



Universidade de Brasília

Instituto de Ciências Biológicas

Programa de Pós-Graduação em Ecologia

**CARACTERIZAÇÃO DAS VESPAS PARASITOIDES (HYMENOPTERA)
ASSOCIADAS AOS DROSOFILÍDEOS (DIPTERA, DROSOPHILIDAE) NO
CERRADO**

Darlane Isabel Dorneles Schneider

Orientadora: Prof.^a Dra. Rosana Tidon

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ecologia.

Brasília, DF

2017

Sumário

AGRADECIMENTOS	iii
Lista de figuras	5
Lista de tabelas	7
RESUMO	8
INTRODUÇÃO	10
Biologia de parasitoides	10
Drosofilídeos e seus parasitoides	12
Parasitoides no Cerrado	15
Objetivos	17
MATERIAIS E MÉTODOS	18
Obtenção e identificação de potenciais parasitoides de drosofilídeos	18
Coleta de vespas em frutos	19
Coletas de vespas em armadilhas de retenção de drosofilídeos	20
Coleta de vespas com iscas de imaturos de drosofilídeos	23
Experimentos de parasitismo em laboratório	29
Análises	31
RESULTADOS	35
DISCUSSÃO	46
Caracterização de parasitoides e potenciais parasitoides de drosofilídeos	47
1. Parasitoides de larva	47
2. Parasitoides de pupa	51
Confirmação de parasitismo em larvas e pupas de drosofilídeos	52
Comparações entre as metodologias de coleta	55
Distribuição espacial dos parasitoides	57
Dinâmica temporal de parasitoides	59
CONSIDERAÇÕES FINAIS	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
Anexo 1	75
Receita dos meios de banana para criação de drosofilídeos em laboratório	75
Anexo 2	76
Fêmeas das principais espécies e morfoespécies de vespas parasitoides que foram coletadas no Cerrado	76

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família por ser o meu porto seguro e por sempre me incentivarem a correr atrás do que eu quero. Agradecimentos especiais a meu irmão e minha mãe, pela paciência de ler e dar opiniões sinceras sobre meu projeto de pesquisa. Agradecimento especial também ao meu pai por solucionar problemas no desenho das armadilhas com seu conhecimento matemático. Agradeço aos meus gatos, Preta, Loira e Jack, pelo amor incondicional.

Para mim foi um privilégio trabalhar com a professora Dr^a. Rosana Tidon, só tenho a agradecer por acreditar em mim, pelo apoio, pelos puxões de orelha e pelo aprendizado durante todo o mestrado, o qual me fez crescer muito como bióloga e como pessoa.

Esse trabalho não seria possível sem a cuidadosa triagem das vespas, feitas pelo Henrique, Pedro Henrique (PH), Marcos (Triste) e Bárbara, muito obrigada!

Agradeço ao Prof. Fabian Borghetti e equipe por autorizar as pesquisas na área do Laboratório de Termobiologia, e à equipe da Reserva Ecológica do IBGE pelo apoio durante a pesquisa. Agradeço especialmente à Betânia Góes pela ajuda e por nos receber com muito carinho.

Um obrigado muito especial para Brenda, por colaborar com toda a parte de laboratório e ao Leandro Carvalho por estar comigo em todas as coletas de campo, agradeço muito a ajuda e a companhia maravilhosa de vocês, foram essenciais para colocar o projeto em prática. Agradeço também aos outros integrantes do Laboratório de Biologia Evolutiva por serem tão prestativos e me ajudarem em várias etapas do trabalho. Com certeza o ambiente de trabalho e pesquisa não poderia ser melhor, com todo esse carinho, alto astral e amizade de vocês, agradeço especialmente à Dr^a. Nilda, Bruna, Francisco, Leandro Mencarini, Waira, Maitê,

Lucas Las-Casas, Wed, nunca vou esquecer do aniversário surpresa que ganhei de vocês em pleno dia de campo!

Agradeço ao Dr. Jorge Anderson Guimarães pelo auxílio na identificação das vespas, ao Dr. Ricardo Pinto por ajudar com as fotografias dos parasitoides e ao estatístico Maircon pela paciência de me ajudar com os cálculos.

Dani, Gabriela, Jessica e Constance agradeço o apoio, carinho, amizade e por sempre estarem comigo nos momentos de maior alegria e tristeza. Amo vocês.

Agradeço aos meus bioamiguinhos! Flávia, Fred, Maísa, Nathalia, Julia, Flávio, Taís, Fabiano pelos nossos maravilhosos e divertidos encontros terapêuticos.

Agradeço a todos os professores e colegas da pós-graduação pela amizade e por todo o aprendizado que tive com vocês, contribuíram muito no amadurecimento do meu trabalho.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e à Universidade de Brasília por proporcionar todas as condições de estudo e trabalho, e por tornar possível o meu sonho de fazer mestrado com parasitoides.

Lista de figuras

Fig. 1. Armadilha de retenção de drosofilídeos e parasitoides utilizada nos trabalhos Paula (2015) e Leão (2016) e em novas coletas deste trabalho (ilustração e detalhes da armadilha em Roque et al. 2011). (A) Armadilha completa, (B) compartimento de retenção de drosofilídeos e parasitoides, (C) detalhe dos buracos para eliminação da umidade, (D) buracos para entrada dos insetos, (E) buracos, vedados por um tecido, para passagem do odor, (F) compartimento para colocar a isca.

Fig. 2. Precipitação total e temperatura média mensal na Reserva Ecológica do IBGE, entre setembro de 2013 e junho de 2016.

Fig. 3. Armadilhas com imaturos de drosofilídeos utilizadas no campo, (A) disposição dos frascos dentro do pote plástico, (B) armadilhas prontas para a coleta. Dentro de cada frasco de vidro há meio de cultura de banana (Anexo 1) e estágios imaturos de uma espécie focal de hospedeiro (isca). As armadilhas foram colocadas no campo na posição ilustrada, com a aba em amarelo para cima visando proteger o conjunto do sol e chuva.

Fig. 4. Versão revisada das armadilhas com imaturos de drosofilídeos utilizadas no campo (A) frascos com meio de banana e pupas armazenadas no laboratório, (B) armadilhas após as modificações no seu formato, agora tampadas com apenas aberturas nas laterais, (C) posição da armadilha em campo por quatro dias.

Fig. 5. Abundância absoluta e relativa (A) de potenciais parasitoides de larva e de pupa de drosofilídeos e (B) de vespas parasitoides machos e fêmeas, coletadas de diferentes formas no IBGE.

Fig. 6. Parasitismo de drosofilídeos em laboratório. Parasitoides de larva: (A) Encapsulação em larvas *Zaprionus indianus* Gupta (Drosophilidae) parasitadas por *Ganaspis* sp.3 (Figitidae) e (B) *Ganaspis* sp. 3 minutos antes de emergir de *Z. indianus*. Parasitoides de

pupa: (C) Momento da oviposição de *Pachycrepoideus vindemiae* (Rondani, 1875) (Pteromalidae) em *Drosophila mercatorum* (Patterson & Wheller) (Drosophilidae), foto tirada por Brenda Garcia. (D) Larva de *Spalangia simplex* Perkins, 1910 (Pteromalidae) se desenvolvendo em pupa de *Z. indianus* (esquerda) e pupa não parasitada (direita). A-C: imagens fora de escala. D: escala de 1mm.

Fig. 7. Abundância relativa e absoluta de potenciais parasitoides de drosofilídeos que emergiram de frutos do cerrado sentido restrito e da mata de galeria, coletados em reservas ecológicas do DF de outubro de 2010 a janeiro de 2012. Foram representados no gráfico apenas os meses em que houve coleta de parasitoides.

Fig. 8. Abundância de potenciais parasitoides de drosofilídeos atraídos por armadilhas de retenção na Reserva Ecológica do IBGE, entre outubro de 2013 e abril de 2016, em mata de galeria e cerrado sentido restrito.

Fig. 9. Abundância de potenciais parasitoides de drosofilídeos e de drosofilídeos, em diferentes escalas, atraídos por armadilhas de retenção em mata de galeria e cerrado sentido restrito da Reserva Ecológica do IBGE, entre outubro de 2013 e abril de 2016 (Leão 2016 e dados não publicados). Gráficos em escalas diferentes.

Fig. 10. Abundância absoluta e relativa de potenciais parasitoides de drosofilídeos atraídos por armadilhas de retenção em mata de galeria e cerrado sentido restrito da Reserva Ecológica do IBGE, entre outubro de 2013 e abril de 2016, com destaque para o gênero *Ganaspis*, *Dicerataspis* e a soma dos gêneros restantes.

Lista de tabelas

Tabela 1. Caracterização das espécies de Drosophilidae avaliadas como potenciais hospedeiros de vespas parasitoides no Cerrado. E: espécie exótica à região Neotropical. * Utilizada em apenas uma coleta (maio).

Tabela 2. Comparação entre as metodologias utilizadas em campo e em laboratório. * Uma coleta em março. ** Uma coleta em fevereiro.

Tabela 3. Vespas potencialmente parasitoides de drosofilídeos e os respectivos métodos de coleta pelos quais foram capturadas no Cerrado, em áreas conservadas e urbanizadas, entre outubro de 2010 e maio de 2016. FR: frutos, AR: armadilhas de retenção, AI: armadilhas com imaturos.

Tabela 4. Confirmação de relação parasitoide-hospedeiro entre vespas parasitoides e drosofilídeos, em armadilhas com imaturos no campo () e experimentos em laboratório (). A ausência de símbolo significa que não foi observado parasitismo.

Tabela 5. Proporção de parasitismo de parasitoides de pupa, utilizando drosofilídeos como hospedeiros em laboratório. Dcar: *Drosophila cardini*, Dmer: *D. mercatorum*, Dnas: *D. nasuta*, Dneb: *D. nebulosa*, Dsim: *D. simulans*, Dwil: *D. willistoni*, Zind: *Zaprionus indianus*.

Tabela 6. Abundância de potenciais parasitoides de drosofilídeos coletados por ambiente, considerando os três métodos de coleta, com a relação de indivíduos coletados por total de amostras ou unidades amostrais em cada metodologia. Coletas realizadas entre outubro de 2010 e maio de 2016.

Tabela 7. Resultado da análise estatística da regressão linear. B: coeficiente da regressão. GL: graus de liberdade.

