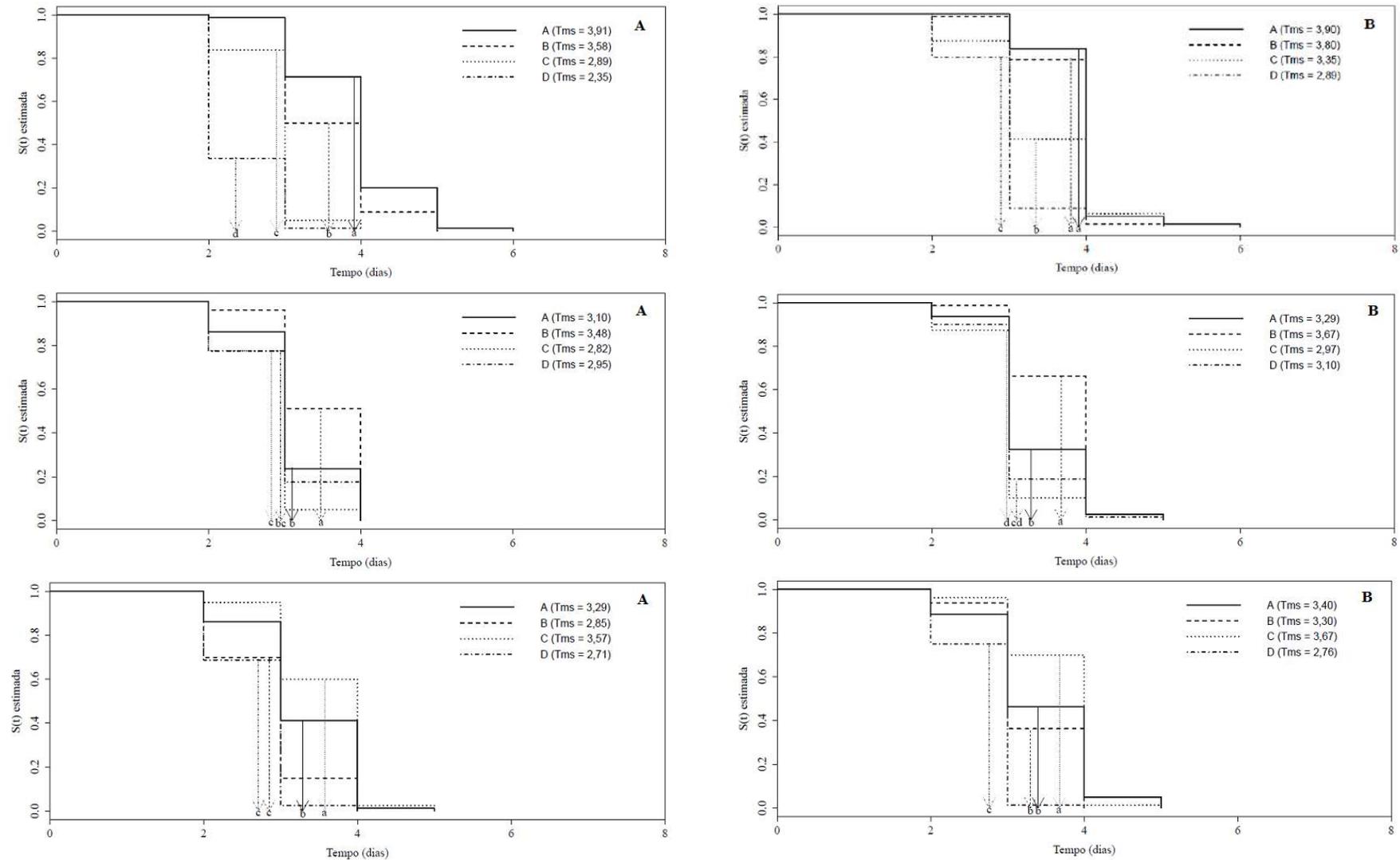
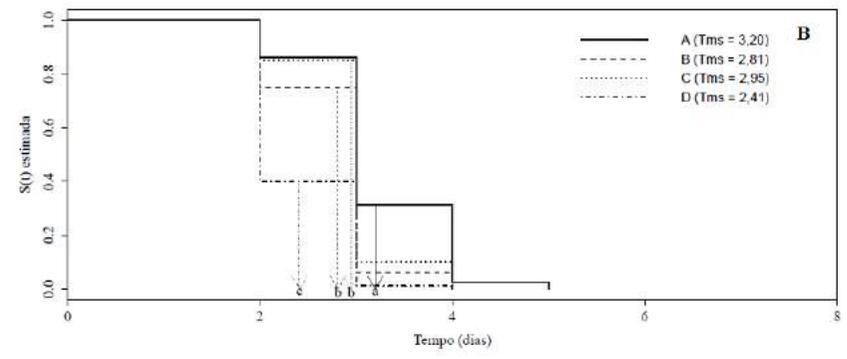
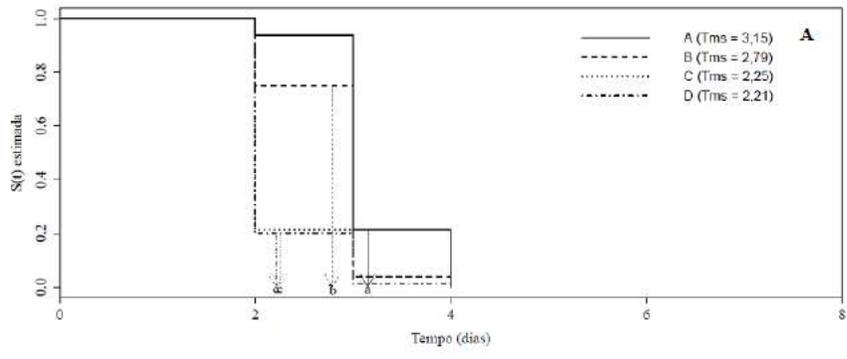
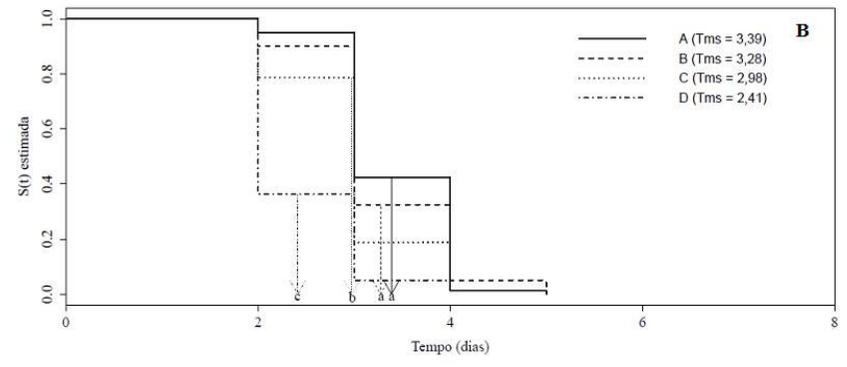
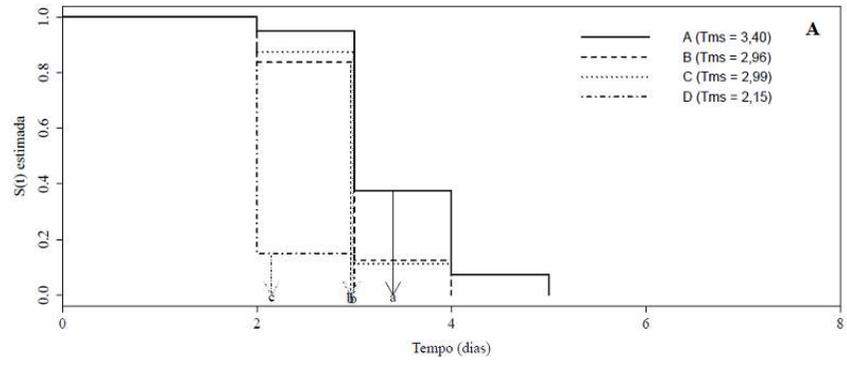
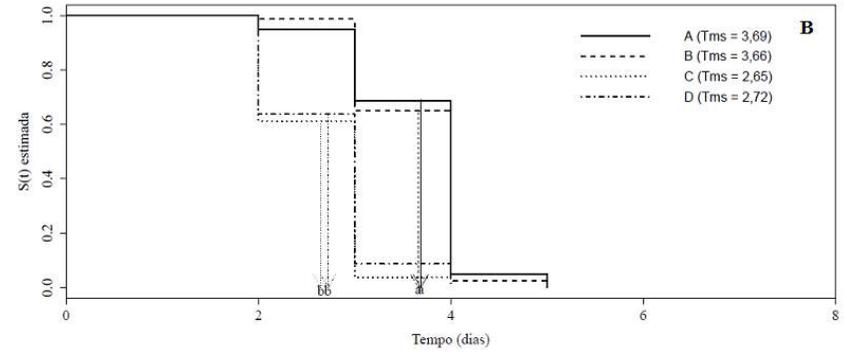
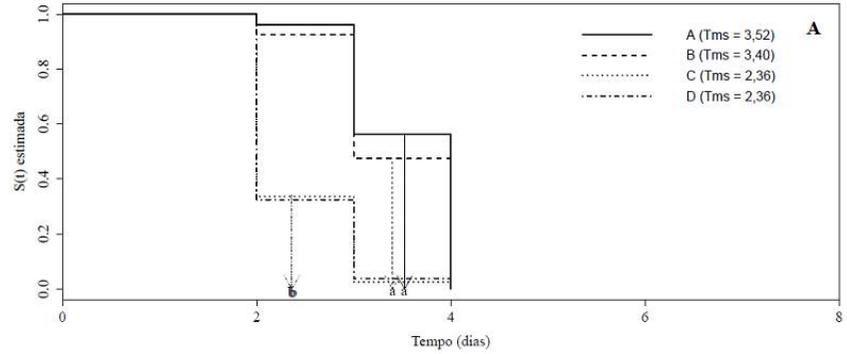


Figura 1: Curvas de sobrevivência de fêmeas (A) e machos (B) da primeira, segunda, terceira, quarta, quinta e sexta gerações de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína (A = germe de trigo; B = farinha de arroz; C = farinha de milho; e, D = farinha de trigo + farelo de soja). Temperatura de  $25\pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70\pm 20\%$  e fotofase de 12h. Curvas seguidas pelas mesmas letras, para cada sexo, não diferem entre si pelo teste de log-rank. (Tms - tempo médio de sobrevivência).

