

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Departamento de Fitossanidade
Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade



TESE

**Biologia e controle químico de *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae), e
toxicidade aos seus parasitoides**

Daniele Cristine Hoffmann Schlesener

Pelotas, 2018

Daniele Cristine Hoffmann Schlesener

Biologia e controle químico de *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae), e toxicidade aos seus parasitoides

Tese apresentada à Universidade Federal de Pelotas, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Fitossanidade, para obtenção do título de Doutora em Ciências (área de concentração Entomologia Agrícola).

Orientador: Prof. Dr. Flávio Roberto Mello Garcia

Coorientadora: Dr^a. Adrise Medeiros Nunes

Coorientador: Dr. Marco da Silva Gottschalk

Pelotas, 2018

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S342b Schlesener, Daniele Cristine Hoffmann

Biologia e controle químico de *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae), e toxicidade aos seus parasitoides / Daniele Cristine Hoffmann Schlesener ; Flávio Roberto Mello Garcia, orientadora ; Adrise Medeiros Nunes, Marco Silva Gottschalk, coorientadores. — Pelotas, 2018.

132 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Dieta artificial. 2. Drosófila da asa manchada. 3. Inseticida. 4. Tabela de vida. 5. Temperatura. I. Garcia, Flávio Roberto Mello, orient. II. Nunes, Adrise Medeiros, coorient. III. Gottschalk, Marco Silva, coorient. IV. Título.

CDD : 595.77

Banca examinadora:

Dr. Flávio Roberto Mello Garcia (Orientador)
Universidade Federal de Pelotas

Dr. Daniel Bernardi
Universidade Federal de Pelotas

Dr. Anderson Dionei Grützmacher
Universidade Federal de Pelotas

Dr. Dori Edson Nava
Embrapa Clima Temperado

Dra. Ana Paula Schneid Afonso da Rosa
Embrapa Clima Temperado

**À minha família,
Norberto, Beatriz, Cristiano e
Rosimeri, que sempre estão
ao meu lado.**

Agradecimentos

Agradeço à Universidade Federal de Pelotas (UFPel), ao Programa de Pós-graduação em Fitossanidade (PPGFs) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa e possibilidade de realização de um sonho, me tornar Doutora.

Aos professores que dividiram seus conhecimentos e auxiliaram no meu crescimento profissional. Agradeço especialmente ao meu orientador Flávio Roberto Mello Garcia, pela dedicação e amizade.

Aos amigos e colegas de trabalho que fizeram parte da família Labio/Labei, em especial às colegas que me auxiliaram ao longo de todos os experimentos, Jutiane Wollmann, Alexandra Peter Krüger e Liliane Nachtigall Martins, obrigada pela ajuda e amizade, sem vocês eu não teria conseguido. Também aos colegas do LabMip Juliano Pazini e Aline Costa Padilha, que aceitaram prontamente as propostas de parceria.

Aos companheiros da vida, Mariana, Suzana, Amanda, Paula, Pâmela, Ana Raisal e Moyses, que sempre entenderam os meus horários inusitados, meus fins de semanas cortados, e que são minha segunda família.

E por fim, aos meus amados pais Norberto e Beatriz, e meu irmão e cunhada Cristiano e Rosimeri, que sempre estão presentes para me aplaudir nos momentos felizes e de conquista, mas também enxugam minhas lágrimas nas horas difíceis e de angústia. Que esse título traga tanto orgulho para vocês, quanto traz para mim.

Resumo

SCHLESENER, Daniele Cristine Hoffmann. **Biologia e controle químico de *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) e toxicidade aos seus parasitoides.** 2018. 132 f. Tese (Doutorado em Ciências – Entomologia Agrícola) – Programa Pós-graduação em Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Drosophila suzukii (Matsumura) (*Spotted Wing Drosophila* - SWD) é uma praga de pequenos frutos de epicarpo delgado, que vem causando grandes danos à cultivos comerciais e frutos nativos. As fêmeas apresentam um ovipositor serrado e robusto, que permite a oviposição no interior de frutos sadios. SWD também apresenta elevado potencial biótico em condições ambientais favoráveis, sendo a temperatura um dos principais fatores abióticos determinantes para seu estabelecimento e desenvolvimento. A principal forma de manejo dessa praga é o controle químico, porém estudos demonstram que o controle biológico natural pode auxiliar na supressão populacional. Dentro desse contexto, o presente estudo teve como objetivos testar a eficiência de três dietas artificiais com base em parâmetros biológicos e de tabela de vida de *D. suzukii*, avaliar os efeitos de sete temperaturas constantes sobre a biologia e exigências térmicas de *D. suzukii*, avaliar os efeitos de inseticidas sobre adultos e ovos de SWD, e avaliar a toxicidade de inseticidas sobre os parasitoides *Trichopria anastrephae* e *Pachycrepoideus vindemmiae*. As dietas A (farinha de milho, glicose e levedura) e C (farinha de milho, melão e levedura) são adequadas para a criação de *D. suzukii* em laboratório, pois proporcionaram as maiores taxas de reprodução (R_0) (257,32 e 210,29, respectivamente) e os menores períodos entre gerações ($T = 35$ dias), em relação a dieta B (farinha de milho, açúcar e levedura) ($R_0 = 116,12$; $T = 37$ dias). As melhores temperaturas para o desenvolvimento de *D. suzukii* foram 23 e 25°C, pois proporcionaram as maiores viabilidades do ciclo biológico (ovo-adulto) (81% e 69%, respectivamente), menor período entre gerações ($T = 28,91$ e 28,76, respectivamente), melhor taxa de reprodução ($R_0 = 245,48$ à 23°C) e razão finita de aumento ($r_m = 0,190$ e 0,166 dias, respectivamente). Não houve desenvolvimento a 30 e 33°C. A temperatura base (T_b) foi de 7,85°C, a constante térmica (K) 185,87 GD, e a estimativa de gerações anuais variou de 17,18 a 27,20, entre as regiões frias e quentes, respectivamente. Os inseticidas deltametrina, dimetoato, espinosade, fenitrotiona, fosmet, malationa, metidationa e zeta-cipermetrina resultaram em mortalidade de 100% dos adultos de SWD aos três dias após tratamento (DAT). Já fenitrotiona, malationa e metidationa inviabilizaram 100% dos ovos, seguido por fosmet e diflubenzuron, que também causaram elevada redução na eclosão de larvas, aos dois DAT. A espécie *P. vindemmiae* foi mais suscetível a ação de inseticidas em relação a *T. anastrephae*, sendo que os inseticidas abamectina, espinosade e espinetoram causaram elevada mortalidade e redução de parasitismo de *P. vindemmiae*, no entanto não afetaram *T. anastrephae*. As informações contidas no presente estudo são de suma importância para o delineamento de estratégias de controle a campo e desenvolvimentos de criações de laboratório para fins de estudos.

Palavras-chave: Controle biológico, dieta artificial, drosófila-da-asa-manchada, inseticida, tabela de vida, temperatura.

Abstract

SCHLESENER, Daniele Cristine Hoffmann. **Biology and chemical control of *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae), and toxicity to their parasitoids**. 2018.132 f. Thesis (Doctorate in Sciences – Agricultural Entomology) – Postgraduate Program in Crop Protection, Federal University of Pelotas, Pelotas

Drosophila suzukii (Matsumura) (*Spotted Wing Drosophila* - SWD) is a pest of small fruit with thin skin that has been causing great damage to commercial crops and native fruits. The females have a robust and serrated ovipositor, which allows oviposition inside healthy fruits. SWD also presents high biotic potential under favorable environmental conditions, with temperature being one of the main abiotic factors determining its establishment and development. The main way of handling this pest is chemical control, but studies show that natural biological control can help with population suppression. Within this context, the present study aimed to test the efficiency of three artificial diets, based on biological parameters and life table of *D. suzukii*, to evaluate the effect of seven constant temperatures on the biology and thermal requirements of *D. suzukii*, to evaluate the effect of pesticides on adults and eggs of SWD, and to evaluate the toxicity of pesticides on parasitoids *Trichopria anastrephae* and *Pachycrepoideus vindemmiae*. The diets A (cornmeal, glucose and yeast) and C (cornmeal, molasses and yeast) are suitable for laboratory rearing of *D. suzukii*, since they provided the highest net rates of reproduction (R_o) (257.32 and 210.29, respectively) and the shortest periods between generations ($T = 35$ days), in relation to diet B (cornmeal, sugar and yeast) ($R_o = 116.12$; $T = 37$ days). The best temperatures for the development of *D. suzukii* were 23 and 25°C, since they provided the greatest viabilities of the biological cycle (egg-adult) (81% and 69%, respectively), the shortest period between generations ($T = 28.91$ and 28.76, respectively), better reproduction rate ($R_o = 245.48$ at 23°C) and finite rate of increase ($r_m = 0.190$ and 0.166 days, respectively). There was no development at 30 and 33°C. The lower temperature threshold (TT) was 7.85°C, the thermal constant (K) 185.87 GD, and the estimation of annual generations ranged from 17.18 to 27.20, between cold and hot regions, respectively. The pesticides deltamethrin, dimethoate, spinosad, fenitrothion, phosmet, malathion, methidathion and zeta-cypermethrin resulted in 100% mortality of adults of SWD three days after treatment (DAT). Fenitrothion, malathion and methidathion have made 100% of the eggs unviable, followed by phosmet and diflubenzuron, which also caused a high reduction in larvae hatching, at two DAT. The species *P. vindemmiae* was more susceptible to the action of pesticides in relation to *T. anastrephae*, and the pesticides abamectin, spinosad and spinetoram caused high mortality and reduced parasitism of *P. vindemmiae*, however did not affect *T. anastrephae*. The results of the present study are of great importance for the design of field control strategies and the development of laboratory rearing for study purposes.

Key words: Artificial diet, biological control, Spotted Wing Drosophila, life table, temperature, pesticide.

Lista de Figuras Artigo 1

- Figura 1 - Egg to adult development time for *Drosophila suzukii* larvae on different artificial diets. Diet A (cornmeal – glucose – yeast), B (cornmeal – sugar – yeast) and C (cornmeal – molasses – yeast). Columns with the same color followed by different letters differ significantly from each other by Tukey ($P < 0.05$).....37
- Figura 2 - Viability (%) of the biological cycle (egg to adult) of *Drosophila suzukii* in different artificial diets. Diet A (cornmeal – glucose – yeast), B (cornmeal – sugar – yeast) and C (cornmeal – molasses – yeast). Columns followed by different letters differ significantly from each other by Tukey ($P < 0.05$).....38
- Figura 3 - Survival curve of females (a) and males (b) of *Drosophila suzukii* when fed on different artificial diets. Diet A (cornmeal – glucose – yeast), B (cornmeal – sugar – yeast) and C (cornmeal – molasses – yeast)....39
- Figura 4 - Oviposition peak of *Drosophila suzukii* when fed with different artificial diets. Diet A (cornmeal – glucose – yeast), B (cornmeal – sugar – yeast) and C (cornmeal – molasses – yeast).....40

Lista de Figuras Artigo 2

- Figura 1 - Pontos de referência de *Drosophila suzukii* utilizados para a determinação da medição da asa (A) e tórax (B).....67
- Figura 2 - Duração (dias) (A) e viabilidade (%) do período do ciclo biológico (ovo a adulto) (B) de *Drosophila suzukii* em diferentes temperaturas. Médias seguidas de mesma letra nas barras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).....68
- Figura 3 - Número médio de ovos por fêmea por dia de *Drosophila suzukii* em cinco temperaturas constantes.....69
- Figura 4 - Curva de sobrevivência de fêmeas (A) e machos (B) de *Drosophila suzukii* em cinco temperaturas constantes.....70
- Figura 5 - Curva da taxa de desenvolvimento do período de ovo a adulto de *Drosophila suzukii* criadas em cinco temperaturas diferentes.....71

Lista de Figuras Artigo 4

- Figura 1 - Detalhe do encapsulamento da forma imatura de parasitoide no abdome de *Drosophila suzukii*.....122
- Figura 2 - Curva de longevidade de adultos de *Trichopria anastrephae* expostos a resíduos dos inseticidas abamectina (Abamect), espinetoram (Spinetm) e espinosade (Spinosd) e testemunha. As curvas foram geradas por estimadores de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank ($p > 0,05$).....123
- Figura 3 - Curva de longevidade de adultos de *Pachycrepoideus vindemmiae* expostos a resíduos do inseticida acetamiprido (Acetamp) e testemunha. As curvas foram geradas por estimadores de Kaplan Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank ($p < 0,05$).....124

Lista de Tabelas Artigo 1

Tabela 1 -	Costs and components used in the preparation of artificial diets for the rearing of <i>Drosophila suzukii</i>	41
Tabela 2 -	Biological parameters of <i>Drosophila suzukii</i> on different artificial diets.....	42
Tabela 3 -	Fertility life table parameters of <i>Drosophila suzukii</i> when fed with different artificial diets.....	43

Lista de Tabelas Artigo 2

Tabela 1 -	Municípios produtores de morango no Brasil, temperaturas médias anuais (°C), graus-dias anuais acumulados (GD) e provável número de gerações anuais de <i>Drosophila suzukii</i>	72
Tabela 2 -	Parâmetros biológicos de <i>Drosophila suzukii</i> criadas em diferentes temperaturas.....	73
Tabela 3 -	Tabela de vida de fertilidade de <i>Drosophila suzukii</i> em diferentes temperaturas.....	74
Tabela 4 -	Tamanho (mm) de asa e tórax de adultos de <i>Drosophila suzukii</i> quando criados em diferentes temperaturas constantes.....	75

Lista de Tabelas Artigo 3

Tabela 1 -	Insecticides used in the adult mortality and ovicidal effect over <i>Drosophila suzukii</i> in laboratory conditions.....	82
Tabela 2 -	Average number (\pm standard error) of <i>Drosophila suzukii</i> adult subjects after exposure to strawberries (<i>Fragaria x ananassa</i>) treated with insecticides in laboratory bioassays.....	84
Tabela 3 -	Average number (\pm standard error) of <i>Drosophila suzukii</i> larvae eclosed after exposure to insecticides in laboratory bioassays.....	86

Lista de Tabelas Artigo 4

Tabela 1 -	Inseticidas utilizados nos bioensaios, com suas respectivas concentrações e grupo químico.....	116
Tabela 2 -	Percentual médio de mortalidade (%) de adultos de <i>Trichopria anastrephae</i> após 2, 4, 24, 48, 72, 96 e 120 h após exposição a resíduos de diferentes inseticidas (24±3 °C, 75±10% UR, fotoperíodo 14 L:10 D h).....	117
Tabela 3 -	Percentual médio de mortalidade (%) de adultos de <i>Pachycrepoideus vindemmiae</i> após 2, 4, 24, 48, 72, 96 e 120 h após exposição a resíduos de diferentes inseticidas (24±3 °C, 75±10% UR, fotoperíodo 14 L:10 D h).....	118
Tabela 4 -	Tempo letal (TL ₅₀) de diferentes inseticidas a adultos de <i>Trichopria anastrephae</i> e <i>Pachycrepoideus vindemmiae</i> (24±3 °C, 75±10% UR, fotoperíodo 14 L:10 D h).....	119
Tabela 5 -	Média de pupas parasitadas (%) e redução do parasitismo (%) de adultos de <i>Trichopria anastrephae</i> (F ₀) expostos a resíduos de diferentes inseticidas, porcentagem média de emergência (%), redução na emergência (E) e razão sexual dos parasitoides (F ₁) e respectiva classe toxicológica proposta pela IOBC/WPRS (24±3 °C, 75±10% UR, fotoperíodo 14 L:10 D h).....	120
Tabela 6 -	Média de pupas parasitadas (%) e redução do parasitismo (%) de adultos de <i>Pachycrepoideus vindemmiae</i> (F ₀) expostos a resíduos de diferentes inseticidas, porcentagem média de emergência (%), redução na emergência (E) e razão sexual dos parasitoides (F ₁) e respectiva classe toxicológica proposta pela IOBC/WPRS (24±3 °C, 75±10% UR, fotoperíodo 14 L:10 D h).....	121

Sumário

Introdução	16
Artigo 1. Biology and fertility life table of <i>Drosophila suzukii</i> (Diptera: Drosophilidae) on artificial diets	20
Acknowledgments.....	21
Abstract.....	22
Introduction.....	23
Materials and Methods.....	25
Rearing and maintenance of <i>D. suzukii</i>	25
Diets Evaluated.....	26
Biological parameters of <i>D. suzukii</i> on an artificial diet.....	26
Statistical analysis.....	27
Results.....	28
Biological parameters of <i>D. suzukii</i> in artificial diets.....	28
Fertility life table of <i>D. suzukii</i>	29
Discussion.....	29
Author Contribution.....	32
References.....	32
Artigo 2. Efeito de temperaturas sobre a biologia, tamanho do corpo e exigências térmicas de <i>Drosophila suzukii</i> (Diptera: Drosophilidae)	44
Resumo.....	46
Abstract.....	47
Mensagem chave.....	48
Declaração de contribuição dos autores.....	48
Introdução.....	49
Material e métodos.....	51
Criação e manutenção de <i>D. suzukii</i>	51
Parâmetros biológicos de <i>D. suzukii</i> em temperaturas constantes.....	51
Determinação das exigências térmicas e número de gerações anuais de <i>D. suzukii</i>	53

Efeito de temperaturas sobre o tamanho do corpo de adultos de <i>D. suzukii</i>	54
Análise estatística.....	55
Resultados.....	55
Parâmetros biológicos de <i>D. suzukii</i> em diferentes temperaturas.....	55
Tabela de vida de fertilidade de <i>D. suzukii</i> em diferentes temperaturas.....	57
Efeito das temperaturas sobre o tamanho do corpo de <i>D. suzukii</i>	57
Exigências térmicas e estimativa do número de gerações de <i>D. suzukii</i> em regiões produtoras de morango.....	58
Discussão.....	58
Referências.....	63
Artigo 3. Effects of insecticides on adults and eggs of <i>Drosophila suzukii</i> (Diptera, Drosophilidae)	76
Abstract.....	77
Resumen.....	78
Introduction.....	79
Materials and methods.....	80
Laboratory colony.....	80
Inseticides.....	80
Adult mortality.....	81
Ovicidal effect.....	82
Results.....	83
<i>Drosophila suzukii</i> 's adult mortality.....	83
Ovicidal effect.....	85
Discussion.....	87
Conclusion.....	89
Acknowledgments.....	90
Literature cited.....	90
Artigo 4. Toxicidade de inseticidas sobre parasitoides de <i>Drosophila suzukii</i> (Diptera: Drosophilidae): <i>Trichopria anastrephae</i> (Hymenoptera: Diapriidae) e <i>Pachycrepoideus vindemmiae</i> (Hymenoptera: Pteromalidae)	93
Resumo.....	95
Abstract.....	96
Introdução.....	97
Material e Métodos.....	99
Criação e manutenção dos parasitoides <i>T. anastrephae</i> e <i>P. vindemmiae</i> e seu hospedeiro <i>D. suzukii</i>	99
Inseticidas.....	100

Bioensaios.....	100
Efeito letal dos inseticidas sobre <i>T. anastrephae</i> e <i>P. vindemmiae</i>	101
Efeitos secundários de inseticidas sobre <i>T. anastrephae</i> e <i>P. vindemmiae</i>	101
Análise estatística.....	102
Resultados.....	103
Mortalidade e tempo letal de inseticidas sobre <i>T. anastrephae</i> e <i>P. vindemmiae</i>	103
Efeito de inseticidas sobre o parasitismo, razão sexual e longevidade de <i>T. anastrephae</i> e <i>P. vindemmiae</i>	105
Discussão.....	106
Agradecimentos.....	110
Referências citadas.....	110
Considerações Finais	125
Referências	127

Introdução

A drosófila-da-asa-machada (*Spotted Wing Drosophila* - SWD), *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) é uma praga de pequenos frutos de epicarpo delgado, que apresenta grande importância econômica, principalmente, em grandes regiões produtoras de frutos nos EUA (WALSH et al., 2011; CINI; IORIATTI; ANFORA 2012), e que vem causando uma série de danos em frutos cultivados e nativos no Brasil. É uma espécie oriunda da Ásia, que já está estabelecida em diversos países da América do Norte, Europa e América do Sul (WALSH et al., 2011; CINI; IORIATTI; ANFORA, 2012; DEPRÁ et al. 2014; ANDREAZZA et al., 2017) e com elevada capacidade de adaptação em países do continente africano e Oceania (DOS SANTOS et al., 2017). Estudos genéticos apontam que as populações sul-americanas são originárias de uma mistura genética entre indivíduos do sudoeste e leste dos EUA, e que a diversidade genética nas populações introduzidas pode aumentar o sucesso da invasão e facilitar a colonização de novos habitats (FRAIMOUNT et al., 2017).

Diferentemente da maioria dos drosofilídeos, que se alimentam de microrganismos presentes em frutos maduros ou em apodrecimento (BEGON, 1983), *D. suzukii* apresenta um nicho distinto, pois se alimenta e oviposita em frutos em amadurecimento ou maduros (WALSH et al., 2011). As fêmeas apresentam um ovipositor serreado e robusto, que permite a postura no interior de frutos íntegros e sadios (WALSH et al., 2011; ANFORA et al., 2012), o que proporciona a exploração de uma gama de recursos e modifica o balanço carboidrato/proteína estabelecido pelas demais espécies do gênero *Drosophila* (JARAMILLO; MEHLFERBER; MOORE, 2015). A alimentação da maioria dos drosofilídeos é baseada, especialmente, em proteínas, enquanto que *D. suzukii* necessita de um maior aporte de carboidratos (JARAMILLO; MEHLFERBER; MOORE, 2015). Em função dessa mudança de hábito alimentar, são essenciais estudos que visem identificar as exigências nutricionais e adequação de dietas artificiais para larvas e adultos, e também preferência hospedeira, tanto em espécies cultivadas quanto nativas.

Os danos causados pelo ataque dessa praga podem ser diretos e/ou indiretos. *Drosophila suzukii* é uma praga primária, e os danos são causados pela alimentação das larvas no interior do mesocarpo, o que inviabiliza o comércio de frutos frescos. Além disso, a punctura no momento da postura abre porta de entrada para microrganismos fitopatogênicos. Os custos adicionais são decorrentes do aumento de mão-de-obra e insumos para monitoramento e manejo do cultivo. Além disso, regiões ou países livres dessa praga podem impor medidas quarentenárias para barrar exportações provenientes de regiões com a presença desse drosofilídeo (LEE et al., 2011; SCHLESENER et al., 2015).

No Brasil, existem vários registros de ocorrência de *D. suzukii* para as regiões Sul e Sudeste do país. Até o momento, sua presença foi reportada nos Estados do Rio Grande do Sul (DEPRÁ et al., 2014; SCHLESENER et al., 2015), Santa Catarina (DEPRÁ et al. 2014), Paraná (GEISLER et al., 2015), São Paulo (VILELA; MORI, 2014), Rio de Janeiro (BITNER-MATHÉ; VICTORINO; FARIA, 2014) e Minas Gerais (ANDREAZZA et al., 2016; 2017). É possível que *D. suzukii* esteja presente em um número maior de Estados, e que ainda não tenha sido identificada, devido a falta de monitoramento e identificação adequada. No entanto, estudos que visam determinar condições ideais e limites para essa espécie, apontam que a temperatura é um fator condicionante para sua ocorrência e estabelecimento (TOCHEN et al., 2014; RYAN et al., 2016). As temperaturas consideradas limitantes para o desenvolvimento de populações da América do Norte são 5 e 35°C, e a temperatura ótima reprodutiva é 23°C (RYAN et al., 2016). No entanto, é importante que esses parâmetros também sejam estabelecidos para populações sul-americanas, uma vez que esse inseto apresenta uma grande capacidade de adaptação térmica e a outras variáveis ambientais (DALTON et al., 2011). Além de contribuir com informações para o manejo da praga, esses estudos também são fundamentais para o aperfeiçoamento de criações de laboratório (SCHLESENER et al., 2017a).

O manejo de *D. suzukii* é realizado, basicamente, através de controle químico, com inseticidas organofosforados, piretroides e espinosinas (BEERS et al., 2011; BRUCK et al., 2011; SCHLESENER et al., 2017b). No entanto, no Brasil existe uma carência de moléculas disponíveis para o controle de pragas em cultivos de pequenas frutas, e ainda não existem inseticidas registrados para o controle de SWD (AGROFIT, 2018). Nesses casos, a supressão populacional dessa espécie acaba sendo realizada através de aplicações direcionadas à outras espécies-alvo, especialmente as moscas-

das-frutas pertencentes a família Tephritidae (SCHLESENER et al., 2017b), do controle biológico com inimigos naturais, especialmente parasitoides (WOLLMANN et al., 2016; GARCIA et al., 2017), da captura massal através da instalação de grande quantidade de armadilhas iscadas, e controle cultural através da retirada de frutos infestados caídos no solo e eliminação de hospedeiros alternativos ao entorno dos pomares (SCHLESENER et al., 2015).

Existem vários relatos de parasitoides de larvas (larva-pupa) associados a SWD, no entanto, esses insetos acabam tendo seu desenvolvimento comprometido em função do complexo sistema imune e ao grande número de hemócitos encontrado em SWD (KACSOH; SCHLENKE, 2012; POYET et al. 2013). Os parasitoides de pupas (pupa-pupa) apresentam maior sucesso no parasitismo de *D. suzukii*, uma vez que a fase de pupa apresenta maior vulnerabilidade em relação às larvas, devido a menor atuação do sistema imune nessa fase (KACSOH; SCHLENKE, 2012). Basicamente, os parasitoides de pupa (larva-pupa) que vem sendo encontrados parasitando *D. suzukii* pertencem ao gênero *Trichopria* (Hymenoptera: Diapriidae) e à espécie *Pachycrepoideus vindemmiae* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae) (GABARRA et al., 2015; CANCINO et al., 2015; MILLER et al., 2015; ROSSI-STACCONI et al., 2015; DAANE et al., 2016; WANG et al., 2016; WOLLMANN et al., 2016; GARCIA et al., 2017). O gênero *Trichopria* é composto por parasitoides idiobiontes de pupas, que ovipositam no interior da hemocele do hospedeiro, sendo que duas espécies foram encontradas parasitando *D. suzukii*, *Trichopria drosophilae* (Perkins) (GABARRA et al., 2015; CANCINO et al., 2015; DAANE et al., 2016; WANG et al., 2016) e *Trichopria anastrephae* Lima (WOLLMANN et al., 2016). *Pachycrepoideus vindemmiae* é um conhecido parasitoide generalista de dípteros e hiperparasitoide facultativo (WANG; MESSING 2004). Sua associação com *D. suzukii* já foi amplamente documentada na Ásia, Europa e América do Norte (CHABERT et al., 2012; CUCH-ARGUIMBAU et al., 2013; ROSSI-STACCONI et al., 2013; 2015; CANCINO et al., 2015; MILLER et al., 2015; DAANE et al., 2016), e também, recentemente, espécimes de *P. vindemmiae* foram recuperados de pupas sentinela de *D. suzukii* a campo, no sul do Brasil (dados não publicados). Apesar da importância dos parasitoides na supressão populacional de *D. suzukii*, pouco se sabe sobre os efeitos letais e sub-letais que os inseticidas causam sobre esses inimigos naturais. Bernandi et al. (2017) investigaram os efeitos toxicológicos de extratos de *Annona*

(Anonaceae) sobre *T. anastrephae*, e Cossentine; Ayyanath (2017) verificaram os efeitos do inseticida espinosade sobre diferentes fases biológicas de *P. vindemniae*.

Com base no exposto, os objetivos do presente estudo 1) testar a eficiência de três dietas artificiais sobre a biologia e tabela de vida de fertilidade de *D. suzukii*; 2) avaliar os efeitos de diferentes temperaturas constantes sobre a biologia, tabela de vida de fertilidade, tamanho de corpo, exigências térmicas e estimar o número de gerações anuais de *D. suzukii* em regiões produtoras de pequenas frutas no Brasil; 3) avaliar a toxicidade de inseticidas sobre ovos e adultos de *D. suzukii* em laboratório; e 4) avaliar a toxicidade de inseticidas sobre os parasitoides de pupa *T. anastrephae* e *P. vindemniae*. Os resultados apresentados nesse estudo servirão de base para o aperfeiçoamento de criações de laboratório para fins de estudos, e no desenvolvimento de técnicas de manejo que preconizem a supressão populacional de *D. suzukii*, com menor dano aos inimigos naturais.

ARTIGO 1 – Submetido a JOURNAL OF APPLIED ENTOMOLOGY

Biology and fertility life table of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) on artificial diets

Daniele Cristine Hoffmann Schlesener, Jutiane Wollmann, Alexandra Peter Krüger,
Adrise Medeiros Nunes and Flávio Roberto Mello Garcia

Biology and fertility life table of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) on artificial diets

Daniele Cristine Hoffmann Schlesener^{1*}, Jutiane Wollmann¹, Alexandra Peter Krüger¹,
Adrise Medeiros Nunes² and Flávio Roberto Mello Garcia^{1,2}

¹ Crop Protection Department, Federal University of Pelotas (UFPel), P.O. Box 354, Zip code 96010-900, Capão do Leão, RS, Brazil.

² Ecology, Zoology and Genetics Department, Federal University of Pelotas (UFPel), P.O. Box 354, Zip code 96010-900, Capão do Leão, RS, Brazil.

*Corresponding author; E-mail: mity_dani@yahoo.com.br

Acknowledgments

The authors would like to thank the Coordination for Perfecting Higher Education Personal (CAPES) for the concession of scholarships for the first three authors and the National Council of Technological and Scientific Development (CNPq) for the productivity scholarship provided to the sixth author. We would like to thank as well to CNPq for financial support (Chamada Universal – MCTI/CNPq N° 14/2014).

ABSTRACT - *Drosophila suzukii* (Matsumura 1931) is considered one of the main pests of soft-skinned and stone fruits around the world. To develop control methods, it is of utmost importance to improve breeding techniques on artificial diets to obtain a high quality and quantity of insects throughout the year. The objective of this study was to evaluate the biological development of *D. suzukii* on three artificial diets. The biological parameters were duration (days) and viability (%) of the biological cycle (egg to adult), sexual ratio, pre-oviposition period (days), oviposition (days), longevity (days), total fecundity of eggs per female and fertility life table. Diet A (cornmeal, glucose and yeast) and Diet C (cornmeal, molasses and yeast) provided the best biological development in the evaluated parameters, with a viability (egg to adult) of 83% and 74%, respectively, which was significantly higher than Diet B (cornmeal, sugar and yeast) (42%). Based on the life table, the reproduction rate (R_o) was not significantly different between Diet A ($R_o = 257.32$) and Diet C ($R_o = 210.29$); this was also observed for the intrinsic rate of increase ($r_m = 0.155$ days), the rate of finite increase ($\lambda = 1.16$) and the time between generations ($T = 35$ days). However, the biological parameters differed significantly from the insects fed on Diet B ($R_o = 116.12$, $r_m = 0.127$, $\lambda = 1.13$ and $T = 37$ days). Diets A and C are suitable for the breeding and multiplication of *D. suzukii* in the laboratory.

KEYWORDS: Development, intrinsic rate of increase, larval diet, life history, spotted wing drosophila, rearing technique

Introduction

The family Drosophilidae (Diptera) is constituted by a great number of species that occupy diverse ecological niches. Most species of the genus *Drosophila* feed mainly on microorganisms present in ripe fruits or at an advanced rotting stage and use these media as a substrate for the larval and foraging development of adults (Begon 1983). In contrast to most drosophilids, *Drosophila suzukii* (Matsumura 1931) (Diptera: Drosophilidae), popularly known as Spotted Wing Drosophila (SWD), presents a completely different niche because larvae develop inside ripening or ripe fruits (Walsh et al. 2011), reducing interspecific competition for resources not used by other species of drosophilids (Jaramillo et al. 2015). This fact is possible because the SWD females present a narrow, doubly serrated ovipositor with a series of robust and sclerotized teeth, allowing oviposition within intact fruits (Walsh et al. 2011, Anfora et al. 2012).

This change in behavior affects the carbohydrate/protein balance established by other species of the genus *Drosophila*, as they feed on microbial communities (especially yeasts) present in decaying fruits and rich in proteins, while *D. suzukii* uses fresh fruits rich in carbohydrates but poor in proteins to complete their biological cycle (Begon 1983, Jaramillo et al. 2015). In this sense, SWD closely resembles species belonging to the family Tephritidae, which also oviposit in intact fruits (Hafsi et al. 2016).