RESUMO

Vespas parasitoides (Hymenoptera) colocam um ou mais ovos em seu hospedeiro, matando-o antes que ele termine seu desenvolvimento. Dentre os insetos que podem ser parasitados estão as pequenas moscas (3-4 mm) da família Drosophilidae (Diptera), cujos estágios imaturos podem ser atacados nas fases de larva ou pupa. O conhecimento das relações entre hospedeiros e parasitoides contribui para o entendimento de redes ecológicas e tem potencial para controle biológico, porém a taxonomia dessas vespas e suas relações com hospedeiros ainda são pouco conhecidas. O presente estudo buscou identificar e caracterizar potenciais parasitoides de drosofilídeos, com base dados obtidos no campo no laboratório. No campo, foram coletadas vespas com uma metodologia já tradicional (coleta de frutos) e duas metodologias novas: as armadilhas com iscas de banana fermentada e armadilhas com iscas de drosofilídeos imaturos, sendo que esta última metodologia foi desenvolvida no presente estudo. As coletas foram realizadas em diferentes épocas do ano em três tipos de ambiente: mata de galeria, cerrado sentido restrito e área urbana. Esse esforço amostral resultou em 845 parasitoides e potenciais parasitoides de drosofilídeos, representando cinco espécies e oito morfoespécies, entre elas possíveis novas espécies, pertencentes tanto a famílias de parasitoides de larvas, Figitidae e Braconidae, como em parasitoides de pupas, Pteromalidae, Dipriidae e Eurytomidae. Todas elas são novas ocorrências para o Distrito Federal. A proporção entre os grupos de vespas variou de acordo com a metodologia, local e época da coleta. Nas áreas naturais a abundância de parasitoides foi maior na mata de galeria e na época chuvosa, o que provavelmente reflete a maior disponibilidade de drosofilídeos nessas condições. Testes em campo e em laboratório revelaram que cinco espécies de vespas parasitaram pelo menos uma das sete espécies de drosofilídeos testadas. *Pachycrepoideus vindemiae* (Pteromalidae) se desenvolveu em todas as espécies de drosofilídeos testadas, tanto no campo como no laboratório, enquanto que outras vespas se restringiram a determinados hospedeiros ou condições experimentais. Nesse contexto, o presente trabalho contribuiu para o conhecimento da diversidade de vespas parasitoides de drosofilídeos no Cerrado, para o desenvolvimento e avaliação de novas metodologias para a captura desses insetos, e para a compreensão das interações hospedeiro-parasitoide. Essas informações são importantes para o entendimento de redes ecológicas, destacam o papel fundamental da taxonomia para o conhecimento dos parasitoides, e podem contribuir para aprimorar o controle biológico de pragas.

ABSTRACT

Parasitoid wasps (Hymenoptera) oviposit one or more eggs in its host, killing it before concluding its development. Among their hosts are the small flies (3-4 mm) of the family Drosophilidae (Diptera), which can be attacked during the stage of larvae (larval parasitoids) or pupa (pupal parasitoids). The knowledge about host-parasitoid relationships contribute to the understanding of ecological networks and, in some cases, has a potential for biological control. However, such relationships are still poorly known. This study aimed to characterize parasitoids and possible parasitoids of drosophilids, based on field and laboratory data. For capturing the wasps in the field, we used a conventional method (collection of fruits) and two innovative approaches: traps baited with fermented bananas and traps baited with immature drosophilids specially developed for this study. Three different areas were surveyed at various times of the year: gallery forest, savanna vegetation, and an urbanized environment. The 845 parasitoids and possible parasitoids of drosophilids accessed in this study were classified in five species and eight morphospecies of wasps, including probable new species. They represent two families of larval parasitoids (Figitidae and Braconidae) and three families of pupal parasitoids (Pteromalidae, Dipriidae, and Eurytomidae). All of them are new records in Distrito Federal, Brazil. The relative abundance of parasitoids groups varied among methods of collection, vegetation, and season of the year. In natural areas, the abundance of parasitoids was higher in gallery forest and during the rainy season, probably reflecting the higher drosophilid availability in these conditions. Field and laboratory tests have confirmed the parasitism of five species of parasitoids in at least one of the seven drosophilid species tested. The wasp species *Pachycrepoideus vindemiae* (Pteromalidae) developed in all drosophilid species both in field and in laboratory, while other parasitoids were restricted to certain species of drosophilids or experimental conditions. In sum, this study characterized parasitoids of drosophilids in the Cerrado, contributing to the knowledge of its biodiversity and distribution using new methodologies that worked successfully, and established new host-parasitoid interactions. This information is important to understand ecological networks, highlight the fundamental role of taxonomy for identifying parasitoids, and potentially contribute for biological control.

INTRODUÇÃO

Biologia de parasitoides

Um parasitoide é definido pelo hábito alimentar das suas larvas: elas se nutrem exclusivamente de outros artrópodes até finalmente causarem sua morte, enquanto os adultos são de vida livre (Godfray 1994). A morte do hospedeiro pode ser um resultado direto ou indireto do desenvolvimento do parasitoide (Eggleton e Gaston 1990). Embora o conceito de parasitoide possa variar um pouco entre autores (Carton *et al.* 1986, Eggleton e Belshaw 1992), seu modo de vida pode ser entendido como intermediário entre o modo de vida predador e o parasita (Godfray 1994). Dentre os insetos, os parasitoides correspondem a 10% das espécies (Gaston 1991).

Cada parasitoide se desenvolve em um único hospedeiro, porém no mesmo hospedeiro pode haver um ou mais parasitoides (Godfray 1994). Uma espécie parasitoide pode utilizar um grande número de espécies hospedeiras de diversas ordens (Eggleton e Belshaw 1992), e a diversidade de espécies que cada parasitoide utiliza depende do seu caráter mais generalista ou especialista.

As ordens com maior número de espécies parasitoides são, respectivamente, Hymenoptera, Diptera e Coleoptera (Eggleton e Belshaw 1992). Estima-se que a ordem Hymenoptera inclua 280 a 320 mil espécies e que, dessas, 75% sejam parasitoides (Pennacchio e Strand 2006). Acredita-se que Hymenoptera seja o único grupo monofilético dentre as três principais ordens de parasitoides, e que surgiu a partir de ancestrais micófagos (Eggleton e Belshaw 1992). Esse é também o grupo de parasitoides mais estudado, principalmente por seus benefícios ambientais e econômicos, como seu uso no controle biológico (LaSalle 2003), inclusive no Brasil (Parra *et al.* 2002).

Na região Neotropical são descritas em torno de 24 mil espécies de Hymenoptera, porém acredita-se que há mais de 80 mil (Fernández e Sharkey 2006). No Brasil, são registradas 84 famílias de Hymenoptera, sendo que 64 delas contemplam vespas parasitoides (Rafael *et al.* 2012). Entretanto, não há catálogos modernos para a fauna neotropical de Hymenoptera, e os catálogos mundiais mais antigos já estão obsoletos (Fernández e Sharkey 2006), o que vale também para as famílias de parasitoides (Prévost 2009).

O processo de busca e seleção do hospedeiro é realizado pela fêmea do parasitoide e ocorre em vários estágios, sendo comumente dividido em quatro passos consecutivos: (1) localização do habitat do hospedeiro, (2) localização do hospedeiro, (3) reconhecimento e, finalmente, (4) escolha dos hospedeiros mais adequados para oviposição (Flanders 1953, van Alphen e Vet 1986). Os parasitoides possuem, então, a estratégia de seguir primeiro pistas de fácil detecção, mas que não levam diretamente ao hospedeiro, para depois seguir sinais mais específicos, que são mais confiáveis, porém difíceis de detectar a longa distância (teoria da detecção/confiabilidade) (Vet *et al.* 1991).

Fatores externos também podem interferir na relação hospedeiro-parasitoide. Quando, por exemplo, existe uma sazonalidade marcada no clima, isso afeta o desenvolvimento e o ciclo vital dos hospedeiros e conseqüentemente dos parasitoides, que precisam estar sincronizados para garantir o sucesso no parasitismo (Hanson e Gauld 1995). Por isso, fatores ambientais como a temperatura e a umidade podem afetar vespas parasitoides de forma direta, como no desenvolvimento (Carton e Claret 1982) ou indireta, alterando a adequação do hospedeiro ou a sincronização dos ciclos vitais (Hanson e Gauld 1995, Fleury *et al.* 2004). Vale ressaltar que poucos estudos avaliaram o comportamento desse sistema parasitoide-drosofilídeo no espaço e tempo, principalmente na região Neotropical (Prévost 2009).

Drosofilídeos e seus parasitoides

Cerca de 25 famílias de vespas parasitoides utilizam Diptera como hospedeiros (Hanson e Gauld 1995), e dentre as famílias de dípteros parasitados estão os drosofilídeos (Drosophilidae). Os parasitoides de drosofilídeos não parasitam ovos e moscas adultas, mas apenas larvas e pupas. Cada espécie parasita especificamente uma dessas fases (Carton *et al.* 1986, Prévost 2009). Os parasitoides de larvas são endoparasitoides coinobiontes, que atacam geralmente o segundo estágio larval e matam o hospedeiro quando ele atinge o estado de pupa. Já os parasitoides de pupa são ectoparasitoides idiobiontes de pupa que atacam do momento que forma um espaço entre o imaturo e o pupário até antes da formação do adulto (Carton *et al.* 1986, Prévost 2009). Alguns desse parasitoides de pupa também são hiperparasitoides facultativos, tendo como hospedeiros os próprios parasitoides de larva de drosofilídeos (van Alphen e Thunnissen 1983).

A família Drosophilidae inclui 78 gêneros que englobam mais de quatro mil espécies distribuídas em todo o mundo, incluindo algumas cosmopolitas e muitas endêmicas de regiões geográficas mais restritas (Bächli 2016). O gênero *Drosophila* é composto por insetos saprofíticos que na maioria das vezes utilizam partes de planta em decomposição, se alimentando da comunidade microbiana ou da própria matéria em decomposição (Markow e O'Grady 2006). Nos trópicos, o nicho mais comum de oviposição desse gênero são frutos, fungos e flores caídas (Santos e Vilela 2005, Gottschalk *et al.* 2009, Oliveira 2013) e algumas espécies de *Drosophila* são especialistas em determinado fruto ou planta, enquanto outras são mais generalistas (Markow e O'Grady 2008). No Brasil são encontradas 305 espécies da família Drosophilidae distribuídas em 16 gêneros, sendo *Drosophila* o gênero com maior número de espécies (Tidon *et al.* 2017).

Entre os parasitoides de drosofilídeos, são conhecidas quatro famílias: Braconidae e Figitidae, que são parasitoides de larvas, e Pteromalidae e Diapriidae, que são parasitoides de

pupa (Prévost 2009), todas com ampla distribuição pelo mundo (Noyes 2001) e já descritas também na fauna brasileira (Rafael *et al.* 2012). Contudo, a distribuição geográfica, os hospedeiros e a taxonomia das espécies dessas famílias são insuficientemente documentados com algumas exceções, como as espécies dos gêneros *Leptopilina* e *Asobara* e os parasitoides de pupa dos gêneros *Spalangia*, *Pathycrepoideus* e *Trichopria* (Fernández e Sharkey 2006, Prévost 2009).

Estudos na localização do habitat do hospedeiro por parasitoides de *Drosophila* spp. têm mostrado que muitos são especialistas em um micro-habitat, ou mostram uma preferência inata por um habitat (van Alphen e Vet 1986). As pistas que podem ser utilizadas para localização do ambiente são odores gerados pela decomposição de restos de plantas e, para localização do próprio hospedeiro, utilizam-se estímulos químicos dos excrementos de larvas e restos de alimento (Vet *et al.* 1993, Prévost 2009). Apesar de todos os parasitoides de drosofilídeos seguirem essa estratégia, cada parasitoide utiliza diferentes informações espécie-específicas, que podem ocasionar a exploração de micronichos e hospedeiros diferentes e, assim, permitir a coexistência tanto de drosofilídeos quanto dos parasitoides (van Dijken e van Alphen 1998). Um exemplo disso são preferências diferentes pelo grau de fermentação dos substratos vegetais quando estão em decomposição, fazendo com que cada parasitoide busque por hospedeiros no mesmo substrato, porém em momentos diferentes. Isso ocorre, por exemplo, com *Asobara tabida* e *Leptopilina heterotoma*, que preferem substratos menos e mais fermentados, respectivamente (Vet 1985).