Cont. Figura 1



Analisando os componentes principais, os dois primeiros PCs foram utilizados nas análises por contemplarem 70% da variação (JOLLIFFE, 2002) (Figura 2). O novo conjunto de três variáveis ortogonais (PCs) foi gerado pela PCA, onde o primeiro componente principal (PC1) apresentou o maior autovalor, de 12,98, e representou 72,11% da variabilidade no conjunto de dados. O segundo PC teve autovalor de 4,04, e foi responsável por 22,43% da variância nos dados. O outro PC gerado (PC3) produziu progressivamente autovalor menor (0,98) e não explicou de forma significativa a variabilidade dos dados. Os dois primeiros componentes principais explicaram grande proporção da variação total, ou seja, 94,54%, o que possibilitou a plotagem dos escores e das cargas dos componentes referentes aos níveis do fator de tratamento estudado (fontes de proteína). O germe de trigo e a farinha de arroz obtiveram comportamento similar quanto aos parâmetros testados e ambos foram diferentes da farinha de milho e farinha de trigo + farelo de soja. Analisando os autovetores correspondentes à componente principal 1, destacaram-se viabilidade da fase de ovo (0,27) e duração do período ovo-larva (-0,27). Já na PC2, voadoras (0,46), não emergidas (-0,35) e viabilidade da fase de pupa (0,35), todas essas variáveis contribuíram na diferenciação das fontes proteicas.

Considerando as seis gerações de *A. fraterculus*, as fontes de proteína germe de trigo e farinha de arroz formaram um grupo com características semelhantes (Figura 2). O germe de trigo obteve maior valor médio para percentual de não emergidas (41,28%), semi-emergidas (3,11%), deformadas (3,89%), viabilidade da fase de ovo (62,64%), longevidade de fêmeas (3,40 dias) e machos (3,48 dias); segundo maior valor médio para fecundidade (619,22 em 10 dias); e, menores valores médios para voadoras (42,55%), viabilidade da fase de pupa (46,97%) e duração do período ovo-larva (14,03 dias). Com correlações positivas entre percentual de deformadas com viabilidade da fase de ovo ( $r = 0,98$ ) e semi-emergidas ( $r = 0,96$ ), demonstrando que o acréscimo no percentual de *A. fraterculus* deformadas foi resultado do aumento no percentual de semi-emergidas e, conseqüentemente, da viabilidade da fase de ovo. Também, foi verificada correlação entre a longevidade de fêmeas e machos ( $r = 0,98$ ), ou seja, quanto maior o tempo de vida das fêmeas, maior foi a sobrevivência dos machos. Correlação negativa ocorreu entre a viabilidade da fase de pupa e percentual de não emergidas ( $r = -0,96$ ), corroborando que a redução na viabilidade da fase de pupa acarretou no aumento do percentual de *A. fraterculus* não emergidas.

Enquanto a farinha de arroz caracterizou maior valor médio para fecundidade (655,97 em 10 dias); segundos maiores valores médios para percentual de não emergidas (38,67%), longevidade de fêmeas (3,18 dias) e machos (3,42 dias); e, menores valores médios para duração dos períodos de pupa (14,95 dias) e ovo-adulto (28,98 dias). Para essa fonte proteica foi verificada correlação positiva entre fecundidade e longevidade de macho ( $r = 0,97$ ), em que aumentos de fecundidade resultaram em acréscimos na longevidade de machos (Figura 2).

Tanto a farinha de milho quanto a farinha de trigo + farelo de soja apresentaram comportamento diferenciado entre si e em relação ao grupo formado (germe de trigo e farinha de arroz) (Figura 2). A farinha de milho obteve maiores valores médios para massa de pupa (18,64 mg), voadoras (48,89%), viabilidade da fase de pupa (56,07%) e duração do período de pré-oviposição (9,17 dias); e, menores valores médios para percentual de não emergidas (36,39%) e não voadoras (8,50%). Com correlação negativa entre massa de pupa e percentual de não voadoras ( $r = - 0,99$ ), ou seja, a maior massa de pupa foi responsável pelo menor percentual de não voadoras.

A farinha de trigo + farelo de soja diferenciou-se com maiores valores médios para razão sexual (0,57), não voadoras (16,00%), duração dos períodos ovo-larva (16,73 dias), pupa (17,87 dias), ovo-adulto (34,60 dias); e, menores valores médios para massa de pupa (15,57 mg), percentual de semi-emergidas (1,78%), deformadas (2,61%), duração do período de pré-oviposição (8,17 dias), viabilidade da fase de ovo (35,25%), fecundidade (419,77 em 10 dias), longevidade de fêmeas (2,46 dias) e machos (2,72 dias). A mesma apresentou correlações positivas entre percentual de não voadoras com duração do período ovo-larva ( $r = 0,98$ ), pupa ( $r = 0,98$ ), ovo-adulto ( $r = 0,98$ ) e razão sexual ( $r = 0,99$ ), o que demonstrou que o aumento dos períodos ovo-larva, pupa, ovo-adulto acarretou em acréscimos no percentual de não voadoras. Também, foram verificadas correlações da duração do período ovo-larva com duração do período de pupa ( $r = 0,99$ ), ovo-adulto ( $r = 0,99$ ) e razão sexual ( $r = 0,99$ ); duração do período de pupa com duração do período ovo-adulto ( $r = 0,99$ ) e razão sexual ( $r = 0,99$ ); e, duração do período ovo-adulto e razão sexual ( $r = 0,99$ ). A massa de pupa correlacionou-se de forma positiva com viabilidade da fase de ovo ( $r = 0,96$ ), o que comprovou que quanto menor a viabilidade da fase de ovo menor será a massa de pupa (Figura 2).

Para essa fonte proteica ocorreram correlações negativas entre massa de pupa com duração do período ovo-larva ( $r = -0,95$ ), pupa ( $r = -0,97$ ), ovo-adulto ( $r = -0,96$ ) e razão sexual ( $r = -0,98$ ); viabilidade da fase de ovo com duração do período ovo-larva ( $r = -0,99$ ), pupa ( $r = -0,97$ ), ovo-adulto ( $r = -0,98$ ) e razão sexual ( $r = -0,99$ ); percentual de não voadoras com deformadas ( $r = -0,95$ ) e viabilidade da fase de ovo ( $r = -0,98$ ); e, deformadas com duração do período ovo-larva ( $r = -0,94$ ) e razão sexual ( $r = -0,94$ ) (Figura 2).

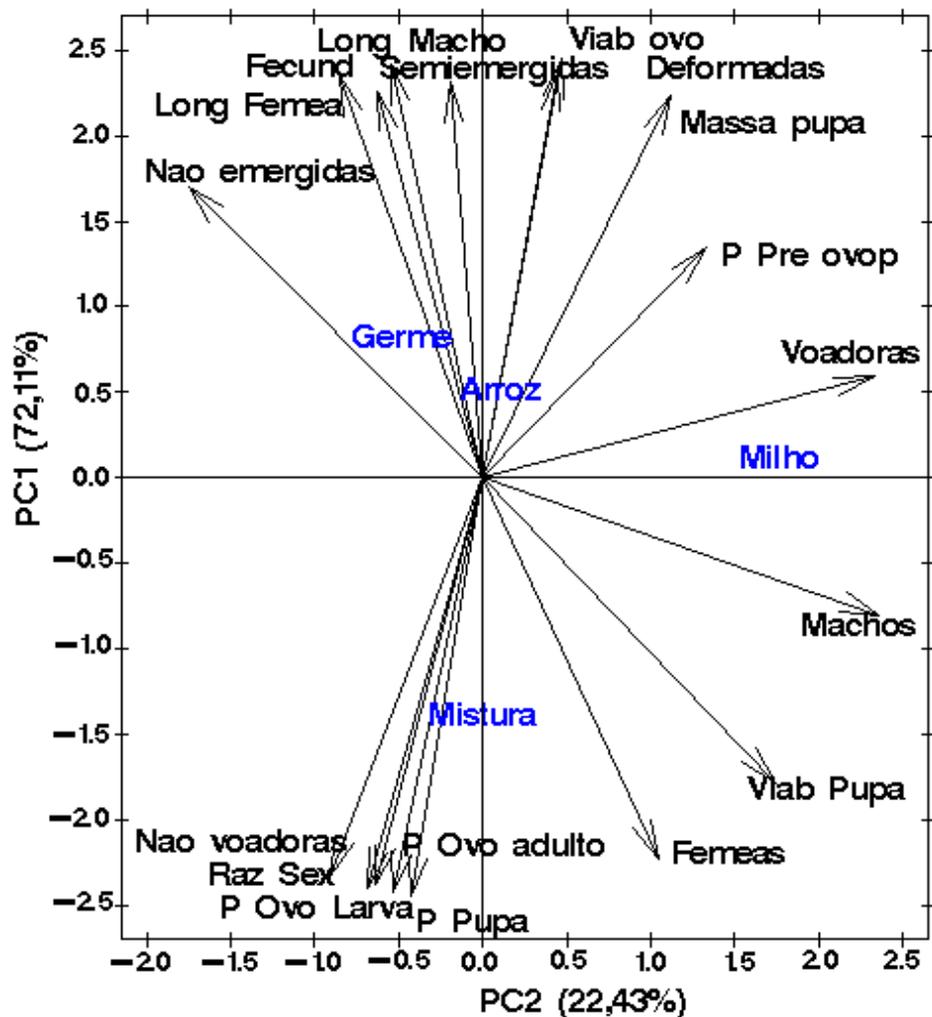


Figura 2 - Plotagem dos escores e das cargas dos PC1-PC2 referente as variáveis dependentes analisadas considerando todas as gerações de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína (Germe: germe de trigo; Arroz: farinha de arroz; Milho: farinha de milho; e, Mistura: farinha de trigo + farelo de soja). Temperatura de  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de  $70\pm 20\%$  e fotofase de 12h.

Variáveis dependentes: Massa de pupa; razão sexual (Raz Sex); percentual de *Anastrepha fraterculus* classificadas como não emergidas, semi-emergidas, deformadas, não voadoras e voadoras; percentual da viabilidade da fase de ovo (Viab ovo) e pupa (Viab Pupa); duração dos períodos ovo-larva (P Ovo Larva), pupa (P Pupa), ovo-adulto (P Ovo adulto), pré-oviposição (P Pre ovip) e fecundidade (Fecund); longevidade de fêmeas (Long Femea) e machos (Long Macho).