In general, insect larvae and adults require carbohydrates, proteins, lipids, minerals and vitamins to complete their development, and the nutritional imbalance between these components, both in the host fruit and in the artificial diet, can affect survival, the weight of immature individuals, time of development, the chemical composition of individuals, body size and fecundity (Bass et al. 2007). Studies have shown that *Ceratitis capitata* (Wiedemann 1824) and *Anastrepha obliqua* (Marcquart 1835) (Diptera: Tephritidae) do not survive when fed diets that present carbohydrates as the only source of energy but are able to complete their

biological cycle with low performance when feeding only on proteins (Fontellas-Brandalha et al. 2010).

Due to carbohydrates being considered the main energy sources of tephritids, associated with the abundance of this nutrient naturally found in fruit, Tephritidae species have been highly successful in several environments (Fontellas-Brandalha et al. 2010, Hafsi et al. 2016). Thus, given the similarity in feeding behavior between species of Tephritidae and *D. suzukii*, it is likely that the ease of adaptation of SWD to new environments and their rapid dispersion is related to the great supply of food hosts in nature since carbohydrates are the nutrients in the highest proportion in foods and have phagostimulant characteristics (Parra 2012).

Since 2008, SWD has been causing significant damage to a number of crops, especially in thin-skinned fruits such as strawberries (*Fragaria x ananassa*), blackberries (*Rubus* sp.), raspberries (*Rubus idaeus*), cherries (*Prunus* sp.), blueberries (*Vaccinium myrtillus*) and grapes (*Vitis* sp.) (Lee et al. 2011). Factors linked to high polyphagia provided rapid dispersion in several countries (Bolda et al. 2010, Anfora et al. 2012) and, recently, in South America (Deprá et al. 2014, Andreazza et al. 2017). Studies show that this species also has favorable environmental conditions to establish itself in countries in Africa and Oceania (Dos Santos et al. 2017).

The inability to control this pest can generate a high economic impact on the production of fruits around the world, and studies on the development of new management strategies are essential, making it necessary to produce and multiply large numbers of insects in the laboratory, preferably with low cost and high biological performance (Parra 2012, Sorensen et al. 2012). Within this context, the development of an artificial diet that results in a high level of biological development, multiplication capacity and survival in the laboratory is paramount for the development of new management tools (Parra 2012). Considering the scarcity of information on the biological parameters of *D. suzukii* on an artificial diet, the objective of the

present work was to evaluate the biological performance and to estimate the parameters of the fertility life table of *D. suzukii* when submitted to three formulations of artificial diets for larval feeding.

Materials and Methods

The establishment of *D. suzukii* was achieved in the Laboratory of Insect Biology, in the Plant Protection Department of the Federal University of Pelotas (UFPEl), in an air-conditioned room, and experiments to evaluate the biological parameters of *D. suzukii* were conducted at the Laboratory of Ecology of Insects, Department of Ecology, Zoology and Genetics, at UFPEl, in a climatized chamber B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand), under a temperature of $23 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ relative humidity (RH) and photoperiod 12:12 h (L:D).

Rearing and maintenance of *D. suzukii*. The insects that led to the rearing of *D. suzukii* were obtained from infested blackberry (*Rubus* spp.) collected during the month of January 2016, in the municipality of Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil ($31^\circ38'20''\text{S}$ and $52^\circ30'43''\text{W}$). In the laboratory, the fruits were weighed and individualized in plastic pots (150 mL) under a layer of vermiculite (1 cm) and the upper part was closed, with the respective perforated caps (2 cm in diameter) covered with *voile* tissue. Afterwards, the fruits were stored in an air-conditioned room until the emergence of adults. After emergence, adults were identified and males and females were separated by specific taxonomic characters (Vlach 2013). Subsequently, a random number of insects were added to cultured vials made with a flat-bottomed glass tube (8.5 cm by 2.5 cm in diameter) containing an artificial diet (8 mL) and surface buffered with hydrophilic cotton. The optimal density of insects per rearing vial is achieved when adults occupy half of the surface of the feed substrate.

The artificial diet used to feed the larvae was based on cornmeal, glucose and yeast (Diet A, Table 1). The pairs remained in the breeding receptacles for 10 days, a period necessary for copulation and the beginning of oviposition. Subsequently, the adults were removed for

embryonic, larval and pupal development. When the new adults emerged, they were removed and placed in new glass tubes containing artificial diet, as previously described.

Diets Evaluated. To verify the biological parameters of *D. suzukii* in the laboratory, three artificial diets were tested. Diet A is traditionally used for the breeding of species of the genus *Drosophila*: it was described by Matsubayashi et al. (1992) and is composed of cornmeal, glucose and yeast. Diet B was described by Dalton et al. (2011) and Emiljanowicz et al. (2014) as composed of cornmeal, sugar and yeast, while Diet C was described by Reed et al. (2010) and Jaramillo et al. (2015) as composed of cornmeal, molasses and yeast (Table 1). The artificial diets tested were prepared according to the methodology proposed by Emiljanowicz et al. (2014) and poured (8 mL) into flat-bottomed glass tubes (8.5 cm by 2.5 cm in diameter). We also calculated the cost per litre of each artificial diet.

Biological parameters of *D. suzukii* on an artificial diet. First, 25 nine-day-old *D. suzukii* couples from the laboratory rearing were separated and placed into cages made from plastic cups (200 mL). Subsequently, to obtain the eggs, a semicircular oviposition substrate was placed inside the cage (2.5 cm in diameter per 1 cm thick), consisting of agar (19 g), raspberry gelatin (10 g), methyl paraben (Nipagin[®]) [0.8 g dissolved in 8 mL of absolute ethyl alcohol 99.9%] (8 mL) and distilled water (850 mL) (refluxed) in accordance with the adapted methodology proposed by Salles (1992). After 24 hours, the adults were removed and thin portions of each oviposition substrate containing 10 eggs each were extracted with a razor blade and superficially inoculated into glass tubes (8.5 cm high for 2.5 cm in diameter) containing the artificial diet (8 mL per tube) (Table 1) previously prepared as proposed by Emiljanowicz et al. (2014). After inoculation, the tubes were buffered with hydrophilic cotton and packed in B.O.D. chambers. The experimental design was completely randomized, with three treatments (Diets A, B and C -- Table 1) each treatment consisted of 10 replicates (glass tubes) with 10 eggs per replicate, totaling 100 eggs per treatment. The biological parameters

evaluated were the duration (days) and viability (%) of the biological cycle (egg to adult) and sex ratio (sr). The duration and viability of the biological cycle were determined in daily observations. The sex ratio was calculated by the formula: $rs = \text{females}/(\text{females} + \text{males})$.

Upon the emergence of *D. suzukii* adults, 20 couples (up to 24 hours old) from each tested diet were placed inside cages made of transparent plastic containers with a lid (200 mL) with an orifice (2 cm diameter) placed inverted on top, which was covered with voile fabric to prevent adult flight and allow aeration. The same oviposition substrate was used as described above. As the food substrate for adults, a food source composed of a hydrated blend of refined sugar, yeast extract [Bionis YE MS and Bionis YE NF (Biorigen®)] and raw wheat germ in the proportion of 3: 1: 1 (adapted from Nunes et al. 2013), was deposited in a microcentrifuge tube cap (1 cm in diameter) containing hydrophilic cotton. To avoid fermentation and contamination, the food was changed every 3 days. The oviposition substrate was replaced and eliminated whenever there was oviposition or dehydration. The parameters evaluated were pre-oviposition period (days), oviposition (days), total fecundity (number of eggs per female) and longevity (days) of males and females. The following parameters of the fertility deviation table were calculated from the biological data: duration of each generation (T), net rate of reproduction (Ro), infinitesimal ratio of increase (r_m) and finite ratio of increase (λ).

Statistical analysis. The data of duration (days) and viability (%) of the biological cycle (egg to adult), period of oviposition (days), oviposition (days) and total fecundity (number of eggs per female) were submitted to normality testing using the Shapiro-Wilk test (1965) and homoscedasticity or homogeneity of the error variance by Hartley (1950) and Bartlett (1937). Subsequently, they were submitted for analysis of variance (ANOVA) through the F test ($P \leq 0.05$), performed by the SAS® GLM procedure (SAS Institute 2011). The statistical significance of means was compared by the Tukey test ($P \leq 0.05$). The possible deviation in sex ratio was compared using the chi-square test (χ^2) ($P \leq 0.05$) (PROC FREQ, SAS Institute

2011). The longevity of adults of *D. sukuzii* was analyzed by survival curves using the Kaplan-Meier estimator and then compared by means of the log-rank test with the aid of the R Program (R Development Core Team 2011). Fertility life table parameters were estimated using the Jackknife method using the Lifetable programming SAS (Maia et al. 2000) and the means were compared by bilateral *t*-test ($P \leq 0.05$) by SAS[®] software (SAS Institute 2011). Differences between treatments were determined at a significance level of $\alpha = 0.05$ SAS[®] (SAS Institute 2011).

Results

Biological parameters of *D. sukuzii* in artificial diets. The biological behavior of *D. sukuzii* varied according to the type of artificial diet tested (Table 1). The shortest development period (egg to adult) was observed in larvae fed on Diet A (12.0 days), which was statistically lower for both females ($F_{57,2} = 35.8$; $P < 0.0001$) compared to males ($F_{57,2} = 53.40$; $P < 0.0001$) in relation to Diets B (12.8 days) and C (14.5 days) (Fig. 1).

In relation to the viability of the biological cycle (egg to adult), larvae fed from Diet A (83%) and Diet C (74%) presented the highest viability from egg to adult, being statistically superior ($F_{27,2} = 18.41$; $P < 0.0001$) to that observed in larvae that developed on Diet B (42%) (Fig. 2). However, the chi-square test showed no significant differences in sex ratio ($\chi^2 = 11.69$; d.f. = 2.38; $P = 0.3403$) (Table 2). In addition, no significant differences were observed in the pre-oviposition period ($F_{55,2} = 0.04$; $P > 0.9580$), oviposition ($F_{52,2} = 0.03$; $P > 0.9664$) and total fecundity ($F_{55,2} = 0.14$; $P > 0.8710$), independent of the artificial diet formulation tested (Table 2).

The survival curve showed significant differences in the longevity of females ($\chi^2 = 80.27$; d.f. = 2; $P = 0.7661$) (Diet A = 119 days, Diet B = 120 days, Diet C = 116 days) and males ($\chi^2 = 80.27$; d.f. = 2; $P = 0.2657$) (Diet A = 115 days, Diet B = 121 day, Diet C = 92 days) in larvae fed on different diets (Fig. 3 a,b). However, females lived longer when compared to

males (Fig. 3 a, b), presenting a peak oviposition between 30 and 40 days after emergence (Fig. 4).

Fertility life table of *D. sukuzii*. The high reproductive capacity observed in the insects from Diets A and C was reflected positively in the fertility life table in all biological parameters evaluated. The values of T were not significantly different ($P < 0.05$) for insects fed on Diet A (35.8 days) and C (34.6 days) (Table 3), presenting a significantly lower period between generations ($P < 0.05$), compared to those fed on Diet B (37.3 days) (Table 3). The values of the net reproduction rate (R_0) indicated that the adults from Diets A and C were not negatively affected ($P < 0.05$) by the type of food diet (Table 3). However, larvae fed on Diet B showed a significant reduction (42%) in the number of offspring when compared to insects on Diet A (Table 3). Based on these results, approximately 35 days (T) of development of *D. sukuzii* in Diets A and C are expected to produce 257.3 and 210.3 females resulting from each female in the reproductive phase, respectively (Table 3). In contrast, in the 37.3 day (T) period, 116 females/female are expected when the insects are fed with Diet B (Table 3). Similarly, Diet B also provided a lower increase (20%) in the intrinsic rate of growth (r_m) (20%) and a reduction (3%) in the daily population increase (λ) compared to insects fed with Diets A and C.

Discussion

In the present study, it was verified that the different artificial diet formulations tested gave *D. sukuzii* the ability to complete the biological cycle (egg to adult) and to generate offspring. These parameters, associated with morphological criteria (presence of anomalies), biometric criteria (biological and morphometric parameters), nutritional criteria and life tables, define whether the composition of an artificial diet has the potential to be used for insect rearing and maintenance in the laboratory (Parra 2012). In addition, the formulated food substrate should produce insects with a biological cycle similar to the one found in nature, give rise to insects

with high reproductive capacity, maintain the quality of insects throughout the generations, and support the evolution of the biological cycle (egg to adult) equal to or greater than 75% (Parra 2012).

In studies conducted with *D. suzukii*, variations were observed in the development of the cycle (egg to adult) (Kanzawa 1939, Emiljanowicz et al. 2014, Jaramillo et al. 2015), which occurred with insects bred on Diet B, where they required a longer time to reach adulthood. This fact may be associated with the bioecological behavior of the pest in infesting and feeding internally on fruits with softened consistencies. In the present study, the fact that Diet B presents a higher percentage of agar (more than 45%) when compared to Diets A and C may have hindered the penetration and feeding of the larvae in this diet. This greater resistance/consistency Diet B provided to larvae of *D. suzukii* caused a higher larval mortality and, consequently, a lower viability of the biological cycle (egg to adult). Diet B also showed the highest cost of ingredients (US\$ 3.22), in comparison to the Diets A (US\$ 2.52) and C (US\$ 2.31).

An artificial diet, in addition to providing good adaptation and biological performance for insects, should also contain ingredients in its composition that are low cost and easy to acquire (Parra 2012). In the present study, in addition to agar providing a denser consistency in the artificial diet and being responsible for negative effects during the immature phase of *D. suzukii* (Diet B), it is also considered the ingredient with the highest acquisition cost (US\$87 per 0.5 kg of product - Pure Bacteriological Agar). In general, the accelerated egg-to-adult development of *D. suzukii* in Diets A and C, without a decrease in fitness, is a consequence of a high-quality nutrition source for larvae (Edgar 2006). A shorter development time may provide adaptive advantages to individuals, decreasing a possible competition (intra or interspecific) with other organisms in nature after the tegument rupture

of the fruit and reducing the risk of predation or parasitism by natural or accidental enemies through consumption of the fruit (Dmitriew 2011).

The differences observed in some biological parameters when the insects were fed on Diet B did not negatively affect the reproductive period of *D. suzukii*, which began approximately on the eighth day after the emergence of adults in all treatments, and it also did not affect the period ranging from 52 to 54 days. These factors gave the insects similarity in relation to the maximum total number of eggs over the long-lived period of females, including 1355 eggs (Diet A), 1649 eggs (Diet B) and 1412 eggs (Diet C), with a mean fecundity ranging from 569.70 to 631.44 eggs per female, corroborating with the results observed by Emiljanowicz et al. (2014) and higher than those described by Kanzawa (1939).

One of the factors that can directly affect the fecundity of insects is the type of food diet provided for adulthood. For drosophilids, studies have shown that brewer's yeast is the major influence on oviposition rate (Tu and Tatar 2003, Becher et al. 2012). To minimize these effects, in the present study, all adults received the same artificial diet composition. The oviposition peak ranged from 30 to 40 days for all treatments (Diets A, B and C), demonstrating that females of *D. suzukii* showed the highest reproductive capacity in the first third of life, which also occurs with *Drosophila melanogaster* Meigen 1830 (Diptera: Drosophilidae) (Sheeba et al. 2000). For Emiljanowicz et al. (2014), significant differences were observed in peak egg production when virgin males were replanted (≈ 40 days) to mate with females and when males of the same age as females were maintained (≈ 70 days). The authors explain that there is an increase in the performance of males over time, which was not verified in our study.

The females showed a longevity of 119 days (Diet A), 121 days (Diet B) and 116 days (Diet C), which was less than the 154 days observed by Emiljanowicz et al. (2014). This decrease in longevity may be associated with the thermal condition differences to which the

insects were exposed. In the present study, the experiments were carried out at a temperature of 23°C, while the previous studies were carried out at a temperature of 22°C (Emiljanowicz et al. 2014). This fact was supported by a study with *D. melanogaster* in which the longevity of adults maintained at 18°C was much higher than that observed with adults exposed to 29°C (Linford et al. 2013).

The low adequacy and performance of *D. suzukii* larvae when fed on Diet B resulted in negative effects on the parameters of the fertility life table, providing a lower capacity for population increase of the species over the generations when compared to larvae fed with Diets A and C. Insects reared on these two food substrates during the larval phase (Diet A and C) tended to increase the number of offspring more rapidly over time, which is of paramount importance for the rearing and multiplication of insects in the laboratory for new studies or the development of management strategies. Although there are already studies on the evaluation of some biological parameters of *D. suzukii* (Emiljanowicz et al. 2014, Jaramillo et al. 2015), this work is the first reference based on the estimate of the fertility life table of *D. suzukii* in different artificial diets. Therefore, based on the biological results and the estimates of the fertility life table values, Diets A (cornmeal - glucose - yeast) and C (cornmeal - molasses - yeast) are suitable for the rearing and multiplication of *D. suzukii* in the laboratory.

Author Contribution

DCHS, JW, APK, AMN and FRMG conceived research. DCHS, JW and APK conducted experiments. DCHS and DB analysed data and conducted statistical analysis. DCHS wrote the manuscript. All the authors read and approved the manuscript.

References

Andreazza, F., Bernardi, D., Dos Santos, R. S. S., Garcia, F. R. M., Oliveira, E. E., Botton, M. & Nava, D. E. (2017). *Drosophila suzukii* in Southern Neotropical region: Current status and

futures perspectives. *Neotropical Entomology*, 46, 591-605. DOI: 10.1007/s13744-017-0554-7

Anfora, G., Grassi, A., Revardi, S. & Graiff, M. (2012). *Drosophila suzukii*: a new invasive species threatening European fruit production. *Enviro Change*, 1-7.

Bass, T. M., Grandison, R. C., Wong, R., Martinez, P., Partridge, L. & Piper, M. D. W. (2007). Optimization of dietary restriction protocols in *Drosophila*. *The Journals of Gerontology. Serie A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 62, 1071-1081.

Becher, P. G., Flick, G., Rozpedowska, E., Schmidt, A., Hagman, A., Lebreton, S., Larsson, M. C., Hansson, B. S., Piskur, J., Witzgall, P. & Bengtsson, M. (2012). Yeast, not fruit volatiles mediate *Drosophila melanogaster* attraction, oviposition and development. *Functional Ecology*, 26, 822-828. DOI: 10.1111/j.1365-2435.2012.02006.x

Begon, M. (1983). Yeasts and *Drosophila*. In Ashburner, M., Caron, C. H. & Thompson, J. N. (eds), *The Genetics and Biology of Drosophila* (pp. 354-348), Academic Press, UK.

Bolda, M. P., Goodhue, R. E. & Zalom, F. G. (2010). Spotted wing drosophila: potential economic impact of a newly established pest. *Giannini Foundation Agricultural Economics*, 13, 5-8.

Dalton, D. T., Walton, V. M., Shearer, P. W., Walsh, D. B., Caprile, J. & Isaacs, R. (2011). Laboratory survival of *Drosophila suzukii* under simulated winter conditions of Pacific North West and seasonal field trapping in five primary regions of small and stone fruits production in the United States. *Pest Management Science*, 67, 1368-1374. DOI: 10.1002/ps.2280

Deprá, M., Poppe, J. L., Schmitz, H. J., De Toni, D. C. & Valente, V. L. S. (2014). The first records of the invasive pest *Drosophila suzukii* in South American Continent. *Journal of Pest Sciece*, 87, 379-383. DOI:10.1007/s10340-014-0591-5

Dmitriew, C. M. (2011). The evolution of growth trajectories: what limits growth rate? *Biological Reviews*, 86, 97–116. DOI: 10.1111/j.1469-185X.2010.00136.x

- Dos Santos, L. A., Mendes, M. F., Krüger, A. P., Blauth, M. L., Gottschalk, M. S. & Garcia, F. R. M. (2017). Global potential distribution of *Drosophila suzukii* (Diptera, Drosophilidae). *PlosOne* 12: e0174318.
- Edgar, B. A. (2006). How flies get their size: genetics meets physiology. *Nature Reviews Genetics* 7, 907-916. DOI: 10.1038/nrg1989
- Emiljanowicz, L. M., Ryan, G. D., Langille, A. & Newman, J. (2014). Development, reproductive output and population growth of the fruit fly pest *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) on artificial diet. *Journal of Economic Entomology*, 107, 1392-1398. DOI: <http://dx.doi.org/10.1603/EC13504>
- Fontellas-Brandalha, T. M. L., Cresoni-Pereira, C., Leal, T. A. B. S., Medeiros, L. & Zucoloto, F. S. (2010). Performance of *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) larvae fed on artificial diets. *Iheringia*, 100, 1071-1081. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0073-47212010000200009>
- Hafsi, A., Facon, B., Ravigné, V., Chiroleu, F., Quilici, S., Chermiti, B. & Duyck, P. F. (2016). Host plant range of a fruit fly community (Diptera: Tephritidae): does fruit composition influence larval performance? *BMC Ecology*, 16, 40. DOI: 10.1186/s12898-016-0094-8
- Jaramillo, S. L., Mehlferber, E. & Moore, P. J. (2015). Life-history trade-offs under different larval diets in *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Physiological Entomology*, 40, 2-9. DOI: 10.1111/phen.12082
- Kanzawa, T. (1939) Studies on *Drosophila suzukii* Mats. Kofu, Yamanashi Agricultural Experimental Station 49 pp. In *The Review of Applied Entomology*, 29, 622.
- Lee, J. C., Bruck, D. J., Dreves, A. J., Ioriatti, C., Vogt, H. & Baufeld, P. (2011). In Focus: spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*, across perspectives. *Pest Management Science*, 67, 1349–1351. DOI: 10.1002/ps.2271

- Linford, N. J., Bilgir, C., Ro, J. & Pletcher, S. D. (2013). Measurement of Lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Visualized Experiments*, e50068.
- Maia, A. H., Luiz, A. J. B. & Campanhola, C. (2000) Statistical inference on associated fertility life parameters using jackknife technique: computational aspects. *Journal of Economic Entomology*, 93, 511-518. DOI: <http://dx.doi.org/10.1603/0022-0493-93.2.511>
- Matsubayashi, H., Matsuda, M., Tomimura, Y., Shibata, M. & Tobar, Y. N. (1992). Cytological mapping of on mutants of *Drosophila ananassae*. *The Japanese Journal of Genetics*, 67, 259-264. DOI: 10.1266/jjg.67.259
- Nunes, A. M., Costa, K. Z., Faggioni, K. M., Costa, M. de L. Z., Gonçalves, R. da S., Walder, J. M. M., Garcia, M. S. & Nava, D. E. (2013). Dietas artificiais para a criação de larvas e adultos da mosca-das-frutas sul-americana. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48, 1309-1314. DOI: 10.1590/S0100-204X2013001000001
- Parra, J. R. P. (2012). The evolution of artificial diets and the interactions in science and theory. In Panizzi, A. R. & Parra, J. R. P. (eds.), *Insect Bioecology and Nutrition for Integrated Pest Management* (pp. 51-92). CRC press, Boca Raton, FL.
- R Development Core Team. (2011). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing.
- Reed, L.K., Williams, S., Springston, M., Brown, J., Freeman, K., DesRoches, C. E., Sokolowski, M. & Gibson, G. (2010). Genotype-by-diet interaction drive metabolic phenotype variation in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 185, 1009-1019. DOI: 10.1534/genetics.109.113571
- Salles, L. A. B. (1992) Metodologia de criação de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) em dieta artificial em laboratório. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 21, 479-486.

SAS Institute Inc. (2011). Statistical analysis system: getting started with the SAS learning. SAS Institute, Cary, NC.

Sheeba, V., Sharma, V. K., Shubha, K., Chandrashekar, M. K. & Joshi, A. (2000). The effect of different light regimes on adult lifespan in *Drosophila melanogaster* is partly mediated through reproductive output. *Journal of Biological Rhythms*, 15, 380-392. DOI: 10.1177/074873000129001477

Sorensen, J. G., Addison, M. F. & Terblanche, J. S. (2012). Mass-rearing of insects for pest management: challenges, synergies and advances from evolutionary physiology. *Crop Protection*, 38, 87-94. DOI: 10.1016/j.cropro.2012.03.023

Tu, M. P. & Tatar, M. (2003). Juvenile diet restriction and the aging and reproduction of adult *Drosophila melanogaster*. *Aging Cell*, 2, 327-333. DOI:10.1046/j.1474-9728.2003.00064.x

Vlach, J. (2013) *Identifying Drosophila suzukii*. Salem: Oregon Department of Agriculture.

Retrieved from:

<http://www.oregon.gov/oda/shared/documents/publications/ippm/spottedwingdrosophilaidkey.pdf>

Walsh, D. B., Bolda, M. P., Goodhue, R. E., Dreves, A. J., Lee, J., Bruck, D. J., Walton, V. M., O'Neal, S. D & Zalom, F. G. (2011). *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): Invasive pest of ripening soft fruit expanding its geographic range and damage potential. *Journal of Integrated Pest Management*, 1-8. DOI: 10.1603/IPM10010

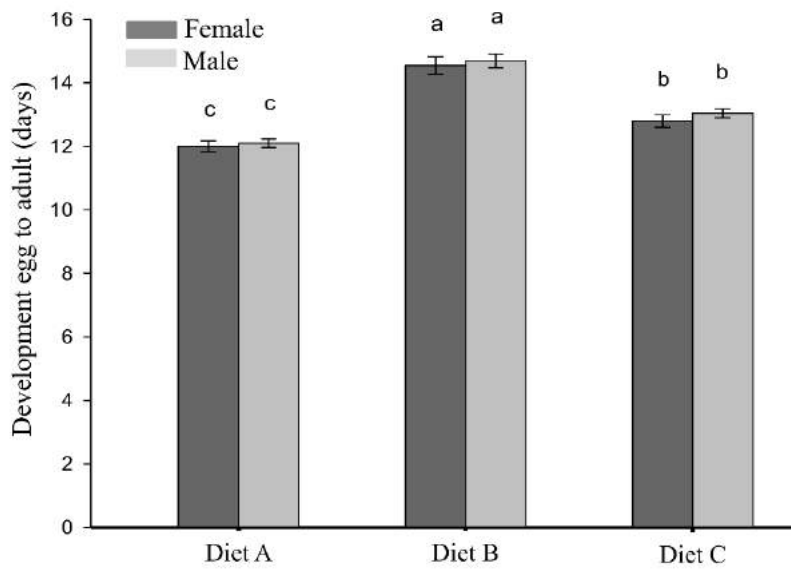


Fig. 1. Egg to adult development time for *Drosophila suzukii* larvae on different artificial diets. Diet A (cornmeal – glucose – yeast), B (cornmeal – sugar – yeast) and C (cornmeal – molasses – yeast). Columns with the same color followed by different letters differ significantly from each other by Tukey ($P < 0.05$).

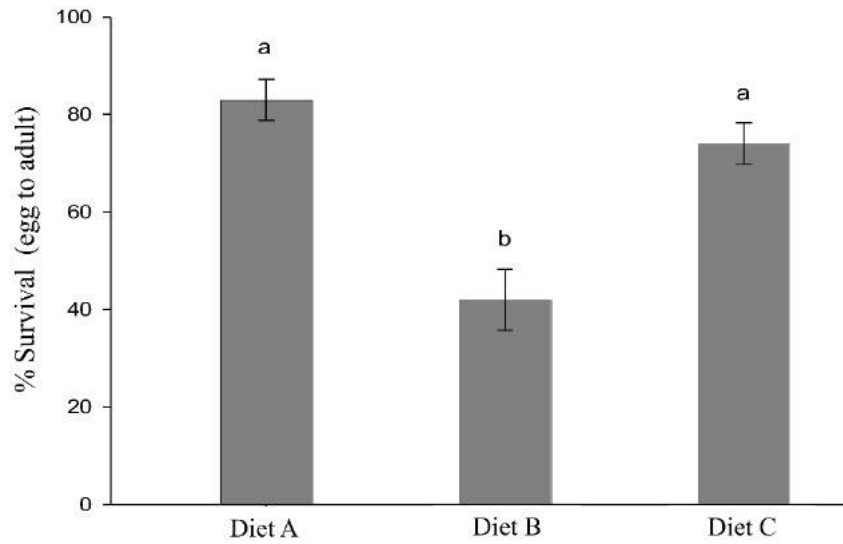


Fig. 2. Viability (%) of the biological cycle (egg to adult) of *Drosophila sukukii* in different artificial diets. Diet A (cornmeal – glucose – yeast), B (cornmeal – sugar – yeast) and C (cornmeal – molasses – yeast). Columns followed by different letters differ significantly from each other by Tukey ($P < 0.05$).

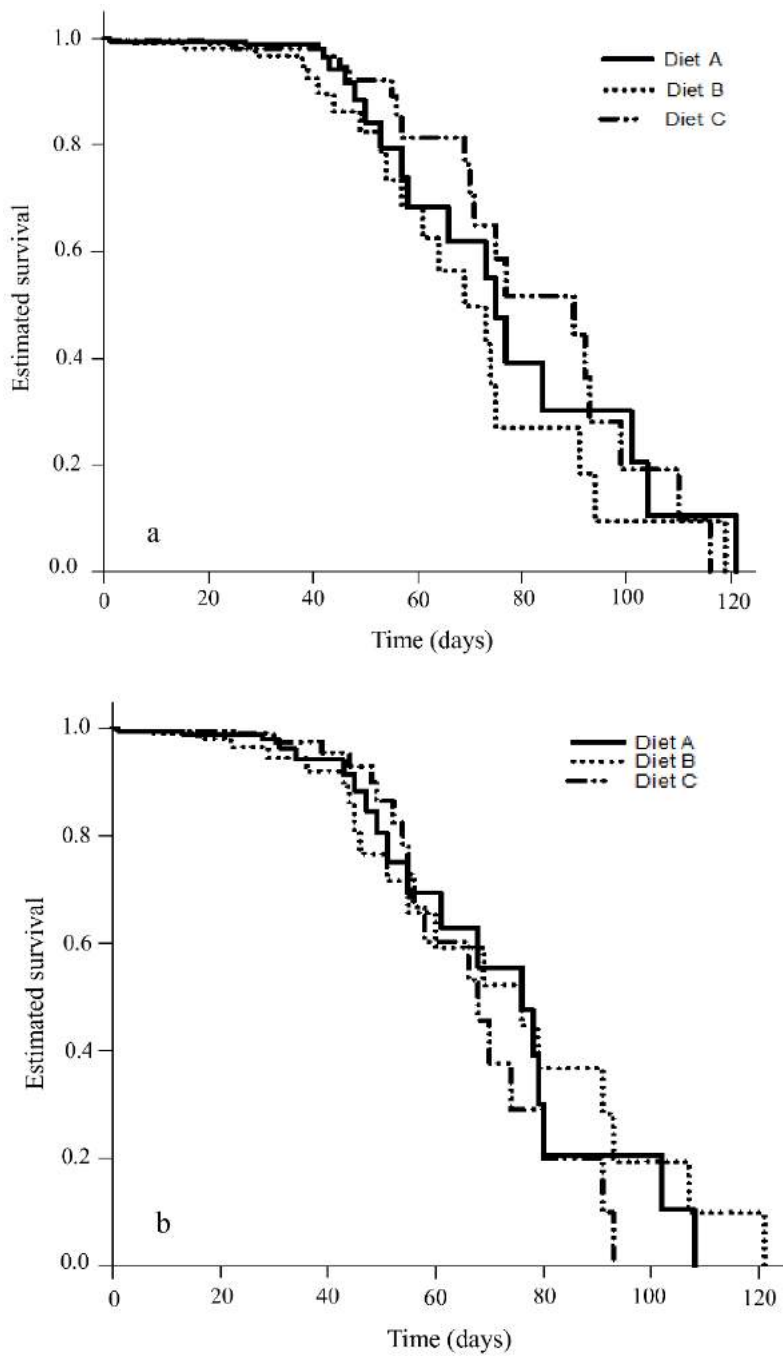


Fig. 3. Survival curve of females (a) and males (b) of *Drosophila suzukii* when fed on different artificial diets. Diet A (cornmeal – glucose – yeast), B (cornmeal – sugar – yeast) and C (cornmeal – molasses – yeast).