A busca específica e a seleção do hospedeiro mais adequado, em parasitoides de drosofilídeos, pode ser feita pela análise das vibrações no substrato, busca com o ovipositor, antena e percepção de altas concentrações de caimônios, isto é, substâncias liberadas pelo hospedeiro que beneficiam o parasitoide (Vet e Alphen 1985, Prévost 2009). A sensibilidade para esses sinais também depende de quão generalistas ou especialistas são esses parasitoides

de drosofilídeos. Parasitoides especialistas possuem forte associação olfatória aos seus hospedeiros e aos seus habitats, enquanto os generalistas respondem a uma variedade de caimônios de espécies e/ou micro-habitats diferentes e possuem maior tendência de aprendizado associativo (Vet *et al.* 1993, Peters 2011).

Além desses comportamentos inatos, a capacidade de aprender e memorizar odores pode tornar a busca ainda mais eficiente (Poolman Simons *et al.* 1992). A aprendizagem nesses insetos ocorre de forma associativa e foi demonstrada em várias espécies de vespas parasitoides de drosofilídeos como ilustrado pelo gênero *Asobara* (Braconidae) e pelas espécies *Leptopilina heterotoma* e *L. boulardi* (Figitidae) (Poolman Simons *et al.* 1992). Essa aprendizagem pode ocorrer no momento do nascimento, com a memorização do odor do local da emergência (Vet 1983), ou após várias experiências de busca, seleção e oviposição (De Jong e Kaiser 1991).

Superparasitismos, oviposição de mais de um ovo em um único hospedeiro, são comuns, mesmo que de cada drosofilídeo parasitado emergja somente um parasitoide (van Alphen e Thunnissen 1983). Isso acontece devido a competições intra e inter-específicas entre parasitoides e como uma forma de aumentar a probabilidade de um dos imaturos ter sucesso (van Alphen e Visser 1990, Prévost 2009). O desenvolvimento da larva endoparasitoide pode variar para se adequar ao desenvolvimento da espécie do hospedeiro, porém o parasitoide sempre demora mais tempo para emergir do que o hospedeiro não parasitado (Carton *et al.* 1986). Após a emergência, os parasitoides logo acasalam e as fêmeas começam sua busca por novos hospedeiros, muitas vezes sem novas cópulas (Reina e Vasta 2003, Prévost 2009).

Porém, nem sempre o parasitismo em drosofilídeos é bem sucedido. Às vezes ocorre a morte de ambos ou apenas do parasitoide e isso acontece, principalmente, por causa de defesas que evitam o parasitismo ou o desenvolvimento do imaturo (Carton *et al.* 1986). Há comportamentos expressos pelos próprios imaturos para se defender (Hwang *et al.* 2007, Milan

et al. 2012) e também pelas fêmeas dos hospedeiros como forma de proteger sua prole (Kacsoh *et al.* 2013, Ebrahim *et al.* 2015), ou podem ser defesas imunológicas, como a formação de encapsulações em volta do parasitoide (Gross 1993, Kacsoh *et al.* 2014). Com a coevolução, as vespas também adquiriram formas de burlar o sistema imune dos hospedeiros. Essa defesa pode ser dividida principalmente em dois mecanismos: a oviposição em regiões onde o sistema imunológico não é tão eficiente ou desativá-lo, como é o caso do parasitoide de larva *Leptopilina heterotoma*, que utiliza a bactéria do gênero *Wolbachia* para isso (Prévost 2009).

O parasitismo pode exercer uma forte pressão seletiva entre populações de drosofilídeos (Carton *et al.* 1986) e inclusive permitir a coexistência de espécies de drosofilídeos competidoras (Fleury *et al.* 2004). Porém há questionamentos se a interação entre parasitoides e drosofilídeos nativos poderia favorecer o estabelecimento de espécies exóticas (Roy *et al.* 2011). Estudos com diferentes parasitoides nativos admitem que espécies exóticas podem ser atacadas, porém atingem maior sucesso reprodutivo dos parasitoides em espécies nativas (Gibert *et al.* 2010, Roy *et al.* 2011). No Cerrado, espécies nativas e exóticas de drosofilídeos coexistem e sabe-se que as exóticas *Zaprionus indianus* e *Drosophila simulans* não estão livres de parasitoides, já que foram observadas emergência de vespas em outros biomas (Hertlein 1986, Marchiori *et al.* 2003a, Guimarães *et al.* 2004), embora com baixos índices de parasitismo (Marchiori 2003, Marchiori e Silva 2003).

Parasitoides no Cerrado

O bioma Cerrado é um hotspot mundial de biodiversidade (Myers *et al.* 2000) que ocupa cerca de 2.000.000 km² na América do Sul. Ele é caracterizado por um mosaico de formações florestais, savânicas e campestres, as quais se classificam em 11 tipos diferentes de fitofisionomias. Dentre essas, o cerrado sentido restrito predominava originalmente, com uma proporção de 70% do bioma (Ribeiro e Walter 2008). Esse tipo de vegetação savânica é caracterizado por cobertura arbórea entre 50 e 70%, onde predominam árvores baixas (5 a 8

metros) com troncos retorcidos e de casca grossa (Ribeiro e Walter 2008). As matas de galeria são constituídas por uma alta cobertura arbórea (entre 20 a 30 metros) quando comparadas ao cerrado sentido restrito, uma vegetação perenifólia que sempre acompanha o curso de um rio (Ribeiro e Walter 2008). O clima no bioma é tropical, com uma época seca que dura de três a cinco meses consecutivos, geralmente entre maio e setembro, durante o inverno do Hemisfério Sul, e outra chuvosa nos demais meses (Silva e Bates 2009).

No Cerrado há muitos estudos sobre a família Drosophilidae, com informações sobre ocorrência e biologia. A fauna nativa de drosofilídeos pode ser encontrada em todos os tipos de vegetação do Cerrado, porém a maioria das espécies apresenta uma distribuição limitada em alguns habitats (Chaves e Tidon 2005). Nesse bioma há uma ampla gama de frutos que são utilizados por larvas de drosofilídeos para o seu desenvolvimento. As emergências dos adultos são significativamente maiores na época chuvosa, aumentando neste período a riqueza e abundância de espécies (Tidon 2006, Mata *et al.* 2015, Leão 2016).

A subfamília Eucoilinae (Figitidae), uma das principais subfamílias parasitoides de drosofilídeos, é encontrada em pupas de *Drosophila* em todos os biomas brasileiros (Guimarães *et al.* 2004). No Cerrado também há registros da presença das principais famílias de vespas parasitoides dos drosofilídeos, porém com pouca informação sobre a biologia dessas vespas (Marchiori *et al.* 2001, Moraes *et al.* 2012, Schneider *et al.* 2014).

Apesar de os drosofilídeos do Cerrado serem relativamente bem conhecidos, como explicado anteriormente, sabemos pouco sobre seus parasitoides. Conhecer as espécies hospedeiras e a distribuição espacial e temporal dos drosofilídeos e seus parasitoides contribui para o entendimento da diversidade desses organismos e de suas interações ecológicas, o que pode servir de base para outros estudos.

Objetivos

Este trabalho visou caracterizar as vespas parasitoides associadas a drosofilídeos no Cerrado. Os objetivos específicos, com as respectivas hipóteses foram:

1. Coletar e identificar vespas que sejam parasitoides e potenciais parasitoides de drosofilídeos.
2. Avaliar o parasitismo em espécies mais frequentes e abundantes de drosofilídeos, em campo e em laboratório, para identificar quais as espécies de vespas realmente parasitam drosofilídeos.
 - 2.1. Serão parasitados imaturos de drosofilídeos, tanto larvas quanto pupas.
 - 2.2. Serão parasitados drosofilídeos nativos da região Neotropical bem como procedentes de outras regiões biogeográficas (exóticos).
3. Investigar a distribuição espacial e temporal das vespas parasitoides em áreas conservadas.
 - 3.1. As vespas parasitoides serão mais abundantes onde e quando houver maior disponibilidade de hospedeiros drosofilídeos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção e identificação de potenciais parasitoides de drosofilídeos

Visando identificar as vespas potencialmente parasitoides de drosofilídeos, foram analisadas inicialmente as amostras desses himenópteros armazenadas no Laboratório de Biologia Evolutiva da Universidade de Brasília (UnB), coletadas em três trabalhos anteriores realizados no Cerrado. Oliveira (2013) investigou diversos aspectos de drosofilídeos cujos estágios imaturos se desenvolvem em frutos, e Paula (2015) e Leão (2016) analisaram comunidades de drosofilídeos adultos capturados com armadilhas de retenção. Apesar das vespas parasitoides não terem sido analisadas na época, elas foram preservadas pelos pesquisadores de cada trabalho em microtubos de 2,0 mL contendo álcool 70%.

Após a análise dessas amostras, foram realizadas novas coletas com armadilhas de retenção (Roque *et al.* 2011) e também com armadilhas contendo imaturos de drosofilídeos como iscas. Utilizando as vespas que se estabeleceram bem no laboratório, foi também possível testar o parasitismo em condições controladas, como forma de comprovar relações hospedeiro-parasitoide. Todas as metodologias serão detalhadas nos próximos subitens e resumidas na Tabela 2. Ao final do trabalho, só foram analisadas vespas com tamanho aproximadamente igual ou menor que pupas de drosofilídeos, pois parasitoides maiores não teriam como se desenvolver em pupas menores que seu próprio tamanho. Fêmeas de machos foram separados pela morfologia do ovipositor da fêmea e/ou dimorfismo sexual de alguns grupos.

Para a identificação das vespas parasitoides foram empregadas referências bibliográficas gerais (Goulet e Huber 1993, Hanson e Gauld 1995), e específicas para famílias, gêneros (Burks 1971, Wharton *et al.* 1997, Fernández e Sharkey 2006) e espécies (Guimarães *et al.* 2003, Reina e Vasta 2003, Gibson 2009). Os autores das espécies de drosofilídeos e parasitoides estão listados, respectivamente, nas Tabelas 1 e 3. O Dr. Jorge Anderson Guimarães, do Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças da Empresa Brasileira de Pesquisa

Agropecuária (Embrapa Hortaliças - Brasília/DF), colaborou com a identificação de vespas da família Figitidae.

Coleta de vespas em frutos

Foram recolhidos frutos, de diferentes espécies vegetais, em quatro unidades de conservação do Distrito Federal: Estação Ecológica de Águas Emendadas - ESECAE (15°34'26''S; 47°34'58''W), Parque Nacional de Brasília – PNB (15°43'56''S; 47°55'53''W), Jardim Botânico de Brasília – JBB (15°52'42''S; 47°50'17''W) e Reserva Ecológica do IBGE – IBGE (15°56'31''S; 47°52'41''W). As coletas foram padronizadas nas unidades de conservação: em cada uma foram amostradas duas áreas de matas de galeria e duas áreas de cerrado sentido restrito, de aproximadamente 400 m² cada e pelo menos 200 m de distância entre elas. As coletas foram realizadas mensalmente, entre outubro de 2010 e janeiro de 2012.