Na avaliação geral, em relação à duração dos períodos de desenvolvimento de *A. fraterculus*, a dieta contendo farinha de trigo + farelo de soja aumentou a duração dos períodos ovo-larva, pupa e ovo-adulto, fator esse não desejado para criação massal de insetos. Também apresentou influência na redução da média geral de fecundidade. Apenas o período de pré-oviposição não foi afetado, sendo que essa dieta apresentou os menores valores médios para esse parâmetro. A dieta contendo farinha de arroz apresentou adequação em vários parâmetros, porém pouco se sabe sobre a utilização desse ingrediente na formulação de dietas larvais para desenvolvimento de espécies de mosca-das-frutas, pelo fato de se tratar de um produto de fabricação local.

É possível visualizar que, de maneira geral, os valores obtidos para o período de pré-oviposição demonstraram grande variação para as dietas ao longo das gerações avaliadas, porém a dieta que proporcionou os valores mais adequados foi a dieta contendo farinha de trigo + farelo de soja, demonstrando que a dieta larval nesse caso não afetou o parâmetro de desenvolvimento do adulto.

Os resultados obtidos neste trabalho apresentaram grandes variações para alguns parâmetros de qualidade observados. De acordo com Souza, Matioli e Souza (1988), outras espécies de moscas-das-frutas como a mosca-do-mediterrâneo, *C. capitata*, levou pelo menos 10 gerações consecutivas para adequar o processo de adaptação e completamente recolonização em dieta larval diferente. Da mesma maneira, a mosca-das-frutas sul-americana *A. fraterculus* apresentou capacidade de desenvolvimento em uma gama diferente de alimentos, com ingredientes variados. A espécie apresentou plasticidade fenotípica nos diferentes ambientes de desenvolvimento, ao longo das gerações. Porém, a qualidade da proteína e a possível diferenciação na assimilação dos aminoácidos na fase larval refletiram, em muitas situações, em alterações nos parâmetros de desenvolvimento tanto imaturo quanto dos adultos gerados. Esses problemas podem ser minimizados ao longo das gerações de desenvolvimento ou ainda, as técnicas de criação e as metodologias podem ser ajustadas para melhoria na qualidade dos insetos produzidos.

## **4.2 Caracterização nutricional e custo das dietas artificiais**

Para as quatro dietas testadas, todos os aminoácidos essenciais encontraram-se presentes, embora em diferentes proporções, assim como os não-

essenciais encontrados a partir das análises feitas. Foi possível verificar que alguns aminoácidos encontraram-se presentes em quantidades maiores para as dietas com farinha de arroz e farinha de milho, quando em comparação à dieta com germe de trigo e farinha de trigo + farelo de soja. Dentre esses componentes podem ser citados o ácido glutâmico, glicina, arginina, treonina, alanina, prolina, valina, lisina e leucina. Esse fator pode vir a explicar a melhoria em diferentes parâmetros biológicos de desenvolvimento (Tabela 6).

Todas as dietas testadas continham, além da alteração na fonte de proteína, açúcar e levedura. Sabe-se que, a disponibilidade de vitaminas nas dietas de adultos de Tephritidae, principalmente as lipossolúveis, poderia vir a interferir na produção de ovos (TSIROPOULOS, 1980; KAUR; SRIVASTAVA, 1991; CHANG et al., 2001). A levedura, assim como os ingredientes em teste, atuam como fontes de proteína, além do germe de trigo que fornece também vitaminas (complexos A, E e B) e lipídios (CHANG; VARGAS, 2007) No entanto, houve melhorias em parâmetros como redução nos períodos de desenvolvimento, produção de ovos, viabilidades das fases de ovo e pupa e peso de pupários para insetos desenvolvidos nas dietas com farinha de arroz e milho. Uma suposição a esse fato pode ser devido ao perfil proteico (aminoácidos relacionados) em vez de carboidratos, lipídios ou vitaminas presentes nos ingredientes proteicos.

Em insetos holometábolos, alterações na qualidade da dieta durante o desenvolvimento tem efeitos abrangentes sobre muitas características ao longo da vida do inseto (CHAPMAN; SIMPSON; DOUGLAS, 2013) e, assim, os aminoácidos estão intimamente relacionados nesse processo.

Alguns estudos têm apontado que a ausência de alguns aminoácidos, dentre eles alanina, ácido aspártico, cistina, ácido glutâmico, glicina, prolina, serina e tirosina, causam atrasos no desenvolvimento das larvas de *C. capitata* (CHANG, 2004), o que pode ser refletido numa pequena percentagem de pupação em 24 h.

Chang (2004) verificou que a ausência dos aminoácidos arginina, isoleucina, leucina, lisina, histidina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina, podem levar à mortalidade larval em *C. capitata*, gerando uma transformação baixa de ovo à larva. O triptofano, por sua vez, é necessário para a formação de pigmentos visuais, atuando como neurotransmissor, já o glutamato e a prolina são necessário para o desenvolvimento e atuam como uma fonte de energia (GENÇ, 2006) que poderiam afetar o desempenho sexual.

Porém, não é somente a presença ou ausência dos aminoácidos que influenciam no desempenho dos insetos. O desequilíbrio nas quantidades de aminoácidos podem ter efeitos significativos sobre o desenvolvimento e a aptidão dos insetos submetidos à dietas alimentares precárias nutricionalmente (DADD, 1985).

Hernández et al. (2016), testando diferentes leveduras para criação massal de *A. ludens*, *A. obliqua* e *C. capitata* indicaram que o conteúdo das leveduras testadas, com algumas variações, continham os mesmos aminoácidos; no entanto, sendo necessário, determinar as diferenças de disponibilidade e digestibilidade, isto é, aminoácidos digeríveis são uma estimativa mais precisa da quantidade de proteína utilizável pelo inseto (PERDOMO, VARGAS; CAMPOS, 2004).

Chang (2009) também observou as diferenças nos parâmetros de desenvolvimento e qualidade de moscas criadas em diferentes tipos de levedura e, afirmou que, o reflexo da dieta na qualidade dos insetos não pode ser explicada apenas por diferenças na composição dos aminoácidos, minerais, vitaminas, ou outros nutrientes.

No entanto, uma importante omissão na maioria dos estudos existentes relacionados à dieta de insetos é sobre o efeito da qualidade dos nutrientes (através do uso de dietas para desenvolvimento imaturo e adulto já existentes e novas composições alimentares), bem como a quantidade necessária em diferentes estádios de desenvolvimento. Nesse caso, isso é relevante para a compreensão de como as moscas-das-frutas podem adaptar o seu progresso ao desenvolvimento de um alvo nutricional, bem como para o desenvolvimento da criação em programas com vistas à TIE e o controle biológico (MORELLI et al., 2012).

Sendo assim, torna-se necessário determinar a disponibilidade dos aminoácidos e a relação funcional com a fisiologia do inseto para descrever como sua deficiência ou aquisição por meio de processos de alimentos ou de síntese podem afetar o desenvolvimento, o crescimento, manutenção de tecidos, reprodução, a demanda de energia e taxa de mortalidade em insetos (GENÇ, 2006).

Tabela 6 - Caracterização nutricional das fontes proteicas utilizadas para desenvolvimento larval de *Anastrepha fraterculus*.

Componente	Germe de trigo	Farinha de arroz	Farinha de milho	Farinha de trigo + Farelo de soja
Cinzas	0,790*	0,825	0,730	0,640
Nitrogênio total	0,545	0,725	0,675	0,675
Extrato etéreo	ND	ND	0,05	ND
Umidade	82,520	81,620	82,930	81,395
Carboidrato	16,145	16,830	15,615	17,290
Ácido aspártico	0,200	0,380	0,320	0,2300
Serina	0,110	0,195	0,175	0,130
Ácido glutâmico	0,310	0,525	0,515	0,370
Glicina	0,090	0,160	0,150	0,105
Histidina	0,055	0,085	0,085	0,060
Arginina	0,180	0,300	0,270	0,190
Treonina	0,110	0,210	0,185	0,135
Alanina	0,140	0,255	0,230	0,160
Prolina	0,150	0,255	0,280	0,190
Tirosina	0,095	0,150	0,145	0,115
Valina	0,115	0,210	0,190	0,135
Lisina	0,165	0,310	0,250	0,190
Isoleucina	0,090	0,170	0,155	0,110
Leucina	0,145	0,270	0,255	0,180
Fenilalanina	0,100	0,180	0,170	0,120
Triptofano	0,260	0,240	0,245	0,215
Metionina	0,008	0,009	0,006	0,008
Cisteína	0,006	0,007	0,006	0,008

\* resultados expressos em g/100g

O resultado é a média de 2 valores

ND = valor abaixo do limite de detecção

Do ponto de vista prático, este estudo forneceu informações relevantes. Mas, em associação aos dados referentes ao balanço nutricional das dietas, é importante levar em consideração o custo, isso por que as dietas artificiais representam um dos principais e maiores gastos da produção em massa de insetos (PARKER, 2005). Dessa forma, técnicas de criação que resultem em baixo custo de produção do hospedeiro e, conseqüentemente de parasitoides de alta qualidade, são sempre importantes e as mesmas devem ser estimadas (SIVINSKI et al., 1996).

O custo de produção para a dieta com germe de trigo é aproximadamente 15% maior em relação à dieta com farinha de arroz e farinha de milho, dietas essas que proporcionaram bons resultados para desenvolvimento de *A. fraterculus*. Já para o ingrediente proteico isolado, o germe de trigo tem custo superior de 70% em

relação à farinha de arroz, por exemplo (Tabela 7). Quando se trabalha em escalas maiores de multiplicação de insetos, esses resultados apontam para grandes diferenças nos valores finais.

Tabela 7 – Custo dos ingredientes utilizados para o preparo da dieta artificial para o desenvolvimento larval de *Anastrepha fraterculus*. Composição para o preparo de 1,5 litros de dieta artificial.