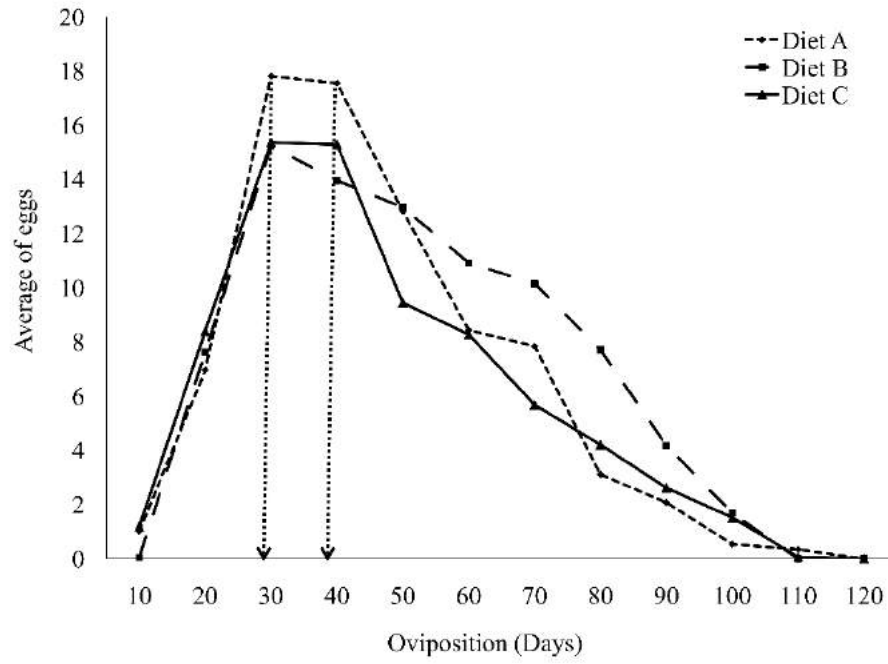


Fig. 4. Oviposition peak of *Drosophila suzukii* when fed with different artificial diets. Diet A (cornmeal – glucose – yeast), B (cornmeal – sugar – yeast) and C (cornmeal – molasses – yeast).

Table 1. Costs and components used in the preparation of artificial diets for the rearing of *Drosophila suzukii*.

Ingredients	Amount added per liter [†]		
	Diet A ¹	Diet B ²	Diet C ³
Agar	8 g	11.8 g	6.8 g
Cornmeal (Yoki [®])	80 g	32.9 g	65 g
Glucose (Marvi [®])	100 g	-	-
Sugar (Caravelas [®])	-	52.6 g	-
Yeast (Delaware [®])	40 g	18.42 g	13 g
Methyl paraben (Nipagin [®]) (10%)	8 mL	-	14.5 mL
Molasses (Melaços Bartz [®])	-	-	55 mL
Ethanol 95% purity (Synth [®])	-	8.8 mL	-
Propionic acid (Sigma-Aldrich [®])	3 mL	4.7 mL	-
Propionic acid (Sigma-Aldrich [®]) sodium Salt (Diana [®])	-	-	2.4 g
Cost per liter (US\$)	2.52	3.22	2.31

[†]1000 mL of distilled water.

¹ Diet of Matsubayashi et al. (1992).

² Diet of Dalton et al. (2011) and Emiljanowicz et al. (2014).

³ Modified diet of Reed et al. (2010) and Jaramillo et al. (2015).

Table 2. Biological parameters of *Drosophila suzukii* on different artificial diets.

Biological Parameters ^a	Diet A ¹	Diet B ²	Diet C ³
Sex ratio (♀/♀+♂)	0.50 ^{ns}	0.43	0.50
Pre-oviposition (days)	7.80 ± 0.78 ^{ns}	8.00 ± 0.79	8.15 ± 0.97
Oviposition (days)	53.05 ± 4.60 ^{ns}	52.75 ± 4.60	54.36 ± 4.65
Total fecundity	612.70 ± 71.43 ^{ns}	631.44 ± 93.60	569.70 ± 89.54

¹Diet of Matsubayashi et al. (1992) (cornmeal – glucose – yeast)

²Diet of Dalton et al. (2011) and Emiljanowicz et al. (2014) (cornmeal – sugar – yeast)

³Modified diet of Reed et al. (2010) and Jaramillo et al. (2015) (cornmeal – molasses – yeast)

^aValues represented as the mean ± SE.

^{ns} No significant difference in the line.

Table 3. Fertility life table parameters of *Drosophila suzukii* when fed with different artificial diets.

Biological Parameters ^a	Diet A ¹	Diet B ²	Diet C ³
T (days)	35.87 ± 1.33 a	37.35 ± 1.42 a	34.63 ± 1.98 a
R _o (♀ / ♀)	257.32 ± 30.00 a	116.16 ± 17.2 b	210.79 ± 33.12 a
r _m (♀ / ♀*days)	0.155 ± 0.006 a	0.127 ± 0.005 b	0.154 ± 0.008 a
λ	1.167 ± 0.007 a	1.136 ± 0.006 b	1.167 ± 0.011 a

¹Diet of Matsubayashi et al. (1992) (cornmeal – glucose – yeast)

²Diet of Dalton et al. (2011) and Emiljanowicz et al. (2014) (cornmeal – sugar – yeast)

³Modified diet of Reed et al. (2010) and Jaramillo et al. (2015) (cornmeal – molasses – yeast)

^aValues represent the mean ± SE obtained from the Jackknife method through the SAS

program. T = duration of each generation; R_o = net rate of reproduction; r_m = infinitesimal

ratio of increase and λ = finite ratio of increase. For each parameter evaluated, values

followed by the same letter in the row did not differ significantly from each other ($P > 0.05$).

ARTIGO 2 – A ser submetido a JOURNAL OF PEST SCIENCE
(Versão Português)

**Efeito de temperaturas sobre a biologia, tamanho de corpo e exigências
térmicas de *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae).**

Daniele Cristine Hoffmann Schlesener, Jutiane Wollmann, Alexandra Peter Krüger,
Liliane Nachtigall Martins, Cristiano Machado Teixeira, Flávio Roberto Mello Garcia

Efeito de temperaturas sobre a biologia, tamanho de corpo e exigências térmicas de *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae).

Effect of temperatures on the biology, body size and thermal requirements of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae).

Daniele Cristine Hoffmann Schlesener^{1*}, Jutiane Wollmann¹, Alexandra Peter Krüger¹,
Liliane Nachtigall Martins¹, Cristiano Machado Teixeira¹, Flávio Roberto Mello Garcia^{1,2}

¹ Programa de pós graduação em Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas,
RG 96010900, Brazil

² Programa de pós graduação em Entomologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas,
RG 96010900, Brazil

*Corresponding author:

Daniele Cristine Hoffmann Schlesener
Departamento de Fitossanidade
Universidade Federal de Pelotas
Pelotas, RS, Brazil
Zip code 96010900
Tel. +55 (51) 99910-1345
E-mail: mity_dani@yahoo.com.br

Resumo - A temperatura é um fator determinante para desenvolvimento e estabelecimento de insetos-pragas em um determinado local. Os objetivos do presente estudo foram verificar o impacto de diferentes temperaturas constantes (13, 18, 23, 25, 28, 30 e 33°C) nos parâmetros biológicos e no tamanho corporal de populações sul-americanas de *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) em laboratório, determinar as exigências térmicas e estimar o número de gerações anuais do inseto em regiões produtoras de pequenas frutas no Brasil. Temperaturas de 25 e 28°C proporcionaram os menores períodos de desenvolvimento (ovo a adulto) (≈ 10 dias). As maiores viabilidades do ciclo biológico (81% e 69%) foram verificadas a 23 e 25°C, respectivamente, assim como influenciaram positivamente nos parâmetros de tabela de vida de fertilidade. Em contraste, as temperaturas de 13 e 28°C proferiram os insetos com os maiores e menores tamanhos, ocasionaram reduções de 99% e 93% na capacidade reprodutiva (R_0) e de 97% e 46% na capacidade de aumento populacional da espécie em cada geração (r_m) de *D. suzukii*. Nas temperaturas de 30 e 33°C não ocorreu emergência de adultos. Com base no desenvolvimento do ciclo biológico (ovo-adulto), a temperatura base (TT) foi de 7,85°C e a constante térmica (K) 185,87 GD, e o número de gerações anuais de *D. suzukii* variou de 17,18 em regiões frias a 27,20 para as regiões quentes. As informações contidas no presente estudo são de suma importância para o entendimento e delineamento de estratégias de manejo, principalmente, para fazer inferências sobre a previsão da ocorrência da praga e tomadas de decisões.

Palavras-chave: Drosophila-da-asa-manchada, fecundidade, ciclo de vida, longevidade.

Abstract – Temperature is a decisive factor for development and establishment of pest-insects in a certain location. The goal of this study was to verify the impact of different constant temperatures (13, 18, 23, 25, 28, 30 and 33°C) over biological parameters and body size of South American *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) populations in laboratory, to determine thermal requirements and to estimate the number of annual insect generations in regions of Brazil that produce small fruits. Temperatures of 25 and 28°C allow shorter development periods (egg to adult) (\approx 10 days). The highest biological cycle viabilities (81% and 69%) were recorded at 23 and 25° C, respectively, as well as the best results of the fertility life table parameters. In contrast, temperatures of 13 and 28 °C promoted insects with largest and smallest body sizes, respectively, leading to 99 % and 93 % reductions in the reproductive capacity (R_0) and 97% and 46% population growth capacity at each generation (r_m) of *D. suzukii*. Under temperatures of 30 and 33°C no adult emergence occurred. Based on the development of the biological cycle (egg to adult), the lower temperature threshold (TT) was 7.85°C and the thermal constant (K) 185.87 GD, and annual number of *D. suzukii* generations varied between 17.18 for cold regions and 27.20 for warmer regions of Brazil. The information contained in this work are of the utmost importance for understanding and designing management strategies, mostly, in order to infer on the prediction pest incurrences and decision-making.

Keywords: Spotted wing drosophila, fecundity, life cycle, longevity.

MENSAGEM CHAVE

- Foram avaliados o efeito de sete temperaturas sobre a biologia, tamanho de corpo e exigências térmicas de uma população sul-americana de *D. sukii*.
- As melhores temperaturas para o desenvolvimento de SWD são 23 e 25°C.
- Esse é o primeiro estudo a abordar os efeitos de temperatura sobre aspectos biológicos de populações sul-americanas de *D. sukii*, e auxiliará no desenvolvimento de técnicas de criação e manejo da praga.

DECLARAÇÃO DE CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

DCHS, JW, APK e FRMG idealizaram e delineararam os experimentos. DCHS, JW, APK, LNM e CMT conduziram os experimentos. DB realizou as análises estatísticas. DCHS escreveu o manuscrito. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito.

INTRODUÇÃO

A temperatura é um dos principais fatores que atuam nas mudanças dos processos fisiológicos, ecológicos e de desenvolvimento dos insetos (Angilletta et al. 2004). Entretanto, a preferência térmica é variável para cada espécie e, geralmente, corresponde às temperaturas que favorecem a maximização de processos metabólicos como digestão, atuação enzimática e perpetuação da espécie no ambiente (Dillon et al. 2009). Pequenos ectotérmicos, como os insetos pertencentes à família Drosophilidae, não são capazes de regular a temperatura corporal endogenamente, e dependem, quase que exclusivamente, das condições ambientais para proporcionar o equilíbrio térmico (Dillon et al. 2009). A temperatura também é um fator determinante para o tamanho do corpo desses insetos, sendo frequente a correlação negativa entre tamanho do corpo e temperatura, influenciada pela plasticidade fenotípica inerente a cada espécie (Norry and Loeschke 2002; Bochdanovits and Jong 2003; Jalal et al. 2015).

A drosófila-da-asa-manchada (SWD), *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) é uma praga de pequenos frutos oriunda da Ásia, e já estabelecida em diversos países da América do Norte, Europa e América do Sul (Walsh et al. 2011; Cini et al. 2012; Deprá et al. 2014; Andreatza et al. 2017) e com elevada capacidade de adaptação em países do continente africano e Oceania, onde ainda é ausente (Dos Santos et al. 2017). Estudos genéticos apontam que as populações sul-americanas são originárias de uma mistura genética entre indivíduos do sudoeste e leste dos EUA, e que a diversidade genética nas populações introduzidas pode aumentar o sucesso da invasão e facilitar a colonização de novos habitats (Frainmount et al. 2017).

Devido à presença de um aparelho ovipositor robusto e serrado, fêmeas de *D. suzukii* apresentam capacidade de perfurar e depositar ovos no interior de frutos maduros e íntegros (Walsh et al. 2011; Cini et al. 2012), e as lesões causadas na parte externa do tegumento

podem servir de porta de entrada para pragas secundárias e agentes fitopatogênicos, acelerando as perdas de produção (Dreves et al. 2009; Bolda et al. 2010).

Variações climáticas locais podem influenciar diretamente a taxa de crescimento populacional e o comportamento biológico de *D. suzukii* (Kimura 1988; Kimura 2004; Dalton et al. 2011; Kinjo et al. 2014; Tochen et al. 2014; Ryan et al. 2016; Zerulla et al. 2017), sendo a umidade e a temperatura os principais fatores limitantes para a sobrevivência da espécie ao longo das gerações (Tochen et al. 2014; Asplen et al. 2015; Ryan et al. 2016; Aly et al. 2017; Zerulla et al. 2017).

Estudos demonstraram que devido à elevada plasticidade fenotípica das larvas e adultos de *D. suzukii*, a espécie conseguiu adaptar-se a diferentes locais em um curto período de tempo (Shearer et al. 2016; Wallingford et al. 2016). Entretanto, pouco se sabe sobre o potencial biótico da espécie quando submetida a diferentes condições térmicas ao longo das gerações. Este entendimento é de suma importância para definir e elaborar a melhor estratégia de manejo e, principalmente, fazer inferências sobre a previsão da ocorrência da praga no campo (Tochen et al. 2014).

No Brasil, após os primeiros registros de ocorrência da SWD em 2013 (Deprá et al. 2014), rapidamente ocorreu uma disseminação descontrolada da espécie em diversos estados brasileiros, desde a região Sul onde ocorre a predominância de temperaturas baixas durante os meses de junho a agosto (período de inverno), até as regiões do sudeste brasileiro que apresentam temperaturas amenas a elevadas durante todo o ano (Andreazza et al. 2017; Deprá et al. 2014; Vilela and Mori 2014; Dos Santos et al. 2017). Posteriormente, *D. suzukii* foi registrada em diversos outros países da América do Sul como Uruguai, Argentina e Chile (González et al. 2015, Medina-Muñoz et al. 2015; Santadino et al. 2015), que apresentam condições térmicas similares às regiões de ocorrência da praga no Brasil. Frente a isso, o presente estudo teve por objetivo verificar os efeitos da temperatura no comportamento

biológico e tamanho corporal de *D. suzukii*, assim como, determinar a exigência térmica e estimar o número de gerações anuais do inseto nos principais polos de produção de pequenas frutas do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Criação e manutenção de *D. suzukii*

Os insetos que originaram a criação de *D. suzukii* foram obtidos através de frutos infestados de amora (*Rubus* spp.), coletados em janeiro de 2016, no município de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil (31°38'20''S e 52°30'43''W). Após a coleta, os frutos foram acondicionados em caixa térmica e encaminhados ao laboratório, onde foram pesados e individualizados em potes plásticos (150 mL) com tampa perfurada (2 cm de diâmetro) coberto com tecido *voile*, contendo uma fina camada de vermiculita (1 cm). Os frutos foram mantidos em sala climatizada a temperatura de 23±2°C, 70±10% de umidade relativa (UR) e 12:12h (L:D) até a emergência dos adultos. Após a emergência foi procedida a confirmação específica através de caracteres taxonômicos (Vlach 2013). Posteriormente, as moscas (machos e fêmeas) foram transferidos para um recipientes de vidro de fundo chato (8,5 cm de altura por 2,5 cm de diâmetro) contendo dieta artificial (8 mL), a base de farinha de milho, açúcar e levedura, seguindo a metodologia proposta por Schlesener et al. (2017).

Parâmetros biológicos de *D. suzukii* em temperaturas constantes

Setenta casais de *D. suzukii* com nove dias de idade provenientes da criação de manutenção foram separados e acondicionados em recipientes plásticos com tampa (250 mL). Posteriormente, para a obtenção dos ovos, foi utilizado um substrato de oviposição constituído por uma mistura de ágar (19 g), gelatina de framboesa (10 g), metil parabeno (Nipagin®) (0,8 g dissolvidos em 8 mL de álcool etílico absoluto 99,9%) e água destilada (850

mL), seguindo a metodologia adaptada de Salles (1992). Após a gelificação da mistura, uma porção semicircular (2,5 cm de diâmetro por 1 cm de espessura) do substrato foi adicionada para cada recipiente. Decorrido 24 h, os adultos foram removidos, e com auxílio de uma lâmina de corte foram separadas porções do substrato contendo 10 ovos, e inoculados em recipientes de vidro de fundo chato (8,5 cm de altura por 2,5 cm de diâmetro) contendo dieta artificial (8 mL) (Schlesener et al. 2017). Após inoculação, os recipientes de vidro foram fechados na parte superior com algodão hidrófilo e acondicionados em câmeras climatizadas B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand), reguladas com temperatura constante, $70 \pm 10\%$ UR e 12:12h (L:D). Os tratamentos (temperaturas) utilizados foram 13, 18, 23, 25, 28, 30, 33°C, em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com 20 repetições por temperatura, sendo cada repetição composta por 10 ovos de *D. sukii* de até 24 horas. Os parâmetros biológicos avaliados foram duração (dias) e viabilidade (%) do ciclo biológico (ovo a adulto) e razão sexual (rs). A duração e viabilidade do ciclo biológico foram avaliadas diariamente. A razão sexual foi calculada a partir da equação $rs = \text{fêmeas} / (\text{fêmeas} + \text{machos})$. Após a emergência, 17 casais de até 24 h de idade de cada temperatura avaliada foram acondicionados em gaiolas plásticas confeccionadas a partir de recipientes plásticos transparentes com tampa (200 mL), posicionados de forma invertida e mantidos nas mesmas condições de desenvolvimento. Para facilitar as trocas gasosas, foi produzida uma abertura (2 cm de diâmetro) na parte superior da gaiola e recoberto com tecido *voile* para evitar a fuga dos insetos. Posteriormente, para cada casal de *D. sukii* foi oferecido um substrato de oviposição conforme descrito anteriormente e alimento. Como substrato de alimentação aos adultos foi oferecido uma mistura hidratada de açúcar refinado, extrato de levedura de cerveja [Bionis YE MS and Bionis YE NF (Biorigen[®])], gérmen de trigo cru (Walmon[®]), na proporção de 3:1:1 e água, colocado sobre algodão hidrófilo e acondicionado no interior de um recipiente plástico (1 cm de diâmetro), seguindo metodologia adaptada proposta por

Nunes et al. (2013). O alimento foi substituído a cada três dias, para evitar fermentação e contaminação. O substrato de oviposição foi trocado sempre que houvesse presença de ovos ou estivesse desidratado. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 17 repetições por temperatura (casal de *D. sukii*). Os parâmetros biológicos avaliados foram período pré-oviposição (dias), oviposição (dias), pós-oviposição (dias), fecundidade total (número de ovos por fêmea), fecundidade diária (número de ovos por fêmea por dia), longevidade (dias) e viabilidade embrionária (%). Para a avaliação da viabilidade embrionária foram retirados até 30 ovos dos substratos de oviposição por tratamento, a partir da segunda postura, com auxílio de uma lâmina de corte. Os ovos foram acondicionados em placas de Petri (6 cm de diâmetro por 1,5 cm de espessura) contendo papel filtro umedecido para evitar a desidratação, e foram incubados por um período de 72h nas respectivas temperaturas de origem. Os ovos que apresentaram tegumento rompido e córion vazio foram considerados viáveis, enquanto os que permaneceram túrgidos após o período de avaliação foram considerados inviáveis. A partir dos parâmetros biológicos de desenvolvimento de *D. sukii* foi calculada a tabela de vida de fertilidade estimando a duração de cada geração (T), taxa líquida de reprodução (R_0), razão infinitesimal de aumento (r_m) e razão finita de aumento (λ).

Determinação das exigências térmicas e número de gerações anuais de *D. sukii*

A partir da duração do período ovo-adulto de *D. sukii* nas diferentes temperaturas foi determinada a temperatura base (*lower temperature thresholds* - TT) e constante térmica (K) através do método da hipérbole, proposto por Haddad e Parra (1984). Foi estimado o provável número de gerações anuais de *D. sukii* com base nos graus-dias (GD) requeridos para o desenvolvimento do inseto determinado em laboratório. Essa estimativa foi realizada para oito municípios pertencentes às principais regiões produtoras de pequenas frutas do país, sendo os municípios Caxias do Sul/RS, Pelotas/RS, Jaboti/PR, São José dos Pinhais/PR, Atibaia/SP, Piedade/SP, Estiva/MG e Pouso Alegre/MG (Tabela 1). O cálculo do número de

gerações anuais de *D. sukii* foi determinado através da equação $K = y(T - TT)$, sendo K = número de graus-dias, y = número de dias necessários para completar o ciclo, T = temperatura média anual do local e TT = temperatura base de desenvolvimento de *D. sukii* em laboratório. Os dados climatológicos (temperatura média anual) de cada localidade estudada foram coletados a partir de estações meteorológicas locais ou distanciadas no máximo 30 km do local do estudo (Tabela 1).

Efeito de temperaturas sobre o tamanho do corpo de adultos de *D. sukii*.

Para determinar a influência da temperatura no tamanho corporal de adultos de *D. sukii*, foram utilizadas medidas (mm) a partir da asa e tórax (mesonoto + escutelo), de até 60 indivíduos (30 machos e 30 fêmeas) por temperatura, seguindo a metodologia adaptada proposta por Jaramillo et al. (2015). Adultos provenientes de cada temperatura e que não foram utilizados nos demais experimentos, foram acondicionados em frascos (1,5 mL) contendo álcool 70%, após a expansão total das asas, endurecimento da cutícula e surgimento completo das machas nas asas dos machos. Posteriormente, com auxílio de uma pinça, as asas direitas dos adultos, machos e fêmeas, foram cuidadosamente removidas e montadas sobre lâmina de microscopia, cobertas por lamínula. A medida tomada para asa compreendeu a distância entre a base inferior da veia transversal anterior até o ápice da veia longitudinal III (Fig. 1A). Para a medição do tórax, o corpo do inseto foi posicionado lateralmente sobre lâmina de microscopia, e as medidas anotadas a partir da base superior da inserção entre a cabeça e a porção final anterior do mesonoto até a porção mais distal do escutelo (Fig. 1B). As medições das asas e tórax foram obtidas através de esteromicroscópio Discovery V20, equipado com câmera digital Zeiss AxioCam MRc.

Análise estatística

A duração (dias) e viabilidade (%) do ciclo biológico (ovo a adulto), período de pré-oviposição (dias), oviposição (dias), pós-oviposição (dias), fecundidade total, fertilidade e tamanho do corpo (mm) (asa e tórax), foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk (1965) e homocedasticidade por Hartley (1950) e Bartlett (1937). Posteriormente, as médias foram submetidas à análise de variância (ANOVA) através do teste F ($P \leq 0,05$), realizada pelo procedimento GLM do SAS[®] (SAS Institute 2011). Constatando-se significância estatística, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). O possível desvio na proporção dos sexos foi comparado pelo teste de Qui-quadrado (χ^2) ($P \leq 0,05$) (PROC FREQ, SAS Institute 2011). A longevidade (dias) de adultos de *D. sukii* foi analisada mediante as curvas de sobrevivência, através do estimador de Kaplan-Meier e, posteriormente, comparadas por meio do teste de log-rank com o auxílio do Programa R[®] (R Development Core Team 2011). Os parâmetros da tabela de vida de fertilidade foram estimados pelo método Jackknife utilizando a programação Lifetable.SAS (Maia et al. 2000) e as médias comparadas pelo teste *t* bilateral ($P \leq 0,05$) pelo software SAS[®] (SAS Institute 2011). As diferenças entre os tratamentos foram determinadas a um nível de significância de $\alpha = 0,05$ SAS[®] (SAS Institute 2011).

RESULTADOS

Parâmetros biológicos de *D. sukii* em diferentes temperaturas

Foi observada formação de pupas inviáveis à 30°C, no entanto não houve emergência de adultos nas temperaturas de 30 e 33°C. Em relação ao tempo de desenvolvimento do ciclo biológico (ovo-adulto) foi observado que na temperatura de 25 e 28°C (≈ 10 dias) apresentaram os menores tempos de desenvolvimento ($F = 224,94$, d.f. = 4;80, $P > 0,0001$) quando comparado com as temperaturas 13°C (39,3 dias), 18°C (18,5 dias) e 23°C (12 dias)

(Fig. 2A). As maiores viabilidades do ciclo biológico (ovo a adulto) foram registradas a 23°C (81%) e 25°C (69%) ($F = 55,62$, d.f. = 4;95, $P > 0,0001$), sendo superiores quando comparados com insetos acondicionados nas temperaturas de 28°C (59%), 18°C (58%) e 13°C (14%) (Fig. 2B). Pelo teste de qui-quadrado foi verificado que a razão sexual não foi influenciada pela temperatura ($\chi^2 = 20,00$, d.f. = 4;16, $P = 0,2202$) (Tabela 2).

Adultos de *D. sukii* mantidos na temperatura de 13°C apresentaram os maiores período de pré-oviposição (55 dias) ($F = 93,05$, d.f. = 4;65, $P > 0,0001$), oviposição (93 dias) ($F = 8,74$, d.f. = 4;75, $P < 0,0001$) e pós-oviposição (63 dias) ($F = 12,58$, d.f. = 4;75, $P < 0,0001$) quando comparados com insetos acondicionados nas demais temperaturas (Tabela 2). Os maiores picos de oviposição (número médio de ovos por fêmea por dia) foram registrados entre o 20° e 40° dia após emergência das fêmeas de *D. sukii*, com exceção de 13°C que manteve a taxa de postura constantemente baixa ao longo da sobrevivência dos insetos (Figura 3). A menor fecundidade total também foi verificada à 13°C (16,19 ovos) que, juntamente, com a temperatura de 28°C (52,88 ovos) apresentaram as menores taxas de oviposição ($F = 22,22$, d.f. = 4;80, $P < 0,0001$), quando comparado com fêmeas mantidas a 23°C (582,35 ovos), 25°C (350,06 ovos) e 18°C (166,41 ovos) (Tabela 2). Ademais, ovos acondicionados a 18 e 23°C apresentaram a maior viabilidade embrionária (93 e 95%, respectivamente) ($F = 104,46$, d.f. = 4;73, $P < 0,0001$) (Tabela 2), sendo que ovos mantidos à 28°C foram totalmente inviáveis. As maiores longevidades médias foram observadas para insetos criados a temperatura constante de 13°C, tanto para fêmeas (201,2 dias) ($\chi^2 = 80,9$; d.f. = 4; $P < 0,0001$) (Fig. 4A) quanto para machos (145,7 dias) ($\chi^2 = 60,5$; d.f. = 4; $P < 0,0001$) de *D. sukii* (Fig. 4B). Contudo, o tempo médio de sobrevivência (*mean survival time* – MST) foi decrescendo significativamente para fêmeas mantidas à 18°C (116,18 dias), 23°C (77,9 dias), 25°C (66,7 dias) e 28°C (50,7 dias) (Fig. 4A) e machos à 18°C (110,3 dias), 23°C

(71,9 dias), 25°C (50,1 dias) e 28°C (46,9 dias) (Fig. 4B) à medida que a temperatura aumentou.

Tabela de vida de fertilidade de *D. sukukii* em diferentes temperaturas

O melhor desempenho biológico observado nos insetos criados às temperaturas de 23 e 25°C refletiu positivamente em todos os parâmetros biológicos de tabela de vida de fertilidade (Tabela 3). Insetos mantidos nas temperaturas de 23°C (28,91 dias) e 25°C (28,76 dias) apresentaram os menores tempos de desenvolvimento (T) entre gerações (Tabela 3). Entretanto, quando submetidos constantemente a 13°C apresentaram o maior período de T (134,62 dias) (Tabela 3). Em aproximadamente 28 dias (T) de desenvolvimento, nas temperaturas de 23 e 25°C, são esperadas a produção de 245,48 e 119,08 fêmeas resultantes de cada fêmea na fase reprodutiva, respectivamente (Tabela 3). Entretanto, a 13°C e 28°C houve uma redução significativa ($P < 0,05$) de aproximadamente 99 e 93%, respectivamente, na capacidade reprodutiva dos insetos ($R_o = 1,85$ e $17,70$). Ademais, insetos acondicionados a 13 e 28°C foram afetados negativamente em relação a taxa intrínseca de crescimento (r_m), indicando uma redução de 97 e 46% na capacidade de aumento populacional da praga ao longo do tempo (Tabela 3), assim como, no crescimento populacional diário (λ) de *D. sukukii* comparativamente as demais temperaturas avaliadas (Tabela 3).

Efeito das temperaturas sobre o tamanho do corpo de *D. sukukii*

Insetos mantidos nas menores temperaturas obtiveram os maiores tamanhos corporais. Para o tamanho de asa dos machos foi observada diferença significativa entre todos os tratamentos ($F = 192,58$, d.f. = 4;90, $P < 0,0001$), sendo observada as medidas de 1,92, 1,81, 1,59, 1,49 e 1,33 mm, para as temperaturas 13, 18, 23, 25 e 28°C, respectivamente. Para as fêmeas os maiores tamanhos de asa foram observados à 13°C (2,13 mm), seguido por 18°C (2,02 mm), 23°C (1,77 mm), 25°C (1,68 mm) e 28°C (1,50 mm) ($F = 498,18$, d.f. = 4;126, $P < 0,0001$) (Tabela 4). Entretanto, as variações observadas nas medições do tórax foram menos

acentuadas, não havendo diferença significativa ($P < 0,05$) entre as temperaturas 13°C (1,18 mm), 18°C (1,21 mm) e 23°C (1,17 mm) para machos e 13°C (1,38 mm) e 18°C (1,41 mm) para fêmeas, contudo, foram superiores estatisticamente de insetos mantidos nas temperaturas de 25 e 28°C, para machos ($F = 6,65$, d.f. = 4;90, $P < 0,0001$) e fêmeas ($F = 56,11$, d.f. = 4;126, $P < 0,0001$) (Tabela 4).

Exigências térmicas e estimativa do número de gerações de *D. suzukii* em regiões produtoras de morango

Mediante a curva de regressão para o período de desenvolvimento do ciclo biológico (ovo a adulto) em função da temperatura, os dados ajustaram-se à equação de segundo grau ($R^2 = 0,95$) (Fig. 5), com uma relação significativamente inversa do tempo de desenvolvimento à elevação da temperatura, demonstrando que, acima de 95% das vezes, o decréscimo do tempo de desenvolvimento do ciclo biológico é explicado pelo aumento na temperatura (Fig. 5). Com base na duração do período de ovo a adulto de *D. suzukii* quando submetidas a diferentes temperaturas constantes, foi verificado que a temperaturas base (TT) foi de 7,85°C, correspondendo a uma constante térmica (K) de 185,87 GD (Fig. 5). Tomando-se por base os dados da constante térmica e as normais climatológicas de cada município, o número de gerações anuais do inseto foi de 20,03 (Pelotas/RS), 17,18 (Caxias do Sul/RS), 17,77 (São José dos Pinhais/PR), 27,20 (Jaboti/PR); 22,09 (Estiva/MG), 23,66 (Pouso Alegre/MG), 20,72 (Atibaia/SP) e 19,54 (Piedade/SP) (Tabela 1).

DISCUSSÃO

O presente estudo fornece observações detalhadas sobre os parâmetros biológicos de duração, sobrevivência e reprodução de *D. suzukii* quando acondicionadas em diferentes condições térmicas. As temperaturas ideais para o desenvolvimento do período de ovo a adulto de *D. suzukii* foram de 23 a 25°C. O mesmo foi observado em trabalhos realizados por

Kansawa (1939), Tochen et al. (2014) e Ryan et al. (2016). Entretanto, em temperaturas de 30 e 33°C não ocorreu emergência de adultos. Apesar da formação de pupas de *D. suzukii* a 30°C, todas foram consideradas inviáveis devido à ausência de insetos emergidos.

O fato de nenhum inseto ter emergido nas temperaturas de 30 e 33°C, não significa que isso não possa acontecer em situação de campo, uma vez que no campo ocorrem variações térmicas ao longo do dia (Tochen et al. 2014) e as fases embrionárias (ovos, larvas e pupas) estão mais protegidas das variações climáticas no interior dos frutos. Entretanto, é um indicativo de que a temperatura de 30°C pode estar próxima do limite superior de desenvolvimento da espécie, assim como observado em outros trabalhos (Tochen et al. 2014; Ryan et al. 2016). Em contraste, à 13°C ocorreu uma redução significativa na taxas de desenvolvimento, indicando que essa temperatura está próxima do limite inferior de desenvolvimento ($TT = 7,85^{\circ}\text{C}$), assim como observado em estudos anteriores (TT variando de 7,2 a 9,0°C) (Dalton et al. 2011; Tochen et al. 2014; Ryan et al. 2016).