Durante cada evento de coleta, dois coletores (HV Oliveira e PHS Lopes) procuraram frutos caídos no solo, por 30 minutos em cada área, totalizando oito horas de esforço amostral em cada mês e 128 horas em todo o estudo, por cada coletor. Nessas ocasiões, foram recolhidos frutos intactos ou parcialmente degradados, de várias espécies e em diferentes estágios de decomposição, totalizando no máximo 50 frutos de cada espécie vegetal em cada área/dia, mas raramente houveram mais frutos que esta quantidade. No Laboratório de Biologia Evolutiva da UnB, esses frutos foram identificados, pesados, e armazenados individualmente em recipientes plásticos contendo vermiculita umedecida com uma solução de Nipagin®, a qual inibe o crescimento de fungos filamentosos. Esses recipientes foram cobertos com uma tela fina e translúcida para reter os adultos que emergiram dos frutos e foram acondicionados em ambientes a uma temperatura constante (25°C). Os drosofilídeos e vespas que emergiram dos frutos foram removidos a cada dois dias e armazenados em microtulos conforme mencionado anteriormente. Os drosofilídeos foram identificados por Oliveira (2013) e as vespas parasitoides foram analisadas por meio da bibliografia já citada.

Coletas de vespas em armadilhas de retenção de drosofilídeos

Após a observação da coleção do Laboratório de Biologia Evolutiva da UnB, percebeu-se que armadilhas utilizadas para reter drosofilídeos no campo, chamadas armadilhas de retenção (Roque *et al.* 2011), também eram capazes de capturar parasitoides. Por isso, pela primeira vez os parasitoides coletados por esse modelo de armadilha foram caracterizados e essas armadilhas foram utilizadas para a coleta também de parasitoides.

A armadilha de retenção consiste de duas partes de garrafas PET acopladas (Fig. 1 A), sendo que na parte superior há aberturas de 0,5 cm de diâmetro para entrada dos insetos (Fig. 1 D) e na parte inferior há um compartimento onde se coloca a isca para atrair os indivíduos (Fig. 1 F). Com o odor, os insetos entram na armadilha e vão para a parte de cima que é mais clara, porém ficam presos porque não há saída.

Para cada armadilha foi utilizada como isca uma mistura de 150 g de banana prata madura (parcialmente descascada e amassada) e 2 g de fermento de pão (*Saccharomyces cerevisiae*) previamente hidratado com 20 mL de água (Medeiros e Klaczko 1999). Essa mistura atrai os insetos para dentro da armadilha, porém por estar em um compartimento fechado, não é acessível para eles.

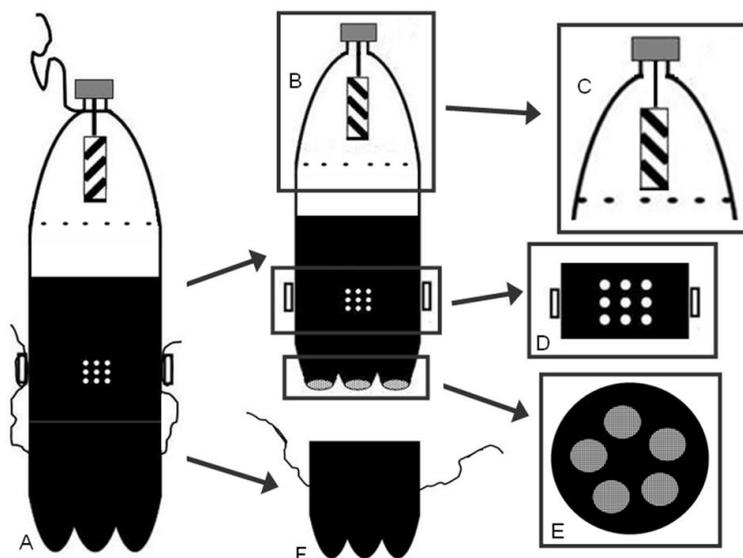


Fig. 1. Armadilha de retenção de drosofilídeos e parasitoides utilizada nos trabalhos Paula (2015) e Leão (2016) e em novas coletas deste trabalho (ilustração e detalhes da armadilha em Roque *et al.* 2011). (A) Armadilha completa, (B) compartimento de retenção de drosofilídeos e parasitoides, (C) detalhe dos buracos para eliminação da umidade, (D) buracos para entrada dos insetos, (E) buracos, vedados por um tecido, para passagem do odor, (F) compartimento para colocar a isca.

Paula (2015) e Leão (2016) monitoraram a comunidades de drosofilídeos na Reserva Ecológica do IBGE empregando essas armadilhas. Essa unidade de conservação possui 1350 ha e localiza-se nas coordenadas geográficas 15° 56' 41"S e 47° 53' 07"W, sendo uma das Áreas Núcleo da Reserva da Biosfera do Cerrado e parte da Área de Proteção Ambiental (APA) Distrital Gama-Cabeça de Veado, com um total de 10 000 ha de área protegida contínua.

No monitoramento foram realizadas 12 coletas bimestrais, entre outubro de 2013 e agosto de 2015, em cinco áreas de mata de galeria e cinco áreas de cerrado sentido restrito. No interior de cada área foram definidos três pontos distintos (réplicas) e em cada um foram colocadas três armadilhas de retenção em locais sombreados, a uma altura aproximada de 1,5 m do solo e afastadas 10 metros umas das outras. Nesse contexto, cada coleta utilizou 90 armadilhas.

A distância entre os pontos de coleta foi de pelo menos 30 metros em áreas de mata de galeria e 100 metros em áreas de cerrado sentido restrito, a fim de manter a independência entre as armadilhas (Mata *et al.* 2014). As armadilhas permaneceram no campo por quatro dias em cada evento amostral, e após a coleta os drosofilídeos e as vespas parasitoides capturadas foram transportados ao Laboratório de Biologia Evolutiva da UnB. Os drosofilídeos foram identificados no trabalho de Paula (2015) e Leão (2016), enquanto as vespas foram armazenadas e depois identificadas como especificado anteriormente.

Durante o presente trabalho foram realizadas novas coletas com essa metodologia. No IBGE foram realizadas coletas bimestrais entre outubro de 2015 e abril de 2016, sendo que nesse último mês foram amostradas apenas matas de galeria (dados anteriores revelaram que a abundância e diversidade de vespas e drosofilídeos se concentram nessa fitofisionomia), totalizando 466 armadilhas no IBGE desde 2013. Em março de 2016 foi realizada uma coleta adicional nos arredores do Laboratório de Termobiologia na Universidade de Brasília, no campus Darcy Ribeiro (área chamada neste trabalho de TERMO), com cinco armadilhas, visando avaliar um ambiente urbanizado.

A área que circunda o laboratório de Termobiologia tem sido utilizada por estudantes e professores para pesquisas, principalmente relacionadas à botânica. Ela encontra-se urbanizada, com construções e cultivos de vários vegetais, mas ainda possui vegetação que se aproxima do cerrado sentido restrito. Apesar de pequena (aproximadamente 9 600 m²) e rodeada por ambientes urbanos e gramados, a TERMO apresenta alta abundância e riqueza de drosofilídeos (dados não publicados) e por essa razão, ela foi selecionada para a coleta de vespas parasitoides dessas moscas.

Dados de temperatura média e precipitação total nos meses de coleta foram utilizados para avaliar possíveis influências do clima nos parasitoides. Esses dados foram fornecidos pela

Estação Meteorológica do IBGE e consistem de medições diárias feitas do ano de 2013 ao ano de 2016 (Fig. 2).

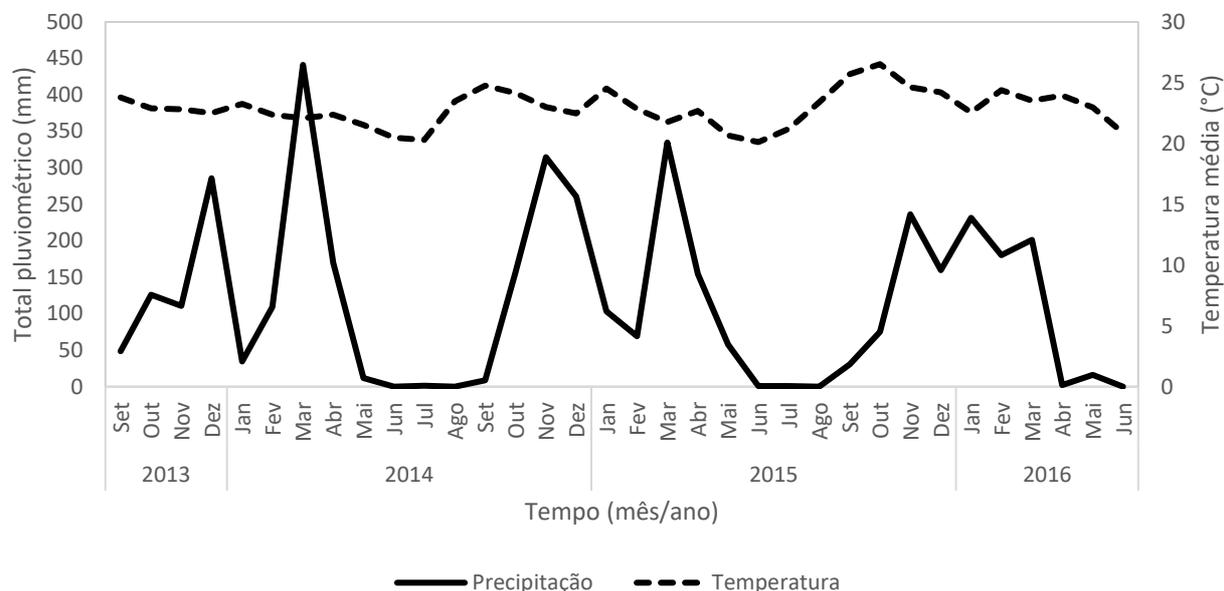


Fig. 2. Precipitação total e temperatura média mensal na Reserva Ecológica do IBGE, entre setembro de 2013 e junho de 2016.

Coleta de vespas com iscas de imaturos de drosofilídeos

Para associar especificamente quais drosofilídeos são hospedeiros de quais espécies de parasitoides, foi desenvolvida uma armadilha com iscas vivas de larvas e pupas de drosofilídeos, chamada neste trabalho de armadilha com imaturos. Ela foi baseada em armadilhas já utilizadas para a coleta de parasitoides e para relação entre espécie de hospedeiro e parasitoide (Rossi Stacconi *et al.* 2013), porém foi totalmente redesenhada para ser mais resistente e apropriada para coletas no Cerrado.

A armadilha com imaturos (Fig. 3A) consiste em seis frascos de vidro (150 mL cada) posicionados dentro de um pote plástico (1,5 L), do tipo usado para a venda de sorvetes. Os frascos foram devidamente acomodados dentro do pote com o apoio de fragmentos de espuma de poliuretano umedecida, evitando que eles se movimentassem e mantendo a umidade no

sistema. Uma aba de polipropileno foi fixada sobre a abertura do pote, com o intuito de proteger os frascos do sol e da chuva sem impedir a entrada e saída de insetos.



Fig. 3. Armadilhas com imaturos de drosofilídeos utilizadas no campo, (A) disposição dos frascos dentro do pote plástico, (B) armadilhas prontas para a coleta. Dentro de cada frasco de vidro há meio de cultura de banana (Anexo 1) e estágios imaturos de uma espécie focal de hospedeiro (isca). As armadilhas foram colocadas no campo na posição ilustrada, com a aba em amarelo para cima visando proteger o conjunto do sol e chuva.