Ingrediente	Unidade	Preço (R\$)	Total por porção de 1,5 litros de dieta			
			Germe de trigo	Farinha de arroz	Farinha de milho	Farinha de trigo + Farelo de soja
Levedura de cerveja	Kg	35,00	3,15	4,55	4,55	3,5
Açúcar refinado	Kg	2,80	0,25	0,08	0,11	0,11
Ágar bacteriológico	Frasco (500g)	285,00	2,56	2,56	2,56	2,56
Benzoato de sódio	Frasco (500g)	55,00	0,17	0,17	0,17	0,17
Nipagin	Frasco (500g)	58,00	0,14	0,14	0,14	0,14
Ácido clorídrico (37%)	litro	28,75	0,29	0,29	0,29	0,29
Germe de trigo cru	Kg	59,9	5,39			
Farinha de arroz	Kg	7,00		0,77		
Farinha de milho	Kg	2,27			0,23	
Farinha de trigo	Kg	2,97				0,3
Farelo de soja	Kg	29,95				0,9
Total (R\$)			11,95	8,56	8,05	7,97

Assim, o germe de trigo importado utilizado na dieta larval de *A. fraterculus* (e outras moscas-das-frutas) poderia ser perfeitamente substituído por produtos locais (farinha de arroz) na dieta para *A. fraterculus*, reduzindo o custo da dieta e sem qualquer efeito negativo nos parâmetros de qualidade, tanto do hospedeiro quanto do inimigo natural multiplicado (Tabela 7).

#### 4.3 Desenvolvimento de *Doryctobracon areolatus* em larvas de *Anastrepha fraterculus* oriundas de diferentes dietas artificiais

Para os parâmetros avaliados número de descendentes ( $F = 6,35$ ;  $GL = 3$ ;  $p = 0,0011$ ), razão sexual ( $F = 3,95$ ;  $GL = 3$ ;  $p = 0,0140$ ) e duração do período ovo-adulto tanto para machos ( $F = 69,67$ ;  $GL = 3$ ;  $p < 0,0001$ ) quanto para fêmeas ( $F = 67,69$ ;  $GL = 3$ ;  $p < 0,0001$ ) foi observada significância estatística para o fator de tratamento testado (fonte de proteína). Entretanto, para percentual de emergência não ocorreu significância para o efeito de fonte de proteína ( $F = 1,05$ ;  $GL = 3$ ;  $p = 0,3779$ ) (Tabela 8).

Em relação ao número de descendentes de *D. areolatus*, o maior valor foi observado quando foram oferecidas larvas de *A. fraterculus* criadas em dieta contendo farinha de milho que representou o mesmo comportamento quando comparada ao germe de trigo (testemunha) (Tabela 8).

Quando da utilização de larvas provenientes de dieta com farinha de arroz, observou-se que as mesmas apresentaram desuniformidade, em relação à sobrevivência, no momento da exposição (com 6 dias de idade). Algumas larvas já estavam mortas quando retiradas do período de exposição às fêmeas. Isso pode ter ocorrido pelo fato das fêmeas do parasitoide podem ter injuriado as larvas com o ovipositor e, por consequência, muitas não conseguiram chegar à fase de pupa, ou ainda, as mesmas podem ter sofrido desidratação devido ao tamanho reduzido de algumas larvas relacionado ao período de exposição. Também pôde ser observado, que no momento do preparo das placas contendo as larvas para serem expostas ao parasitismo, as larvas oriundas da dieta com farinha de arroz continham resíduo proveniente da dieta, uma substância “pegajosa” que não se dissolveu mesmo após lavagem com água corrente. Esse resíduo pode ter prejudicado as larvas de alguma forma nessa idade e tamanho ou, até mesmo, ter repellido as fêmeas do parasitoide.

Do ponto de vista de criação massal, a utilização de larvas de segundo instar pode se tornar um fator complicador devido à elevação dos custos gerados pelas maiores perdas de criação e a necessidade de geração de mais mão-de-obra, pois uma etapa é adicionada ao processo de desenvolvimento (GONÇALVES, 2016). As perdas podem ser ocasionadas pela manipulação das larvas que necessitam voltar à dieta para completar o ciclo, podendo ocorrer contaminações da dieta. Essas larvas, no entanto, poderiam permanecer na dieta até estarem completamente desenvolvidas (período de pré-pupa) e serem utilizadas com sucesso para oferta à parasitoides que apresentam preferência por larvas de 3º instar, como *D. brasiliensis* e *D. longicaudata*. Essa especificidade de cada espécie de parasitoide está relacionada a maturação do hospedeiro (LÓPEZ et al., 2009).

Os parasitoides emergidos de pupários obtidos de *A. fraterculus* desenvolvidos em dieta a base de farinha de trigo + farelo de soja apresentaram razão sexual de 0,26 diferindo das demais fontes proteicas e também da testemunha germe de trigo (Tabela 8). As dietas contendo farinha de arroz e milho propiciaram aos parasitoides condições necessárias para garantir que os insetos emergidos estivessem próximo da proporção de uma fêmea para um macho (Tabela 8). A razão

sexual de parasitoides é um fator limitante em criação massal de parasitoides em programas de controle biológico aplicado, devendo ser tendenciosa para as fêmeas, para que possa ocorrer maior taxa de crescimento populacional e também porque machos não contribuem para a mortalidade da praga (HEIMPEL; LUNDGREN, 2000).

Com relação à duração do período de desenvolvimento ovo-adulto, para machos observou-se que esse período se estendeu com a utilização de dieta contendo farinha de trigo + farelo de soja e farinha de arroz diferindo, assim, entre si e com a testemunha germe de trigo (Tabela 8). Para fêmeas, a dieta a base de farinha de arroz não diferiu significativamente da dieta a base de farinha de trigo + farelo de soja, mas ambas diferiram da testemunha. A única dieta nas duas situações, que poderia vir a substituir o germe nesse parâmetro é a que contém farinha de milho, que apresentou valores iguais à testemunha em relação ao período de desenvolvimento (Tabela 8).

Valores similares foram observados por Nunes et al. (2011) que, trabalhando com a mesma espécie e a dieta com germe de trigo, relataram duração do período ovo-adulto de 25,00 dias. Gonçalves (2016) reportou valores de 19,25 dias para machos e 21,85 dias para fêmeas, inferiores aos encontrados neste trabalho. A duração do período de desenvolvimento ovo-adulto é um fator importante e relacionado à qualidade da dieta, assim possibilitando a multiplicação do parasitoide em menor espaço de tempo, diminuindo custos.

Para comprimento da tíbia do último par de pernas em machos ( $F = 1,06$ ;  $GL = 3$ ;  $p = 0,3652$ ) não foi observada significância estatística para o fator de tratamento testado (fonte de proteína). Trabalhando com dieta a base de germe de trigo, para tamanho de tíbia de machos, Gonçalves (2016) encontrou valores um pouco superiores (1,21 mm) para todos os tratamentos testados nesse trabalho. No entanto, para comprimento da tíbia posterior em fêmeas ( $F = 6,21$ ;  $GL = 3$ ;  $p = 0,0005$ ) e peso de adultos tanto para machos ( $F = 31,05$ ;  $GL = 3$ ;  $p < 0,0001$ ) quanto para fêmeas ( $F = 11,55$ ;  $GL = 3$ ;  $p < 0,0001$ ) foram verificadas significâncias para o efeito de fonte de proteína (Tabela 9).

Fêmeas do parasitoide criadas em *A. fraterculus* oriundas de dietas artificiais com fonte de proteína a base de farinha de arroz e farinha de milho foram as que apresentaram maiores resultados para comprimento da tíbia posterior. Essas fontes de proteína propiciaram comprimento da tíbia posterior superior quando a

comparação foi realizada com o germe de trigo (testemunha), já a mistura farinha de trigo + farelo de soja não diferiu do germe de trigo (Tabela 9). Gonçalves (2016) obteve o valor de 1,37 mm, resultado igual à média encontrada para a dieta com milho e muito similar ao proporcionado pela farinha de arroz.

Machos de *D. areolatus* oriundos de larvas de *A. fraterculus* desenvolvidas em dieta contendo farinha de arroz e milho, apresentaram valores superiores para o fator peso corporal não diferindo estatisticamente da testemunha, germe de trigo (Tabela 9). Já em relação às fêmeas, apesar destas dietas terem proporcionado insetos com peso superior quando da comparação com todas as fontes de proteína, as mesmas diferiram significativamente da testemunha (Tabela 9). Gonçalves (2016) reportou valores inferiores à maioria das dietas deste experimento, sendo 3,58 mg para machos e 4,32 mg para fêmeas.

A população de parasitoides oriundos da dieta a base de germe de trigo e de milho apresentaram, no geral, maior tamanho de tibia, maior peso corporal e melhores resultados para a maioria dos parâmetros avaliados. Além disso, de acordo com Lawrence, Baranowski e Greany (1976), insetos maiores apresentam maior capacidade de busca por hospedeiros em condições de campo, o que se torna extremamente desejável na produção de agentes de controle biológico.

Tabela 8 - Número de descendentes por fêmea, emergência (%), razão sexual e duração do período de desenvolvimento ovo-adulto (dias) de machos e fêmeas de *Doryctobracon areolatus* criados em larvas de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína. Temperatura de 25±1°C, umidade relativa de 70±20% e fotofase de 12h.

Fonte de proteína	Número de descendentes/fêmea	Emergência (%)	Razão sexual	Duração do período ovo-adulto (dias)	
				Machos	Fêmeas
Germe de trigo (testemunha)	65,73±0,89	97,47±0,81 <sup>NS</sup>	0,56±0,03	26,00±0,01	28,00±0,01
Farinha de arroz	21,23±0,39 b <sup>1/</sup> *	98,56±0,71	0,50±0,08 a <sup>NS</sup>	26,50±0,11 b *	29,00±0,01 a *
Farinha de milho	42,14±0,56 a <sup>NS</sup>	90,46±8,24	0,48±0,06 a <sup>NS</sup>	26,00±0,01 c <sup>NS</sup>	28,00±0,01 b <sup>NS</sup>
Farinha de trigo + farelo de soja	26,43±0,69 b *	83,09±11,21	0,26±0,08 b *	27,00±0,01 a *	29,00±0,01 a *

<sup>1/</sup> Médias (± erro padrão) seguidas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Waller-Duncan ( $p \leq 0,05$ ) comparando as fontes de proteína. \*, <sup>NS</sup> Significativo e não significativo, respectivamente, em relação à testemunha (germe de trigo) pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ). <sup>NS</sup>: não significância pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ) da análise de variância.

Tabela 9 - Comprimento da tibia posterior (mm) e peso de adultos (mg) para machos e fêmeas de *Doryctobracon areolatus* criados em larvas de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína. Temperatura de 25±1°C, umidade relativa de 70±20% e fotofase de 12h.