Durante a fase adulta, os insetos mantidos a 13°C em dieta artificial apresentaram os maiores períodos (dias) de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição, resultados similares aos observados para insetos criados em frutos de cereja e mirtilo (Tochen et al. 2014). A baixa fecundidade total e diária em insetos mantidos a 13°C refletiu negativamente nos parâmetros da tabela de vida de fertilidade (T , R_o , r_m , e λ). Entretanto, adultos, tanto fêmeas quanto machos, apresentaram longevidade aproximadamente três a quatro vezes superior, quando comparados com insetos criados nas temperaturas de 23, 25 e 28°C, corroborando com Tochen et al. (2014).

Este comportamento biológico pode estar associado com a capacidade da espécie em entrar em período de diapausa reprodutiva em condições de baixa temperatura (Tochen et al. 2014; Rossi-Stacconi et al. 2016; Zhai et al. 2016; Wang et al. 2016), sendo esta uma estratégia de sobrevivência nos períodos considerados críticos para a espécie (Kansawa 1939;

Tochen et al. 2014). Esta habilidade de suportar condições adversas no meio ambiente está associada à elevada plasticidade fenotípica da espécie, o que proporciona fácil adaptação ambiental para vários cenários mundiais, e condiciona essa espécie como praga invasiva (Shearer et al. 2016; Toxopeus et al. 2016; Wallingford et al. 2016).

De forma prática, em condições naturais, as fêmeas de *D. suzukii* podem copular antes do inverno e depositar ovos férteis na estação seguinte, assim que as condições climáticas se tornem novamente favoráveis para a perpetuação da espécie (Dalton et al. 2011). Esta habilidade reprodutiva associada à elevada plasticidade fenotípica da espécie pode ter sido uma estratégia para a adaptação nas regiões de primeira ocorrência da SWD no Brasil (Deprá et al. 2014), locais de predominância de temperaturas baixas durante quatro meses do ano (maio a agosto), e posteriormente, favoreceu a disseminação para diferentes regiões brasileiras que apresentam predominância de temperaturas elevadas (Andreazza et al. 2017; Dos Santos et al. 2017).

Em contraste, temperaturas de 23 e 25°C, consideradas ideais para o desenvolvimento embrionário de *D. suzukii* (período de ovo a adulto) refletiram de maneira positiva no crescimento populacional da espécie entre gerações. Estudos anteriores demonstraram que a temperatura ótima reprodutiva com a maior taxa de oviposição foi de 22,9°C (Ryan et al. 2016). Entretanto, os valores de fecundidade total observados à 23°C foram muito superiores aos totais observados quando mantidas em frutos de mirtilo (19,8 ovos por fêmea à 22°C) (Tochen et al. 2014). Esta diferença na fecundidade total pode estar relacionada ao substrato de alimentação oferecido às larvas e adultos de *D. suzukii* (Aguila et al. 2013; Jaramillo et al. 2015).

Outra característica significativa presente no estudo foi a variação do tamanho do corpo de adultos de *D. suzukii* em função da temperatura na qual os insetos foram submetidos. Insetos criados e mantidos em temperaturas baixas (13 e 18°C) apresentaram um maior

tamanho corporal quando comparado com insetos mantidos nas demais temperaturas. Esta diferença pode estar associada com a acessibilidade das reservas energéticas de glicogênio para adaptação da espécie (Bochdanovits and Jong 2003), e/ou pelo aumento do tamanho e quantidade de células em insetos submetidos a baixas temperaturas (Jalal et al. 2015). Não foi estimada a taxa de glicogênio nos insetos, mas em estudos anteriores foi verificado que o nível de glicogênio se correlaciona positivamente com o tamanho de adultos e a baixa viabilidade do ciclo biológico (ovo a adulto) (Bochdanovits and Jong 2003), conforme verificado no presente estudo. O maior tamanho corporal das fêmeas criadas em temperaturas inferiores também não proporcionou um aumento na fecundidade, sendo que esse comportamento já foi observado para *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae) (Nunney and Cheung 1997).

Com base nas exigências térmicas e graus dias, foram estimadas a ocorrência de 17,18 gerações anuais do inseto em regiões de temperaturas mais frias (município de Caxias do Sul/RS) e 27,20 gerações por ano em regiões mais quentes (município de Jaboti/PR). Entretanto, é importante ressaltar que modelos que tem por base a determinação dos graus-dias (GD) não são os mais indicados para estudos com espécies que apresentam sobreposição de gerações e que sejam fortemente influenciadas por variações de temperatura, como é o caso de *D. sukii* (Tochen et al. 2014). Contudo, estimativas do número de gerações baseados em resultados de laboratório são de suma importância para auxiliar no manejo de *D. sukii* (Tochen et al. 2014; Wallingford et al. 2016), uma vez que fornecem dados que permitem a previsão de ocorrência da praga, o estabelecimento de um monitoramento mais eficiente e parâmetros para a tomada de decisão.

No Brasil, as maiores regiões produtoras de pequenas frutas estão localizadas no Sul e Sudeste, tendo como destaques os estados do Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo e Minas Gerais (Antunes et al. 2010), regiões das quais foram selecionados os municípios levados em

consideração no presente estudo. Nestes locais, os cultivos de pequenas frutas predominantes são morangueiro (*Fragaria x ananassa*), amoreira (*Rubus* spp), mirtilheiro (*Vaccinium* spp) e framboeseira (*Rubus* spp.) (Antunes et al. 2010), todos hospedeiros preferenciais de *D. suzukii* (Lee et al. 2015). Este fato, aliado a habilidade de sobrevivência em condições adversas de temperatura, permitiu a rápida expansão de SWD (menos de três anos) para todas as regiões brasileiras com cultivos de pequenas frutas (Andreazza et al. 2017; Dos Santos et al. 2017), assim como, em países vizinhos como Uruguai (González et al. 2015), Argentina (Santadino et al. 2015) e Chile (Medina-Muñoz et al. 2015).

Este trabalho é considerado o primeiro estudo que visou determinar os parâmetros relacionados a tabela de vida de fertilidade de *D. suzukii*, quando submetidas a diferentes condições térmicas, em uma população do hemisfério sul. Com o entendimento do comportamento biológico da espécie, o estudo auxiliará no aperfeiçoamento das técnicas de criação em laboratório, para a implementação de novas estratégias de manejo do inseto, como a técnica de controle autocida e controle biológico. Além disso, a determinação das exigências térmicas e a estimativa do número de gerações anuais da praga, nas principais regiões produtoras de pequenas frutas no Brasil, contribuirá para a previsão de ocorrência e surtos populacionais do inseto no campo em função das condições térmicas locais. Contudo, estudos futuros devem ser direcionados para validar e melhorar esse modelo de estimativa, levando em consideração outros fatores como umidade e fotoperíodo, que também atuam diretamente no comportamento bioecológico de *D. suzukii* em um determinado local (Wallingford et al. 2016; Tochen et al. 2016), e assim conseguir estabelecer um zoneamento ecológico que seja favorável ou desfavorável para o desenvolvimento da espécie.

REFERÊNCIAS

- Aguila JR, Hoshizaki DK, Gibbs AG (2013) Contribution of larval nutrition to adult reproduction in *Drosophila melanogaster*. *J Exp Biol*, 216:399-406. doi: 10.1242/jeb.078311
- Aly MF, Kraus DA, Burrack HJ (2017) Effects of postharvest cold storage on the development and survival of immature *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) in artificial diet and fruit. *J Econ Entomol*, 110:87–93. doi: 10.1093/jee/tow289
- Andreazza F, Bernardi D, Dos Santos RSS, Garcia FRM, Oliveira EE, Botton M, Nava DE (2017) *Drosophila suzukii* in Southern Neotropical region: Current status and futures perspectives. *Neotrop Entomol*, 46:591-605. doi: 10.1007/s13744-017-0554-7
- Angilletta MJ, Steury TD, Sears MW (2004) Temperature, growth rate, and body size in ectotherms: fitting pieces of a life-history puzzle. *Integr Comp Biol*, 44(6):498- 509. doi: 10.1093/icb/44.6.498
- Antunes LEC, Ristow NC, Krolow ACR, Carpenedo S, Reisser Júnior C (2010) Yield and quality of strawberry cultivars. *Hortic Bras*, 28(2):222-226. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362010000200015>
- Asplen MK, Anfora G, Biondi A, Choi DS, Chu D, Daane KM, et al. (2015) Invasion biology of spotted wing *Drosophila* (*Drosophila suzukii*): a global perspective and future priorities. *J Pest Sci*, 88:469–494. <https://doi.org/10.1007/s10340-015-0681-z>
- Bochdanovits Z, Jong GD (2003) Temperature dependent larval resource allocation shaping adult body size in *Drosophila melanogaster*. *J Evol Biol* 16(6):1159-1167.
- Bolda MP, Goodhue RE, Zalom FG (2010) Spotted wing drosophila: potential economic impact of a newly established pest. *Giannini Foundation of Agricultural Economics* 13:5–8.
- Cattel J, Kaur R, Gibert P, Martinez J (2016) *Wolbachia* in European Populations of the Invasive Pest *Drosophila suzukii* : Regional Variation in Infection Frequencies. *PLoS ONE* 11(2): e0150050. doi: 10.1371/journal.pone.0147766
- Cini A, Ioriatti C, Anfora G (2012) A review of the invasion of *Drosophila suzukii* in Europe and a draft research agenda for integrated pest management. *B Insectol* 65:149-160.
- Dalton DT, Walton VM, Shearer PW, Walsh DB, Caprile J, Issacs R (2011) Laboratory survival of *Drosophila suzukii* under simulated winter conditions of the Pacific Northwest and seasonal field trapping in five primary regions of small and stone fruit production in the United States. *Pest Manag Sci* 67: 1368-1374. DOI: 10.1002/ps.2280
- Deprá M, Poppe JL, Schmitz HJ, De Toni DC, Valente VLS (2014) The first records of the invasive pest *Drosophila suzukii* in South American Continent. *J Pest Sci* 87:379-383. doi: 10.1007/s10340-014-0591-5
- Dillon ME, Wang G, Garrity PA, Huey RB (2009) Review: Thermal preference in *Drosophila*. *J Therm Biol* 34(3): 109-119. doi: 10.1016/j.jtherbio.2008.11.007.
- Dreves AJ, Walton V, Fisher G (2009) A new pest attacking healthy ripening fruit in Oregon. Spotted Wing *Drosophila*: *Drosophila suzukii* (Matsumura). Oregon: Oregon State University, Extension Service. http://extension.oregonstate.edu/lincoln/sites/default/files/documents/_Regional_Pest_Alert-Spotted_Wing_Drosophila.pdf. Accessed 3 January 2018.

- Dos Santos LA, Mendes MF, Krüger AP, Blauth ML, Gottschalk MS, Garcia FRM (2017) Global potential distribution of *Drosophila suzukii* (Diptera, Drosophilidae). PLoS ONE 12: e0174318. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174318>
- Fraimout A, Debat V, Fellous S, Hufbauer RA, Foucaud J, Pudlo P, Marin J-P, Price DK, Cattel J, Chen X, Deprá M, Duyck PF, Guedot C, Kenis M, Kimura MT, Loeb G, Loiseau A, Martinez-Muñoz I, Pascual M, Richmond MP, Shearer P, Singh N, Tamura K, Xuéreb A, Zhang J, Estoup A (2017) Deciphering the Routes of invasion of *Drosophila suzukii* by Means of ABC Random Forest. Mol Biol Evol 34(4):980-996. doi: 10.1093/molbev/msx050
- González G, Mary AL, Goñi B (2015) *Drosophila suzukii* (Matsumura) found in Uruguay. Drosoph Inf Serv 98:103-107.
- Haddad ML, Parra JRP (1984) Métodos para estimar os limites térmicos e a faixa ótima de desenvolvimento das diferentes fases do ciclo evolutivo de insetos. Agricultura e Desenvolvimento EMBRAPA/ USP/FEALQ.
- Jalal M, Andersen T, Hessen DO (2015) Temperature and developmental responses of body and cell size in *Drosophila*; effects of polypoidy and genome configuration. J Therm Biol 51:1-14. doi: 10.1016/j.jtherbio.2015.02.011
- Jaramillo SL, Mehlferber E, Moore PJ (2015) Life-history trade-offs under different larval diets in *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). Physiol Entomol 40:2-9. doi: 10.1111/phen.12082
- Kanzawa T (1939) Studies on *Drosophila suzukii* Mats. Kofu, Yamanashi Agricultural Experiment Station 49 pp. (abstr.). Rev. Appl. Entomol. 29:622.
- Kimura MT (1988). Adaptations to temperature climates and evolution of overwintering strategies in the *Drosophila melanogaster* species group. Evolution 42:1288–1297.
- Kimura MT (2004) Cold and heat tolerance of drosophilid flies with reference to their latitudinal distribution. Oecologia 140:442–449.
- Kinjo H, Kunimi Y, Nakai M (2014) Effects of temperature on the reproduction and development of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). Appl Entomol Zool 49(2):297-304. doi: 10.1007/s13355-014-0249-z
- Lee JC, Dreves AJ, Cave AM, Kawai S, Isaacs R, Miller JC, Van Timmeren S, Bruck DJ (2015) Infestation of wild and ornamental noncrop fruits by *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). Ann Entomol Soc Am 108:117-129. doi: 10.1093/aesa/sau014
- Maia AH, Luiz AJB, Campanhola C (2000) Statistical inference on associated fertility life parameters using jackknife technique: computational aspects. J Econ Entomol 93:511-518. doi: 10.1603/0022-0493-93.2.511
- Medina-Muñoz MC, Lucero X, Severino C, Cabrera N, Olmedo D, Del Pino F, Alvarez E, Jara C, Godoy-Herrera R (2015) *Drosophila suzukii* arrived in Chile. Drosoph Inf Serv 98:75
- Norry FB, Loeschke V (2002) Temperature-induced shifts in associations of longevity with body size in *Drosophila melanogaster*. Evolution, 56: 299-306. [https://doi.org/10.1554/0014-3820\(2002\)056\[0299:TISIAO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1554/0014-3820(2002)056[0299:TISIAO]2.0.CO;2)
- Nunes AM, Costa KZ, Faggioni KM, Costa M de LZ, Gonçalves R da S, Walder JMM, Garcia MS, Nava DE (2013) Dietas artificiais para a criação de larvas e adultos da mosca-das-

frutas sul-americana. Pesq Agrop Brasil 48:1309-1314. doi: 10.1590/S0100-204X2013001000001

Nunney L, Cheung W (1997) The effect of temperature on body size and fecundity in female *Drosophila melanogaster*: evidence for adaptive plasticity. *Evolution* 51: 1529-1535. doi: 10.2307/2411205

R Development Core Team. (2011) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing.

Rossi-Stacconi MV, Kaur R, Mazzoni V, Ometto L, Grassi A, Gottardello A, Rota-Stabelli O, Anfora G (2016) Multiple lines of evidence for reproductive winter diapause in the invasive pest *Drosophila suzukii*: useful clues or control strategies. *J Pest Sci.* doi: 10.1007/s10340-016-0753-8

Ryan GD, Emiljanowicz L, Wilkinson F, Kornya M, Newman JA (2016) Thermal tolerances of the Spotted-wing *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *J Econ Entomol* 109(2):746-752. doi: 10.1093/jee/tow006

Salles LAB (1992) Metodologia de criação de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) em dieta artificial em laboratório. *An Soc Entomol Brasil* 21:479-486.

Santadino MV, Riquelme Virgala MB, Ansa MA, Bruno M, Di Silvestro G, Lunazzi EG (2015) Primer registro de *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) asociado al cultivo de arándanos (*Vaccinium* spp.) de Argentina. *Ver Soc Entomol Arg* 74:183-185.

SAS Institute Inc (2011) Statistical analysis system: getting started with the SAS learning. SAS Institute, Cary, NC.

Schlesener DCH, Wollmann J, Krüger AP, Martins LN, Geisler FCS, Garcia FRM (2017) Rearing method for *Drosophila suzukii* and *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae) on artificial culture media. *Drosoph Inf Serv* 100:185-189.

Shearer PW, West JD, Walton VM, Brown PH, Svetec N, Chiu JC (2016) Seasonal cues induce phenotypic plasticity of *Drosophila suzukii* to enhance winter survival. *BMC Ecol* 16: 11. doi: 10.1186/s12898-016-0070-3.

Tochen S, Dalton DT, Wiman N, Hamm L, Shearer PW, Walton VM (2014) Temperature related development and population parameters for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) on cherry and blueberry. *Environ Entomol* 43(2):501-510. doi: 10.1603/EN13200

Tochen S, Woltz JM, Dalton DT, Lee JC, Wiman G, Walton VM (2016) Humidity affects populations of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) in blueberry. *J Appl Entomol* 140:47-57. doi: 10.1111/jen.12247

Toxopeus J, Jakobs R, Ferguson LV, Garipey TD, Sinclair BJ (2016) Reproductive arrest and stress resistance in winter-acclimated *Drosophila suzukii*. *J Insect Physiol* 89:37-51. doi: 10.1016/j.jinsphys.2016.03.006

Vilela CR, Mori L (2014). The invasive spotted-wing *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) has been found in the city of São Paulo (Brazil). *Rev Brasil Entomol* 58(4):371-375.

Vlach J (2013) *Identifying Drosophila suzukii*. Salem: Oregon Department of Agriculture. <http://www.oregon.gov/oda/shared/documents/publications/ippm/spottedwingdrosophilaidkey.pdf>. Accessed 11 october 2017.

- Wallingford AK, Lee JC, Loeb GM (2016) The influence of temperature and photoperiod on the reproductive diapause and cold tolerance of spotted-wing drosophila, *Drosophila suzukii*. *Entomol Exp Appl* 159:327–337. doi: 10.1111/eea.12443
- Walsh DB, Bolda MP, Goodhue RE, Dreves AJ, Lee J, Bruck DJ, Walton VM, O'Neal SD, Zalom FG (2011) *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): Invasive pest of ripening soft fruit expanding its geographic range and damage potential. *J Integr Pest Manag* 1-8. doi: 10.1603/IPM10010
- Wang XG, Stewart TJ, Biondi A, Chavez BA, Ingels C, Caprile J, Grant JA, Walton VM, Daane KM (2016) Population dynamics and ecology of *Drosophila suzukii* in Central California. *J Pest Sci*. doi: 10.1007/s10340-016-0747-6
- Zhai Y, Lin O, Zhang J, Zhang F, Zheng L, Yu Y (2016) Adult reproductive diapause in *Drosophila suzukii* females. *J Pest Sci* 89: 679-688. <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0760-9>
- Zerulla FN, Augel C, Zebitz CPW (2017) Oviposition activity of *Drosophila suzukii* as mediated by ambient and fruit temperature. *PLoS ONE* 12(11): e0187682. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187682>

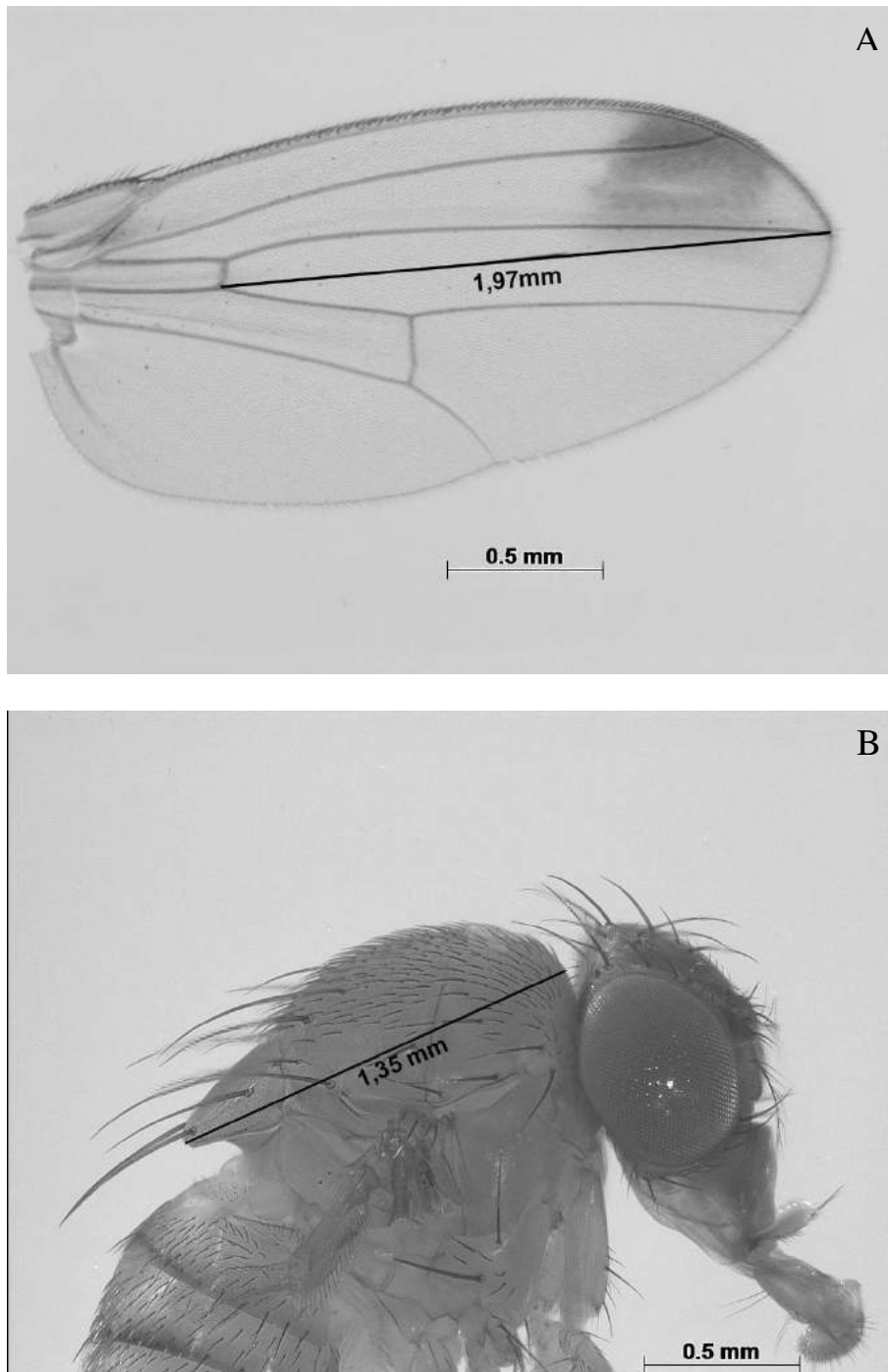


Figura 1. Pontos de referência de *Drosophila suzukii* utilizados para a determinação da medição da asa (A) e tórax (B).

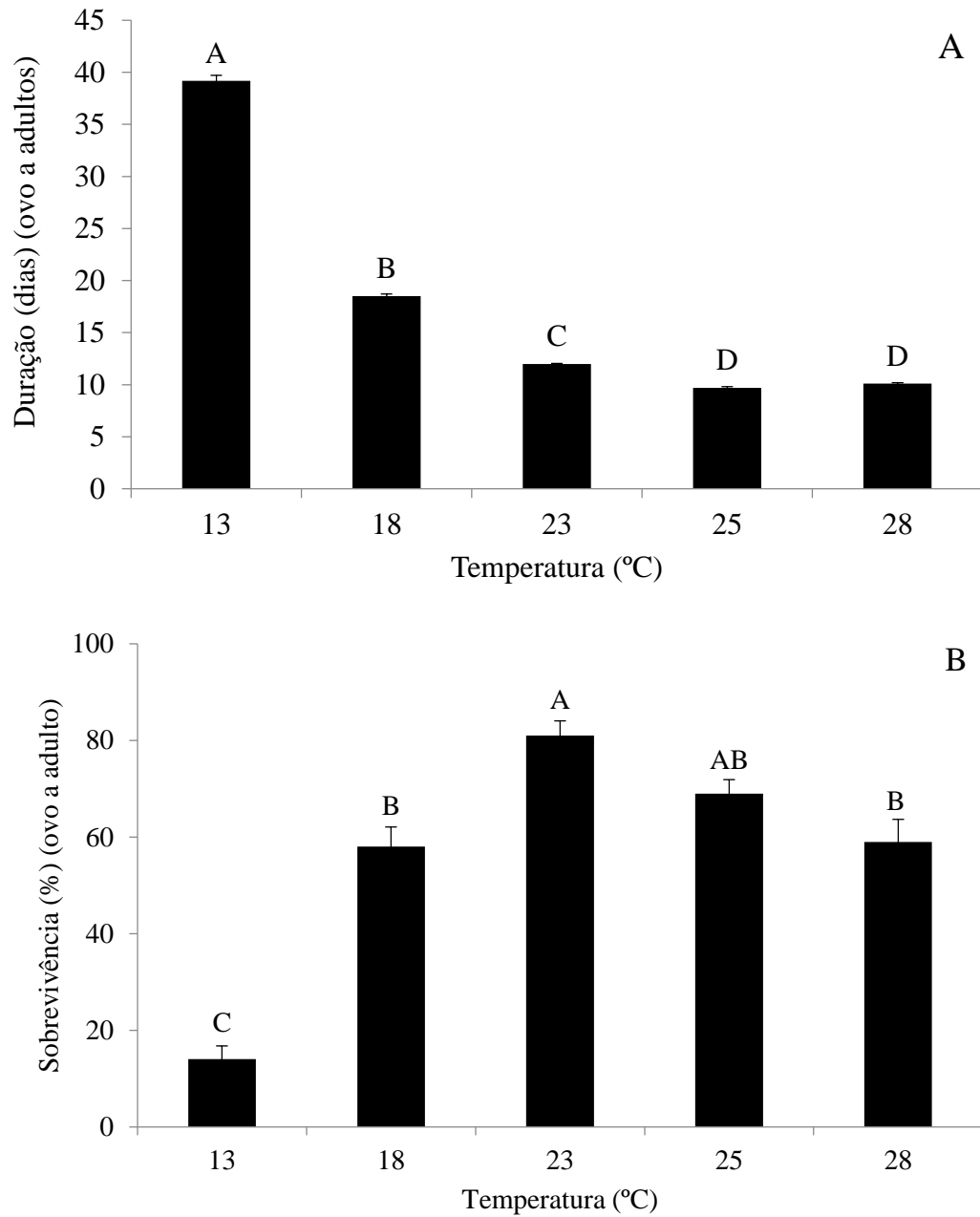


Figure 2. Duração (dias) (A) e viabilidade (%) do período do ciclo biológico (ovo a adulto) (B) de *Drosophila suzukii* em diferentes temperaturas. Médias seguidas de mesma letra nas barras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

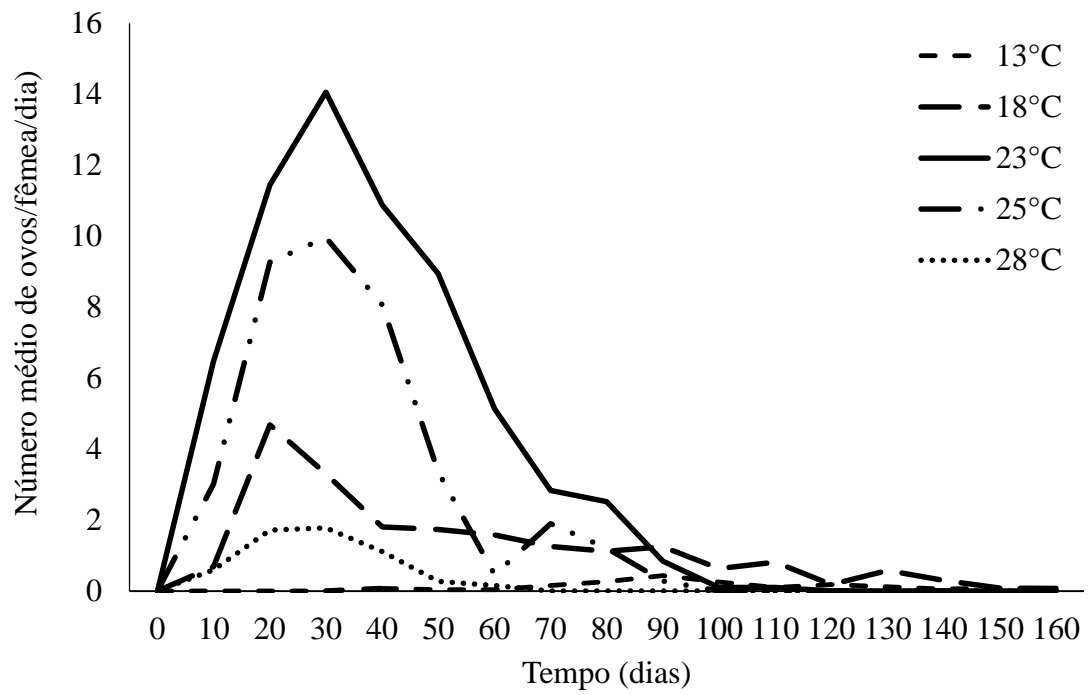


Figure 3. Número médio de ovos por fêmea por dia de *Drosophila sukii* em cinco temperaturas constantes.

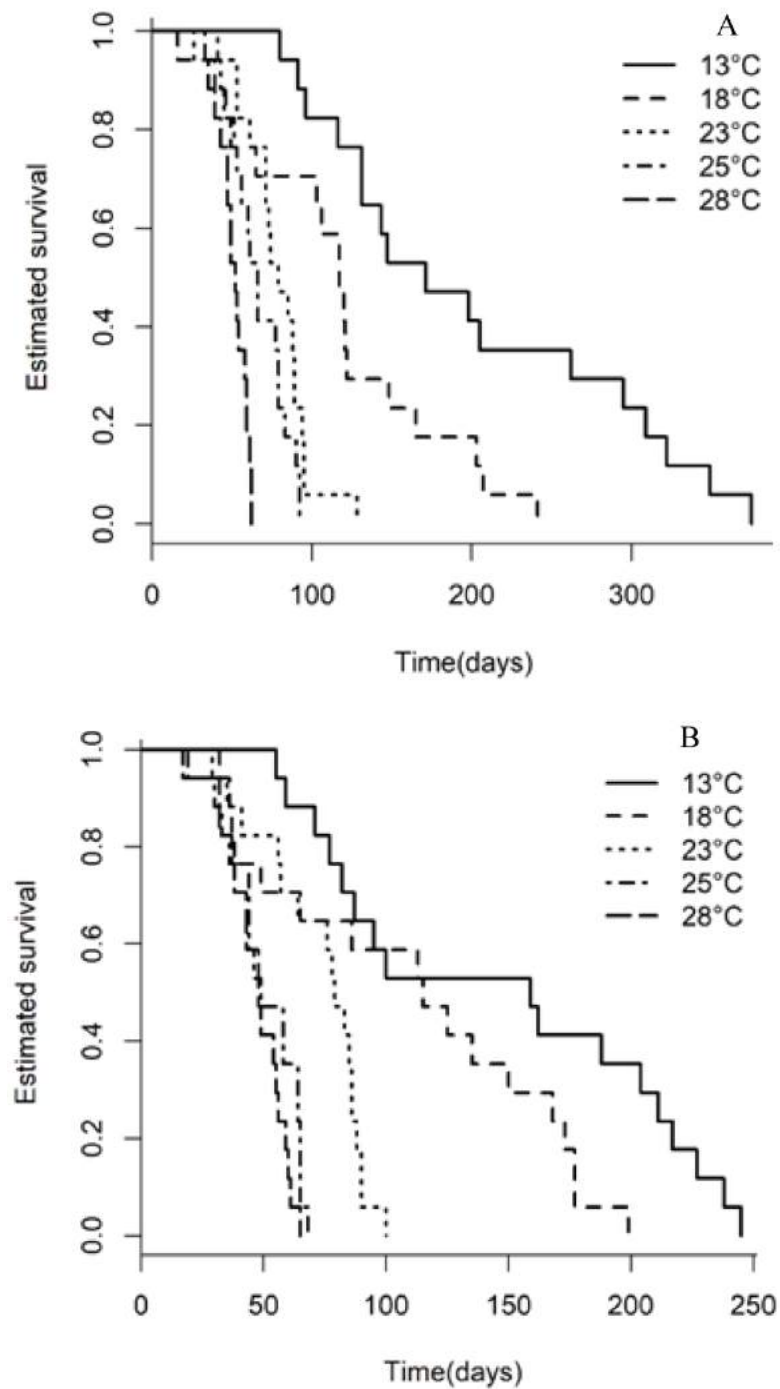


Figura 4. Curva de sobrevivência de fêmeas (A) e machos (B) de *Drosophila suzukii* em cinco temperaturas constantes.