Visando aumentar as chances de atrair parasitoides, foram colocados nos frascos imaturos de espécies de *Drosophilidae* que estão entre as mais abundantes do Cerrado e representativos de diferentes subgêneros (Tidon 2006, Valadão *et al.* 2010, Mata e Tidon 2013, Roque *et al.* 2013, Mata *et al.* 2015), já que geralmente possuem uma maior gama de parasitoides (Fleury *et al.* 2004). Assim, em cada armadilha havia espécies da Tabela 1, uma em cada frasco.

Tabela 1. Caracterização das espécies de Drosophilidae avaliadas como potenciais hospedeiros de vespas parasitoides no Cerrado. E: espécie exótica à região Neotropical. * Utilizada em apenas uma coleta (maio).

Espécie	Subgênero	Distribuição geográfica
<i>Drosophila cardini</i> Sturtevant	<i>Drosophila</i>	Região Neotropical e Havaí
<i>D. mercatorum</i> Patterson & Wheeler	<i>Drosophila</i>	Região Neotropical, EUA, Havaí, Europa, Eurásia, África e Oceania
<i>D. nasuta</i> ^{E*} Lamb	<i>Drosophila</i>	Europa, Eurásia, EUA, Havaí
<i>D. nebulosa</i> Sturtevant	<i>Sophophora</i>	Região Neotropical
<i>D. willistoni</i> Sturtevant	<i>Sophophora</i>	Região Neotropical
<i>D. simulans</i> ^E Sturtevant	<i>Sophophora</i>	Cosmopolita
<i>Zaprionus indianus</i> ^E Gupta	<i>Zaprionus</i>	Cosmopolita

Foram preparadas armadilhas contendo larvas e pupas de drosofilídeos, separadamente. Em ambos os casos, cada frasco foi parcialmente preenchido a partir da base com 1,5 cm de meio de banana (Anexo 1). Após receber as iscas de imaturos, cada armadilha foi envolta individualmente em uma rede plástica (do tipo usado para embalar 5kg de cebolas, nos mercados), e ao final da preparação as armadilhas foram lacradas com sacos plásticos com o intuito de não as contaminar até sua chegada ao campo.

Armadilhas com iscas de larvas e pupas de drosofilídeos foram depositadas no IBGE e na TERMO. A primeira área foi escolhida por sua tradição em pesquisas com drosofilídeos e presença constante de vespas parasitoides nas armadilhas de retenção. A segunda área pela presença de diferentes espécies de drosofilídeos, apesar da área ser pequena em relação ao IBGE, como detalhado no subitem anterior. Duas coletas foram realizadas, em fevereiro e maio, em dias em que o tempo estava úmido, para evitar a desidratação dos imaturos de drosofilídeos. Os meses foram escolhidos com base na época que coincidiu grande disponibilidade de imaturos de drosofilídeos no laboratório e dias chuvosos.

Em fevereiro de 2016 foram realizadas coletas na reserva do IBGE e na TERMO, simultaneamente. Na primeira, as armadilhas foram distribuídas nas mesmas cinco áreas de mata de galeria investigadas por Paula (2015) e Leão (2016). Em cada área foram definidos três pontos distintos (réplicas) e em cada um foram colocadas duas armadilhas com imaturos, uma com larvas e a outra com pupas de drosofilídeos, próximas de onde se encontravam as armadilhas de retenção. Isso possibilitou uma maior concentração do odor da fermentação e de drosofilídeos adultos próximos às armadilhas, o que a princípio potencializa a atração de parasitoides (Vet e Alphen 1985). Na TERMO, foram distribuídas cinco pares (larva/pupa) de armadilhas de maneira a deixar as armadilhas o mais distante possível uma da outra e embaixo de árvores. Assim, em fevereiro, foram utilizadas 30 armadilhas no IBGE e 10 na TERMO.

Os imaturos de cada espécie foram obtidos a partir de linhagens bem estabelecidas no laboratório. Adultos maduros foram deixados para ovipositar em meio de banana por 24 h, em condições controladas (25°C, 12/12h), e então foram retirados dos frascos. Após outro período de 24 h para eclosão dos ovos, os frascos com larvas foram destinados à coleta de parasitoides de larva em campo. Para atrair parasitoides de pupa, seguiu-se o mesmo protocolo em relação aos adultos maduros, porém a permanência no laboratório foi maior, variando de oito dias (para *D. simulans* e *D. willistoni*) a nove dias (para *D. cardini*, *D. mercatorum*, *D. nebulosa*, *D. nasuta* e *Z. indianus*), dependendo do tempo de desenvolvimento da espécie. Todos os imaturos foram mantidos no frasco onde foram ovipositados como forma de manter na armadilha infoquímicos dos adultos, já que também podem atrair parasitoides (Couty *et al.* 1999).

O número de pupas disponíveis para os parasitoides em cada frasco não foi contabilizado, já que não foi possível saber quantas larvas empuparam após o frasco ter sido levado ao campo e nem quantos adultos emergiram. No caso das larvas, várias espécies de drosofilídeos do campo ovipositaram no meio de banana disponibilizado pela armadilha, tornando difícil não só a contabilidade como também a identificação de qual espécie de mosca

cada parasitoide de larva emergiu. Por essa razão, não foi feita associação parasitoide-hospedeiro nessas armadilhas e a partir da segunda coleta foram empregadas apenas armadilhas com pupas. Embora essas últimas também tenham sido contaminadas com imaturos do campo, a chance de as larvas contaminantes terem empupado e sofrido parasitismo é pequena, já que as armadilhas permaneceram em campo por apenas quatro dias, tempo insuficiente para que oviposições em campo atinjam esse estágio de desenvolvimento. Observações feitas no laboratório sugerem que mesmo as espécies com desenvolvimento rápido, como *D. simulans* e *D. willistoni*, atingem o estágio de pupa apenas a partir do 6º dia, considerando a temperatura de 25°C e meio de cultura nutritivo.

Ao chegar no local de sua fixação na área de estudos, a armadilha foi aberta e recebeu um pouco da mistura 1:1 de vaselina com óleo de soja, a qual foi espalhada por toda a abertura do pote de plástico, no ápice da rede plástica e por todo o arame, para evitar a entrada de formigas nas armadilhas. Em seguida, a armadilha foi devidamente etiquetada, com a localização de sua posição em campo, e o conjunto foi fixado na vegetação a 1,0 m de altura, mediante um arame de alumínio de 1 mm de diâmetro.

As armadilhas permaneceram em campo por quatro dias, preferencialmente em locais sombreados, para evitar ressecamento do meio e dos imaturos empregados como isca. Após esse período elas foram vedadas novamente, visando evitar contaminações, e transferidas para o laboratório. Nesse ambiente, os frascos foram retirados dos potes e armazenados sob temperatura e fotoperíodo controlados (25°C, 12/12h). Os adultos que emergiram foram retirados dos potes a cada dois ou três dias. Os drosofilídeos foram descartados, e as vespas parasitoides foram identificadas, utilizando as referências citadas anteriormente, e armazenadas vivas para utilização nos experimentos de associação hospedeiro-parasitoide. Na identificação, foi utilizado o gás de dióxido de carbono para que as vespas ficassem imóveis. As vespas que morreram foram colocadas em microtubos com álcool 70%.

Durante a coleta de fevereiro algumas armadilhas apresentaram problemas, como a entrada de água em alguns frascos e liquefação com conseqüente derramamento do meio de banana para fora da armadilha, o que pode ter causado perda de imaturos. Por isso, mesmo podendo utilizar os dados de fevereiro para as análises, as armadilhas foram modificadas nas coletas seguintes (Fig. 4A-B). Continuou-se utilizando os potes de plástico, porém esses agora ficavam com a abertura para cima e tampados, com tampas também de plástico. Foram feitas quatro aberturas nas laterais dos potes, para livre trânsito dos parasitoides, e os frascos foram dispostos na direção vertical com a abertura para cima, o que solucionou o problema da entrada de água e da perda do meio e de imaturos. A rede plástica e o arame continuaram sendo utilizados para sustentar o conjunto do pote com os frascos. Outra diferença nessa coleta foi o número de frascos, que passou de seis (150 mL) para quatro (200 mL) por pote, sendo que um dos sete potes utilizados, possuía apenas três frascos. O maior volume do frasco permitiu um aumento da superfície do meio de banana e conseqüentemente a acomodação de um maior número de pupas. O número de frascos por espécie variou de acordo com a disponibilidade de pupas jovens nas linhagens do laboratório, nos dias que antecederam a colocação das armadilhas no campo, sendo utilizados *Drosophila mercatorum* (6 frascos), *D. willistoni* (5), *D. simulans* (5), *D. nasuta* (4), *D. cardini* (3), *D. nebulosa* (3) e *Z. indianus* (1). Para a obtenção dessas pupas, utilizou-se o mesmo protocolo do mês de fevereiro. A espécie *D. nasuta* foi adicionada porque é uma invasora recente na Região Neotropical (Vilela e Goñi 2015) e a partir de março de 2016 passou a ser mantida em linhagens no Laboratório de Biologia Evolutiva da UnB.



Fig. 4. Versão revisada das armadilhas com imaturos de drosofilídeos utilizadas no campo (A) frascos com meio de banana e pupas armazenadas no laboratório, (B) armadilhas após as modificações no seu formato, agora tampadas com apenas aberturas nas laterais, (C) posição da armadilha em campo por quatro dias.

Em maio de 2016 foi realizada uma outra coleta na TERMO, com esforço amostral de sete armadilhas contendo apenas pupas. Devido ao grande esforço e pequeno número de indivíduos coletados em fevereiro no IBGE, as coletas de vespas foram descontinuadas nessa reserva.

Experimentos de parasitismo em laboratório

Buscou-se com esses experimentos ver as relações entre espécies de drosofilídeos e parasitoides, igual ao que foi feito em campo com as armadilhas com imaturos, porém dessa vez em condições controladas no laboratório. Como não foi encontrado protocolo para criação dessas espécies em laboratório, essa parte da metodologia foi importante não só para

determinar essas relações, como também criar um protocolo de manutenção de espécies de parasitoides em condições controladas e específicos para parasitoides de larva e de pupa.

Os experimentos foram realizados com duas espécies de parasitoides de larva: *Ganaspis* sp. 3 e *Dicerataspis grenadensis* (Figitidae) e três de parasitoides de pupas: *Pachycrepoideus vindemmiae*, *Spalangia simplex* (Pteromalidae) e *Eurytoma* sp. 1 (Eurytomidae). As espécies de drosofilídeos utilizadas no laboratório foram as mesmas utilizadas nas armadilhas com imaturos no campo (*Drosophila cardini*, *D. mercatorum*, *D. nasuta*, *D. nebulosa*, *D. willistoni*, *D. simulans* e *Z. indianus*), visando a comparação dos dados. Como no laboratório não havia linhagens anteriores à coleta de parasitoide para o teste, grupos de uma a três fêmeas de cada espécie de parasitoide foram distribuídos em sete frascos contendo larvas ou pupas (dependendo do parasitoide), onde havia apenas uma espécie de drosofilídeo. O procedimento detalhado do experimento está descrito a seguir.