Fonte de proteína	Parâmetros biológicos			
	Comprimento da tibia posterior (mm)		Peso de adultos (mg)	
	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
Germe de trigo (testemunha)	1,15±0,02 <sup>NS</sup>	1,27±0,02	4,00±0,12	5,28±0,14
Farinha de arroz	1,14±0,02	1,34±0,02 a <sup>1/</sup> *	3,76±0,14 a <sup>NS</sup>	4,66±0,13 a *
Farinha de milho	1,18±0,02	1,37±0,01 a *	3,77±0,11 a <sup>NS</sup>	4,79±0,11 a *
Farinha de trigo + farelo de soja	1,13±0,02	1,28±0,02 b <sup>NS</sup>	2,51±0,11 b *	4,25±0,13 b *

<sup>1/</sup> Médias (± erro padrão) seguidas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Waller-Duncan ( $p \leq 0,05$ ) comparando as fontes de proteína. \*, <sup>NS</sup> Significativo e não significativo, respectivamente, em relação à testemunha (germe de trigo) pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ). <sup>NS</sup>: não significância pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ) da análise de variância.

O ritmo diário de parasitismo apresentou oscilações acentuadas para todos os tratamentos testados, com visível declínio ao longo da vida das fêmeas oriundas de dietas à base de farinha de arroz e da mistura contendo farinha de trigo + farelo de soja. Porém, esse comportamento não foi observado para as duas demais dietas, o que permite apurar que seria possível continuar a oferta de larvas por mais alguns dias (Figura 3). Na figura, também pode-se visualizar que o comportamento dos insetos se mostrou diferente, pois os picos para geração de descendentes foram variáveis. Em relação ao número de descendentes, os maiores valores foram observados quando larvas de *A. fraterculus* foram desenvolvidas em dieta contendo germe de trigo. De forma prática, a partir destes resultados pode ser possível otimizar o manejo dos adultos em parasitismo em uma criação de laboratório, uma vez que o custo para manutenção da criação com a compra de ingredientes e mão-de-obra é alto.

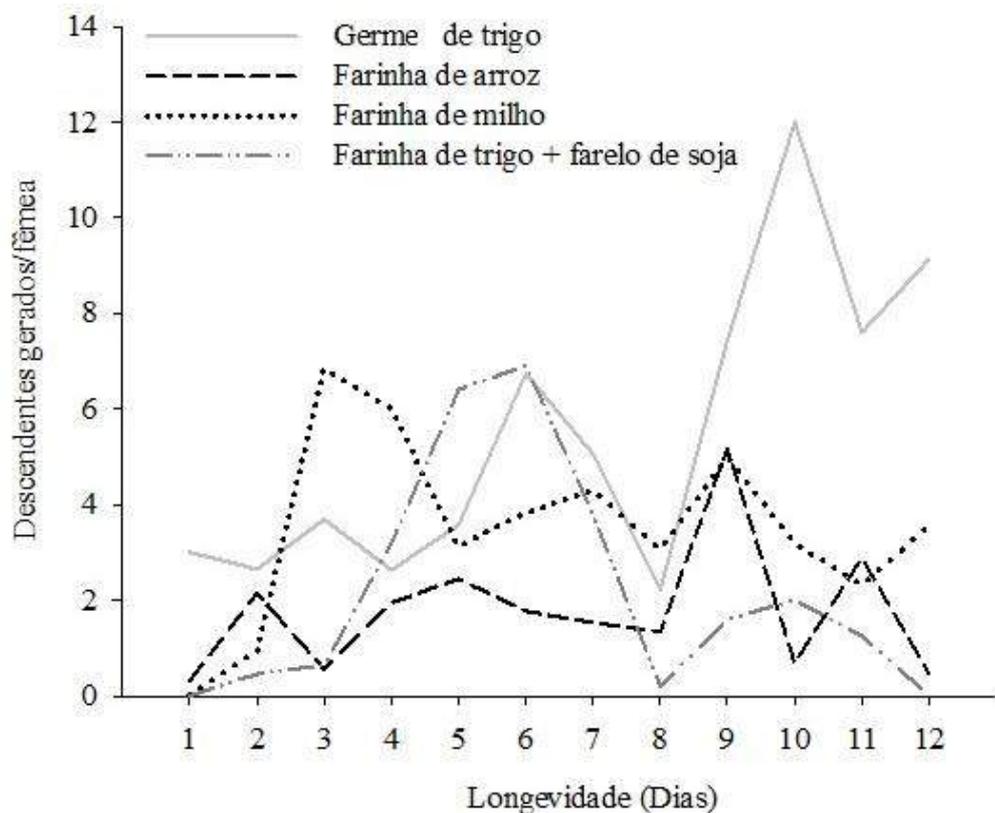


Figura 3 - Ritmo diário de descendentes gerados por fêmeas de *Doryctobracon areolatus* criadas em larvas de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína. Temperatura de  $25\pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70\pm 20\%$  e fotofase de 12h.

O resultado do teste de log-rank demonstrou que a longevidade tanto dos machos ( $X^2 = 23,3$ ; GL = 3;  $p = 0,00003$ ) quanto das fêmeas ( $X^2 = 7,5$ ; GL = 3;  $p = 0,04$ ) foi significativamente afetada pelas diferentes fontes de proteína (Figura 4).

Para machos de *D. areolatus* criados em larvas de *A. fraterculus* em dietas artificiais contendo germe de trigo, farinha de arroz, farinha de milho e farinha de trigo + farelo de soja, o tempo médio de sobrevivência (TMS) foi de 25,60; 38,00; 14,65 e 32,40 dias, respectivamente. Para fêmeas, os valores encontrados foram de 31,80; 34,30; 34,35 e 51,65 dias, para as mesmas dietas (Figura 4).

O tempo de sobrevivência de um parasitoide está diretamente relacionado com o tamanho do hospedeiro, assim insetos desenvolvidos em hospedeiros maiores são mais longevos (SAGARRA; VINCENT; STEWART, 2001). De acordo com Rivero e West (2002) e Ellers e Jervis (2003), esta relação é explicada pela maior disponibilidade de recursos nutricionais em hospedeiros maiores. Porém nesse trabalho, encontrou-se contradição para a dieta 4, que apresentou maiores valores médios de sobrevivência para fêmeas e diminuição no parâmetro relacionado ao tamanho do hospedeiro (Figura 4).

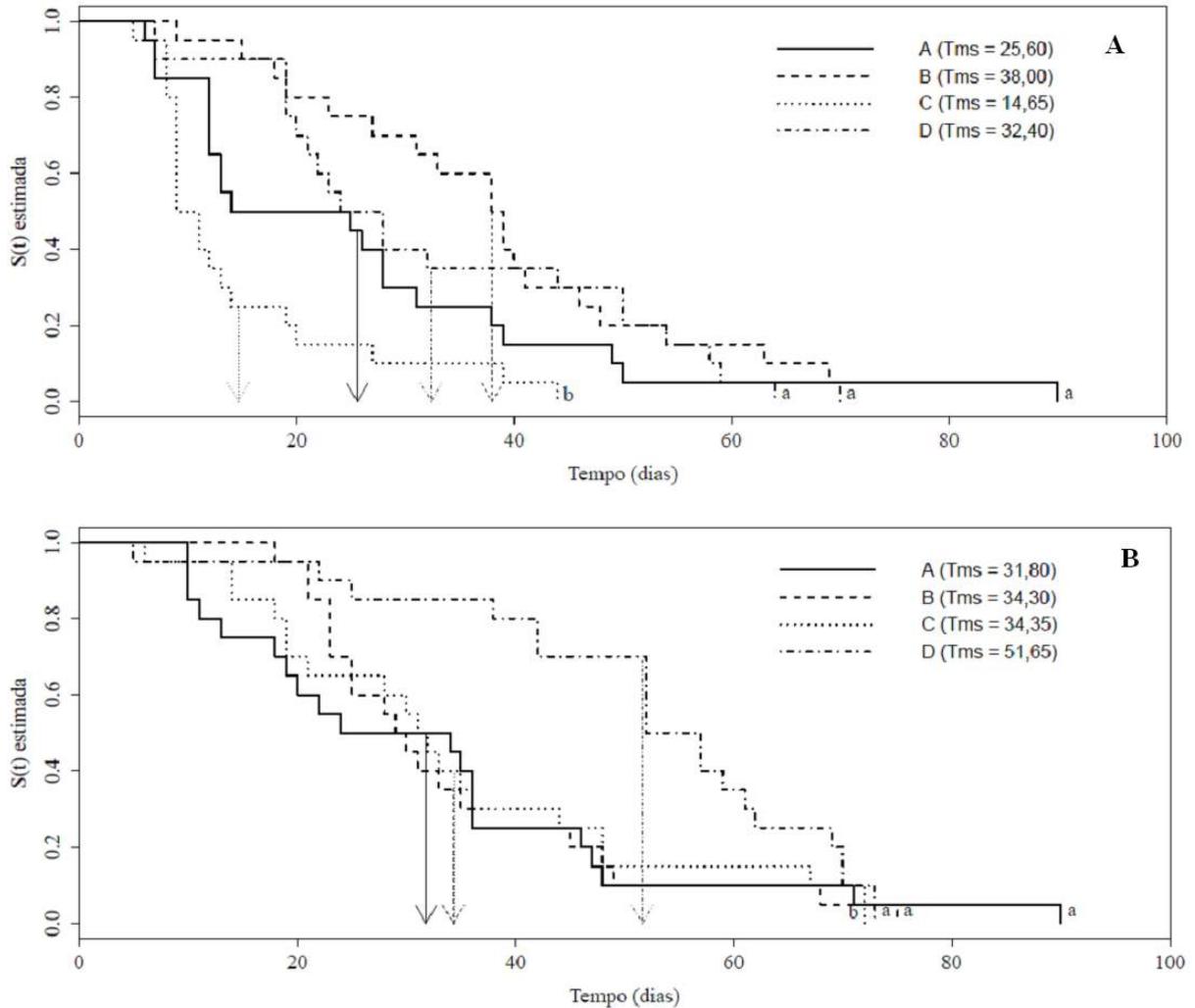


Figura 4 - Curvas de sobrevivência de machos (A) e fêmeas (B) de *Doryctobracon areolatus* criados em larvas de *Anastrepha fraterculus* oriundas de dietas artificiais com diferentes fontes de proteína (A = germe de trigo; B = farinha de arroz; C = farinha de milho; e, D = farinha de trigo + farelo de soja). Temperatura de  $25\pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70\pm 20\%$  e fotofase de 12h. Curvas seguidas pelas mesmas letras, para cada sexo, não diferem entre si pelo teste de log-rank. (Tms - tempo médio de sobrevivência).

Os resultados apurados nesse trabalho possibilitarão a utilização de dietas variadas para multiplicação dos insetos, permitindo assim que pesquisas com esse importante agente de controle biológico sejam aceleradas e avancem em diversas divisões da entomologia, principalmente relacionadas às técnicas de criação massal, ponto chave para diversos outros estudos.