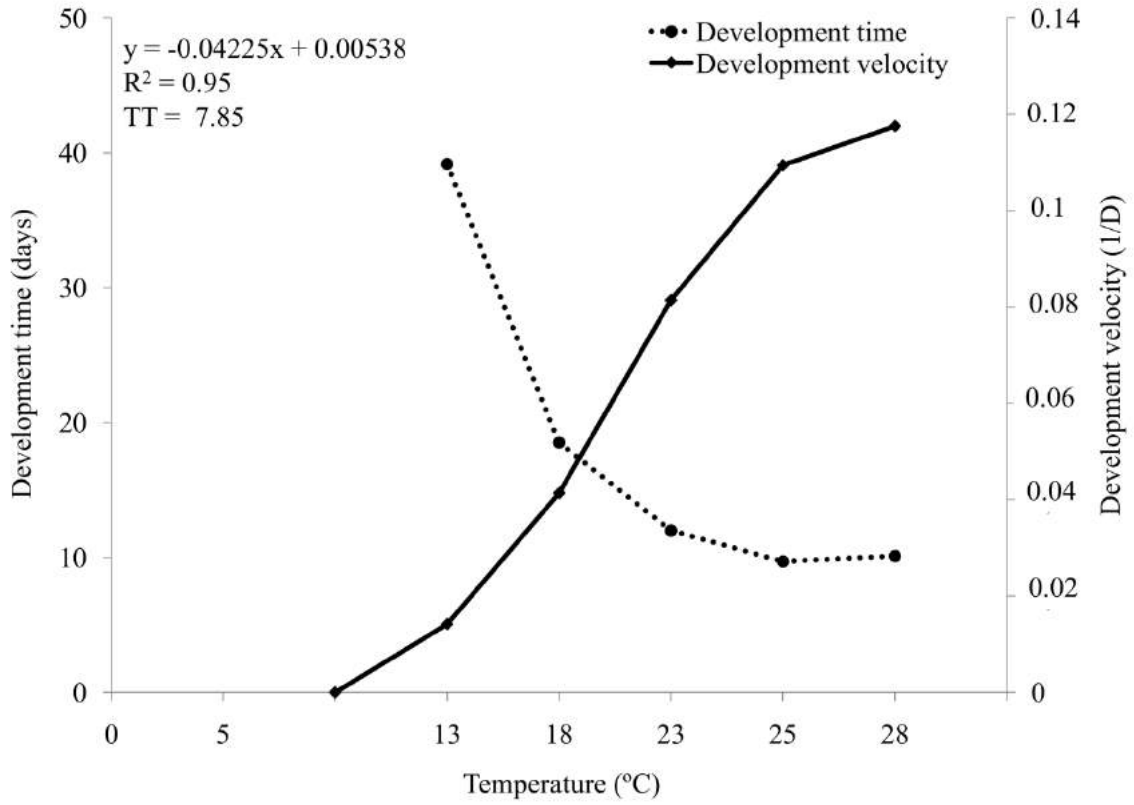


Figura 5. Curva da taxa de desenvolvimento do período de ovo a adulto de *Drosophila suzukii* criadas em cinco temperaturas diferentes.

Tabela 1. Municípios produtores de morango no Brasil, temperaturas médias anuais (°C), graus-dias anuais acumulados (GD) e provável número de gerações anuais de *Drosophila suzukii*.

Município/Estado	Latitude	Longitude	Temperatura Média Anual (°C)*	Graus-dias acumulados (GD)	Provável número de gerações/ano
Pelotas/RS	31°46'19''S	52°20'33''W	18,0	3704,75	20,03
Caxias do Sul/RS	29°10'05''S	51°10'46''W	16,6	3193,75	17,18
São José dos Pinhais/PR	25°32'05''S	49°12'23''W	16,9	3303,25	17,77
Jaboti/PR	23°44'36''S	50°04'33''W	21,7	5055,25	27,20
Estiva/MG	22°27'46''S	46°01'02''W	19,1	4106,25	22,09
Pouso Alegre/MG	22°13'48''S	45°56'11''W	19,9	4398,25	23,66
Atibaia/SP	23°07'01''S	46°33'01''W	18,4	3850,75	20,72
Piedade/SP	23°42'43''S	47°25'40''W	17,8	3631,75	19,54

* Dados meteorológicos obtidos do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) (para os municípios de Pelotas/RS e Caxias do Sul/RS). Instituto Agrônomo do Paraná - IAPAR (para o município de Jaboti/PR e São José dos Pinhais/PR), Universidade Federal de Itajubá - UNIFEI (para o município de Pouso Alegre/MG, Estiva/MG) e Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas - CIIAGRO (para os municípios de Atibaia/SP e Piedade/SP).

Tabela 2. Parâmetros biológicos de *Drosophila suzukii* criadas em diferentes temperaturas.

Parâmetros Biológicos ^a	Temperatura (°C)						
	13	18	23	25	28	30	33
Razão sexual	0,64 ^{ns}	0,46	0,51	0,49	0,53	*	*
Período pré-oviposição (dias)	55,21 ± 2,34 a	9,75 ± 0,59 b	6,00 ± 0,45 b	7,23 ± 0,35 b	12,06 ± 1,42 b	*	*
Período de oviposição (dias)	93,43 ± 15,42 a	92,06 ± 12,00 a	62,06 ± 6,07 b	55,41 ± 4,81 b	28,31 ± 4,45 c	*	*
Período pós-oviposição (dias)	62,92 ± 15,01 a	18,50 ± 5,55 b	7,82 ± 3,21 c	3,58 ± 0,98 d	8,43 ± 1,54 c	*	*
Fecundidade Total	16,19 ± 4,47 e	166,41 ± 41,82 c	582,35 ± 85,72 a	350,06 ± 53,86 b	52,88 ± 17,87 d	*	*
Viabilidade embrionária (%)	59,54 ± 1,45 c	93,06 ± 0,68 a	95,49 ± 0,64 a	70,58 ± 1,29 b	-	*	*

^aValores representam a média ± EP. Médias seguidas de mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

*Não houve emergência de adultos de *Drosophila suzukii*.

^{ns} Não significativo na linha pelo teste do qui-quadrado

Tabela 3. Tabela de vida de fertilidade de *Drosophila suzukii* em diferentes temperaturas.

Parâmetros Biológicos ^a	Temperatura (°C)						
	13	18	23	25	28	30	33
T (dias)	134,62 ± 3,90 a	41,12 ± 2,32 b	28,91 ± 1,03 d	28,76 ± 1,00 d	33,16 ± 1,19 c	*	*
R _o (♀ / ♀)	1,85 ± 0,443 e	47,78 ± 11,61 c	245,48 ± 36,10 a	119,08 ± 18,32 b	17,70 ± 5,89 d	*	*
r _m (♀ / ♀ dias)	0,005 ± 0,002 c	0,094 ± 0,008 b	0,190 ± 0,008 a	0,166 ± 0,008 a	0,088 ± 0,10 b	*	*
λ	1,005 ± 0,002 c	1,099 ± 0,009 b	1,210 ± 0,010 a	1,181 ± 0,010 ab	1,092 ± 0,011 b	*	*

^aValores representam média ± EP obtidos pelo método Jackknife através do programa SAS. T = duração de cada geração; R_o = taxa líquida de reprodução; r_m = razão infinitesimal de aumento e λ = razão finita de aumento. Para cada parâmetro avaliado, os valores seguidos pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si ($P > 0,05$).

*Não houve emergência de adultos de *Drosophila suzukii*.

Tabela 4. Tamanho (mm) de asa e tórax de adultos de *Drosophila suzukii* quando criados em diferentes temperaturas constantes.

Temperatura (°C) ^a	Tamanho (mm)			
	Asa ♂	Tórax ♂	Asa ♀	Tórax ♀
13	1,92 ± 0,015 a	1,18 ± 0,010 ab	2,13 ± 0,011 a	1,38 ± 0,010 ab
18	1,81 ± 0,017 b	1,21 ± 0,007 a	2,02 ± 0,014 b	1,41 ± 0,009 a
23	1,59 ± 0,012 c	1,17 ± 0,009 abc	1,77 ± 0,015 c	1,34 ± 0,017 bc
25	1,49 ± 0,008 d	1,12 ± 0,010 c	1,68 ± 0,008 d	1,30 ± 0,008 c
28	1,33 ± 0,026 e	1,13 ± 0,026 bc	1,50 ± 0,013 e	1,17 ± 0,013 d
30	*	*	*	*
33	*	*	*	*

^aValores representam a média ± EP. Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

*Não houve emergência de adultos de *D. suzukii*

ARTIGO 3 – Publicado em REVISTA COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA

**Effects of insecticides on adults and eggs of *Drosophila suzukii* (Diptera,
Drosophilidae)**

Daniele Cristine Hoffmann Schlesener, Jutiane Wollmann, Juliano De Bastos Pazini,
Anderson Dionei Grützmacher, Flávio Roberto Mello Garcia

Effects of insecticides on adults and eggs of *Drosophila suzukii* (Diptera, Drosophilidae)

Efecto de insecticidas sobre adultos y huevos de *Drosophila suzukii* (Diptera, Drosophilidae)

DANIELE CRISTINE HOFFMANN SCHLESENER¹, JUTIANE WOLLMANN¹, JULIANO DE BASTOS PAZINI¹, ANDERSON DIONEI GRÜTZMACHER², FLÁVIO ROBERTO MELLO GARCIA⁵

Abstract: *Drosophila suzukii* (Diptera, Drosophilidae) is an exotic species, endemic to Asia and currently a pest to small and stone fruits in several countries of North America and Europe. It was detected in 2013 for the first time in South America, in the south of Brazil. Unlike most drosophilids, this species deserves special attention, because the females are capable of oviposit inside healthy fruits, rendering their sale and export prohibited. Despite the confirmed existence of this species in different states of Brazil, this insect is yet been to be given the pest status. Nevertheless, the mere presence of this species is enough to cause concern to producers of small fruits and to justify further investigation for it's control, especially chemical control for a possible change in status. Therefore, the goal of this work was to evaluate mortality of *D. suzukii* adults and ovicidal effect when exposed to different insecticides registered for species of the Tephritidae and Agromyzidae families in different cultures, in laboratory. The insecticides deltamethrin, dimethoate, spinosad, fenitrothion, phosmet, malathion, methidathion, and zeta-cypermethrin resulted in mortality to 100% of the subjects three days after the treatment (DAT). Regarding the effects over eggs, it was established that the insecticides fenitrothion, malathion, and methidathion deemed 100% of the eggs not viable, followed by phosmet and diflubenzuron, which also caused elevated reduction in the eclosion of larvae two DAT.

Key words: Chemical control. Ovicidal activity. Spotted wing drosophila.

¹ M. Sc., Plant Protection Postgraduate Program, Federal University of Pelotas, "Eliseu Maciel" School, P.O. Box 354, Zip Code 96010-900, Pelotas, RS, Brazil. E-mail: mity_dani@yahoo.com.br (Corresponding author)

² Ph.D., Plant Protection Postgraduate Program, Federal University of Pelotas, "Eliseu Maciel" School, P.O. Box 354, Zip Code 96010-900, Pelotas, RS, Brazil. E-mail: adgrutm@ufpel.edu.br

³ Ph.D., Entomology Postgraduate Program, Biology Institute, Pelotas Federal University, P.O. Box 354, Zip Code 96010-900, Pelotas, RS, Brazil. E-mail: flaviormg@hotmail.com

Resumen: *Drosophila suzukii* (Diptera, Drosophilidae) es una especie exótica, endémica del Asia y actualmente es considerada plaga de pequeños frutos y frutas con hueso en varios países de Norteamérica y Europa. En 2013 fue detectada por primera vez en América del Sur, en el sur de Brasil. A diferencia de la mayoría de drosófilidos, esta especie merece mucha atención debido a que las hembras son capaces ovipositar dentro de frutos sanos, tornando imposible su comercialización y exportación. A pesar que la presencia de esta especie ya fue confirmada en diferentes estados de Brasil, este insecto aun no alcanza la condición de plaga. Sin embargo, la simple presencia de esta especie provoca preocupación a los productores de pequeños frutos y justifica la investigación de métodos de control, especialmente el control químico, el mismo que ayudaría a los fruticultores en caso que este insecto se torne una plaga. Con estos antecedentes, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto ovicida y la mortalidad de adultos *D. suzukii* a diferentes insecticidas registrados para especies de la familia Tephritidae y Agromyzidae para varios cultivos, en el laboratorio. Los insecticidas deltametrina, dimetoato, spinosad, fenitrotion, fosmet, malatión, metidation y zeta-cipermetrina provocaron 100% de mortalidad de adultos tres días después de la aplicación (DDA). Se constató que los insecticidas fenitrotion, malatión y metidation inviabilizaron 100% de los huevos, seguidos por fosmet y diflubenzuron, que causaron una considerable reducción de eclosión de larvas dos DDA.

Palabras clave: Control químico. Efecto ovicida. *Drosophila* de alas manchadas.

Introduction

Brazil is the third largest producer of fruit, only surpassed by China and India. However, production of small fruits is still low in relation to other fruit crops. Nevertheless, the interest in strawberry, blueberry, and blackberry production, for instance, has been increasing due to the great value associated to the products and easy placement in internal markets (Agriannual 2015), as well as the possibility of exporting in order to supply the off season demand in North American countries (Fachinello *et al.* 2011).

Drosophila suzukii is currently distributed in the Asian, European, and North and South American continents (Deprá *et al.*, 2014) and distribution models indicate areas with high environmental suitability for the occurrence of this species in the continents of Oceania and Africa, even though no records of the occurrence of the species exist. (Dos Santos *et al.* 2017). The emergence of this new species, which has as its main hosts fruits with thin skin and soft pulp, causes concern to producers of small fruits. This pest is considered one of the worst threats to the production of thin skin fruits, such as blueberries, raspberries, cherries, grapes, and strawberries in the USA. Total production and marketing of these fruits brings in approximately US\$ 2.6 billion a year. Losses estimated for the tri-state area in the 2008 harvest season reached US\$ 421.5 million, whereas the backlash for strawberry crops reached US\$ 33.4 million, US\$ 56.7 million for blueberry, and for raspberry and blackberry crops US\$ 174.8 million (Bolda *et al.* 2010). In Brazil, the first estimates of damage due *D. suzukii* attacks took place in the municipality of Vacaria, Rio Grande do Sul. Nearly 30% of the strawberries were infested with the pest, although economic losses generated by this attack were not evaluated (Santos 2014).

The spotted-wing drosophila presents certain peculiarities that allow easy identification. Adult males have a small dark spot on the leading edge of the wing near the tip, a striking characteristic of this species, which originated its popular name. Furthermore, the species also has a row of spines on the first and second tarsal segments, on the first pair of legs. On the other hand, females do not present such spots, but they feature a narrow double-row serrated ovipositor with a series of sclerotized teeth, which allow its insertion in healthy fruits and consequent oviposition within the fruits (Hauser 2011; Walsh *et al.* 2011; Cuthbertson *et al.* 2014). The main damages are a result of the pulp consumption by the larvae, besides the puncture opening doors for secondary infections caused by filamentous fungi, yeast, and bacteria (Schlesener *et al.* 2015).

Countries wherein this pest is already established have a zero tolerance policy regarding the presence of infested fruits, due to its aggressiveness, major biotic potential and restrictions in both internal and external markets (Bruck *et al.* 2011; Cuthbertson *et al.* 2014). There are many works which have as their goal to find viable alternatives for the control of the spotted wing drosophila in conventional and organic systems (Beers *et al.* 2011; Gabarra *et al.* 2014; Cuthbertson and Audsley 2016; Daane *et al.* 2016). However, the first alternative has been insecticides, which are already used for the management of other pests on these crops and that are effective in the control *D. suzukii*.

In Brazil, the difficulty is increased as a result of the lack of available chemical molecules for the management of small fruit pests and due to the non-existence of products registered for *D. suzukii*. Studies on insecticides must be a part of a more elaborated management program, with monitoring protocols, treatment thresholds, alternative methods and efficient chemical control. In this context, the goal of this study was to evaluate in laboratory the mortality of *D. suzukii* adults and ovicidal effect when exposed to insecticides used for the control of pests to different crops, with intent to provide alternatives for the management of this exotic species.

Materials and methods

Laboratory colony. A *D. suzukii* stock colony is established in the Insect Ecology Laboratory, at the Biology Institute, Federal University of Pelotas, Capão do Leão, RS, Brazil, originated from flies collected from infested fruits gathered in the Pelotas city, Rio Grande do Sul, Brazil, between March and May, 2015. The subjects were properly identified and conditioned inside flat bottomed glass tubes (27 ml) containing artificial diets based on corn flour (80 g), yeast (40 g), powdered glucose (100 g), agar (8 g), propionic acid (3 ml), Nipagin (8 ml, in a 10% alcohol dilution) and 1 L of distilled water, plugged with hydrophilic cotton (Schlesener *et al.* 2017). The breeding tubes were kept in acclimatized chamber under 22 ± 1 °C, 70 ± 5 % RH and 12 h photofase.

Insecticides. The experiments were performed in the Integrated Pest Management Laboratory, in the “Eliseu Maciel” School of Agronomy, Pelotas Federal University, Capão do Leão, RS, Brazil. The insecticides used in the trials are registered for different Diptera, Lepidoptera, and Hemiptera pests, and for Tetranychidae mite in different crops. They were: Actara® (strawberry, *Chaetosiphon fragaefolii* (Cockerell, 1901) (Hemiptera, Aphididae);

Altacor[®] (apple, *Grapholita molesta* (Busk, 1916) (Lepidoptera, Tortricidae)); Decis[®] 25 EC (peach, *Anastrepha fraterculus* (Wied. 1830) and *Ceratitis capitata* (Wied. 1824) (Diptera, Tephritidae)); Imidan[®] 500 WP (apple, *G. molesta* and *A. fraterculus*); Malathion[®] 500 EC (apple and citrus, *A. fraterculus*); Mospilan[®] (apple, *A. fraterculus*); Mustang[®] 350 EC (potato, *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard, 1926) (Diptera, Agromyzidae)) Perfekthion[®] (apple, *A. fraterculus* and *C. capitata*); Sumithion[®] 500 EC (apple, *A. fraterculus*); Supracid[®] 400 EC (apple, *A. fraterculus*); Suprathion[®] 400 EC (apple, *A. fraterculus*); Tracer[®] (apple, *G. molesta*); Vertimec[®] 18 EC (strawberry, *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari, Tetranychidae)). The dosages utilized were the largest recorded (Table 1) and the control treatment for both bioassays was distilled water. The Pre-Harvest Interval (PHI) was also checked for each crop. For the attainment of the ovicidal effect essays, two products were added (Difluchen[®] 240 CS and Match[®] EC) which are growth regulators, with known ovicidal effect. Insects originated from laboratory stock colony were used.

Adult mortality. For the study of *D. suzukii* adult mortality, ripe strawberries (*Fragaria x ananassa*) were used. They had been previously treated with a 2% propionic acid solution, deposited over absorbent paper, and dried under room temperature. After, the fruits were immersed in slurries made from the different insecticides been tested (Table 1) for five seconds, deposited over absorbent paper and once more dried under room temperature. Next, the fruits were placed in plastic containers (250 ml) with a perforated cover (4 cm diameter) and covered with *voile* fabric. On the bottom of each arena, approximately 1 cm of vermiculite, in order to prevent the fruits rolling over and to absorb the liquids from fruit decomposition. Each arena was considered a repetition, which was composed of one fruit and five *D. suzukii* couples (ten adults), inserted with the aid of an entomological vacuum. The arenas were placed in an acclimatized room, under 22 ± 2 °C temperature, 70 ± 5 % RH and 14 h photofase. The evaluations were performed one, two, and three days after treatment (DAT), when the number of dead subjects was counted. It was not possible to perform evaluation for a longer period of time after subjects' exposure, due to how quickly the fruits decomposed. The averages were subjected to Shapiro-Wilk normality test and homogeneity of variances of Bartlett. Data not following the normality assumptions or homogeneity of variance were submitted to Kruskal-Wallis non parametric analysis of variance (ANOVA). In the event of difference between treatments, the averages were compared by Dunn test at 5% level of error probability. The control efficiency was calculated according to Abbott's formula (Abbott 1925).

Table 1 Insecticides used in the adult mortality and ovicidal effect over *Drosophila suzukii* in laboratory conditions.

Active ingrediente	Insecticide	Chemical group	Recorded dosage	PHI*
Chlorantraniliprole ¹²	Altacor [®]	Anthranilic diamide	10g/100L ⁻¹	14
Abamectin ¹²	Vertimec [®] 18 EC ¹²	Avermectins	70 mL/100L ⁻¹	3
Acetamiprid ¹²	Mospilan ^{®12}	Neonicotinoids	40g/100L ⁻¹	7
Thiamethoxam ¹²	Actara [®] 250 WG ¹²	Neonicotinoids	10g/100L ⁻¹	1
Dimethoate ¹²	Perfekthion ^{®12}	Organophosphorus	80 mL/100L ⁻¹	3
Fenitrothion ¹²	Sumithion [®] 500 EC ¹²	Organophosphorus	200 mL/100L ⁻¹	14
Malathion ¹²	Malathion [®] 12	Organophosphorus	350 mL/100L ⁻¹	7
Methidathion ¹²	Supracid [®] 400 EC ¹²	Organophosphorus	100 mL/100L ⁻¹	21
Methidathion ¹²	Suprathion [®] 400 EC ¹²	Organophosphorus	100 mL/100L ⁻¹	21
Phosmet ¹²	Imidan [®] 500 WP ¹²	Organophosphorus	200g/100L ⁻¹	14
Deltamethrin ¹²	Decis [®] 25 EC ¹²	Pyrethroid	40 mL/100L ⁻¹	5
Zeta-cypermethrin ¹²	Mustang [®] 350 EC ¹²	Pyrethroid	60 mL/100L ⁻¹	7
Spinosad ¹²	Tracer ^{®12}	Spinosyns	15 mL/100L ⁻¹	14
Diflubenzuron ²	Difluchem [®] 240 SC ²	Benzoylurea	25 mL/100L ⁻¹	30**
Lufenuron ²	Match [®] EC ²	Benzoylurea	100 mL/100L ⁻¹	28**
Control	-	-	-	-

¹Insecticides used in the adult mortality experiment

²Insecticides used in the ovicidal effect experiment

*Pre-harvest interval (PHI) in days for the cultures described in materials and methods

**PHI in days for citrus

Ovicidal effect. For this study to be performed, two more growth regulating insecticides were added to the list, Difluchem[®] 240 SC and Match[®] EC. As a substrate to *D. suzukii*'s oviposition, “artificial fruits” were used, made from agar (17 g), distilled water (425 ml), raspberry gelatin (10 g), and Nipagin (4 ml in a 10% alcohol dilution). The ingredients were mixed and boiled, and this solution was poured into plastic molds. The artificial fruits dried under room temperature and removed from the plastic molds after hardening (modified from Salles 1992). Each fruit was placed inside a 250 ml plastic container, with a perforated cover (4 cm diameter), wherein five couples (10 adults), approximately eight days old were added. For the following 24 h oviposition was permitted. The insects were removed from the arenas and, afterward, immersion of the fruits in insecticides (Table 1) was conducted for five seconds. The fruits recently treated were deposited over absorbent paper in order to dry under

room temperature. With the aid of a scalpel, 10 eggs were removed from each fruit, deposited over Petri dish with humid filtering paper, with daily humidity restitution.

The experimental design was entirely randomized, with five repetitions for each treatment, and each repetition comprised of one Petri dish containing ten eggs previously treated. With the aid of a stereomicroscope, the counting of the ecloded larvae was performed one and two DAT. The averages were subjected to Shapiro-Wilk normality test and homogeneity of variances of Bartlett. Data not following the normality assumptions or homogeneity of variance were submitted to Kruskal-Wallis non parametric analysis of variance (ANOVA). In the event of difference between treatments, the averages were compared by Dunn test at 5% level of error probability.

Results

***Drosophila suzukii's* adult mortality.** *Drosophila suzukii's* adult mortality one, two, and three days after exposure to insecticides is expressed by table 2. Fenitrothion (Sumithion[®] 500 EC; 200 mL/100 L⁻¹), phosmet (Imidan[®] 500 WP; 200 g/100 L⁻¹), malathion (Malathion[®], 350 mL/100 L⁻¹) and methidathion (Suprathion[®] 400 EC, 100 mL/100 L⁻¹) displayed 100% mortality at the end of one DAT, and spinosad (Tracer[®], 15 mL/100 L⁻¹), deltamethrin (Decis[®] 25 EC, 40 mL/100 L⁻¹), and dimethoate (Perfekthion[®] 80 mL/100 L⁻¹) also obtained high control indexes, with the recorded mortality of 96%, 90%, and 90%, respectively, significantly differing from the control treatment. Methidathion (Supracid[®] 400 EC; 100 mL/100 L⁻¹) and zeta-cypermethrin (Mustang[®] 350 EC; 60 mL/100 L⁻¹) reached average mortality of 78% and 74% respectively, not attaining a satisfactory control within the first 24 h of evaluation. Abamectin (Vertimec[®] 18 EC; 70 mL/L⁻¹), acetamiprid (Mospilan[®] 40 g/100 L⁻¹), chlorantraniliprole (Altacor[®]; 10 g/100 L⁻¹), and thiamethoxam (Actara[®] 250 WG; 10 g/100 L⁻¹) did not cause significant mortality *D. suzukii's* adults, relative to the control treatment.

Table 2 Average number (\pm standard error) of *Drosophila suzukii* adult subjects after exposure to strawberries (*Fragaria x ananassa*) treated with insecticides in laboratory bioassays.

Treatment	Dosage ¹	Days after treatment (DAT)					
		1 DAT		2 DAT		3 DAT	
		m \pm SE ^{*2}	EC% [#]	m \pm SE ³	EC%	m \pm SE ⁴	EC%
Abamectin	70.00	10.00 \pm 0.00 a	0.00	9.60 \pm 0.24 ab	4.00	9.60 \pm 0.24 ab	4.00
Acetamiprid	40.00	9.60 \pm 0.24 a	4.00	5.40 \pm 2.22 b	46.00	5.40 \pm 2.22 bc	46.00
Chlorantraniliprole	10.00	8.60 \pm 0.24 a	14.00	5.40 \pm 0.60 b	46.00	4.00 \pm 0.31 cd	60.00
Deltamethrin	40.00	1.00 \pm 0.54 bc	90.00	0.00 \pm 0.00 c	100.00	0.00 \pm 0.00 d	100.00
Dimethoate	80.00	1.00 \pm 0.31 bc	90.00	0.00 \pm 0.00 c	100.00	0.00 \pm 0.00 d	100.00
Fenitrothion	200.00	0.00 \pm 0.00 c	100.00	0.00 \pm 0.00 c	100.00	0.00 \pm 0.00 d	100.00
Phosmet	200.00	0.00 \pm 0.00 c	100.00	0.00 \pm 0.00 c	100.00	0.00 \pm 0.00 d	100.00
Malathion	350.00	0.00 \pm 0.00 c	100.00	0.00 \pm 0.00 c	100.00	0.00 \pm 0.00 d	100.00
Methidathion (Supracid)	100.00	2.20 \pm 0.58 b	78.00	0.00 \pm 0.00 c	100.00	0.00 \pm 0.00 d	100.00
Methidathion (Suprathion)	100.00	0.00 \pm 0.00 c	100.00	0.00 \pm 0.00 c	100.00	0.00 \pm 0.00 d	100.00
Spinosad	15.00	0.40 \pm 0.40 c	96.00	0.00 \pm 0.00 c	100.00	0.00 \pm 0.00 d	100.00
Thiamethoxam	10.00	9.80 \pm 0.20 a	2.00	6.40 \pm 2.20 ab	36.00	6.20 \pm 2.33 abc	38.00
Zeta-cypermethrin	60.00	2.60 \pm 0.81 b	74.00	0.20 \pm 0.20 c	98.00	0.00 \pm 0.00 d	100.00
Control	--	10.00 \pm 0.00a	--	10.00 \pm 0.00a	--	10.00 \pm 0.00a	--

¹Dosages expressed in mL or g per 100 L of water;

*Average and standard error for the average number of live *D. suzukii*'s adult insects found the day after treatment (DAT). Results compared by Kruskal-Wallis non parametric analysis of variance (ANOVA): ²H= 63.8700, p-value= <0.0000; ³H= 60.7436, p-value= <0.0000 and; ⁴H= 59.075, p-value= <0.0000, followed by Dunn's test (p<0.05);

[#]Control efficiency according to Abbott's formula (Abbott 1925).

At the end of two DAT, the insecticides deltamethrin, dimethoate, and methidathion (Supracid[®] 400 EC) also caused 100% mortality to subjects and zeta-cypermethrin caused

98% mortality to adult subjects, with a significant difference in relation to other treatments. The insecticides acetamiprid and chlorantraniliprole resulted in 46%, differing significantly from the control treatment. Despite the increase in mortality caused by thiamethoxam (36%), no significant difference was verified relative to the control treatment, the same was observed for abamectin (4%).

At three DAT, the insecticides abamectin and acetamiprid displayed results identical to the former evaluations. There was an increase in mortality in the treatment with chlorantraniliprole (60%). Despite no significant difference found in the performance of this product in relation to the ones that caused 100% mortality in the insects, the result was not considered to be satisfactory. Abamectin and thiamethoxam were inefficient, equal to the control treatment. The treatments deltamethrin, dimethoate, spinosad, fenitrothion, phosmet, malathion, methidathion, and zeta-cypermethrin caused 100% mortality in *D. sukuzii* adults at three DAT.

Ovicidal effect. The eclosion of *D. sukuzii* larvae after treatment with insecticides is expressed in table 3. It was observed that 98% of the larvae subjected to control treatment (distilled water) eclosed within the first 24 hours of evaluation. The growth regulating insecticide lufenuron (Match[®] EC; 100 mL/100 L⁻¹) did not differ significantly from the control treatment, resulting in eclosing to approximately 86% of the larvae one DAT. The eggs treated with fenitrothion, phosmet, malathion, methidathion (Supracid[®] 400 EC) and methidathion (Suprathion[®] 400 EC) with no larval eclosion was observed at the end of 1 DAT. The insecticides diflubenzuron (Difluchem[®] 240 SC; 25 mL/100 L⁻¹) and dimethoate also caused adverse effects during *D. sukuzii* embryonic period, with only 8% and 26% eclosion of larvae been observed in the respective treatments. Larval eclosion recorded for treatments with deltamethrin, chlorantraniliprole, spinosad, zeta-cypermethrin, and thiamethoxan vary between 42% and 62%, wherein all the treatments presented a significant difference in relation to the control treatment.

Table 3 Average number (\pm standard error) of *Drosophila suzukii* larvae eclosed after exposure to insecticides in laboratory bioassays.

Treatment	Dosage ¹	Days after treatment (DAT)		EC% [#]
		1 DAT	2 DAT	
		m \pm SE ^{*2}	m \pm SE ³	
Abamectin	70.00	3.20 \pm 0.58 de	5.40 \pm 0.75 bc	46.00
Acetamiprid	40.00	3.20 \pm 0.66 de	7.60 \pm 1.36 ab	24.00
Chlorantraniliprole	10.00	4.60 \pm 0.74 cd	5.80 \pm 0.80 bc	42.00
Deltamethrin	40.00	4.20 \pm 0.80 cd	7.60 \pm 0.51 ab	24.00
Dimethoate	80.00	2.60 \pm 0.67 def	3.60 \pm 0.81 cd	64.00
Fenitrothion	200.00	0.00 \pm 0.00 f	0.00 \pm 0.00 e	100.00
Phosmet	200.00	0.00 \pm 0.00 f	0.40 \pm 0.25 e	96.00
Malathion	350.00	0.00 \pm 0.00 f	0.00 \pm 0.00 e	100.00
Methidathion (Supracid)	100.00	0.00 \pm 0.00 f	0.00 \pm 0.00 e	100.00
Methidathion (Suprathion)	100.00	0.00 \pm 0.00 f	0.00 \pm 0.00 e	100.00
Spinosad	15.00	4.60 \pm 0.92 cd	8.80 \pm 0.37 a	12.00
Thiamethoxam	10.00	6.20 \pm 0.80 bc	9.00 \pm 0.44 a	10.00
Zeta-cypermethrin	60.00	5.00 \pm 0.54 cd	9.20 \pm 0.58 a	8.00
Diflubenzuron	25.00	0.80 \pm 0.37 ef	2.00 \pm 0.70 de	80.00
Lufenuron	100.00	8.60 \pm 0.75 ab	9.60 \pm 0.40 a	4.00
Control	--	9.80 \pm 0.20 a	10.00 \pm 0.00 a	--

¹Dosages expressed in mL or g per 100 L of water;

^{*}Average and standard error for the average number of eclosed *D. suzukii*'s larvae found the day after treatment (DAT). Results compared by Kruskal-Wallis non parametric analysis of variance (ANOVA): ²H= 70.0960, p-value= <0.0000; ³H= 71.6150, p-value= <0.0000, followed by Dunn's test (p<0.05);

[#]Control efficiency according (2 DAT) to Abbott's formula (Abbott 1925).