As vespas capturadas com armadilhas de imaturos foram mantidas em laboratório em dieta de mel-ágar, que contém mel, açúcar mascavo, ágar, água e Nipagin®, como descrito por Sandanayaka e Ramankutty (2007), em frascos de 100 mL tampados com duas tiras de tecido do tipo filó, os quais foram fixados ao frasco com um elástico de látex. Apesar da dieta ser sólida, as vespas se alimentaram sem maiores problemas. Esses indivíduos foram mantidos a 21°C e fotoperíodo de 12:12h, em uma estufa do tipo *Biochemical Oxygen Demand* (BOD), em cujo interior foi colocado um recipiente contendo água para manter a umidade. Nessa temperatura as vespas diminuem seu metabolismo e aumentam assim sua longevidade. Os indivíduos foram transferidos para uma nova dieta semanalmente, e as linhagens que se estabeleceram foram então utilizadas nos experimentos do laboratório. A proporção de parasitismo de cada espécie de vespa em relação a cada espécie de mosca, utilizada como isca no campo, foi estimada pela razão entre o número de vespas emergidas e o número de pupas no frasco.

A metodologia usada para teste de parasitismo no laboratório apresenta algumas particularidades para parasitoides de larvas e pupas. No primeiro caso, todos os parasitoides que emergiram de frascos vindos do campo e pertenciam à mesma espécie foram mantidos juntos durante cinco dias, sem larvas, para se alimentarem e acasalar. Em seguida, as fêmeas foram colocadas individualmente em frascos com meio de banana e larvas de 1º instar de drosofilídeos de uma das espécies focais, por 3 a 5 dias. Depois disso, a fêmea foi retirada e o frasco armazenado a 25°C e fotoperíodo 12/12h. Esses frascos, com potencial oviposição da fêmea parasitoide, foram observados duas vezes por semana para retirar e descartar os drosofilídeos que emergiam e para transferir as vespas recém emergidas para novos frascos com a dieta de mel e ágar. Os parasitoides de pupa originados do campo foram mantidos da mesma forma que os parasitoides de larva, tanto antes quanto após o parasitismo em laboratório, com a diferença de que as pupas foram colocadas em frascos com dieta de mel-ágar, aderidas à superfície interna do frasco. Essa alteração foi realizada com base na observação de que a vespa não sobrevivia e/ou não parasitava quando colocada no meio de banana. Todas as pupas selecionadas dos meios de banana ainda eram pré-pupas ou pupas recém-formadas.

Análises

Para analisar se há diferença significativa na abundância de vespas entre as áreas e entre os períodos seco e chuvoso, utilizou-se os dados das armadilhas de retenção colocadas no IBGE, que tiveram um esforço e um tamanho amostral suficiente de parasitoides e potenciais parasitoides de drosofilídeos para fazer o teste estatístico. Para os cálculos considerou-se todas as coletas do cerrado sentido restrito e mata de galeria entre outubro de 2013 e abril de 2016 e os períodos seco (maio a setembro) e chuvoso (outubro a abril). Foi analisado então se há diferença significativa na abundância de vespas entre as áreas de mata de galeria e cerrado

sentido restrito e entre os períodos seco e chuvoso. O programa utilizado para todas as análises foi IBM SPSS Statistics 23.0 (Field 2009).

Primeiramente realizou-se o teste de Shapiro-Wilk que avalia a normalidade dos dados (Bussab e Morettin 2004). A hipótese de normalidade foi rejeitada e então utilizou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney, que considera duas amostras aleatórias da população e independentes entre si e testa se uma população possui valores maiores que a outra. Para isso é feita a ordenação crescente de todos os valores, independentemente de qual das duas amostras eles tiveram origem e então trabalha-se com os postos de cada valor, para ver se há diferença entre os grupos (Bussab e Morettin 2004).

Para observar quais variáveis aumentam a probabilidade de se encontrar vespas parasitoides de drosofilídeos foi utilizado o modelo de regressão logística (Hosmer *et al.* 2013), utilizando os dados das armadilhas de retenção colocadas no IBGE e os dados meteorológicos da reserva. Para a seleção das variáveis foi utilizado o método de backward, que examina o nível de importância de cada variável e determina as variáveis mais significativas, independente do modelo de regressão. Então, analisou-se se há diferença de probabilidade entre variáveis categóricas: épocas (chuvosa ou seca) e fitofisionomias (mata de galeria ou cerrado sentido restrito); e variáveis contínuas: mudança de temperatura e abundância de drosofilídeos. Espera-se como resposta uma variável categórica binária (sim/não), com base nas variáveis qualitativas e quantitativas.

A regressão logística visa, por meio de variáveis independentes, prever os valores da variável dependente, sendo o resultado uma probabilidade de acontecimentos, neste caso a probabilidade de encontrar vespas parasitoides de drosofilídeos. Para confirmar a existência de um modelo de regressão, utilizou-se o teste de ajuste do modelo (teste de Omnibus) e o teste de validação dos coeficientes, que avalia as variáveis individualmente para ver se influenciam no resultado, sendo retiradas as que não possuem influência (Jr Hair *et al.* 2005).

Para todas as análises acima as diferenças e interações foram consideradas significativas quando a probabilidade do erro tipo I B era menor que 5% (p-valor).

As comparações entre parasitoides de larva e de pupa e de macho e fêmea em diferentes armadilhas foram feitas visualmente por meio de gráficos.

Não foi possível fazer análises estatísticas com a abundância de parasitoides coletados nos frutos devido à insuficiência do tamanho amostral.

Tabela 2. Comparação entre as metodologias utilizadas em campo e em laboratório. * Uma coleta em março. ** Uma coleta em fevereiro.

Metodologia	Local	Período (mês/ano)	Periodicidade	Objetivo principal
Coleta de frutos	ESECAE / PNB / JBB / IBGE	10/2010 a 12/2012	Mensal	Encontrar potenciais parasitoides de drosofilídeos; Investigar distribuição espacial e temporal
Armadilhas de retenção	IBGE / TERMO*	10/2013 a 04/2016	Bimestral	Encontrar potenciais parasitoides de drosofilídeos; Investigar distribuição espacial e temporal
Armadilhas com imaturos	IBGE** / TERMO	02/2016 e 04/2016	Duas coletas	Encontrar potenciais parasitoides de drosofilídeos; Observar parasitismo de diferentes espécies de drosofilídeos em ambiente natural
Experimentos em laboratórios	Laboratório de Biologia Evolutiva (UnB)	03/2016 a 06/2016	-	Observar parasitismo em diferentes espécies de drosofilídeos em condições controladas

RESULTADOS

Neste trabalho foram analisadas 872 vespas parasitoides coletadas em frutos, armadilhas de retenção ou com iscas de imaturos de drosofilídeos. Desse grupo, 845 indivíduos foram considerados potenciais parasitoides de drosofilídeos. Foram identificadas cinco famílias de parasitoides: Figitidae, Braconidae, Pteromalidae, Eurytomidae e Dipriidae (Tabela 3, com ilustrações no apêndice 2). Os espécimes da família Platygasteridae, apesar terem o tamanho de um parasitoide de drosofilídeo, aqui não foram considerados parasitoides dessas moscas devido aos dados da literatura e à baixa ocorrência nas armadilhas. Outros espécimes, potenciais parasitoides, não foram identificados porque estavam danificados ou não se encontrou material bibliográfico para sua determinação. Insetos não-parasitoides também entraram nas armadilhas, como himenópteros das famílias Apidae, Vespidae e Formicidae, besouros (ordem Coleoptera) e dípteros que não pertenciam à família Drosophilidae.

A abundância de vespas em armadilhas e frutos foi baixa, considerando o esforço amostral. Dos 548 frutos coletados com drosofilídeos (Mata *et al.* 2015), potenciais parasitoides emergiram em apenas 1% deles. Dentre as 470 armadilhas de retenção, 31% registraram a ocorrência de potenciais parasitoides de drosofilídeos. Nas armadilhas com imaturos, 21% dos frascos expostos foram parasitados.

Praticamente todos os parasitoides capturados em frutos e armadilhas de retenção atacam o estágio larval de insetos, enquanto que as iscas de imaturos atraíram principalmente parasitoides de pupas (Fig. 5A). A abundância relativa das famílias de vespas também diferiu entre métodos de coleta (Tabela 3). Entre os parasitoides de larva, os braconídeos predominaram nos frutos (66% das vespas) e os figitídeos nas armadilhas de retenção (94%). Quanto aos parasitoides de pupa, os eurytomídeos ocorreram apenas em armadilhas com imaturos, os dipriídeos em armadilhas de retenção, e os pteromalídeos em ambas as armadilhas.

Tabela 3. Vespas potencialmente parasitoides de drosofilídeos e os respectivos métodos de coleta pelos quais foram capturadas no Cerrado, em áreas conservadas e urbanizadas, entre outubro de 2010 e maio de 2016. FR: frutos, AR: armadilhas de retenção, AI: armadilhas com imaturos.

Grupo de parasitoides	Classificação taxonômica			Método de coleta			Total
	Família	Subfamília	Espécie	FR	AR	AI	
	Figitidae	Eucoilinae	<i>Dicerataspis grenadensis</i> Ashmead 1896	0	224	0	224
	Figitidae	Eucoilinae	<i>Ganaspis</i> sp. 2	1	185	0	186
	Figitidae	Eucoilinae	<i>Ganaspis</i> sp. 3	0	42	47	89
	Figitidae	Eucoilinae	<i>Leptopilina boulardi</i> (Barbotin, Carton & Kelner-Pillaut, 1979)	17	20	0	37
	Figitidae	Eucoilinae	<i>Ganaspis</i> sp. 1	3	25	0	28
Parasitoides de larva	Figitidae	Eucoilinae	<i>Tropideucoila weldi</i> Costa Lima, 1940	0	1	0	1
	Figitidae	Eucoilinae	<i>Moneucoela</i> sp. 1	0	1	0	1
	Figitidae	Eucoilinae	<i>Ganaspis</i> sp. 4	0	1	0	1
	Braconidae	Alysiinae	<i>Aphaereta</i> sp. 1	40	17	0	57
	Pteromalidae	Pteromalinae	<i>Pachycrepoideus vindemiae</i> (Rondani, 1875)	0	0	180	180
Parasitoides de pupa	Pteromalidae	Spalangiinae	<i>Spalangia simplex</i> Perkins 1910	0	1	7	8
	Eurytomidae	Eurytominae	<i>Eurytoma</i> sp. 1	0	0	21	21
	Dipriidae	Dipriinae	<i>Trichopria</i> sp. 1	0	6	0	6
Outras				0	5	1	6
Totais				61	528	256	845

A relação entre vespas machos e fêmeas também diferiu entre as armadilhas. Em frutos e armadilhas com imaturos essa proporção foi de aproximadamente 1:1, enquanto que nas armadilhas de retenção, tanto do IBGE quanto da TERMO, houve uma forte predominância de fêmeas, com apenas um macho coletado (Fig. 5B).