## 5 Conclusões

A dieta contendo farinha de arroz apresentou desempenho similar quanto aos parâmetros estudados em relação ao germe de trigo, podendo assim o mesmo ser substituído na composição da dieta artificial para desenvolvimento larval de *Anastrepha fraterculus*.

Para a multiplicação do parasitoide *Doryctobracon areolatus*, as larvas criadas nas dietas com farinha de arroz e farinha de milho influenciaram positivamente no desenvolvimento do parasitoide.

## Referências

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

ALUJA, M.; MANGAN, R.L. Fruit fly (Diptera: Tephritidae) host status determination: critical conceptual, methodological, and regulatory considerations. **Annual Review of Entomology**, v.53, n.1, p.473-502, 2008.

ALUJA, M.; SIVINSKI, J.; OVRUSKI, S.; GUILLÉN, L.; LÓPEZ, M.; CANCINO, J.; TORRES-ANAYA, A.; GALLEGOS-CHAN, G.; RUÍZ, L. Colonization and domestication of seven species of native new world hymenopterous larval-prepupal and pupal fruit fly (Diptera: Tephritidae) parasitoids. **Biological Control**, v.19, n.sup1, p.49-29, 2009.

ALUJA, M.; SIVINSKI, J.; DRIESCHE, R.V.; ANZURES-DADDA, A.; GUILLÉN, L. Pest management through tropical tree conservation. **Biodiversity and Conservation**, v.23, n.4, p.831-853, 2014.

ANDRADE NETO, R.C.; NEGREIROS, J.R.S.; ARAÚJO NETO, S.E.; CAVALCANTE, M.J.B.; ALÉCIO, M.R.; SANTOS, R. S. **Diagnóstico da potencialidade da fruticultura no Acre**. Embrapa Acre, 2011. (Documentos, 125).

AOAC. **Association of Official Analytical Chemists**. Official Methods of Analysis. Section 994.12.14<sup>th</sup> Ed. Association of Official Analytical Chemist. Washington D.C. USA, 2000.

BERNAYS, E. Regulation of feeding behavior. In: KERKUT, G.A.; GILBERT, L.I. (Ed.). **Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology**. London: Pergamon Press, 1985. p.1-45.

BIGLER, F. Quality control of mass reared arthropods. **Proceedings 5<sup>th</sup> Workshop of the IOBC Working Group on Quality Control of Mass-Reared Arthropods**, p.25-29, 1991.

BISOGNIN, M.; NAVA, D.E.; LISBÔA, H.; BISOGNIN, A.Z.; GARCIA, M.S.; VALGAS, R.A.; DIEZ-RODRÍGUEZ, G.I.; BOTTON, M.; ANTUNES, L.E.C.A. Biologia da mosca-das-frutas sul-americana em frutos de mirtilo, amoreira-preta, araçazeiro e pitangueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, n.2, p.141-147, 2013.

BOLZAN, A.; NAVA, D.E.; GARCIA, F.R.M.; VALGAS, R.A.; SMANIOTTO, G. Biology of *Anastrepha grandis* (Diptera: Tephritidae) in different cucurbits. **Journal of Economic Entomology**, v.108, n.3, p.1034-1039, 2015.

BRAGA SOBRINHO, R.; CACERES, C.; ISLAM, A; WORNOPYORN, V.; ENKERLIM, W. Improving mass rearing technology for southamerican fruit fly (Diptera: Tephritidae). **Caatinga**, v.19, n.3, p.310-316, 2006.

BRAGA SOBRINHO, R.; GUIMARÃES, J.A.; MESQUITA, A.L.M.; ARAÚJO, K.L.B. **Desenvolvimento de dietas para a criação massal de moscas-das-frutas do gênero *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae)**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2009. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 33).

CANAL, N.A.; ZUCCHI, R.A. Parasitoides – Braconidae. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p.135-141.

CANCINO J.; RUIZ, L.; HENDRICHS, J.; BLOEM, K. Evaluation of sequential exposure of irradiated hosts to maximize the mass rearing of fruit fly parasitoids. **Biocontrol Science and Technology**, v.19, n.sup.1, p.95-109, 2009.

CARVALHO, R.S. **Estudos de laboratório e de campo com o parasitoide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead, 1905) (Hymenoptera: Braconidae) no Brasil**. 2003. 182f. Tese (Doutorado em Biologia Genética) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, USP, São Paulo.

CARVALHO, R.S. **Metodologia para monitoramento populacional de moscas-das-frutas em pomares comerciais**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2005. (Circular Técnica, 75).

CARVALHO, R.S.; NASCIMENTO, A.S. Criação e utilização de *Diachasmimorpha longicaudata* para controle biológico de moscas-das-frutas (Tephritidae). 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, SP, Brasil. 2002. p.165-179.

CARVALHO, R.S.; NASCIMENTO, A.S.; MATRANGOLO, W.J.R. Controle biológico. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p.113-117.

CHANG, C.L. Effect of amino acids on larvae and adults of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.97, n.3, p.529-535, 2004.

CHANG, C.L. Evaluation of yeasts and yeast products in larval and adult diets for the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*, and adult diets for the medfly, *Ceratitis capitata*, and the melon fly, *Bactrocera curcurbitae*. **Journal of Insect Science**, v.9, n.1, p.23, 2009.

CHANG, C.L.; ALBRECHT, C.; EL-SHALL, S.S.; KURASHIMA, R. Adult reproductive capacity of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) on a chemically defined diet. **Annals of the Entomological Society of America**, v.94, n.5, p.702-706, 2001.

CHANG, C.L.; VARGAS, R.I. Wheat germ oil and its effects on a liquid larval rearing diet for oriental fruit flies (Diptera: Tephritidae). **Journal of Economic Entomology**, v.100, n.2, p.322-326, 2007.

CHAPMAN, R.F. (Ed.). **The insects: structure and function**. New York: Elisier, 1998. 819p.

CHAPMAN, R.F.; SIMPSON, S.J.; DOUGLAS, A.E. (Ed.) **The insects: structure and function**. Cambridge University: Press, 2013. 929p.

CHRISTENSON, L.D.; FOOTE, R.H. Biology of fruit flies. **Annual Review of Entomology**, v.5, n.1, p.171-192, 1960.

CLARKE, G.M.; MCKENZIE, L.J. Fluctuating asymmetry as a quality control indicator for insect mass rearing processes. **Journal of Economic Entomology**, v.85, n.6, p.2045-2050, 1992.

CNA. Confederação Nacional da Agricultura e Pecuária. **Fruticultura 2016**. Disponível em:

<[http://www.cnabrazil.org.br/sites/default/files/sites/default/files\\_fruticultura](http://www.cnabrazil.org.br/sites/default/files/sites/default/files_fruticultura)>. Acesso em 10 mar. 2017

CRESONI-PEREIRA, C.; ZUCOLOTO, F.S. Moscas-das-frutas (Diptera). In: PANIZZI, A.R.; PARRA, J.R.P.; (Ed.). **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Londrina: Embrapa Soja, 2009. p.733-768.

DADD, R.H. Nutrition: organisms. In: KERKUT, G.A.; GILBERT, L.I. (Ed.). **Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology**. London: Pergamon Press, 1985. p.313-389.

DIAS, N.P. **Biologia de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) e de *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae) em frutos cítricos e sua relação com o pH em dieta artificial**. 2015. 105f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Universidade Federal de Pelotas, UFPEL, Pelotas, Rio Grande do Sul.

DIAS, N.P.; SILVA, F.F. Moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae e Lonchaeidae) na região da Fronteira Oeste do Rio Grande do Sul. **Revista de Ciências Agrárias**, v.57, n.1, p.29-34, 2014.

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

FACHINELLO, J.C.; PASA, M.D.S.; SCHMTIZ, J.D.; BETEMPS, D.L. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.sup1, p.109-120, 2011.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT 2016**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 02 abr. 2017.

FAO/IAEA/USDA. **Manual for product quality control and shipping procedures for sterile mass-reared Tephritid fruit flies**. Version 5.0. Vienna, Austria: IAEA, 2003. 84p.

FERNANDES, F.L.; BACCI, L.; FERNANDES, M.S. Impact and selectivity of insecticides to predators and parasitoids. **EntomoBrasilis**, v.3, n.1, p.1-10, 2010.

FINNEY, G.L. A fortifield carrot medium for mass culture of the Oriental fruit fly and certain other Tephritidae. **Journal of Economic Entomology**, v.49, n.1, p.134-136, 1956.

FIORAVANÇO, J.C.; LAZZAROTTO, J.J. A cultura da macieira no Brasil: reflexões sobre produção, mercado e fatores determinantes da competitividade futura. **Informações Econômicas**, v.42, n.4, p.42-54, 2012.

FLORES, H.S.; HERNÁNDEZ, E.; TOLEDO J. Desarrollo de un sistema de cría artificial para *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Acta Zoológica Mexicana**, v.28, n.2, p.321-340, 2012.

FOFONKA, L. **Espaço agrícola, ambiente e agroecologia: incidência de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) nos pomares de laranja no município de Caraá, RS**. 2006. 149f. Dissertação (Mestrado em Geografia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

GARCIA, F.R.M.; CORSEUIL, E. Flutuação populacional de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) e *Ceratitís capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) em pomares de pessegueiro em Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.15, n.1, p.153-158, 1998.

GARCIA, F.R.M.; RICALDE, M. Augmentative biological control using parasitoids for fruit fly management in Brazil. **Insects**, v.4, n.1, p.55-70, 2013.

GATELLI, T.; SILVA, F.F.; MEIRELLES, R.N.; REDAELLI, L.R.; DAL SOGLIO, F.K. Moscas frugívoras associadas a mirtáceas e laranjeira 'Céu' na região do Vale do Rio Caí, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v.38, n.1, p.236-239, 2008.

GENÇ, H. General principles of insect nutritional ecology. **Trakya University Journal Science**, v.7, n.1, p.53-57, 2006.

GODOY, M.J.S; PACHECO, W.S.P.; MALAVASI, A. Moscas-das-frutas quarentenárias para o Brasil. In: SILVA, R.A.; LEMOS, W.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Moscas-das-frutas na Amazônia brasileira: diversidade, hospedeiros e inimigos naturais**. Macapá: Embrapa Amapá. 2011. 299p.