At the end of two DAT, 100% of the larvae in the control treatment had eclosed, thus demonstrating that the time of evaluation and methodology are suitable to such essays. No

egg eclosion was observed in the eggs treated with fenitrothion, malathion, methidathion (Supracid® 400 EC), methidathion (Suprathion® 400 EC), and under treatment with phosmet only 4% of larvae eclosed. All treatments differed from the control treatment. Physiological insecticide diflubenzuron also presented high ovicidal effect, resulting in the mortality of 80% of embryos, which did not differ significantly from the aforementioned treatments and from dimethoate which lead to a 64% control of the eggs, with both significantly more efficient than the control treatment. Abamectin and chlorantraniliprole provided 46% and 42% control, respectively, differing significantly from the control treatment. The other treatments, acetamiprid, deltamethrin, spinosad, thiamethoxam, zeta-cypermethrin, and lufenuron produced embryo mortality between 4% and 24%, not presenting a significant performance in relation to the control treatment. Insecticides fenitrothion, phosmet, malathion, methidathion (Supracid® 400 EC), methidathion (Suprathion® 400 EC), and diflubenzuron obtained satisfactory control, above 80%.

Discussion

The first tests on chemical control of *D. suzukii* with insecticides registered for other insects and pests to other crops in Brazil, demonstrate that the insecticides belonging to the pyrethroid, spinosyns, and organophosphorus chemical groups were efficient in the control of *D. suzukii* adults (Table 2), in addition to most organophosphorus also presenting ovicidal effect (Table 3) due to its in depth or systemic action, which provides greater efficiency in the control of eggs and larvae within the fruits. The high mortality of adults occasioned by some of the organophosphorus insecticides was also verified by other authors (Bruck *et al.* 2011; Haviland and Beers 2012; Cuthbertson *et al.* 2014; Cowles *et al.* 2015). The conscious use of those chemical groups provides five to fourteen days of residual control in the field, on the condition of few occurrences of rain (Bruck *et al.* 2011), furthermore permitting the resistance management and assuring the trade with most of the foreign consuming markets (Haviland and Beers 2012).

Spinosad (Tracer®) demonstrated great efficiency in the control of adult insects when exposed to previously treated strawberries. Similar results was observed by Cuthbertson *et al.* (2014), when the insects were subjected to contact with blueberries which had previously been treated with Converse® (spinosad; 0.096 a.i./L), reaching 100% mortality after 24 hours. Nevertheless, mortality for adult insects directly pulverized by the same insecticide was notably inferior, probably due the lesser ingestion of the product by the insects. An increase

on the ingestion of the product can be improved with the addition of a phagostimulant, such as sucrose (0.3%) to the spinosad slurry (Entrust®; 0.12 g a.i./L). This addition promoted an increase on the interaction of insects with the residue of the product, leading to a consequent increase and acceleration on the mortality of insects (Cowles *et al.* 2015). The satisfactory performance of spinosad in the control of *D. suzukii* adults is extremely important, since this insecticide has been used as a possible substitute for malathion in toxic baits for the control of flies belonging to the Tephritidae genus, such as *A. fraterculus*, with potential to be of use in the development of baits for *D. suzukii*. The insecticides belonging to the spinosyns chemical group are environmentally safer and less toxic than the organophosphorus (Harter *et al.* 2015). It was also verified that the application of spinosad over infested blueberries completely prevented the emergence of adults (Cuthbertson *et al.* 2014). In the present study, no observation was made regarding a significant effect of this insecticide over eclosion of *D. suzukii* larvae (Table 3).

Other insecticides present a behavior similar to the one observed for spinosad, were the pyrethroids (deltamethrin and zeta-cypermethrin), which caused mortality to all adults at the end of three DAT, due the “Knock down” action characteristic to this group of insecticides. However, no significant adverse effects in the embryonic period were observed, for the pyrethroids, like the Decis® insecticide, do not present in depth action (Monnerat *et al.* 2000). Nevertheless, the same was not observed for deltamethrin (Decis®; 0.018 g a.i./L) in immersion tests with fruits (blueberries) that had been previously infested (Cuthbertson *et al.* 2014), wherein 72 h of oviposition were permitted before the immersion of the fruits, and the subsequent phases of insect development were evaluated until the emergence of adults. The longest period of oviposition, which probably generated first instar larvae, more susceptible than the eggs, in conjunction with a longer period of contact between eggs and larvae and the active principle, may have provided a more effective control.

The performance of insecticides acetamiprid and thiamethoxam belonging to the neonicotinoids chemical groups were not satisfactory in relation to the other contact action insecticides. Bruck *et al.* (2011) obtained similar results. In the present study, a slight ovicidal effect was observed, probably caused by the penetration of the insecticide in the oviposition substrate and its systemic effect. However, due to the strong restrictions on the use of these products by the fruit market and environmental agencies the use of neonicotinoids is not recommended for the management of the spotted-wing drosophila.

Vertimec® 18 EC (abamectin) displayed medium ovicidal effect. Abamectin is a macrocyclic lactone, which possess translaminar action, allowing for the action over eggs

even within the oviposition substrate (Monnerat *et al.* 2000). It is important to highlight that despite no effect being presented by abamectin over *D. suzukii* adults (Table 2), there was consequential mortality of almost half embryos in the present essays (Table 3). Altacor[®] (chlorantraniliprole) presented medium effect in the control of *D. suzukii* adults and eggs. This effect is somewhat surprising, since this insecticide is registered only for lepidopterans in fruit crops. The insecticide chlorantraniliprole (Coragen[®]; 0.0116 g a.i./L) also caused reduction in the emergence of adults in previously treated blueberry fruits (Cuthbertson *et al.* 2014).

The insecticide Difluchem[®] 240 SC (diflubenzuron) presented high ovicidal effect over eggs of *D. suzukii*, although the efficiency of control over adults, since it is a growth regulator and inhibits syntheses, acts only in immature forms. The insecticide novaluron (Diamond[®], 212.5g a.i./ha⁻¹), which presents the same active principle and means of action as the insecticide Difluchem[®] 240 SC, did not cause an effect on drosophila adults (Bruck *et al.* 2011). Macth[®] EC (lufenuron), an insecticide that has the same means of action but not the same active ingredient, did not present any effect over this insect's eggs.

Conclusion

The search for insecticides that may be part of an integrated *D. suzukii* management is essential, and they must be not only effective, but act on distinct physiological sites within the insects organism. Several genes linked to resistance mechanisms to insecticides have already been identified in species from the *Drosophila* genus (Morton 1993). Therefore, to extend the advent of resistances to pyrethroid, spinosyns, and organophosphorus in the search for new means of control, such as biological control, culture management, and alternative products is primordial to the future of small fruit's production in Brazil.

The present work demonstrates the existence of insecticide capable of integrating a *D. suzukii* chemical control program in Brazil. Nevertheless, the action of these products needs further studies and also record keeping in order to be an alternative for small fruit's producers to control of *D. suzukii*.

Acknowledgments

The authors would like to thank the Coordination for Perfecting Higher Education Personal (CAPES) for concession of scholarships for the first three authors. We would like to thank as well, the National Council of Technological and Scientific Development (CNPq) for financial support (Chamada Universal – MCTI/CNPq N° 14/2014). Also, the Laboratory of Integrated Pest Management, from the “Eliseu Maciel” School of Agronomy, for their availability of sites and materials for the accomplishment of the experiments.

Literature cited

- ABBOTT, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265-267
- AGROFIT. 2015. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. [Review date: 22 October 2015].
- AGRIANUAL. 2015. Anuário Brasileiro da Fruticultura. Editora Gazeta, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil. 105 p.
- BEERS, E. H.; STEENWYK, R. A. V.; SHEARER, P. W.; COATES, W. W.; GRANT, J. A. 2011. Developing *Drosophila suzukii* management programs for sweet cherry in the Western United States. *Pest Management Science* 67: 1386-1395.
- BOLDA, M. P.; GOODHUE, R. E.; ZALON, F. G. 2010. Spotted wing drosophila: potential economic impact of a newly established pest. *Giannini Foundation Agricultural Economics* 13: 5-8
- BRUCK; D. J.; BOLDA, M.; TANIGOSHI, L.; KLICK, J.; KLEIBER, J.; DEFRANCESCO, J.; GERDEMAN, B.; SPITLER, H. 2011. Laboratory and field comparisons of insecticides to reduce infestation of *Drosophila suzukii* in berry crops. *Pest Management Science* 67: 1357-1385.
- COWLES, R. S.; RODRIGUEZ-SAONA, C.; HOLDCRAFT, R.; LOEB, G. M.; ELSENSOHN, J. E.; HESLER, S. P. 2015. Sucrose improves insecticide activity against *Drosophila suzukii* (Diptera, Drosophilidae). *Journal of Economic Entomology* 108 (2): 640-653

- CUTHBERTSON, A. G. S.; COLLINS, D. A.; BLACKBURN, L. S.; AUDSLEY, N.; BELL, H. A. 2014. Preliminary Screening of Potential Control Products against *Drosophila suzukii*. *Insects* 5: 488-498.
- CUTHBERTSON, A. G. S.; AUDSLEY, N. 2016. Further screening of entomopathogenic fungi and nematodes as control agents for *Drosophila suzukii*. *Insects* 7 (2): 1-9.
- DAANE, K. M.; WANG, X. G.; BIONDI, A.; MILLER, B.; MILLER, J. C.; RIEDL, H.; SHEARER, P. W.; GUERRIERI, E.; GIORGINI, M.; BUFFINGTON, M.; VAN ACHTERBERG, K.; SONG, Y.; KANG, T.; YI, H.; JUNG, C.; LEE, D. W.; CHUNG, B. H.; HOELMER, K. A.; WALTON, V. M. 2016. First exploration of parasitoids of *Drosophila suzukii* in South Korea as potential classical biological agents. *Journal of Pest Science* 89 (3): 823-835.
- DOS SANTOS, L. A.; MENDES, M. F.; KRÜGER, A. P.; BLAUTH, M. L.; GOTTSCHALK, M. S.; GARCIA, F. R. M. 2017. Global potential distribution of *Drosophila suzukii* (Diptera, Drosophilidae). *Plos One*, 12: e0174318.
- FACHINELLO, J. C.; PASA, M. D. S.; SCHMITZ, J. D. S.; BETEMPS, D. L. 2011. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura* 33: 109-120.
- GABARRA, R.; RIUDAVETS, J.; RODRÍGUEZ, G. A.; PUJADE-VILLAR, J.; ARNÓ, J. 2014. Prospect for the biological control of *Drosophila suzukii*. *BioControl* 60: 331-339.
- HARTER, W. R.; BOTTON, M.; NAVA, D. E.; GRUTZMACHER, A. D.; GONÇALVES, R. D. S.; JUNIOR, R. M.; BERNARDI, D.; ZANARDI, O. Z. 2015. Toxicities and residual effects of toxic baits containing spinosad or malathion to control the adult *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist* 98 (1): 202-208.
- HAVILAND, D. R.; BEERS, E. H. 2012. Chemical control programs for *Drosophila suzukii* that comply with international limitations on pesticide residues for exported sweet cherries. *Journal of Integrated Pest Management* 3: 1-6.
- HAUSER, M. 2011. A historic account of the invasion of *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) in the continental United States, with remarks on their identification. *Pest Management Science* 67: 1352-1357.
- MONNERAT, R. G.; BORDAT, D.; BRANCO, M. C.; FRANÇA, F. H. 2000. Efeito de *Bacillus thuringiensis* Berliner e inseticidas químicos sobre a traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) e seus parasitoides. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 29: 723-730.
- MORTON, R. A. 1993. Evolution of *Drosophila* insecticide resistance. *Genome* 36: 1-7.

- SALLES, L. A. B. 1992. Metodologia de criação de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) em dieta artificial em laboratório. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 21: 479-486
- SANTOS, R. S. S. 2014. *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera: Drosophilidae) atacando frutos de morangueiro no Brasil. Enciclopédia Biosfera, Brasil 10: 4005-4011
- SCHLESENER, D. C. H.; WOLLMANN, J.; NUNES, A. M.; CORDEIRO, J.; GOTTSCALK, M. S.; GARCIA, F. R. M. 2015. *Drosophila suzukii*: nova praga para a fruticultura brasileira. O Biológico, Brasil 77: 47-54
- SCHLESENER, D. C. H.; WOLLMANN, J.; KRÜGER, A. P.; MARTINS, L. N.; GEISLER, F. C. S.; GARCIA, F. R. M. 2017. Rearing method for *Drosophila suzukii* and *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae) on artificial culture media. Drosophila Information Service 100: 185-189
- WALSH, D. B.; BOLDA, M. P.; GOODHUE, R. E.; DREVES, A. J.; LEE, J.; BRUCK, D. J.; WALTON, V. M.; O'NEAL, S. D.; ZALOM, F. G. 2011. *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): Invasive pest of ripening soft fruit expanding its geographic range and damage potential. Journal of Integrated Pest Management 2 (1): 1-8

ARTIGO 4 – A ser submetido a JOURNAL OF ECONOMIC ENTOMOLOGY
(Versão Português)

**Toxicidade de inseticidas sobre parasitoides de *Drosophila suzukii* (Diptera:
Drosophilidae): *Trichopria anastrephae* (Hymenoptera: Diapriidae) e
Pachycrepoideus vindemmiae (Hymenoptera: Pteromalidae)**

Daniele Cristine Hoffmann Schlesener, Jutiane Wollmann, Juliano de Bastos Pazini,
Aline Costa Padilha, Flávio Roberto Mello Garcia

Schlesener et al.: Toxicity of insecticides on *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) parasitoids: *Trichopria anastrephae* (Hymenoptera: Diapriidae) and *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae)

Daniele Cristine Hoffmann Schlesener
Federal University of Pelotas (UFPEL)
Agronomy School "Eliseu Maciel"
P.O. Box 354, Zip Code 96010-900
Capão do Leão - RS - Brazil
Phone: + 55 51 999101345
E-mail: mity_dani@yahoo.com.br

Journal of Economic Entomology
Ecotoxicology

Toxicidade de inseticidas sobre parasitoides de *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): *Trichopria anastrephae* (Hymenoptera: Diapriidae) e *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae)

Daniele Cristine Hoffmann Schlesener¹, Jutiane Wollmann¹, Juliano de Bastos Pazini¹, Aline Costa Padilha¹, Flávio Roberto Mello Garcia^{1,2}

¹ Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS, Brasil.

² Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS, Brasil.

*Corresponding author; E-mail: mity_dani@yahoo.com.br

Resumo

Drosophila suzukii (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) é uma importante praga de pequenos frutos, e vem causando uma série de danos à cultivos comerciais em países da América do Norte, Europa e América do Sul. Em função de sua alta agressividade, o manejo dessa praga é realizado, basicamente, através de inseticidas. No entanto, existem inúmeros estudos em todos os locais de ocorrência *D. suzukii*, que demonstram a associação dessa espécie com parasitoides, sendo estes os principais responsáveis pelo controle biológico natural da praga. Esse estudo teve como objetivo avaliar a letalidade, tempo letal (TL₅₀), potencial de parasitismo, razão sexual e longevidade dos parasitoides de pupa, *Trichopria anastrephae* Lima (Hymenoptera: Diapriidae) e *Pachycrepoideus vindemmiae* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae), quando expostos a resíduos secos de diferentes inseticidas comerciais. Os inseticidas avaliados foram abamectina, acetamiprido, tiametoxam, malationa, fosmet, deltametrina, espinetoram e espinosade. O parasitoide *P. vindemmiae* foi mais sensível aos inseticidas em relação à *T. anastrephae*, pois foram observados maiores índices de mortalidade em um menor período de tempo, e redução acentuada no parasitismo, especialmente para a primeira espécie. Os tratamentos não afetaram a longevidade e razão sexual dos parasitoides. Esse estudo serve como base para a implementação de programas de manejo de *D. suzukii*, que preconizem a conservação de seus inimigos naturais.

Palavras-chave: controle biológico, controle químico, drosófila-da-asa-manchada, inimigos naturais, seletividade de pesticidas.

Abstract

Drosophila suzukii (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) is an important small fruit pest, and has been causing a number of damage to commercial crops in North American, European and South American countries. Due to its high aggressiveness, the management of this pest is carried out, basically, through pesticides. However, there are numerous studies in all *D. suzukii* occurrence sites, which demonstrate the association of this species with parasitoids, which are responsible for the natural biological control of the pest. The study aimed to evaluate the lethality, lethal time (LT₅₀), parasitism potential, sexual ratio and longevity of pupa parasitoids, *Trichopria anastrephae* Lima (Hymenoptera: Diapriidae) and *Pachycrepoideus vindemmiae* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae), when exposed to dry residues of different commercial insecticides. The insecticides evaluated were abamectin, acetamiprid, thiamethoxam, malathion, phosmet, deltamethrin, spinetoram and spinosad. The parasitoid *P. vindemmiae* was more sensitive to pesticides than *T. anastrephae*, since higher mortality rates in a shorter period and a greater reduction in parasitism were observed for the first species. The treatments did not affect the longevity and sex ratio of the parasitoids. This study works as a basis for the implementation of management programs for *D. suzukii*, which prioritize the conservation of their natural enemies.

Key words: Biological control, Chemical control, Spotted Wing Drosophila, pesticides selectivity, natural enemies.

1. Introdução

A drosófila-da-asa-manchada (SWD), *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) é uma espécie invasora, proveniente do Sudeste da Ásia, e que se dispersou por países da América do Norte, Europa (Walsh et al. 2011; Cini et al. 2012) e América do Sul (Deprá et al. 2014; Andreazza et al. 2017), com potencial de se estabelecer na África e Oceania (Dos Santos et al. 2017). Essa espécie é considerada uma praga-chave de frutos de tegumento frágil como amora, cereja, framboesa, mirtilo, morango, entre outros (Walsh et al. 2011). O status de praga primária se deve a presença de um ovipositor robusto, esclerotizado e serreado, que possibilita às fêmeas a oviposição em frutos sadios em amadurecimento ou maduros (Atallah et al. 2014). O desenvolvimento das larvas no mesocarpo inviabiliza a comercialização de frutos frescos, causando perdas econômicas aos produtores (Walsh et al. 2011). Além disso, a SWD apresenta alto potencial biótico e curto período de desenvolvimento em condições ambientais favoráveis, o que pode resultar em um grande aumento na população em curto período de tempo (Tochen et al. 2014; Ryan et al. 2016).

Em função da agressividade e alto potencial de dano, a principal forma de controle de *D. suzukii* em países da América do Norte e Europa são as aplicações periódicas de inseticidas, especialmente durante o período produtivo das culturas suscetíveis (Van Timmeren and Isaacs 2013). Os principais inseticidas pertencem aos grupos dos piretroides, organofosforados e espinosinas, e podem ser aplicados em cobertura total ou isca tóxica (Bruck et al. 2011; Andreazza et al. 2016; Schlesener et al. 2017a). No Brasil, entretanto, há uma carência de moléculas químicas que podem ser empregadas no controle de pragas no manejo de pequenas frutas, e até o momento, não existem produtos registrados para o controle de *D. suzukii* (Agrofit 2018). No entanto, buscando amenizar os efeitos negativos da utilização excessiva de inseticidas, outras formas de manejo vem sendo estudadas. A utilização de controle autocida através da liberação de machos estéreis irradiados (*Sterile Insect Technique – SIT*) (Krüger et

al. 2018) ou da indução de incompatibilidade citoplasmática por *Wolbachia* (*Incompatible Insect Technique – IIT*) (Hamm et al. 2014; Cattel et al. 2016; Nikolouli et al. 2017) são estratégias promissoras.

Outra forma de manejo é o controle biológico, que preconiza a conservação ou liberação de inimigos naturais, destacando-se os parasitoides. Existem inúmeros relatos da ocorrência de parasitoides de larvas e pupas associados a *D. suzukii* (Daane et al. 2016; Guerrieri et al. 2016; Mazzetto et al. 2016; Wang et al. 2016; Wollmann et al. 2016; Garcia et al. 2017), que ocorrem naturalmente nos locais de origem ou áreas invadidas, atuando assim, como agentes de controle biológico natural (Garcia et al. 2017). Sabe-se que *D. suzukii* apresenta um complexo sistema de defesa contra parasitismo, em função da elevada quantidade de hemócitos, que são células constitutivas do sangue e integram a barreira final do sistema de defesa dos insetos (Lavine e Strand 2002). *Drosophila suzukii* apresenta o maior número de hemócitos circulantes já registrados em larvas de *Drosophila* dentro do grupo *melanogaster* (Poyet et al. 2013). Em função disso, os parasitoides de larvas são mais suscetíveis e frequentemente são encapulados pelas células de defesa, o que ocorre com menor frequência com ovos depositados em pupas, uma vez que essa é considerada uma fase mais vulnerável da mosca (Kacsoh e Schlenke 2012). Basicamente, os parasitoides de pupas que vem sendo associados à SWD pertencem ao gênero *Trichopria* (Hymenoptera: Diapriidae), e a espécie *Pachycrepoideus vindemmiae* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae) (Garcia et al. 2017).

As espécies do gênero *Trichopria* são parasitoides idiobiontes de pupa que ovipositam no interior da hemocele do hospedeiro, e as espécies *Trichopria drosophilae* (Perkins) (Gabarra et al. 2014; Cancino et al. 2015; Daane et al 2016; Wang et al. 2016) e *Trichopria anastrephae* Lima (Wollmann et al. 2016) já foram encontradas parasitando *D. suzukii*, sendo que esta última apresenta ocorrência natural em várias regiões do Brasil, parasitando *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) (Garcia e Corseuil 2004; Cruz et al.

2011; Garcia e Ricalde 2013). Já *P. vindemmiae* é um conhecido parasitoide generalista de dípteros Cyclorrhapha, hiperparasitoide facultativo (Wang e Messing 2004), ectoparasitoide solitário de pupas (Carrillo et al. 2015), e sua associação com SWD foi amplamente documentada na Ásia, Europa e América do Norte (Brown et al. 2011; Chabert et al. 2012; Cuch-Arguimbau et al. 2013; Rossi-Stacconi et al. 2013; 2015; Cancino et al. 2015; Miller et al. 2015; Daane et al. 2016). Recentemente, espécimes de *P. vindemmiae* foram recuperados de pupas sentinela de *D. suzukii* a campo, no sul do Brasil. Esse parasitoide já foi utilizado em programas de controle biológico clássico de *Anastrepha ludens* Loew (Diptera: Tephritidae) na América Central (Carrillo et al. 2015).

Apesar do importante papel desempenhado por esses insetos benéficos na redução natural das populações de *D. suzukii*, pouco se sabe sobre os efeitos que os inseticidas causam sobre sua sobrevivência e capacidade de parasitismo. Bernardi et al. (2017) avaliaram a toxicidade de extratos vegetais à base de *Annona* (Annonaceae) sobre *T. anastrephae*, e Cossentine e Ayyanath (2017) testaram os efeitos de espinosade sobre diferentes fases biológicas de *P. vindemmiae*. O objetivo do presente estudo foi avaliar a toxicidade de inseticidas comerciais sobre a letalidade, potencial de parasitismo e longevidade dos parasitoides *T. anastrephae* e *P. vindemmiae*, em laboratório.

2. Material e métodos

2.1. Criação e manutenção dos parasitoides *T. anastrepha* e *P. vindemmiae* e seu hospedeiro *D. suzukii*

Os parasitoides foram mantidos sobre pupas de *D. suzukii*. Os hospedeiros foram criados em recipientes de vidro (8,5 cm de altura x 2,5 cm de largura) contendo dieta artificial, composta por ágar (8 g), levedura (40 g), farinha de milho (80 g), açúcar refinado (100 g), ácido propiônico (3 mL), metil parabeno (0,8 g dissolvido em 8 mL de álcool etílico 90%) e

água destilada (1000 mL), conforme metodologia proposta por Schlesener et al. (2017b). A dieta artificial serviu como alimentação para larvas e adultos, bem como substrato de postura. Após o período de oviposição, os adultos foram retirados do recipiente de criação, permitindo o desenvolvimento embrionário. Assim que foi observada a formação de pré-pupas e pupas jovens (até 24 h), um número aleatório de parasitoides (≈ 20 indivíduos) foram adicionados aos recipientes contendo os hospedeiros, para a realização do parasitismo. Os parasitoides adultos foram alimentados com mel puro, depositado na forma de filete na superfície lateral do recipiente. Para a obtenção dos parasitoides utilizados nos bioensaios, foi permitido o parasitismo por um período de 48 h, sendo os adultos realocados em novos recipientes de criação após esse período. Esse procedimento permitiu a obtenção de adultos dos parasitoides com idade aproximada.

2.2. Inseticidas

Foram testados os efeitos tóxicos de oito formulações comerciais registradas para o controle de pragas frutícolas das ordens Diptera (Tephritidae), Lepidoptera (Tortricidae), Hemiptera (Aphididae), e ácaros da família Tetranychidae (Agrofit 2018) sobre os parasitoides *T. anastrephae* e *P. vindemmiae*. Esses inseticidas já haviam sido previamente avaliados sobre o hospedeiro *D. suzukii* (Schlesener et al. 2017a). Os inseticidas testados e as concentrações (g i.a. L⁻¹) empregadas nos bioensaios estão listados na Tabela 1.

2.3. Bioensaios

A avaliação do efeito letal e comportamental dos inseticidas sobre os parasitoides *T. anastrephae* e *P. vindemmiae* foram realizados pelo método “dry film-residue” com adaptações, proposto por Desneux et al. (2006). Os experimentos foram conduzidos em laboratório, sob condições controladas de temperatura $24\pm 3^{\circ}\text{C}$, umidade relativa (UR) de $75\pm 10\%$ e fotoperíodo de 14L:10D h, em delineamento inteiramente casualizado.

2.3.1. Efeito letal dos inseticidas sobre *T. anastrephae* e *P. vindemmiae*

Recipientes de vidro (8,0 cm de altura x 2,4 cm de diâmetro, com área superficial de 64,84 cm²) foram impregnados com 500 µL da solução do inseticida na respectiva concentração de campo (Tabela 1), sendo o tratamento controle constituído por água destilada. A secagem da calda foi realizada por aproximadamente 24 h em equipamento de rotação, visando a uniformidade da distribuição do inseticida no recipiente. Em cada tratamento e para cada parasitoide foram utilizadas cinco repetições, contendo cinco casais de parasitoides adultos de até 72 h de idade. Passadas 4 h da exposição, os insetos foram removidos dos tubos e acondicionados em pequenas arenas (tubos de vidro de 2,2 cm de diâmetro x 4,0 cm de altura), contendo filetes de mel puro como alimento, que foi repostos a cada 48 h. As avaliações de mortalidade de *T. anastrephae* e *P. vindemmiae* foram realizadas em 2, 4, 24, 48, 72, 96 e 120 h após o início da exposição aos resíduos secos dos inseticidas. Foram considerados mortos os parasitoides que apresentaram incapacidade de locomoção, mediante estímulo com pincel de ponta fina.

2.3.2. Efeitos secundários de inseticidas sobre *T. anastrephae* e *P. vindemmiae*.

Adultos de até 72 h de idade de *T. anastrephae* e *P. vindemmiae* foram anestesiados com CO₂, e separados por sexo conforme características taxonômicas distintivas descritas para *T. anastrephae* (Costa Lima 1940) e *P. vindemmiae* (Girault and Sanders 1910; Crandell 1939), com auxílio de um esteromicroscópio ótico. Posteriormente, fêmeas acasaladas, alimentadas e sem experiência de forrageamento com o hospedeiro, foram introduzidas com auxílio de pincel de ponta fina em tubos de vidro (2,4 cm de diâmetro x 8,0 cm de altura, com área superficial de 64,84 cm²) impregnados com 500 µL da solução do inseticida, na respectiva concentração de campo (Tabela 1), ou água destilada no tratamento controle, conforme supracitado no bioensaio de efeito letal de inseticidas. Para isso, utilizaram-se quatro

repetições com cinco fêmeas cada, totalizado 20 fêmeas por tratamento. Após 4 h da contaminação, as fêmeas sobreviventes foram removidas dos tubos e acondicionadas individualmente em pequenas arenas (tubos de vidro de 4,0 cm de altura x 2,2 cm de diâmetro), contendo 10 pupas de até 24 h de *D. sukii* para parasitismo, durante um período de 24 h. Os parasitoides foram alimentados com filete de mel puro, que foi repostado a cada dois dias. Após o período de parasitismo, as pupas foram removidas para determinação da taxa de parasitismo, taxa de emergência e razão sexual da prole (F₁) de *T. anastrephae* e *P. vindemmiae*. Os parasitoides foram mantidos nas arenas até a mortalidade de todos os espécimes, a fim de determinar a longevidade dos adultos submetidos aos tratamentos. Os adultos de *D. sukii* emergidos das pupas submetidas ao teste de parasitismo foram avaliados em estereomicroscópio ótico, para verificação de possíveis sinais de encapsulamento de imaturos dos parasitoides.

2.4. Análise estatística

Os dados de percentagem de mortalidade de adultos de *T. anastrephae* e *P. vindemmiae* após a exposição aos resíduos dos inseticidas (2, 4, 24, 48, 72, 96 e 120 h) foram corrigidos pela fórmula de Schneider-Orelli's (Püntener, 1981) [Schneider-Orelli's % = $[(T_t - T_0)/(100 - T_0)] * 100$], em que T_t é o percentual de mortalidade de insetos no tratamento e T_0 é o percentual de mortalidade na testemunha. Para a determinação do tempo letal 50 (TL₅₀), isto é, o tempo necessário para a mortalidade de 50% da população dos parasitoides pelos inseticidas, o número de insetos mortos em cada tratamento e período de tempo (0, 1, 2, 4, 24, 48, 72, 96 e 120 h) foram submetidos à análise de Probit, do pacote “drc” Analysis of dose-response curves, por meio do software R[®] (R Development Core Team, 2015). Com isso, os tratamentos foram comparados entre si pelo tempo letal médio e os intervalos de confiança obtidos em cada tratamento, sendo considerados significativamente diferentes na ausência de sobreposição desses intervalos.

Os efeitos da contaminação dos parasitoides às concentrações de campo dos inseticidas na taxa de parasitismo e taxa de emergência (F_1) foram determinados pela análise de variância (ANOVA) e Scott-Knott post hoc do software R[®]. Em casos do não atendimento dos pressupostos de normalidade e homocedasticidade utilizou-se Kruskal-Wallis com Dunn com correção de Bonferroni post hoc. O possível desvio na proporção dos sexos foi comparado pelo teste de Qui-quadrado (χ^2). Além disso, foi empregada a análise estabelecida pela International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants/West Palearctic Regional Section (IOBC/WPRS), classificando os inseticidas segundo a redução do parasitismo e emergência (E) em comparação ao tratamento controle em: classe 1= inócuo ($E < 30\%$); classe 2= levemente nocivo ($30\% \leq E < 79\%$); classe 3= moderadamente nocivo ($80\% \leq E \leq 99\%$); classe 4= nocivo ($E > 99\%$) (Hassan et al. 2000). Os dados de longevidade dos parasitoides (F_1) foram analisados pelos estimadores de Kaplan-Meier (IBM SPSS Statistics, 2017). A semelhança global entre as curvas de longevidade foi testada pelo teste de Log-Rank χ^2 .

3. Resultados

3.1. Mortalidade e tempo letal de inseticidas sobre *T. anastrephae* e *P. vindemmiae*

Após 2 h de exposição, apenas o inseticida malationa provocou mortalidade de 100% dos indivíduos de *T. anastrephae* (Tabela 2). No entanto, os inseticidas fosmet (47,5%) e deltametrina (40%) também causaram mortalidade intermediária na primeira avaliação pós-exposição. Os inseticidas tiametoxam e acetamiprido causaram menor efeito negativo sobre os parasitoides, causando mortalidade de 35 e 30%, respectivamente (Tabela 2). Após 4 h de contaminação, a mortalidade de parasitoides expostos ao inseticida fosmet chegou a 95%, seguido por deltametrina (52,5%), tiametoxam (47,5%) e acetameprido (47,5%) (Tabela 2). Decorridas 24 h de exposição, apenas os inseticidas abamectina, espinosade e espinetoram não diferiram da testemunha. Para os demais tratamentos foram registradas mortalidade

superiores a 50% (Tabela 2). Após 48 h de exposição foi observada mortalidade de indivíduos em todos os tratamentos, com exceção do controle. Os inseticidas tiametoxam, malationa e fosmet causaram 100% de mortalidade, seguido de deltametrina (90%). O inseticida acetamiprido (62,5%), seguido por espinoteram (17,5%), espinosade (7,5%) e abamectina (5%) causaram mortalidade inferior aos demais inseticidas às 48 h após exposição (Tabela 2). Ao final das 120 h de avaliação, a letalidade observada para o parasitoide *T. anastrephae* permaneceu semelhante ao verificado às 48 h, com leve aumento para os tratamentos com espinosade (15%) e abamectina (7,5%), que não diferiram da testemunha (Tabela 2).