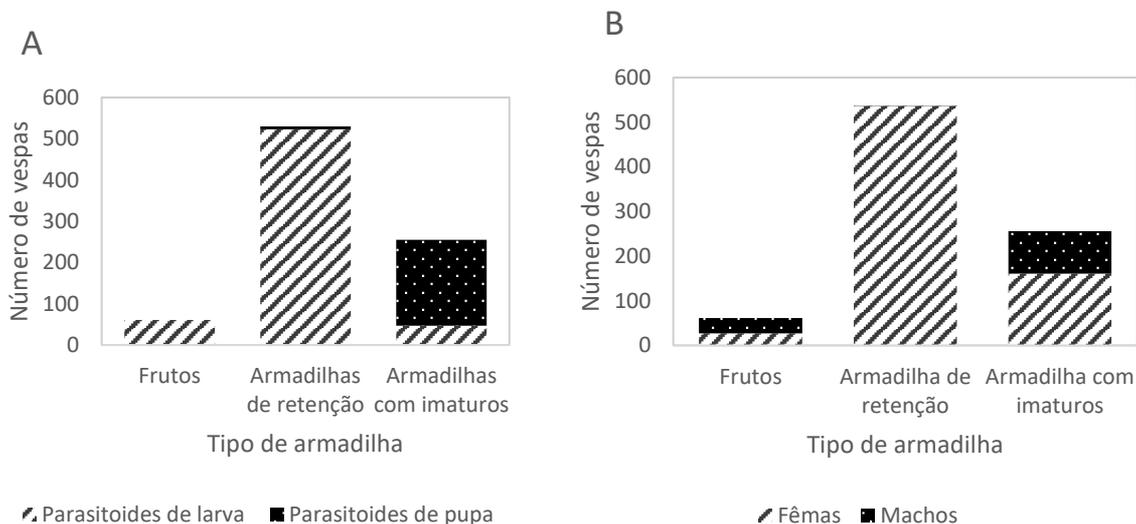


Fig. 5. Abundância absoluta e relativa (A) de potenciais parasitoides de larva e de pupa de drosofilídeos e (B) de vespas parasitoides machos e fêmeas, coletadas de diferentes formas no IBGE.

Não foi possível relacionar os parasitoides de larva que emergiram das armadilhas com imaturos com as espécies de larvas que haviam sido colocadas em cada frasco, por causa da oviposição de outras espécies de drosofilídeos do campo dentro dos frascos. Porém, com todos os parasitoides de pupa foi possível fazer a relação espécie-parasitoide (Tabela 4).

Os testes em laboratório revelaram que todos os drosofilídeos testados, tanto espécies neotropicais quanto exóticas a essa região, foram parasitados por pelo menos três espécies de vespa (Tabela 4): *Pachycrepoideus vindemiae*, *Spalangia simplex* e *Ganaspis* sp. 3 (Fig. 6 B-C). Foram observadas encapsulações, inclusive mais de uma por larva (Fig. 6A), em larvas de *Zaprionus indianus* parasitadas por *Ganaspis* sp. 3.

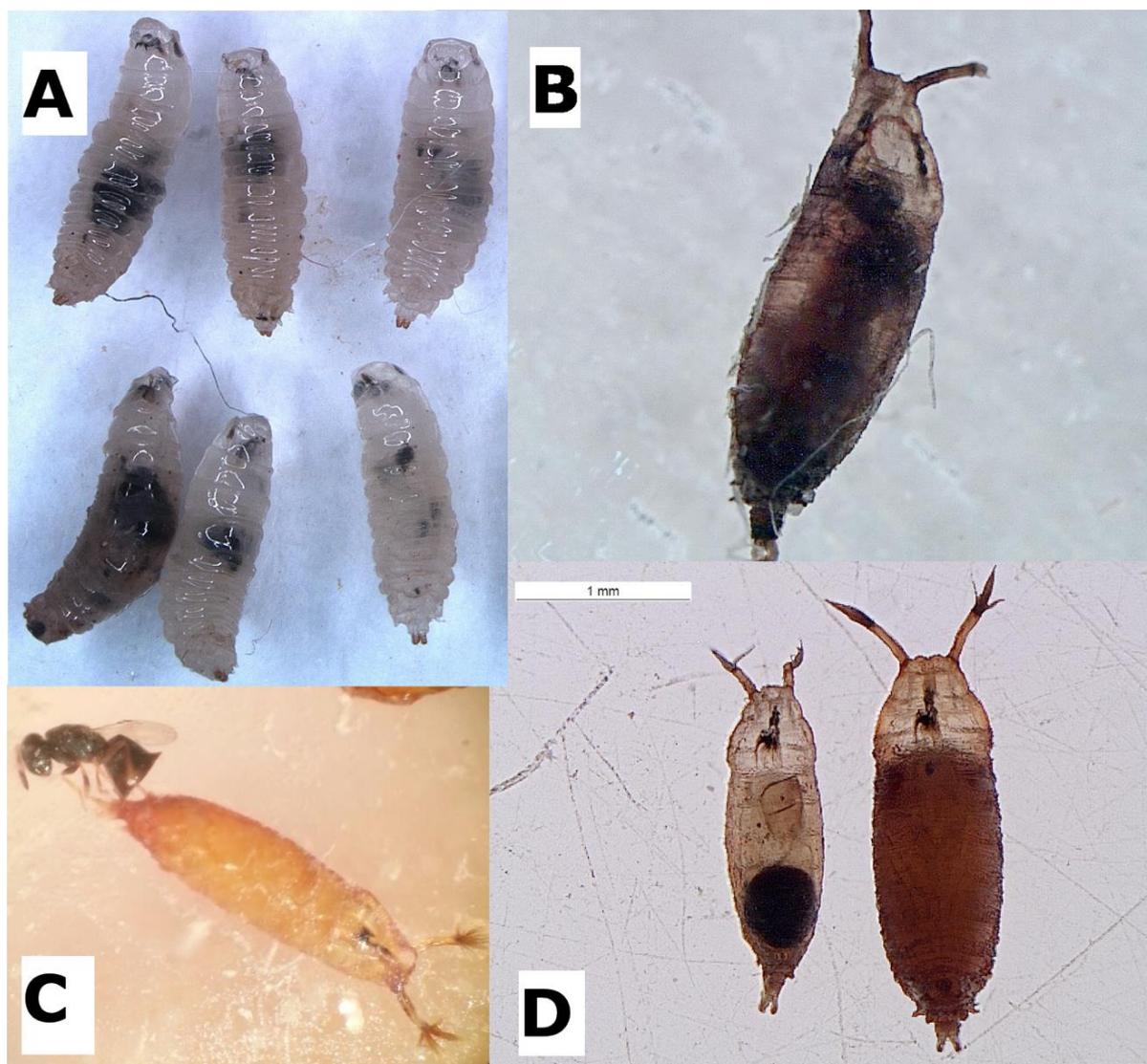


Fig 6. Parasitismo de drosofilídeos em laboratório. Parasitoides de larva: (A) Encapsulação em larvas *Zaprionus indianus* Gupta (Drosophilidae) parasitadas por *Ganaspis* sp.3 (Figitidae) e (B) *Ganaspis* sp. 3 minutos antes de emergir de *Z. indianus*. Parasitoides de pupa: (C) Momento da oviposição de *Pachycrepoideus vindemiae* (Rondani, 1875) (Pteromalidae) em *Drosophila mercatorum* (Patterson & Wheller) (Drosophilidae), foto tirada por Brenda Garcia. (D) Larva de *Spalangia simplex* Perkins, 1910 (Pteromalidae) se desenvolvendo em pupa de *Z. indianus* (esquerda) e pupa não parasitada (direita). A-C: imagens fora de escala. D: escala de 1mm.

Tabela 4. Confirmação de relação parasitoide-hospedeiro entre vespas parasitoides e drosofilídeos, em armadilhas com imaturos no campo () e experimentos em laboratório (). A ausência de símbolo significa que não foi observado parasitismo.

Táxon	<i>D. willistoni</i>	<i>D. cardini</i>	<i>D. mercatorum</i>	<i>D. nebulosa</i>	<i>D. nasuta</i>	<i>D. simulans</i>	<i>Z. indianus</i>
Parasitoides de larva	<i>Ganaspis sp.3</i>						
	<i>D. grenadensis</i> *						
de							
Parasitoides de pupa	<i>P. vindemiae</i>	 	 	 	 	 	 
	<i>S. simplex</i>						 
	<i>Eurytoma sp. 1</i>			 	 		

* *D. grenadensis* parasitou *D. willistoni* e não sobreviveu para a realização dos demais testes de parasitismo.

A proporção de parasitismo dos parasitoides de pupa foi estimada em laboratório para as sete espécies de drosofilídeos hospedeiros. As espécies *Pachycrepoideus vindemiae* e *Spalangia simplex* apresentaram maiores proporções de parasitismo quando comparadas com a morfoespécie *Eurytoma* sp. 1, sendo que a maior proporção de parasitismo foi de *S. simplex* na exótica *Drosophila nasuta* (Tabela 5).

Tabela 5. Proporção de parasitismo de parasitoides de pupa, utilizando drosofilídeos como hospedeiros em laboratório. Dcar: *Drosophila cardini*, Dmer: *D. mercatorum*, Dnas: *D. nasuta*, Dneb: *D. nebulosa*, Dsim: *D. simulans*, Dwil: *D. willistoni*, Zind: *Zaprionus indianus*.

Táxon	Espécies de drosofilídeos						
	Nativas				Exóticas		
	Dcar	Dmer	Dwil	Dneb	Dnas	Dsim	Zind
<i>Pachycrepoideus vindemiae</i>	0,48	0,22	0,02	0,22	0,14	0,05	0,20
<i>Eurytoma</i> sp. 1	0	0,03	0	0,03	0	0	0,02
<i>Spalangia endius</i>	0,43	0,08	0,07	0,49	0,66	0,07	0,17

A abundância dos parasitoides em cerrados e matas variou em função do método de coleta (Tabela 6). Nos frutos, o número de vespas emergidas nesses dois tipos de formação vegetal foi semelhante. Já nas armadilhas de retenção colocadas no IBGE, o total de parasitoides foi aproximadamente cinco vezes maior na mata de galeria do que no cerrado sentido restrito e se mostrou significativo ($N_{mata}= 428$; $N_{cerrado}= 84$; média mata = 1,76, cerrado= 0,37; U de Mann Whitney = 22 374; $p < 0,001$). Essa diferença é significativa também se considerar a abundância apenas do período chuvoso ($N_{mata}= 415$; $N_{cerrado}= 74$; média mata= 2,29, cerrado= 0,45; U de Mann Whitney = 11 423; $p < 0,01$). Nas armadilhas com imaturos, 95% dos indivíduos foram capturados na área urbanizada

e apenas 5% na mata de galeria, embora o esforço amostral tenha sido muito maior no ambiente natural.

Tabela 6. Abundância de potenciais parasitoides de drosofilídeos coletados por ambiente, considerando os três métodos de coleta, com a relação de indivíduos coletados por total de amostras ou unidades amostrais em cada metodologia. Coletas realizadas entre outubro de 2010 e maio de 2016.

Forma de coleta	Ambiente			Total de amostras	Indivíduos/ amostra
	Mata	Cerrado	Urbano		
Frutos	32	29	-	2496	0,02
Armadilhas de retenção	426	84	18	470	1,12
Armadilhas com imaturos	12	-	244	47	5,44
Total	470	113	262	3013	0,28

Além de variação espacial, também foi observada uma forte flutuação temporal.