- GONÇALVES, R.S. **Bioecologia e competição interespecífica de parasitoides (Hymenoptera: Braconidae) de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae)**. 2016. 185f. Tese (Doutorado em Fitossanidade) – Universidade Federal de Pelotas, UFPEL, Pelotas, Rio Grande do Sul.
- GONÇALVES, R.S.; NAVA, D.E.; PEREIRA, H.C.; LISBOA, H.; GRÜTZMACHER, A.D.; VALGAS, R.A. Biology and fertility life table of *Aganaspis pelleranoi* (Hymenoptera: Figitidae) in larvae of *Anastrepha fraterculus* and *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.106, n.6, p.791-798, 2013.
- GONÇALVES, R.S.; NAVA, D.E.; ANDREAZZA, F.; LISBÔA, H.; NUNES, A.M.; GRÜTZMACHER, A.D.; VALGAS, R.A.; MAIA, A.H.N.; PAZIANOTTO, R.A.A. Effect of constant temperatures on the biology, life table, and thermal requirements of *Aganaspis pelleranoi* (Hymenoptera: Figitidae), a parasitoid of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). **Environmental Entomology**, v.43, n.2, p.491-500, 2014.
- GONÇALVES, R.S.; ANDREAZZA, F.; LISBÔA, H.; GRÜTZMACHER, A.D.; VALGAS, R.A.; MANICA-BERTO, R.; NÖRNBERG, S.D.; NAVA, D.E. Basis for the development of a rearing technique of *Aganaspis pelleranoi* (Hymenoptera: Figitidae) in *Anastrepha fraterculus* (Tephritidae: Diptera). **Journal of Economic Entomology**, v.109, n.3, p.1094-1101, 2016.
- GONZÁLEZ, J.B. Crianza masal de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann). **Revista Peruana de Entomologia**, v.14, n.1, p.71-76, 1971.
- GUTIÉRREZ-RUELAS, J.M.S.M.; CORTÉS, G.V.; HOEFLICH, A.E.; LÓPEZ, W.R.H. Los programas de moscas de la fruta en México: su historia reciente. In: **Miscellaneous Publication A2/TT (IICA)**. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, n.IICA, 2013. p.10-31.
- HÄRTER, W.R.; GRÜTZMACHER, A.D.; NAVA, D.E.; GONÇALVES, R.S.; BOTTON, M. Toxic bait and mating disruption to control the American fruit fly and the oriental fruit moth on peach orchards. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.3, p.229-235, 2010.
- HÄRTER, W.R.; BOTTON, M.; NAVA, D.E.; GRÜTZMACHER, A.D.; GONÇALVES, R.S.; JUNIOR, R.M.; BERNARDI, D.; ZANARDI, O.Z. Toxicities and residual effects of toxic baits containing spinosad or malathion to control the adult *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). **Florida Entomologist**, v.98, n.1, p.202-208, 2015.
- HEIMPEL, G.E.; LUNDGREN, J.G. Sex ratios of commercially reared biological control agents. **Biological Control**, v.19, n.1, p.77-93, 2000.
- HENDRICHS, J.; ROBINSON, A.S.; CAYOL, J.P.; ERKENLIN, W. Medfly area wide sterile insect technique programmes for prevention, suppression or eradication: the importance of mating behavior studies. **Florida Entomologist**, v.85, n.1, p.1-13, 2002.

HERNÁNDEZ, A.F.; PARRÓN, T.; TSATSAKIS, A.M.; REQUENA, M.; ALARCÓN, R.; LÓPEZ-GUARNIDO, O. Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: their relevance to human health. **Toxicology**, v.307, p.136-145, 2013.

HERNÁNDEZ, E.; RIVERA, P.; ACEITUNO-MEDINA, M.; AGUILAR-LAPARRA, R.; QUINTERO-FONG, L.; OROZCO-DÁVILA, D. Eficiencia de levaduras para la cría masiva de *Anastrepha ludens*, *Anastrepha obliqua* y *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Acta Zoológica Mexicana**, v.32, n.3, p.240-252, 2016.

HSIAO, T.H. Feeding behavior. In: KERKUT, G.A.; GILBERT, L.I. (Ed.). **Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology**. London: Pergamon Press, 1985. p.471-512.

IAEA. International Atomic Energy Agency. **Trapping Guidelines for Area-Wide Fruit Fly Programmes**, Vienna: IAEA, 2003. 46p.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística 2016**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.sht>>. Acesso em: 20 jan. 2017.

IBRAF. Instituto Brasileiro de Fruticultura. **Estatísticas 2016**. Disponível em: <[http://www.ibraf.org.br/estatisticas/est\\_frutas.asp](http://www.ibraf.org.br/estatisticas/est_frutas.asp)>. Acesso em: 04 dez. 2016.

JALDO H.E.; GRAMAJO, M.C.; WILLINK, E. Mass rearing of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae): a preliminary strategy. **Florida Entomologist**, v.84, n.4, p.716–718, 2001.

JOLLIFFE, I.T (Ed.). **Principal Component Analysis**, 2<sup>th</sup> ed. New York: Springer-Verlag, 2002. 487p.

KAMIYA, A.C. **Criação massal em dieta líquida e radioesterilização da mosca-sul-americana *Anastrepha sp. 1 aff. fraterculus* (Wiedemann, 1830)(Diptera: Tephritidae)**. 2010. 71p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, USP, Piracicaba, São Paulo.

KAUR, S.; SRIVASTAVA, B.G. Effect of B-vitamins on various parameters of reproductive potential of *Dacus cucurbitae* (Coquillett). **Indian Journal of Entomology (India)**, 1991.

KLASSEN, W.; CURTIS, C.F. History of the sterile insect technique. In: HENDRICHS, J.; ROBINSON, A.S.; DYCK, V.A. (Ed.). **Sterile Insect Technique: Principles And Practice In Area-Wide Integrated Pest Management**. Netherlands: Springer, 2005. p.3-36.

KOGAN, M. Criação de insetos: bases nutricionais e aplicação em programas de manejo de pragas. **Congresso Brasileiro de Entomologia**. Campinas: Fundação Cargill, v.6, p.45-75, 1980.

LANCE, D.R.; MCINNIS, D.O. Biological basis of the sterile insect technique. In: HENDRICHS, J.; ROBINSON, A.S.; DYCK, V.A. (Ed.). **Sterile Insect Technique:**

Principles and Practice In Area-Wide Integrated Pest Management. Netherlands: Springer, 2005. p.69-94.

LAWRENCE, P.O.; BARANOWSKI, R.M.; GREANY, P.D. Effect of host age on development of *Biosteres* (= *Opius*) *longicaudatus*, a parasitoid of the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa*. **Florida Entomologist**, p.33-39, 1976.

LEE, J.C.; HEIMPEL, G.E. Sugar feeding by parasitoids in cabbage fields and the consequences for pest control. In: **Proceedings of the 1<sup>st</sup> International Symposium on Biological Control of Arthropods**, Honolulu, 2003. p.220-225.

LEPPLA, N.C.; ASHLEY, T.R. Quality control in insect mass production: a review and model. **Bulletin of the Entomological Society of America**, v.35, n.4, p.33-45, 1989.

LIU, H.J.; CHANG, B.Y.; YAN, H.W.; YU, F.H.; LU, X.X. Determination of amino acids in food and feed by derivatization with 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate and reversed-phase liquid chromatographic separation. **Journal of AOAC International**, v.78, n.3, p.736-744, 1995.

LÓPEZ, O.P.; HÉNAUT, Y.; CANCINO, J.; LAMBIN, M.; CRUZ-LÓPEZ, L.; ROJAS, J.C. Is host size an indicator of quality in the mass-reared parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae)? **Florida Entomologist**, v.92, n.3, p.441-449, 2009.

MALAVASI, A.; MORGANTE J.L.; ZUCCHI, R.A. Biologia de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae). Lista de hospedeiros e ocorrência. **Revista Brasileira de Biologia**, v.40, n.1, p.946, 1980.

MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil**: Conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, 2000. 325p.

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

MALAVASI, A.; NASCIMENTO, A.S. Programa Biofábrica Moscamed Brasil. **Resumos do Simpósio de Controle Biológico**, v.8, p.52, 2003.

MASTRANGELO, T.A. **Esterilização de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) com raios-X para Programas de Técnica do Inseto Estéril**. 2009. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, USP, Piracicaba, São Paulo.

MEIRELLES, R.N.; REDAELLI, L.R.; OURIQUE, C.B.; JAHNKE, S.M. Parasitismo de *Anastrepha fraterculus* por *Diachasmimorpha longicaudata* em condições de semicampo. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.11, n.3, 2016.

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

orchards through augmentative releases of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). **Biological Control**, v.18, n.3, p.216-224, 2000.

MORELLI, R.M. **Produção em grande escala do parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) em larvas hospedeiras de *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) linhagem mutante tsl-Viena 8**. 2013. 95f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, USP, Piracicaba, São Paulo.

MORELLI, R.; COSTA, K.Z.; FAGIONI, K.M.; COSTA, M.D.L.Z.; NASCIMENTO, A.S.D.; PIMENTEL, R.M.D.A.; WALDER, J.M.M. New protein sources in adults diet for mass-rearing of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.55, n.6, p.827-833, 2012.

MÜLLER, F.A. **Microbiota intestinal de larvas e adultos de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae): diversidade e efeito do alimento**. 2013. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, USP, Piracicaba, São Paulo.

NASCIMENTO, A.S.; CARVALHO, R.S.; MALAVASI, A. Monitoramento Populacional. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A (Ed.). **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil**: Conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p.109-112.

NASH, W.J.; CHAPMAN, T. Effect of dietary components on larval life history characteristics in the Medfly (*Ceratitidis capitata*: Diptera, Tephritidae). **PLoS One**, v.9, n.1, p.e86029, 2014.

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

NESTEL, D.; NEMNY-LAVY, E. Nutrient balance in medfly, *Ceratitidis capitata*, larval diets affects the ability of the developing insect to incorporate lipid and protein reserves. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.126, n.1, p.53-60, 2008.

NUNES, A.M.; NAVA, D.E.; MÜLLER, F.A.; GONÇALVES, R.D.S.; GARCIA, M.S. Biology and parasitic potential of *Doryctobracon areolatus* on *Anastrepha fraterculus* larvae. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.6, p.669-671, 2011.

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

NUNES, A.M.; COSTA, K.Z.; FAGGIONI, K.M.; COSTA, M.L.Z.; GONÇALVES, R.S.; WALDER, J.M.M.; GARCIA, M.S.; NAVA, D.E. Dietas artificiais para a criação de larvas e adultos da mosca-das-frutas sul-americana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, n.10, p.1309-1314, 2013.