O parasitoide *P. vindemmiae* apresentou maior sensibilidade aos inseticidas, uma vez que decorridas apenas 2 h de avaliação, todos os tratamentos com inseticidas apresentaram efeito negativo sobre a sobrevivência do inseto (Tabela 3). As maiores taxas de mortalidade foram observadas para os inseticidas malationa (100%), tiametoxam (80%), espinetoram (75%), seguido por deltametrina (55%), acetameprido (52,5%), fosmet e espinosade (25%), e o acaricida abamectina (10%) (Tabela 3). Às 48 h após exposição abamectina, tiametoxam, deltametrina, espinetoram e espinosade causaram 100% de mortalidade. Os inseticidas acetamiprido e fosmet causaram 70 e 85% de mortalidade dos indivíduos, respectivamente (Tabela 3). Ao término de 120 h de avaliação foi verificada baixa sobrevivência de parasitoides, havendo indivíduos vivos apenas nos tratamentos com os inseticidas acetamiprido (70%) e fosmet (90%), e tratamento controle (Tabela 3).

O tempo letal (horas) requerido para matar 50% dos indivíduos (TL₅₀) foi superior para *T. anastrephae* em comparação com *P. vindemmiae* para todos os tratamentos (Tabela 4). Os inseticidas do grupo dos organofosforados (malationa e fosmet) apresentaram os menores tempos letais para *T. anastrephae* (0,53 h e 1,95 h respectivamente) e *P. vindemmiae* (0,48 h e 0,12 h respectivamente). Os inseticidas tiametoxam e deltametrina também apresentaram rápido efeito sobre a sobrevivência de *T. anastrephae* (4,13 h e 4,86 h respectivamente) e *P.*

vindemmiae (0,79 h e 1,13 h respectivamente). O inseticida acetamiprido também causou mortalidade superior a 50%, no entanto, atuou de forma mais lenta, tanto para *T. anastrephae* (11,43 h) quanto para *P. vindemmiae* (5,50 h). Não foi possível calcular os tempos letais (TL₅₀) para os inseticidas espinetoram, espinosade e abamectina para a espécie *T. anastrephae*, uma vez que ao final do experimento (120 h) ainda havia mais de 50% dos indivíduos vivos. No entanto, o tempo letal observado para *P. vindemmiae* para os inseticidas do grupo das espinosinas (espinetoram e espinosade) foram de 1,98 h e 1,18h, respectivamente. A abamectina causou a mortalidade de 50% dos indivíduos de *P. vindemmiae* 5,27 h (Tabela 4).

3.2. Efeito de inseticidas sobre o parasitismo, razão sexual e longevidade de *T.*

anastrephae* e *P. vindemmiae

O parasitismo observado para o tratamento testemunha de *T. anastrephae* foi de 95%, sendo que em 100% das pupas parasitadas foi observada emergência de adultos (F₁) (Tabela 5). Os inseticidas abamectina (85%), espinetoram (77%) e espinosade (88%) não diferiram da testemunha, sendo considerados inócuos (E<30%) segundo classificação toxicológica da IOBC/WPRS (Tabela 5). Da mesma forma, apresentaram baixo efeito sobre a emergência da F₁, sendo observada redução de 15,0% e 1,11% na emergência de adultos, para espinetoram e espinosade, respectivamente. O tratamento com tiametoxam causou redução no parasitismo de 92,63% em relação à testemunha, não sendo observada emergência de prole. Não houve parasitismo quando espécimes de *T. anastrephae* foram expostos aos inseticidas acetamiprido, malationa, fosmet e deltametrina, sendo estes classificados como nocivos (E>99%) ao parasitoide. A razão sexual não foi afetada pela ação dos inseticidas ($P > 0,05$) (Tabela 5).

O percentual de parasitismo e emergência de adultos (F₁) de *P. vindemmiae* foi muito afetado pela ação dos inseticidas (Tabela 6). Foram observadas reduções significativas de 73,17%, 90,24%, 91,46% e 95,12% no parasitismo, quando os parasitoides foram expostos

aos inseticidas acetamiprido, fosmet, abamectina e espinosade, respectivamente. Não houve parasitismo nos tratamentos com tiametoxam, malationa, deltametrina e espinetoram, sendo estes considerados nocivos (Classe 4) para *P. vindemmiae*. Abamectina, fosmet e espinosade foram classificados como moderadamente nocivos (Classe 3), e acetamiprido levemente nocivo (Classe 2). A emergência de prole (F_1) foi registrada apenas para os tratamentos com acetamiprido e testemunha, não sendo observada diferença significativa entre os tratamentos.

A razão sexual também não foi afetada pelos tratamentos ($P > 0,05$) (Tabela 6).

Foram constatados sinais de encapsulamento de formas imaturas de *T. anastrephae* e *P. vindemmiae* em adultos de *D. suzukii* (Fig. 1), no entanto, em razão da baixa frequência em ambas as espécies, esses indivíduos foram contabilizados como falha no parasitismo.

A longevidade de *T. anastrephae* não foi afetada pelos tratamentos ($\chi^2 = 3,28$, $df = 3$, $p = 0,35$).

A sobrevivência média observada para abamectina, espinosade, espinetoram e testemunha foi de 31,10, 31,90, 32,48 e 31,67 dias, respectivamente (Fig. 2). No entanto, foi observado maior tempo de sobrevivência para os parasitoides *P. vindemmiae* ($\chi^2 = 7,69$, $df = 1$, $p = 0,006$) expostos a acetamiprido (35,97 dias) em relação ao controle (32,65 dias) (Fig. 3).

4. Discussão

O presente estudo é o primeiro a demonstrar os efeitos de inseticidas frequentemente utilizados no manejo de diferentes pragas em cultivos frutícolas no Brasil, sobre os parasitoides *T. anastrephae* e *P. vindemmiae*. A maioria dos inseticidas avaliados nesse estudo também são utilizados para o manejo de *D. suzukii* em cultivo de pequenas frutas nos EUA (Bruck et al. 2011).

O parasitoide *P. vindemmiae* apresentou maior suscetibilidade aos inseticidas em relação à *T. anastrephae*, uma vez que foram observados maiores índices de mortalidade em um menor período de tempo, e maior redução no parasitismo para a primeira espécie. A ação de

determinados inseticidas pode variar de acordo com a espécie de parasitoide (Bueno et al. 2017). A diferença na ação do inseticida sobre o inimigo natural pode estar relacionada a aspectos fisiológicos e morfológicos, como composição química do corpo e cutícula do inseto, tamanho corporal e metabolismo mais acelerado, por exemplo (Fernandes et al. 2010).

A menor incidência de parasitismo, especialmente em *P. vindemmiae*, pode estar associada a efeitos sub-letais ligados a redução na fecundidade, sejam estes fisiológicos e/ou comportamentais (Desneux et al. 2007). A maior parte dos efeitos fisiológicos relacionados a fecundidade ocorrem quando os insetos são expostos a inseticidas reguladores de crescimento (IRC) (Desneux et al. 2007), grupo químico não avaliado em nosso estudo, sendo sugerido que a redução na fecundidade provavelmente ocorreu por efeitos comportamentais, como problemas na locomoção, orientação e alimentação dos parasitoides.

Foi observada grande diferença na taxa de mortalidade e parasitismo entre as duas espécies de parasitoides quando expostos aos inseticidas do grupo das espinosinas (espinetoram e espinosade), que foram considerados inócuos (classe 1) para *T. anastrephae* e nocivos (classe 4) para *P. vindemmiae*. As espinosinas, especialmente espinosade, são biopesticidas considerados de baixo risco pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US Environmental Protection Agency) e frequentemente recomendados para o controle de pragas na fruticultura mundial, tanto para uso no manejo convencional quanto no orgânico (Thompson et al. 2000). No entanto, existem vários estudos que demonstram efeitos letais e sub-letais sobre dezenas de espécies de parasitoides (revisado por Williams et al. 2003; Biondi et al. 2012). A alta toxicidade de espinosade já havia sido verificada para adultos de *P. vindemmiae* em experimentos de exposição a resíduos secos (Cossentine e Ayyanath 2017). Os autores também ressaltam que os imaturos do parasitoide são afetados mesmo no interior da pupa do hospedeiro, porém os adultos provenientes dessas pupas contaminadas apresentam longevidade semelhante à testemunha (Cossentine e Ayyanath

2017). Não foi possível avaliar a longevidade de espécimes de *P. vindemmiae* expostos a espinosade e espinetoram, no entanto, para *T. anastrephae* não foi observada diferença significativa na longevidade entre os tratamentos e testemunha. O inseticida espinetoram também havia sido previamente avaliado sobre a espécie *T. anastrephae*, no entanto, as taxas de mortalidade observadas por Bernardi et al. (2017) foram muito superiores às verificadas em nosso estudo, o que pode ser devido à maior concentração empregada ($105,34 \text{ mg L}^{-1}$) e/ou maior tempo de exposição dos parasitoides aos inseticidas (24 h). No entanto, assim como nesse bioensaio, tais autores também não observaram efeitos negativos sobre o parasitismo da espécie (Bernardi et al. 2017).

Semelhante ao comportamento observado com espinosinas, a espécie *P. vindemmiae* foi mais afetada quanto à sobrevivência e parasitismo por abamectina, enquanto que para *T. anastrephae* esse produto foi considerado inócuo (Classe 1). Khan et al. (2015) testaram quatro acaricidas/inseticidas (abamectina, cyflumetofen, espiromesifeno e espirotetramato) na sobrevivência de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), e a maioria dos produtos foram considerados inofensivos ao parasitoide (mortalidade abaixo de 10%), com exceção de abamectina que causou mortalidade de aproximadamente 100% dos indivíduos. Abamectina foi considerado seis vezes mais tóxico em relação à espinosade ao parasitoide *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae), e sua toxicidade a essa espécie foi semelhante ao inseticida piretroide lambda-cialotrina (Anjum and Wright 2016). O inseticida piretroide deltametrina também apresentou elevada toxicidade sobre as duas espécies de parasitoides avaliadas no presente estudo.

Os inseticidas organofosforados (malationa e fosmet) causaram elevada mortalidade em curto período de tempo para ambas as espécies de parasitoides. Grande parte dos organofosforados são conhecidamente nocivos para parasitoides, e sua alta toxicidade já foi verificada para *T. pretiosum* e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera:

Trichogrammatidae) (Manzoni et al. 2007). Os inseticidas supracitados, juntamente com as espinosinas, já haviam sido testados sobre adultos *D. suzukii*, tanto em teste com resíduos secos (Bruck et al. 2011; Schlesener et al. 2017a), quanto em formulações de iscas tóxicas (Andreazza et al. 2016). A utilização de iscas tóxicas com os inseticidas espinetoram e espinosade pode ser uma alternativa mais segura para o manejo de SWD, e auxiliar na conservação dos inimigos naturais (Biondi et al. 2012; Harter et al. 2015; Andreazza et al. 2016). A diminuição no efeito negativo aos inimigos naturais pode ser atribuída às baixas concentrações de ingrediente ativo na composição de iscas tóxicas, e à seletividade de alguns atrativos alimentares específicos para a praga (Stark et al. 2004; Urbaneja et al. 2009; Biondi et al. 2012).

Os inseticidas do grupo dos neonicotinoides (acetamiprido e tiametoxam) não são eficientes no controle de *D. suzukii* (Bruck et al. 2011; Andreazza et al. 2016; Schlesener et al. 2017a). No entanto, causaram mortalidade significativa de *T. anastrephae* e *P. vindemmiae*, sendo o mesmo verificado para *A. colemani* (Roubos et al. 2014) e *T. pretiosum* nos estágios imaturos (Khan e Ruberson 2017) e adulto (Khan et al. 2015). Os neonicotinoides são inseticidas sistêmicos, aplicados via foliar, tratamento de semente ou granulados adicionados ao solo, e causam efeitos negativos em parasitoides pelo contato direto (via aplicação), através da ingestão de pólen ou néctar de plantas tratadas, ou quando se desenvolvem em hospedeiros previamente contaminados. A utilização desses inseticidas também podem resultar em efeitos sub-letais na reprodução, comportamento de forrageamento, fecundidade e longevidade (Cloyd and Bethke 2011; Cloyd 2012). Os inseticidas acetamiprido e tiametoxam causaram grande diminuição na taxa de parasitismo de *T. anastrephae* e *P. vindemmiae*, no entanto acetamiprido não reduziu a longevidade de *P. vindemmiae* (Figura 3).

A integração e compatibilidade entre o controle biológico e químico é o princípio fundamental do manejo integrado de pragas (MIP). A compatibilidade se refere a habilidade de combinar inimigos naturais e pesticidas seletivos, regulando a população de artrópodes praga, sem no entanto, afetar direta ou indiretamente a biologia e dinâmica populacional de inimigos naturais (Cloyd 2012). Sendo assim, baseado em trabalhos anteriores (Schlesener et al. 2017a), o presente estudo fornece informações relevantes sobre efeitos diretos e indiretos sobre dois inimigos naturais de *D. suzukii*, *T. anastrephae* e *P. vindemmiae*, que auxiliarão na elaboração de estratégias de manejo da praga e conservação dos parasitoides.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa ao primeiro, segundo e quarto autor, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por concessão de bolsa ao terceiro autor. Nós também agradecemos ao LabMip (UFPEL) pela disponibilização de espaço físico, materiais e equipamentos para a realização desse estudo.

Referências citadas

- Andreazza, F., D. Bernardi, C. A. Baronio, J. Pasinato, D. E. Nava, and M. Botton. 2016.** Toxicities and effects of insecticidal toxic baits to control *Drosophila suzukii* and *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae). *Pest. Manag. Sci.* 73(1): 146-152.
- Andreazza, F., D. Bernardi, R. S. S. Dos Santos, F. R. M. Garcia, E. E. Oliveira, M. Botton and D. E., Nava. 2017.** *Drosophila suzukii* in Southern Neotropical region: Current status and futures perspectives. *Neotrop. Entomol.* 46: 591-605.
- Agrofit. 2018.** Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acessado em: 15 de janeiro de 2018.
- Anjum, F. and D. Wright. 2016.** Relative toxicity of insecticides to the crucifer pests *Plutella xylostella* and *Myzus persicae* and their natural enemies. *Crop Prot.* 88:131-136.

- Atallah, J., L. Teixeira, R. Salazar, G. Zaragoza and A. Kopp. 2014.** The making of a pest: the evolution of a fruit-penetrating ovipositor in *Drosophila suzukii* and related species. *Proc R Soc Biol Sci Ser B* 281:2013–2840
- Bernardi, D., L. Ribeiro, F. Andrezza, C. Neitzke, E. E. Oliveira, M. Botton, D. E. Nava and J. D. Vendramim. 2017.** Potential use of *Annona* by products to control *Drosophila suzukii* and toxicity to its parasitoid *Trichopria anastrephae*. *Ind Crops Prod.* 110: 30-35.
- Biondi, A., V. Mommaets, G. Smagghe, E. Viñuela, L. Zappalà and N. Desneux. 2012.** The non-target impact of spinosyns on beneficial arthropods. *Pest Manag Sci* 68: 1523–1536.
- Brown, P. H., P. W. Shearer, J. C. Miller and H. M. A. Thistlewood. 2011.** The discovery and rearing of a parasitoid (Hymenoptera: Pteromalidae) associated with Spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*, in Oregon and British Columbia. *ESA Annual Meetings Online Programs*. < <https://esa.confex.com/esa/2011/webprogram/Paper59733.html>>.
- Bruck, D. J., M. Bolda, L. Tanigoshi, J. Klick, J. Kleiber, J. DeFrancesco, B. Gerdeman and H. Spitler. 2011.** Laboratory and field comparisons of insecticides to reduce infestation of *Drosophila suzukii* in berry crops. *Pest Manag. Sci.* 67(11): 1375-1385.
- Bueno, A. de F., G. A. Carvalho, A. C. Dos Santos, D. R. Sosa-Gómez and D. M. Da Silva. 2017.** Pesticides selectivity to natural enemies: challenges and constraints for research and field recommendation. *Ciência Rural.* 47: 06, e20160829
- Cancino, M. D. G., A. G. Hernandez, J. G. Cabrera, G. M. Carrillo, A. S. Gonzalez and H. C. A. Bernal. 2015.** Parasitoides de *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) em Colima, México. *Southwest. Entomol.* 40: 855-858.
- Carrillo, G. M., B. R. Vélz, A. S. González and H. C. A. Bernal. 2015.** Trampeo y registro del parasitoide *Pachycrepoideus vindemmiae* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae) sobre *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) en Mexico. *Southwest. Entomol.* 40(1): 199-204.
- Cattel, J., R. Kaur, P. Gibert and J. Martinez. 2016.** *Wolbachia* in European populations of the invasive pest *Drosophila suzukii* : regional variation in infection frequencies. *PloS One* 11(2): e015005.
- Chabert, S., R. Allemand, M. Poyet, P. Eslin and P. Gibert. 2012.** Ability of European parasitoids (Hymenoptera) to control a new invasive Asiatic pest, *Drosophila suzukii*. *Biol. Control* 63: 40-47.
- Cini, A., C. Ioriatti and G. Anfora. 2012.** A review of the invasion of *Drosophila suzukii* in Europe and a draft research agenda for integrated pest management. *B. Insectol* 65: 149-160.
- Cloyd, R.A. and J. A. Bethke. 2011.** Impact of neonicotinoid insecticides on natural enemies in greenhouse and interiorscape environments. *Pest Manag. Sci.* 67:3-9.
- Cloyd, R. 2012.** Indirect effects of pesticides on natural enemies, pesticides - advances in chemical and botanical pesticides, Dr. R.P. Soundararajan (Ed.), InTech, DOI:

10.5772/48649. Available from: <https://www.intechopen.com/books/pesticides-advances-in-chemical-and-botanical-pesticides/indirect-effects-of-pesticides-on-natural-enemies>

- Crandell, H.A. 1939.** The biology of *Pachycrepoideus dubius* Ashmead (Hymenoptera), a pteromalid parasite of *Piophilina casei* Linne (Diptera). Ann. Entomol. Soc. Am. 32: 632-654.
- Cruz, P. P., A. S. Neutzling and F. R. M. Garcia. 2011.** Primeiro registro de *Trichopria anastrephae*, parasitoide de moscas-das-frutas, no Rio Grande do Sul. Ciência Rural, 41:1297-1299.
- Cossentine, J. E. and M.-M. Ayyanath. 2017.** Limited protection of the parasitoid *Pachycrepoideus vindemiae* from *Drosophila suzukii* host-directes spinosad suppression. Entomol. Exp. Appl. 164:78-86.
- Costa Lima, A. 1940.** Alguns parasitos de moscas de fruta. An. Acad. Bras. Scienc. 12: 17-20
- Cuch-Arguimbau, N., L. A. Escudero-Colomar, M. Forshage and J. Pujade-Villar. 2013.** Identificadas dos espécies de Hymenoptera como probables parasitoides de *Drosophila suzukii* en una plantación ecológica de cerezos em Begues. Phytoma (247): 1-6.
- Daane, K. M., X. G. Wang, A. Bioni, B. Miller, J. C. Miller, H. Riedl, P. W. Shearer, E. Guerrieri, M. Giorgini, M. Buffington, K. Van Achterberg, Y. Song, T. Kang, H. Yi, C. Jung, D. W. Lee, C. Bu-Keun, K. A. Hoelmer and V. M. Walton. 2016.** First exploration of parasitoids of *Drosophila suzukii* in South Korea as potential classical biological agents. J. Pest Sci. 89: 823-835.
- Desneux, N., R. Denoyelle and L. Kaiser. 2006.** A multi-step bioassay to assess the effect of the deltamethrin on the parasitic wasp *Aphidius ervi*. Chemosphere 65:1697-1706.
- Desneux, N., A. Decourtye and J.-M. Delpuech. 2007.** The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annu. Rev. Entomol. 52: 81-106.
- Deprá, M., J. L. Poppe, H. J. Schmitz, D. C. De Toni and V. L. S. Valente. 2014.** The first records of the invasive pest *Drosophila suzukii* in South American Continent. J. Pest Sci. 87: 379-383.
- Dos Santos, L. A., M. F. Mendes, A. P. Krüger, M. L. Blauth, M. S. Gottschalk and F. R. M. Garcia. 2017.** Global potential distribution of *Drosophila suzukii* (Diptera, Drosophilidae). PlosOne 12: e0174318.
- Fernandes, F. L., L. Bacci and M. S. Fernandes. 2010.** Impact and selectivity of insecticides to predators and parasitoids. EntomoBrasilis. 3: 01-10.
- Gabarra, R., J. Riudavets, G. A. Rodríguez, J. Pujade-Villar and J. Arnó. 2014.** Prospects for the biological control of *Drosophila suzukii*. BioControl 60: 331-339.
- Garcia, F. R. M. and E. Corseuil. 2004.** Native hymenopteran parasitoids associated with fruit flies (Diptera: Tephritoidea) in Santa Catarina State, Brazil. Fla. Entomol. 87: 517-521.

- Garcia, F. R. M. and M. P. Ricalde. 2013.** Augmentative biological control using parasitoids for fruit fly management in Brazil. *Insects* 4:55-70.
- Garcia, F. R. M., J. Wollmann, A. P. Krüger, D. C. H. Schlesener and C. M. Teixeira. 2017.** Biological control of *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera: Drosophilidae): State of the art and prospects, pp. 1-28. In: Davenport, L (ed.). *Biological control: methods, applications and challenges*. Nova Science Publishers, Inc., New York.
- Girault, A. A. and G. E. Sanders. 1910.** The chalcidoid parasites of the common house or typhoid fly (*Musca domestica*) and its allies. *Psyche*, 17: 9-28.
- Guerrieri, E., M. Giorgini, P. Cascone, S. Carpenito and C. V. Achterberg. 2016.** Species diversity in the parasitoid genus *Asobara* (Hymenoptera: Braconidae) from native area of the fruit fly pest *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *PlosOne*, 11(2):e0147382.
- Hamm, C. A., D. J. Begun, A. Yo, C. C. Smith, P. Saelao, A. O. Shaver, J. Jaenike and M. Turreli. 2014.** *Wolbachia* do not live by reproductive manipulation alone: infection polymorphism in *Drosophila suzukii* and *D. subpulchrella*. *Mol. Ecol.* 23: 4871-4885.
- Harter, W. R., M. Botton, D. E. Nava, A. D. Grützmacher, E. da S. Gonçalves, R. M. Junior, D. Bernardi, D. and O. Z. Zanardi. 2015.** Toxicities and residual effects of toxic baits containing spinosad or malathion to control the adult *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). *Fla. Entomol.* 98: 202-208.
- Hassan, S. A., N. Halsall, A. P. Gray, C. Kuehner, M. Moll, F. M. Bakker, J. Boembke, A. Yousef, F. Nasr and H. Abdelgader. 2000.** A laboratory method to evaluate the side effects of plant protection products on *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae), pp. 107-119. In: Candolfi, M. P. et al. (eds.). *Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods*. Darmstadt: IOBC/WPRS.
- IBM Corp, 2013.** IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Kacsoh, B. Z. and T. A. Schlenke. 2012.** High hemocyte load is associated with increased resistance against parasitoids in *Drosophila suzukii*, a relative of *D. melanogaster*. *PlosOne* 7(4): e34721.
- Khan, M. A., H. Khan and J. R. Ruberson. 2015.** Lethal and behavior effects of selected novel pesticides on adult of *Trichogramma pretiosum* (Trichogrammatidae: Hymenoptera). *Pest Manag. Sci.* 71: 1640-1648.
- Khan, M. A. and J. R. Ruberson. 2017.** Lethal effects of selected novel insecticides on immature stages of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Pest Manag. Sci.* 73: 2465-2472.
- Krüger, A. P., D. C. H. Schlesener, L. N. Martins, J. Wollmann, M. Deprá and F. R. M. Garcia. 2018.** Effects of irradiation dose on sterility induction and quality parameters of *Drosophila suzukii*. *J. Econ. Entomol.* (in press).
- Lavine, M. D. and M. R. Strand. 2002.** Insect hemocytes and their role in immunity. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 32: 1295-1309.

- Manzoni, C. G., A. D. Grützmacher, F. P. Giolo, W. da R. Härter, R. V. Castilhos and M. D. Paschoal. 2007.** Seletividade de agroquímicos utilizados na produção integrada de maçã aos parasitoides *Trichogramma pretiosum* Riley e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *BioAssay* 2: 1-11.
- Mazzetto, F., E. Marchetti, N. Amiresmaeili, D. Sacco, S. Francati, C. Jucker, M. L. Dindo, D. Lupi and L. Tavella. 2016.** *Drosophila* parasitoids in Northern Italy and their potential risk to attack the exotic pest *Drosophila suzukii*. *J. Pest Sci.* 89: 837-850.
- Miller, B., G. Anfora, M. Buffington, K. M. Daane, D. T. Dalton, K. M. Hoelmer, M. V. Rossi-Stacconi, A. Grassi, C. Ioriatti, A. Loni, J. C. Miller, M. Ouantar, X. Wang, N. Wiman and V. M. Dalton. 2015.** Seasonal, occurrence of resident parasitoids associated with *Drosophila suzukii* in two small fruit protection regions of Italy and the USA. *B. Insectol.* 68: 255-263.
- Nikolouli, K., H. Colinet, D. Renault, T. Enriquez, L. Mounton, P. Gilbert, F. Sassu, C. Cáceres, C. Stauffer, R. Pereira and K. Bourtzis. 2017.** Sterile insect technique and *Wolbachia* symbiosis as potential tools for the control of the invasive species *Drosophila suzukii*. *J. Pest Sci.* <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0944-y>
- Poyet, M., S. Havard, G. Precost, O. Chabrerie, G. Doury, G., et al. 2013.** Resistance of *Drosophila suzukii* to the larval parasitoids *Leptopilina heterotoma* and *Asobara japonica* is related to haemocyte load. *Physiol. Entomol.* 38: 45-53.
- Püntener, W. 1981.** Manual for field trials in plant protection, 2nd ed., Ciba-Geigy Ltda, Basle, Switzerland.
- R Development Core Team. 2015.** R: A language and environment for statistical computing. rev. 3.2.0. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Rossi-Stacconi, M. V. R., A. Grassi, D. T. Dalton, B. Miller, M. Ouantar, A. Loni, C. Ioriatti, V. M. Walton and G. Anfora. 2013.** First field records of *Pachycrepoideus vindemiae* as a parasitoid of *Drosophila suzukii* in European and Oregon small fruit production areas. *Entomologia* 1: 11-16.
- Rossi-Stacconi, M. V., M. Buffington, K. M. Daane, D. T. Dalton, A. Grassi, G. Kaçar, B. Miller, J. C. Miller, N. Baser, C. Ioriatti, V. M. Walton, N. G. Wiman, X. Wang and G. Anfora. 2015.** Host stage preference, efficacy and fecundity of parasitoids attacking *Drosophila suzukii* in newly invades areas. *Biol. Control* 84: 28-35.
- Roubos, C.R., C. Rodriguez-Saona, R. Holdcraft, K. S. Mason and R. Isaacs. 2014.** Relative toxicity and residual activity of insecticides used in blueberry pest management: mortality of natural enemies. *J. Econ. Entomol.* 107: 277-285.
- Ryan, G. D., L. Emiljanowicz, F. Wilkinson, M. Kornya and J. A. Newman. 2016.** Thermal tolerances of the Spotted-wing *Drosophila Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *J. Econ. Entomol.* 109: 746-752.
- Schlesener, D. C. H., J. Wollmann, J. de B. Pazini, A. D. Grützmacher and F. R. M. Garcia. 2017a.** Effects of insecticides on adults and eggs of *Drosophila suzukii* (Diptera, Drosophilidae). *Rev. Colomb. Entomol.* 43: 208-214.

- Schlesener, D. C. H., J. Wollmann, A. P. Krüger, L. N. Martins, F. C. S. Geisler and F. R. M. Garcia. 2017b.** Rearing method for *Drosophila suzukii* and *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae) on artificial culture media. *Drosoph. Inf. Serv.* 100: 185-189.
- Stark, J. D., R. Vargas and N. Miller. 2004.** Toxicity of spinosad in protein bait to three economically important tephritid fruit fly species (Diptera: Tephritidae) and their parasitoids. *J. Econ. Entomol.* 97: 911-915.
- Tochen, S., D. T. Dalton, N. Wiman, L. Hamm, P. W. Shearer and V. M. Walton. 2014.** Temperature related development and population parameters for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) on cherry and blueberry. *Environ. Entomol.* 43: 501-510.
- Thompson, D. G., R. Dutton and T. C. Sparks. 2000.** Spinosad – a case study: an example from a natural products discovery programme. *Pest Manag. Sci.* 56: 696–702.
- Urbaneja, A., P. Chueca, H. Mont´on, S. Pascual-Ruiz, O. Dembilio, P. Vanaclocha, R. Abad-Moyano, T. Pina and P. Castañera. 2009.** Chemical alternatives to malathion for controlling *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), and their side effects on natural enemies in Spanish citrus orchards. *J. Econ. Entomol.* 102: 144-151.
- Walsh, D. B., M. P. Bolda, R. E. Goodhue, A. J. Dreves, J. Lee, D. J. Bruck, V. M. Walton, S. D. O’Neal and F. G. Zalom. 2011.** *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): Invasive pest of ripening soft fruit expanding its geographic range and damage potential. *J. Integr. Pest Manag.* 1-8.
- Wang, X. G. and R. H. Messing. 2004.** The ectoparasitic pupal parasitoid, *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae); attacks other primary tephritid fruit fly parasitoids: host expansion and potential non-target impact. *Biol. Control* 31: 227-236.
- Wang, X. G., G. Kaçar, A. Biondi and K. M. Daane. 2016.** Life-history and host preference of *Trichopria drosophilae*, a pupal parasitoid of spotted wing drosophila. *BioControl* 61: 387-397.
- Williams, T., J. Valle and E. Viñuela. 2003.** Is the naturally derived insecticide Spinosad compatible with insect natural enemies. *Biocontrol Sci. Tech.* 13: 459–475.
- Wollmann, J., D. C. H. Schlesener, M. S. Ferreira, M. S. Garcia, V. A. Costa and F. R. M. Garcia. 2016.** Parasitoids of Drosophilidae with potential for parasitism on *Drosophila suzukii* in Brazil. *Drosoph. Inf. Serv.* 99: 38-42.
- Van Timmeren, S. and R. Isaacs. 2013.** Control of spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*, by specific insecticides and by conventional and organic crop protection programs. *Crop Prot.* 54: 126–133.

Tabela 1. Inseticidas utilizados nos bioensaios com *Trichopria anastrephae* e *Pachycrepoideus vindemmia*, com suas respectivas concentrações e grupo químico.

Ingrediente ativo (i.a.)*	Nome comercial	Concentração	Dose	Grupo Químico
Abamectina	Vertimec [®] EC	18 g.L ⁻¹	0,013	Avermectina
Acetamiprido	Mospilan [®] SP	200 g.kg ⁻¹	0,080	Neonicotinoide
Tiametoxam	Actara [®] WG	250 g.kg ⁻¹	0,025	Neonicotinoide
Malationa	Malathion Cheminova [®] EC	1000 g.L ⁻¹	3,500	Organofosforado
Fosmet	Imidan [®] WP	500 g.kg ⁻¹	1,000	Organofosforado
Deltametrina	Decis [®] EC	25 g.L ⁻¹	0,010	Piretroide
Espinetoram	Delegate [®] WG	250 g.kg ⁻¹	0,005	Espinosina
Espinosade	Tracer [®] SC	480 g.L ⁻¹	0,072	Espinosina

*Produtos fitossanitários utilizados para o controle de pragas nas culturas representativas maçã (*Malus domestica*) e uva (*Vitis vinifera*), conforme Instrução Normativa n° 1, de 23 de fevereiro de 2010.

EC= concentrado emulsionável; SC= suspensão concentrada; SP= pó solúvel; WG= granulado solúvel; WP= pó molhável.

Tabela 2. Percentual médio de mortalidade (%) de adultos de *Trichopria anastrephae* após 2, 4, 24, 48, 72, 96 e 120 h após exposição a resíduos de diferentes inseticidas (24±3 °C, 75±10% UR, fotoperíodo 14 L:10 D h).

Ingrediente ativo	Mortalidade média de parasitoides (%±EP)						
	2 h	4 h	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
Abamectina	0,00±0,00 c*	0,00±0,00 c	0,00±0,00 c	5,00±2,89 c	5,00±2,89 c	5,00±2,89 c	7,50±2,50 c
Acetamiprido	30,00±4,08 b	47,50±8,54 ab	52,50±6,29 b	62,50±6,29 b	67,50±11,09 b	67,50±11,09 b	75,00±8,66 b
Tiametoxam	35,00±5,00 b	47,50±4,79 ab	90,00±4,08 ab	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a
Malationa	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a
Fosmet	47,50±2,50 ab	95,00±5,00 ab	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a
Deltametrina	40,00±4,08 ab	52,50±6,29 ab	67,50±6,29 ab	90,00±4,08 a	90,00±4,08 a	90,00±4,08 a	90,00±4,08 a
Espinetoram	0,00±0,00 c	0,00±0,00 c	7,50±2,50 c	17,50±4,79 c	17,50±4,79 c	17,50±4,79 c	17,50±4,79 c
Epinosade	0,00±0,00 c	0,00±0,00 c	0,00±0,00 c	7,50±2,50 c	10,00±4,08 c	12,50±2,50 c	15,00±5,00 c
Testemunha	0,00±0,00 c	0,00±0,00 c	0,00±0,00c	0,00±0,00 c	0,00±0,00 c	0,00±0,00 c	0,00±0,00 c
H	33,50	33,62	33,97	33,41	32,29	32,64	32,63
df _{total}	35	35	35	35	35	35	35
P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

*Kruskal-Wallis (H), seguido por teste de Dunn com correção de Bonferroni ($p < 0,05$). Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si.

Tabela 3. Percentual médio de mortalidade (%) de adultos de *Pachycrepoideous vindemmiae* após 2, 4, 24, 48, 72, 96 e 120 h após exposição a resíduos de diferentes inseticidas (24±3 °C, 75±10% UR, fotoperíodo 14 L:10 D h).

Ingrediente ativo	Mortalidade média de parasitoides (%±EP)						
	2 h	4 h	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
Abamectina	10,00±4,08 c*	27,50±4,79 c	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a
Acetamiprido	52,50±6,29 b	62,50±11,09 b	70,00±10,80 b	70,00±10,80 b	70,00±10,80 b	70,00±10,80 b	70,00±10,80 b
Tiametoxam	80,00±7,07 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a
Malationa	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a
Fosmet	25,00±6,45 c	65,00±5,00 b	77,50±7,50 b	85,00±6,45 b	87,50±7,50 b	87,50±7,50 b	90,00±5,77 ab
Deltametrina	55,00±6,45 b	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a
Espinetoram	75,00±11,90 ab	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a
Espinosade	25,00±6,45 c	90,00±7,07 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a
Testemunha	0,00±0,00 cd	0,00±0,00 d	0,00±0,00 c	0,00±0,00 c	0,00±0,00 c	0,00±0,00 c	0,00±0,00 c
H	31,68	32,79	34,50	32,21	31,05	31,05	31,30
<i>df</i> _{total}	35	35	35	35	35	35	35
<i>P</i>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

* Kruskal-Wallis (H), seguido por teste de Dunn com correção de Bonferroni ($p < 0,05$). Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si.

Tabela 4. Tempo letal (TL₅₀) de diferentes inseticidas a adultos de *Trichopria anastrephae* e *Pachycrepoideus vindemmiae* (24±3 °C, 75±10% UR, fotoperíodo 14 L:10 D h).

Ingrediente ativo	Inseto	N	Coefficiente angular±EP	χ²	TL₅₀ (h)¹	IC (95%) (h)²	df³
Abamectina	<i>T. anastrephae</i>	40	--	--	--	--	--
	<i>P. vindemmiae</i>	40	3,57±0,61	1,75	5,27	4,26 – 7,15	7
Acetamiprido	<i>T. anastrephae</i>	40	0,55±0,12	1,87	11,34	4,20 – 21,45	7
	<i>P. vindemmiae</i>	40	0,63±0,07	15,96	5,50	1,47 – 14,02	7
Tiametoxam	<i>T. anastrephae</i>	40	2,09±0,22	5,32	4,13	2,92 – 5,86	7
	<i>P. vindemmiae</i>	40	2,92±0,44	4,53	0,79	0,41 – 1,17	7
Malationa	<i>T. anastrephae</i>	40	3,65±0,46	3,06	0,53	0,45 – 0,62	7
	<i>P. vindemmiae</i>	40	3,24±0,41	1,80	0,48	0,40 – 0,58	7
Fosmet	<i>T. anastrephae</i>	40	4,79±0,69	0,69	1,95	1,69 – 2,25	7
	<i>P. vindemmiae</i>	40	0,39±0,13	0,86	0,12	0,10 – 1,05	7
Deltametrina	<i>T. anastrephae</i>	40	1,07±0,11	4,95	4,86	3,07 – 7,10	7
	<i>P. vindemmiae</i>	40	2,20±0,30	11,26	1,13	0,45 – 1,86	7
Espineteram	<i>T. anastrephae</i>	40	--	--	--	--	--
	<i>P. vindemmiae</i>	40	3,45±0,56	3,16	1,98	1,66 – 2,37	7
Espinosade	<i>T. anastrephae</i>	40	--	--	--	--	--
	<i>P. vindemmiae</i>	40	3,82±0,73	1,97	1,18	0,92 – 1,39	7

¹TL₅₀ (h) = Tempo requerido para matar 50% dos indivíduos de *Trichopria anastrephae* e *Pachycrepoideus vindemmiae*. ²IC = intervalo de confiança. ³df = graus de liberdade.

Tabela 5. Média de pupas parasitadas (%) e redução do parasitismo (%) de adultos de *Trichopria anastrephae* (F₀) expostos a resíduos de diferentes inseticidas, porcentagem média de emergência (%), redução na emergência (E) e razão sexual dos parasitoides (F₁) e respectiva classe toxicológica proposta pela IOBC/WPRS (24±3 °C, 75±10% UR, fotoperíodo 14 L:10 D h).

Ingrediente ativo	Pupas parasitadas		Emergência		Razão sexual
	%±EP*	EP% ¹ [C] ²	%±EP*	EE% ¹ [C] ²	
Abamectina	85,00±3,72 a	10,52 [1]	100,00±0,00 a	0,00 [1]	0,68 ^{ns}
Acetamiprido	0,00±0,00 b	100,00 [4]	0,00±0,00 b	100,00 [4]	--
Tiametoxam	7,00±3,66 b	92,63 [3]	0,00±0,00 b	100,00 [4]	--
Malationa	0,00±0,00 b	100,00 [4]	0,00±0,00 b	100,00 [4]	--
Fosmet	0,00±0,00 b	100,00 [4]	0,00±0,00 b	100,00 [4]	--
Deltametrina	0,00±0,00 b	100,00 [4]	0,00±0,00 b	100,00 [4]	--
Espinetoram	77,00±6,33 a	18,94 [1]	85,00±10,67 a	15,00 [1]	0,66
Espinosade	88,00±6,79 a	7,36 [1]	98,88±1,11 a	1,11 [1]	0,69
Testemunha	95,00±2,68 a	--	100,00±0,00 a	--	0,71
H	79,97	--	83,92	--	1,27
P	<0,0001	--	<0,0001	--	0,74
df _{total}	179	--	179	--	79

*Kruskal-Wallis (H) seguido por teste de Dunn com correção de Bonferroni ($p < 0,05$). Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si. ¹Redução no parasitismo (E_P) ou redução na emergência do parasitoide (E_E) em comparação com o tratamento controle. ²IOBC/WPRS classes: 1= inócuo (E<30%); classe 2= levemente nocivo (30%≤E<79%); classe 3= moderadamente nocivo (80%≤E≤99%); classe 4= nocivo (E>99%).
^{ns} Não significativo na coluna pelo teste de qui-quadrado.

Tabela 6. Média de pupas parasitadas (%) e redução do parasitismo (%) de adultos de *Pachycrepoideus vindemniae* (F₀) expostos a resíduos de diferentes inseticidas, porcentagem média de emergência (%), redução na emergência (E) e razão sexual dos parasitoides (F₁) e respectiva classe toxicológica proposta pela IOBC/WPRS (24±3 °C, 75±10% UR, fotoperíodo 14 L:10 D h).

Ingrediente ativo	Pupas parasitadas		Emergência		Razão sexual
	%±EP*	EP% ¹ [C] ²	%±EP*	EE% ¹ [C] ²	
Abamectina	7,00±2,13 b	91,46 [3]	0,00±0,00 b	100,00 [4]	--
Acetamiprido	22,00±4,42 b	73,17 [2]	100,00±0,00 a	0,00 [1]	0,82 ^{ns}
Tiametoxam	0,00±0,00 c	100,00 [4]	0,00±0,00 b	100,00 [4]	--
Malationa	0,00±0,00 c	100,00 [4]	0,00±0,00 b	100,00 [4]	--
Fosmet	8,00±1,33 b	90,24 [3]	0,00±0,00 b	100,00 [4]	--
Deltametrina	0,00±0,00 c	100,00 [4]	0,00±0,00 b	100,00 [4]	--
Espinetoram	0,00±0,00 c	100,00 [4]	0,00±0,00 b	100,00 [4]	--
Espinosade	4,00±1,63 bc	95,12 [3]	0,00±0,00 b	100,00 [4]	--
Testemunha	82,00±5,53 a	--	100,00±0,00 a	--	0,85
H	72,34	--	89,00	--	0,51
P	<0,0001	--	<0,0001	--	0,47
df _{total}	179	--	179	--	39

*Kruskal-Wallis (H) seguido por teste de Dunn com correção de Bonferroni ($p < 0,05$). Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si. ¹Redução no parasitismo (E_P) ou redução na emergência do parasitoide (E_E) em comparação com o tratamento controle. ²IOBC/WPRS classes: 1= inócuo (E<30%); classe 2= levemente nocivo (30%≤E<79%); classe 3= moderadamente nocivo (80%≤E≤99%); classe 4= nocivo (E>99%).
^{ns} Não significativo na coluna pelo teste de qui-quadrado.



Figura 1: Detalhe do encapsulamento da forma imatura de parasitoide no abdome de *Drosophila suzukii*.

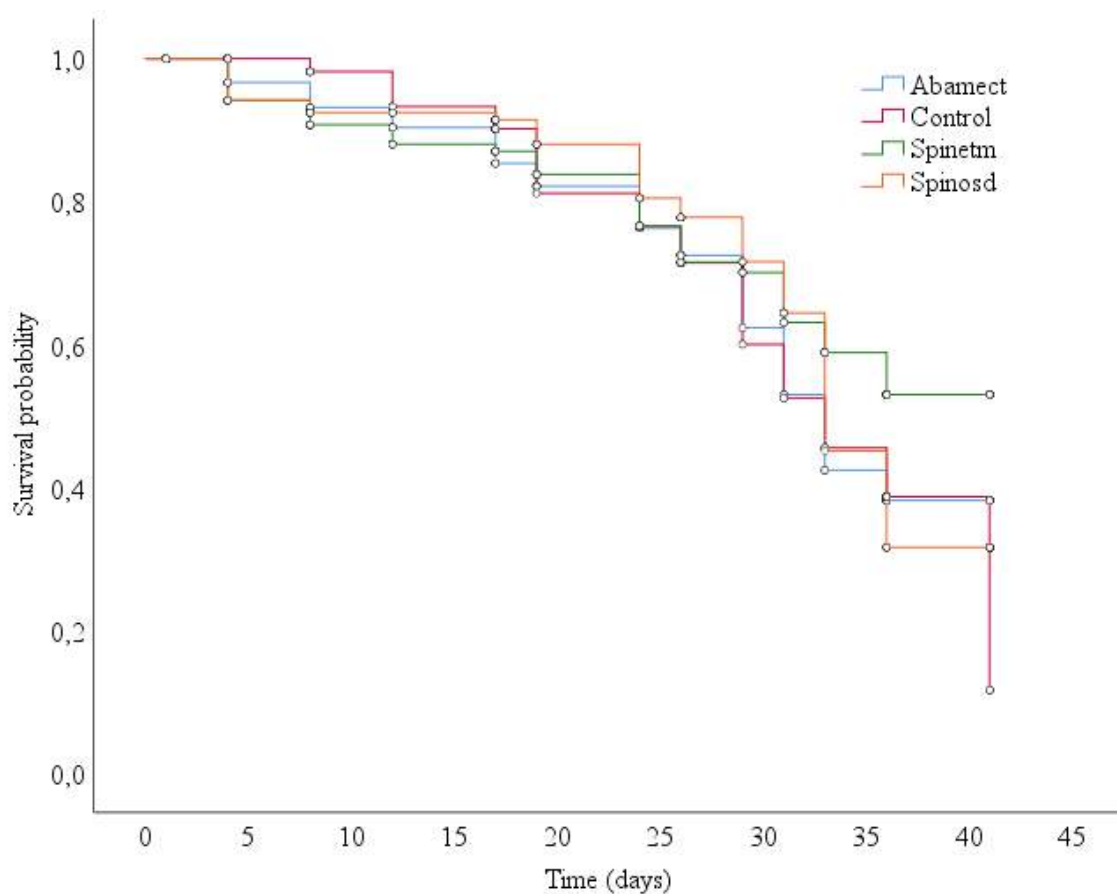


Figura 2: Curva de longevidade de adultos de *Trichopria anastrephae* expostos a resíduos dos agrotóxicos abamectina (Abamect), espinetoram (Spinetm) e espinosade (Spinosd) e testemunha. As curvas foram geradas por estimadores de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank ($p > 0,05$).

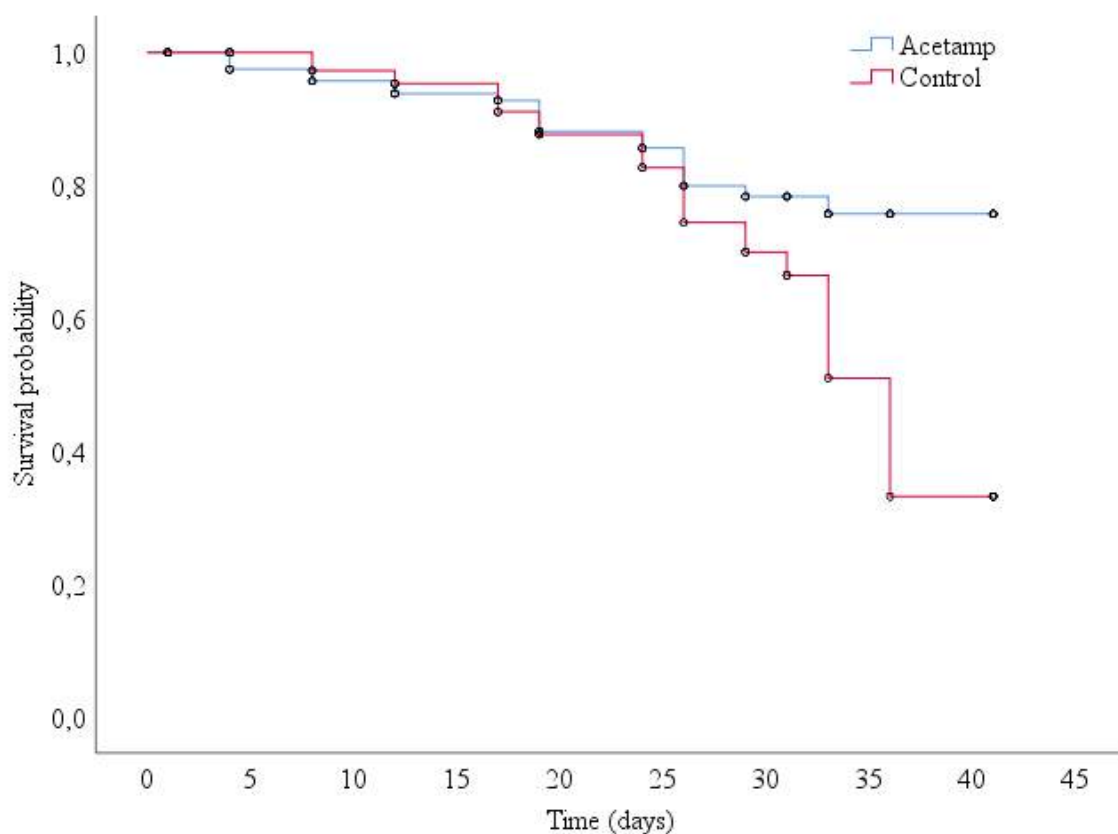


Figura 3. Curva de longevidade de adultos de *Pachycrepoideus vindemmiae* expostos a resíduos do inseticida acetamiprido (Acetamp) e testemunha. As curvas foram geradas por estimadores de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank ($p < 0,05$).

Considerações Finais

Drosophila suzukii é uma praga que se estabeleceu recentemente no Brasil, e que vem causando uma série de prejuízos à produtores de pequenas frutas em regiões de clima temperado. Devido a sua importância econômica, inúmeros grupos de estudos ao redor do mundo buscam o entendimento sobre a biologia, ecologia e métodos de controle para essa espécie, no entanto, pouco se sabe sobre populações sul-americanas.

A drosófila-da-asa-manchada apresenta um comportamento de oviposição diferenciado em relação a maioria dos outros drosofilídeos, o que possibilita a exploração de um nicho ecológico diferenciado. Sendo assim, o aprimoramento de técnicas de criação com dietas artificiais é de extrema importância, a fim de proporcionar insetos de boa qualidade e a baixo custo, para estudos em laboratório, e até mesmo para manejo como o controle autócida. No presente estudo, verificamos que as Dietas A (farinha de milho – glucose – levedura) e C (farinha de milho – melado – levedura) foram adequadas para o desenvolvimento de *D. suzukii*, e apresentaram um menor custo em relação a Dieta B (farinha de milho – açúcar – levedura). Além dos aspectos nutricionais, a textura da dieta também parece afetar o desenvolvimento larval, pois a dieta B, que apresenta a maior quantidade de gelificante (ágar puro bacteriológico), proporcionou a menor viabilidade (42%) no desenvolvimento do ciclo biológico (ovo a adulto).

O desenvolvimento de *D. suzukii* também é influenciado pela variação de temperatura. A temperatura base para a população estudada foi de 7,85°C, e não foram observadas emergências de adultos nas temperaturas de 30 e 33°C, o que sugere que estas temperaturas estejam próximas ao limite superior para o desenvolvimento da espécie. Até o momento, *D. suzukii* foi registrada apenas em Estados das regiões Sul e Sudeste, que apresentam maiores variações térmicas ao longo do dia e condições de temperatura mais amenas em relação à Estados localizados em baixas latitudes. Segundo os dados apresentados nesse estudo, é

possível inferir que *D. suzukii* é uma espécie de clima mais ameno, e que provavelmente não será um problema nas regiões tropicais do Brasil.

Apesar de sua importância econômica, especialmente para regiões de clima temperado, ainda não existem formas de controle eficientes para essa espécie. Nos EUA e Europa, a principal forma de manejo é através do controle químico, com inseticidas dos grupos da espinosinas, piretróides e organofosforados. No Brasil, as culturas produtoras de pequenas frutas sofrem com a carência de produtos registrados, e além disso, até o momento, nenhum produto foi registrado para o controle de *D. suzukii*. No presente trabalho demonstramos que a maioria dos inseticidas utilizados para o manejo de pragas na fruticultura são eficientes para o manejo da drosófila-da-asa-manchada. No entanto, grande parte dos inseticidas também causam efeitos adversos aos parasitoides de pupa *Trichopria anastrephae* e *Pachycrepoideus vindemmiae*. Dentre os inseticidas testados, podemos destacar os pertencentes ao grupo das espinosinas, que causou 100% de mortalidade da praga (espinosade), e foram seletivos ao parasitoide *T. anastrephae* (espinosade e espinetoram) considerados inócuos (classe 1) para essa espécie.

Os resultados apresentados na presente tese servirão como base para estudos futuros, e auxiliarão no desenvolvimento de estratégias de manejo de *D. suzukii*, através da previsão de ocorrência da praga em determinada região e da eficiência dos inseticidas sobre a espécie-alvo, preconizando os inseticidas que causam menor efeito sobre a dinâmica populacional dos parasitoides de pupa *T. anastrephae* e *P. vindemmiae*.

Referências

- AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. 2018. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/portal/page/portal/Internet-MAPA/pagina-inicial/servicos-e-sistemas/sistemas/agrofit>>. Acesso em: 15 jan. 2018.
- ANDREAZZA, F.; HADDI, K.; OLIVEIRA, E. E.; FERREIRA, J. A. M. *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) arrives at Minas Gerais state, a main strawberry production region in Brazil. **Florida Entomologist**, v. 99, n. 4, p. 796–798, 2016.
- ANDREAZZA, F.; BERNARDI, D.; DOS SANTOS, R. S. S.; GARCIA, F. R. M.; OLIVEIRA, E. E.; BOTTON, M.; NAVA, D. E. *Drosophila suzukii* in Southern Neotropical region: Current status and futures perspectives. **Neotropical Entomology**, v. 46, n. 6, p. 591-605, 2017.
- ANFORA, G.; GRASSI, A.; REVARDI, S.; GRAIFF, M. *Drosophila suzukii*: a new invasive species threatening European fruit production. **EnviroChange**, p. 1-7, 2012.
- BEERS, E. H.; VAN STEENWYK, R. A.; SHEARER, P. W.; COATES, W. W.; GRANT, J. A. Developing *Drosophila suzukii* management programs for sweet cherry in the western United States. **Pest Management Science**, v. 67, n.11, p.1386-1395, 2011.
- BEGON, M. Yeasts and *Drosophila*. In: ASHBURNER M, CARON HL, THOMPSON JN (ed) **The Genetics and Biology of *Drosophila***. Academic Press, U.K, 1983, pp 345-384.
- BERNARDI, D.; RIBEIRO, L.; ANDREAZZA, F.; NEITZKE, C.; OLIVEIRA, E. E.; BOTTON, M.; NAVA, D. E.; VENDRAMIM, J. D. Potential use of *Annona* by products

to control *Drosophila suzukii* and toxicity to its parasitoid *Trichopria anastrephae*.

Industrial Crops and Products, v. 110, p. 30-35, 2017.

BITNER-MATHÉ, B. C.; VICTORINO, J.; FARIA, F. S. *Drosophila suzukii* has been found in tropical Atlantic rainforest in southeastern Brazil. **Drosophila Information Service**, v. 97, p. 136–137, 2014.

BRUCK, D. J.; BOLDA, M.; TANIGOSHI, L.; KLICK, J.; KLEIBER, J.; DEFRANCESCO, J.; GERDEMAN, B.; SPITLER, H. Laboratory and field comparisons of insecticides to reduce infestation of *Drosophila suzukii* in berry crops. **Pest Management Science**, v. 67, n. 11, p. 1375-1385, 2011.

CINI, A.; IORIATTI, C.; ANFORA, G. A review of the invasion of *Drosophila suzukii* in Europe and a draft research agenda for integrated pest management. **Bulletin of Insectology**, v. 65, n. 1, p. 149-160, 2012.

CACINO, M. D. G.; HERNANDEZ, A. G.; CABRERA, J. G.; CARRILLO, G. M.; GONZALEZ, A. S.; BERNAL, H. C. A. Parasitoides de *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) em Colima, México. **Southwestern Entomologist**, v. 40, n. 4, p. 855-858, 2015.

CHABERT, S.; ALLEMAND, R.; POYET, M.; ESLIN, P.; GIBERT, P. Ability of European parasitoids (Hymenoptera) to control a new invasive Asiatic pest, *Drosophila suzukii*. **Biological Control**, v. 63, n. 1, p. 40-47, 2012.

COSENTINE, J. E.; AYYANATH, M.-M. Limited protection of the parasitoid *Pachycrepoideus vindemiae* from *Drosophila suzukii* host-directed spinosad suppression. **Entomologia Experimentallis et Applicata**, v. 164, p. 78-86, 2017.

CUCH-ARGUIMBAU, N.; ESCUDERO-COLOMAR, L. A.; FORSHAGE, M.; PUJADE-VILLAR, J. Identificadas dos espécies de Hymenoptera como probables parasitoides de *Drosophila suzukii* en una plantación ecológica de cerezos em Begues. **Phytoma**, n. 247, p. 1-6, 2013.

DAANE, K. M.; WANG, X. G.; BIONI, A.; MILLER, B.; MILLER, J. C.; RIEDL, H.; SHEARER, P. W.; GUERRIERI, E.; GIORGINI, M.; BUFFINGTON, M.; VAN

ACHTERBERG, K.; SONG, Y., KANG, T.; YI, H.; JUNG, C.; LEE, D. W.; CHUNG, B.-K.; WALTON, V. M. First exploration of parasitoids of *Drosophila suzukii* in South Korea as potential classical biological agents. **Journal of Pest Science**, v. 89, n. 3, p. 823-835, 2016.

DALTON, D. T.; WALTON, V. M.; SHEARER, P. W.; WALSH, D. B.; CAPRILE, J.; ISSACS, R. Laboratory survival of *Drosophila suzukii* under simulated winter conditions of the Pacific Northwest and seasonal field trapping in five primary regions of small and stone fruit production in the United States. **Pest Management Science**, v. 67, n. 11, p. 1368-1374, 2011.

DEPRÁ, M.; POPPE, J. L.; SCHMITZ, H. J.; DE TONI, D. C.; VALENTE, V. L. S. The first records of the invasive pest *Drosophila suzukii* in South American Continent. **Journal of Pest Science**, v. 87, n. 3, p. 379-383, 2014.

DOS SANTOS, L. A.; MENDES, M. F.; KRÜGER, A. P.; BLAETH, M. L.; GOTTSCHALK, M. S.; GARCIA, F. R. M. Global potential distribution of *Drosophila suzukii* (Diptera, Drosophilidae). **PlosOne** 12: e0174318, 2017.

FRAIMOUT, A.; DEBAT, V.; FELLOUS, S.; HUFBAUER, R. A.; FOUCAUD, J.; PUDLO, P.; MARIN, J.-P.; PRICE, D. K.; CATTEL, J.; CHEN, X.; DEPRÁ, M.; DUYCK, P. F.; GUEDOT, C.; KENIS, M.; KIMURA, M. T.; LOEB, G.; LOISEAU, A.; MARTINEZ-MUÑOZ, I.; PASCUAL, M.; RICHMOND, M. P.; SHEARER, P.; SINGH, N.; TAMURA, K.; XUÉREB, A.; ZHANG, J.; ESTOUP, A. Deciphering the Routes of invasion of *Drosophila suzukii* by Means of ABC Random Forest. **Molecular Biology and Evolution**, v. 34, n. 4, p. 980-996, 2017.

GABARRA, R.; RIUDAVETS, J.; RODRÍGUEZ, G. A.; PUJADE-VILLAR, J.; ARNÓ, J. Prospects for the biological control of *Drosophila suzukii*. **BioControl**, v. 60, n. 3, p. 331-339, 2015.

GARCIA, F. R. M.; WOLLMANN, J.; KRÜGER, A. P.; SCHLESNER, D. C. H.; TEIXEIRA, C. M. Biological control of *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera: Drosophilidae): State of the art and prospects. In: DAVENPORT, L. (ed.). **Biological**

control: methods, applications and challenges. Nova Science Publishers, Inc., New York, 2017, pp. 1-28.

GEISLER, F. C. S.; SANTOS, J.; HOLDEFER, D. R.; GARCIA, F. R. M. Primeiro registro de *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera: Drosophilidae) para o estado do Paraná, Brasil e de novos hospedeiros. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 2, p. 125–129, 2015.

JARAMILLO, S. L.; MEHLFERBER, E.; MOORE, P. J. Life-history trade-offs under different larval diets in *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). **Physiological Entomology**, v. 40, n. 1, p. 2-9, 2015.

KACSOH, B.; SCHLENKE, T. A. High hemocyte load is associated with increased resistance against parasitoids in *Drosophila suzukii*, a relative of *D. melanogaster*. **PLoSOne**, v. 7, n. 4, e34721, 2012.

LEE, J. C.; BRUCK, D. J.; DREVES, A. J.; IORIATTI, C.; VOGT, H.; BAUFELD, P. In focus: Spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*, across perspectives. **Pest Management Science**, v. 67, n. 11, p. 1349-1351, 2011.

MILLER, B.; ANFORA, G.; BUFFINGTON, M.; DAANE, K. M.; DALTON, D. T.; HOELMER, K. M.; ROSSI STACCONI, M. V.; GRASSI, A.; IORIATTI, C.; LONI, A.; MILLER, J. C.; OUANTAR, M.; WANG, X.; WIMAN, N.; WALTON, V. M. Seasonal occurrence of resident parasitoids associated with *Drosophila suzukii* in two small fruit protection regions of Italy and the USA. **Bulletin of Insectology**, v. 68, n. 2, p. 255-263, 2015.

ROSSI-STACCONI, M. V. R.; GRASSI, A.; DALTON, D. T.; MILLER, B.; OUANTAR, M.; LONI, A.; IORIATTI, C.; WALTON, V. M.; ANFORA, G. First field records of *Pachycrepoideus vindemiae* as a parasitoid of *Drosophila suzukii* in European and Oregon small fruit production areas. **Entomologia**, v. 1, p. 11-16, 2013.

ROSSI-STACCONI, M. V. R.; BUFFINGTON, M.; DAANE, K. M.; DALTON, D. T.; GRASSI, A.; KAÇAR, G.; MILLER, B.; MILLER, J. C.; BASER, N.; IORIATTI, C.;

WALTON, V. M.; WIMAN, N. G.; WANG, X.; ANFORA, G. Host stage preference, efficacy and fecundity of parasitoids attacking *Drosophila suzukii* in newly invaded areas. **Biological Control**, v. 84, p. 28 -35, 2015.

RYAN, G. D.; EMILJANOWICZ, L.; WILKINSON, F.; KORNYA, M.; NEWMAN, J. A. Thermal tolerances of the Spotted-wing *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 2, p. 746-752, 2016.

SCHLESENER, D. C. H.; WOLLMANN, J.; NUNES, A. M.; CORDEIRO, J.; GOTTSCHALK, M. S.; GARCIA, F. R. M. *Drosophila suzukii*: nova praga para a fruticultura brasileira. **Biológico**, v. 77, n. 1, p. 47-54, 2015.

SCHLESENER, D. C. H.; WOLLMANN, J.; KRÜGER, A. P.; MARTINS, L. N.; GEISLER, F. C. S.; GARCIA, F. R. M. Rearing method for *Drosophila suzukii* and *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae) on artificial culture media. **Drosophila Information Service**, v. 100, p. 185-189, 2017a.

SCHLESENER, D. C. H.; WOLLMANN, J.; PAZINI, J. de B.; GRÜTZMACHER, A. D.; GARCIA, F. R. M. Effects of insecticides on adults and eggs of *Drosophila suzukii* (Diptera, Drosophilidae). **Revista Colombiana de Entomología**, v. 43, n. 2, p. 208-214, 2017b.

POYET, M.; HAVARD, S.; PRECOST, G.; CHABRERIE, O.; DOURY, G.; GIBERT, P.; ESLIN, P. Resistance of *Drosophila suzukii* to the larval parasitoids *Leptopilina heterotoma* and *Asobara japonica* is related to haemocyte load. **Physiological Entomology**, v. 38, n. 1, p. 45-53, 2013.

TOCHEN, S.; DALTON, D. T.; WIMAN, N.; HAMM, L.; SHEARER, P. W.; WALTON, V. M. Temperature related development and population parameters for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) on cherry and blueberry. **Environmental Entomology**, v. 43, n. 2, p. 501-510, 2014.

VILELA, C. R.; MORI, L. The invasive spotted-wing *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) has been found in the city of São Paulo (Brazil). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 58, n. 4, p. 371–375, 2014.

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

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

WALSH, D. B.; BOLDA, M. P.; GOODHUE, R. E.; DREVES, A. J.; LEE, J.; BRUCK, D. J.; WALTON, V. M.; O'NEAL, S. D.; ZALOM, F. G. *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): Invasive pest of ripening soft fruit expanding its geographic range and damage potential. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 2, n. 1, p. 1-7, 2011.

WOLLMANN, J.; SCHLESENER, D. C. H.; FERREIRA, M. S.; GARCIA, M. S.; COSTA, V. A.; GARCIA, F. R. M. Parasitoids of Drosophilidae with potential for parasitismo on *Drosophila suzukii* in Brazil. **Drosophila Information Service**, v. 99, p. 38-42, 2016.