OVIEDO, A.; NESTEL, D.; PAPADOPOULOS, N.T.; RUIZ, M.J.; PRIETO, S.C.; WILLINK, E.; VERA, M.T. Management of protein intake in the fruit fly *Anastrepha fraterculus*. **Journal of Insect Physiology**, v.57, n.12, p.1622-1630, 2011.

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

PARANHOS, B.A.J. Biofábrica Moscamed Brasil: tecnologia ambientalmente segura no combate às pragas. **Simpósio de Manga do Vale do São Francisco**, v.2, 2007. 16p.

PARKER, A.G. Mass rearing for sterile insect release. In: HENDRICH, J.; ROBINSON, A.S.; DYCK, V.A. (Ed.). **Sterile insect technique: principles and practice in area wide integrated pest management**. Dordrecht: Springer, 2005. p.209-232.

PARRA, J.R.P. Criação massal 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**. Barueri: Manole, 2002. p.143-161.

PARRA, J.R.P. A evolução das dietas artificiais e suas interações em ciência e tecnologia. In: PANIZZI, A.R. (Ed.). **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Embrapa: Brasília, 2009. p.91-174.

PARRA, J.R.P.; KASTEN JÚNIOR, P.; MOLINA, R.M.S.; HADDAD, M.L. Efeito do pH no desenvolvimento do bicho-furão. **Laranja**, v.22, n.2, p.321-332, 2001.

PERDOMO, M.C.; VARGAS, R.; CAMPOS, G. Valor nutritivo de la levadura de cervecería (*Saccharomyces cerevisiae*) y de sus derivados, extracto y pared celular, en la alimentación aviar. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v.12, n.3, p.89-95, 2004.

PEREIRA-RÊGO, D.R.G.; JAHNKE, S.M.; REDAELLI, L.R.; SCHAFFER, N. Variação na infestação de mosca-das-frutas (Diptera: Tephritidae) e parasitismo em diferentes fases de frutificação em mirtáceas nativas no Rio Grande do Sul. **EntomoBrasilis**, v.6, n.2, p.141-145, 2013.

PONCIO, S. **Bioecologia e técnicas de criação de parasitoides (Hymenoptera) nativos de três espécies de *Anastrepha* no Brasil e no México**. 2015. 134f. Tese (Doutorado em Fitossanidade) – Universidade Federal de Pelotas, UFPEL, Pelotas, Rio Grande do Sul.

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

PREZOTTI, L.; PARRA, J.R.P. Controle de qualidade em criações massais de

parasitoides e predadores. 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**. Barueri: Manole, 2002. p.295-308.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing 2015**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<http://www.Rproject.org/>>.

RESILVA, S.S.; OBRA, G.B.; CHANG, C.L. Suitability of a liquid larval diet for rearing the Philippines fruit fly *Bactrocera philippinensis* (Diptera: Tephritidae). **International Journal of Tropical Insect Science**, v.34, n.S1, p.S53-S58, 2014.

REYES, J.; SANTIAGO, G.; HERNANDEZ, P. The Mexican fruit fly eradication programme. In: TAN, K.H. (Ed.). **Area-Wide Control of Fruit Flies and Others Pests**. Penang: Penerbit Universiti Sains Malaysia, 2000. p.377-380.

RIVERO, A.; WEST, S.A. The physiological costs of being small in a parasitic wasp. **Evolutionary Ecology Research**, v.4, n.3, p.407-420, 2002.

ROHDE, C.; JUNIOR, A.M.; SILVA, P.K.; DE OLIVEIRA RAMALHO, K.R. Efeito de extratos vegetais aquosos sobre a mosca-das-frutas *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.80, n.4, p.407-415, 2013.

RUIZ, M.J.; JÚAREZ, M.L.; ALZOGARAY, R.A.; ARRIGHI, F.; ARROYO, L.; GASTAMINZA, G.; WILLINK, E.; BARDO, A.D.V.; VERA, T. Toxic effect of *Citrus* peel constituents on *Anastrepha fraterculus* Wiedemann and *Ceratitidis capitata* Wiedemann immature stages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.62, n.41, p.84-91, 2014.

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

SALLES, L.A.B. Metodologia de criação de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) em dieta artificial em laboratório. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.21, p.479-486, 1992.

SALLES, L.A.B. **Bioecologia e controle da mosca-das-frutas sul-americana**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1995. (Embrapa Clima Temperado, Circular técnica, 81).

SARH. **Campanha Contra Moscas de la Fruta**. Planta de production de Moscas de la fruta esteriles y parasitoides. Ira. Edition, 1985. p.1-3.

SILVA, N.M.; SILVEIRA NETO, S.; ZUCCHI, R.A. The natural host plant of *Anastrepha* in the state of Amazonas, Brazil. In: MCPHERON, B.A.; STECK, G. (Ed.). **Fruit fly pest: a world assessment of their biology and management**. Boca Raton: St. Lucie Press, 1996. p.353-357.

SILVA, F.F.; MEIRELLES, R.N.; REDAELLI, L.R.; DAL SOGLIO, F.K. Diversity of flies (Diptera: Tephritidae and Lonchaeidae) in organic citrus orchards in the Vale do Rio Caí, Rio Grande do Sul, Southern Brazil. **Neotropical Entomology**, v.35, n.5, p.666-670, 2006.

SILVA, F.F.; MEIRELLES, R.N.; DAL SOGLIO, F.K.; REDAELLI, L.R. Comparação de métodos de controle de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) na produção orgânica de citros. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v.14, n.1, p.36-52, 2007.

SILVA, J.G.; DUTRA, V.S.; SANTOS, M.S.; SILVA, N.M.; VIDAL, D.B.; NINK, R.A.; GUIMARÃES, J.A.; ARAUJO, E.L. Diversity of *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) and associated braconid parasitoids from native and exotic hosts in southeastern Bahia, Brazil. **Environmental Entomology**, v.39, n.5, p.1457-1465, 2010.

SILVA NETO, A.M.; DIAS, V.S.; JOACHIM-BRAVO, I.S. Comportamento reprodutivo de *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera Tephritidae): efeito do tamanho dos machos sobre o seu sucesso de cópula. **EntomoBrasilis**, v.5, n.3, p.190-197, 2012.

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

SIMPSON, S.J.; RAUBENHEIMER, D. Caloric restriction and aging revisited: the need for a geometric analysis of the nutritional bases of aging. **The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences**, v.62, n.7, p.707-713, 2007.

SINGH, P. Insect Diets: Historical Development, Recent Advances, and Future Prospects. In: KING, E.G.; LEPPLA, N.C. (Ed.). **Advances and Challenges in Insect Rearing. Agricultural Research Service (Southern Region)**. New Orleans: U.S. Department of Agriculture, 1984. p.32-44.

SIVINSKI, J.; CALKINS, C.O.; BARANOWSKI, R.; HARRIS, D.; BRAMBILA, J.; DIAZ, J.; BURNS, R.E.; HOLLER, T.; DODSON, G. Suppression of a Caribbean fruit fly (*Anastrepha suspensa* (Loew), Diptera: Tephritidae) population through augmented releases of the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). **Biological Control**, v.6, n.2, p.177-185, 1996.

SLANSKY JUNIOR, F.; SCRIBER, J.M. Food consumption and utilization. In: KERKUT, G.A.; GILBERT, L.I. (Ed.). **Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology**. Oxford: Pergamon, 1985. p.87-163.

SOUZA, H.M.L.; MATIOLI, S.R.; SOUZA, W.N. The adaptation process of *Ceratitis capitata* to the laboratory analysis of life-history traits. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.49, n.3, p.195-201, 1988.

STECK, G.J. Taxonomic status of *Anastrepha fraterculus*. In: International Atomic Energy Agency. **The South American fruit fly, *Anastrepha fraterculus* (Wied.); advances in artificial rearing, taxonomic status and biological studies**. Vienna: FAO/IAEA, 1999. p.13-20.

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

TSIROPOULOS, G.J. The importance of vitamins in adult *Dacus oleae* (Diptera: Tephritidae) nutrition. **Annals of the Entomological Society of America**, v.73, n.6, p.705-707, 1980.

VERA, M.T.; ABRAHAM, S.; OVIEDO, A.; WILLINK, E. Demographic and quality control parameters of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) maintained under artificial rearing. **Florida Entomologist**, v.90, n.1, p.53-57, 2007.

WALDER, J.M.M.; COSTA, M.L.Z.; ALCARDE, L.D.; COSTA, K.Z.; CANALE, R.A.; MASTRANGELO, T.A.; LOPES, L.A.; KAMYIA, A.C. Desenvolvimento de sistema de criação massal para *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) no Brasil. In: XXII **Resumos do XXII Congresso Brasileiro de Entomologia**. Uberlândia: 2008.

ZAMEK, A.L.; SPINNER, J.E.; MICALLEF, J.L.; GURR, G.M.; REYNOLDS, O.L. Parasitoids of Queensland fruit fly *Bactrocera tryoni* in Australia and prospects for improved biological control. **Insects**, v.3, n.4, p.1056-1083, 2012.

ZANARDI, O.Z.; NAVA, D.E.; BOTTON, M.; GRÜTZMACHER, A.D.; MACHOTA JUNIOR, R.; BISOGNIN, M. Desenvolvimento e reprodução da mosca-do-mediterrâneo em caqui, macieira, pessegueiro e videira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.7, p.682-688, 2011.

ZART, M.; FERNANDES, O.; BOTTON, M. Biology and fertility life table of the South American fruit fly *Anastrepha fraterculus* on grape. **Bulletin of Insectology**, v.63, n.2, p.237-242, 2010.

ZILLI, G.; GARCIA, F.R.M. Análise faunística e flutuação populacional de moscas-das-frutas (Diptera, Tephritidae) em pomar de *Citrus sinensis* no município de Chapecó, Santa Catarina. **Biodiversidade Pampeana**, v.8, n.1, 2011.

ZUCCHI, R.A. Espécies de *Anastrepha*, sinonímias, plantas hospedeiras e parasitoides. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil**: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto, Holos, 2000. p.41-48.

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

ZUCCHI, R.A. **Fruit flies in Brazil**. 2008. Disponível em: <<http://www.lea.esalq.usp.br/fruitflies/>>. Acesso em: 27 abr. 2017.

ZUCOLOTO, F.S. Alimentação e nutrição de moscas-das-frutas. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: Conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p.67-80.