Nos frutos, as coletas de todas as vespas parasitoides, inclusive dos potenciais parasitoides de drosofilídeos, ocorreram apenas na época chuvosa, entre novembro de 2010 e março de 2011 (Fig. 7). Nas armadilhas de retenção, a abundância de vespas é maior na época chuvosa (Fig. 8), principalmente nos meses de fevereiro (ano de 2014 e 2016) e abril (2015), nas duas fitofisionomias em relação à época seca ($N_{\text{chuva}} = 289$; $N_{\text{seca}} = 23$; média chuva = 0,83, seca = 0,19; U de Mann Whitney = 15 863; $p < 0,01$). Considerando as duas fitofisionomias amostradas com armadilhas de retenção, a abundância de drosofilídeos (84782 indivíduos) foi aproximadamente 160 vezes maior que a abundância de vespas parasitoides (528). Apesar disso, as flutuações temporais de parasitoides e drosofilídeos se assemelharam (Fig. 9), com picos populacionais sincronizados principalmente na mata de galeria.

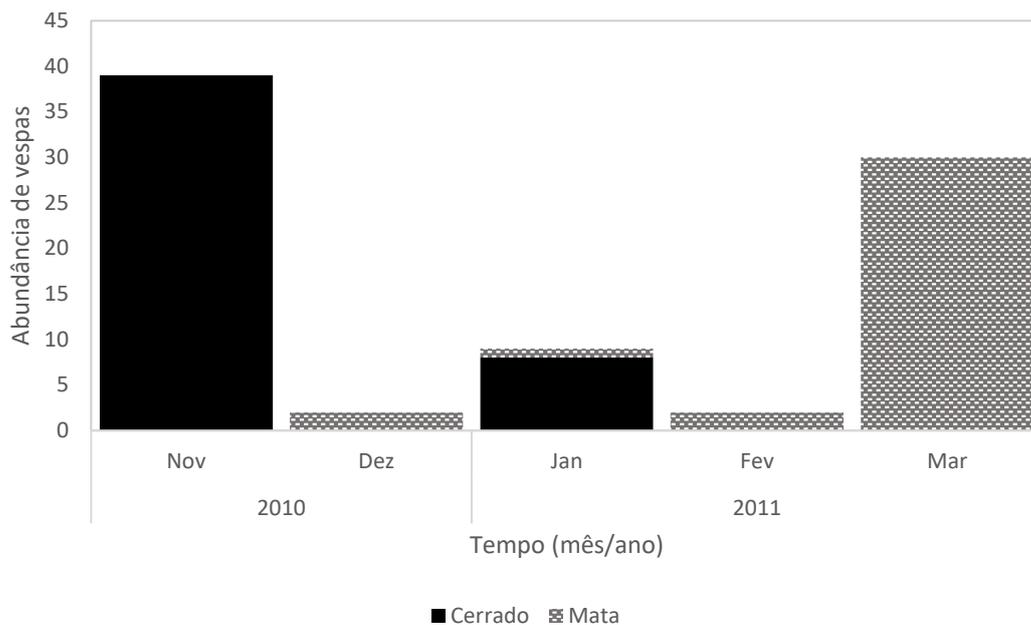


Fig. 7. Abundância relativa e absoluta de potenciais parasitoides de drosofilídeos que emergiram de frutos do cerrado sentido restrito e da mata de galeria, coletados em reservas ecológicas do DF de outubro de 2010 a janeiro de 2012. Foram representados no gráfico apenas os meses em que houve coleta de parasitoides.

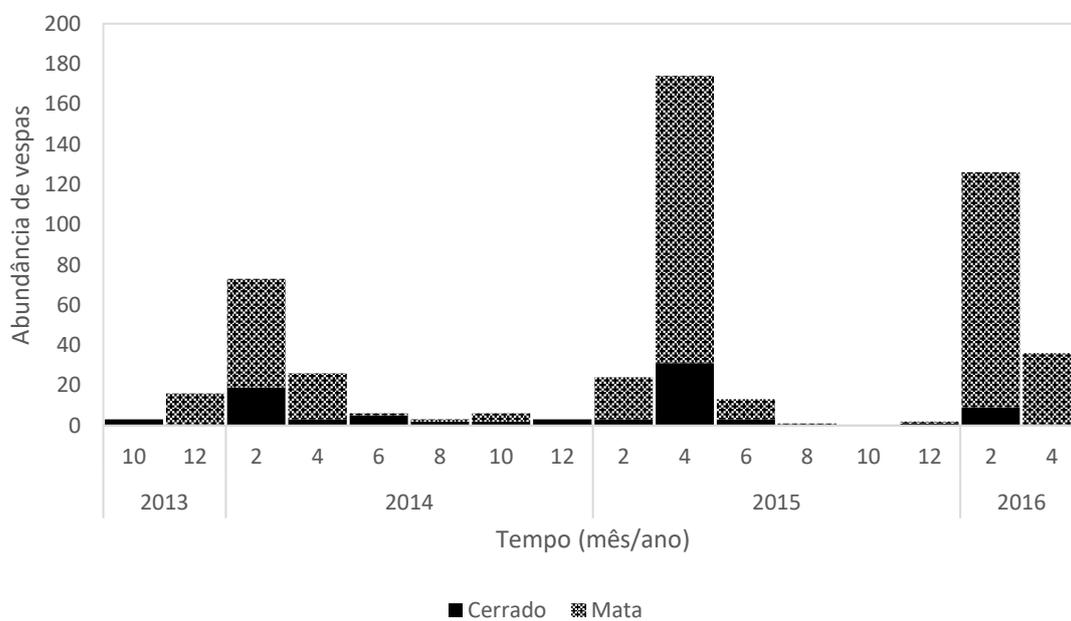


Fig. 8. Abundância de potenciais parasitoides de drosofilídeos atraídos por armadilhas de retenção na Reserva Ecológica do IBGE, entre outubro de 2013 e abril de 2016, em mata de galeria e cerrado sentido restrito.

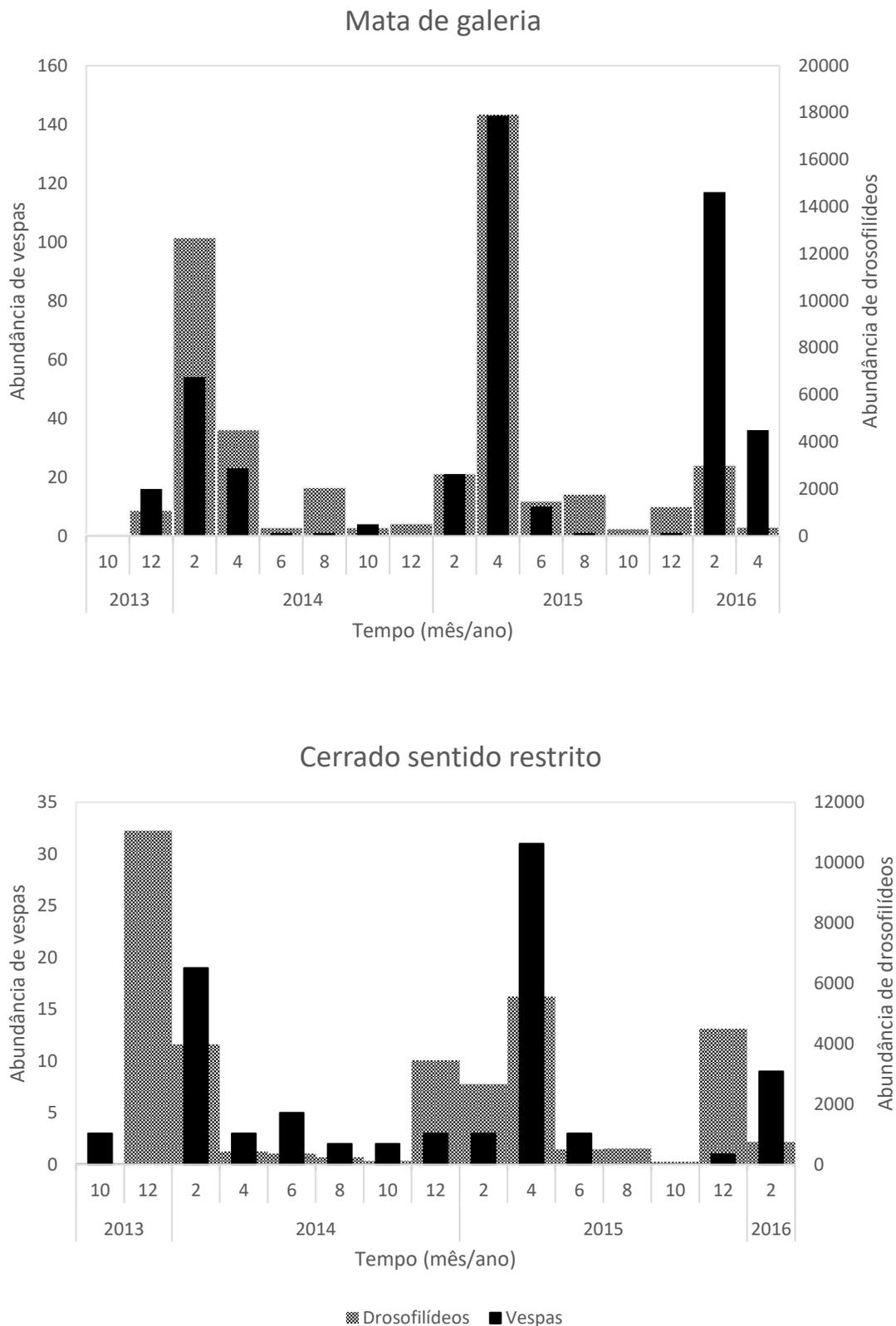


Fig. 9. Abundância de potenciais parasitoides de drosofilídeos e de drosofilídeos, em diferentes escalas, atraídos por armadilhas de retenção em mata de galeria e cerrado sentido restrito da Reserva Ecológica do IBGE, entre outubro de 2013 e abril de 2016 (Leão 2016 e dados não publicados). Gráficos em escalas diferentes.

Observando o $\exp(B)$ na Tabela 7, percebe-se que as chances de se encontrar vespas são significativamente maiores quando há maior abundância de moscas e diminuição da temperatura; também quando se coleta na época chuvosa e na fitofisionomia mata de galeria, com assertividade do modelo de 74,4%.

Tabela 7. Resultado da análise estatística da regressão linear. B: coeficiente da regressão. GL: graus de liberdade.

Variáveis	B	Erro padrão	Wald	GL	Significância	Exp (B)
Fitofisionomia (Cerrado)	-0,740	0,230	10,378	1	0,001	0,477
Clima (Chuvoso)	1,726	0,381	20,532	1	0,000	5,619
Temperatura	-0,476	0,109	19,036	1	0,000	0,621
Moscas abundância	0,002	0,000	20,017	1	0,000	1,002
Constante	8,672	2,338	13,762	1	0,000	5836,311

Logo, a chance de encontrar vespas de drosofilídeos é maior principalmente, no período chuvoso e na mata de galeria, quanto maior for a presença de drosofilídeos. A temperatura por variar pouco, não revelou grande influência nas comunidades desses insetos. Não foi possível definir com precisão quais são as possíveis variáveis que afetam a abundância de vespas porque os dados não atenderam às premissas da regressão linear (devido ao grande número de armadilhas de retenção sem vespas).

Dicerataspis grenadensis e *Ganaspis* spp. foram os táxons mais abundantes no período chuvoso, principalmente nos meses de fevereiro (ano de 2014 e 2016) e abril (2015). Nesses períodos, *Ganaspis* predominou nos dois primeiros anos na mata de galeria e *D. grenadensis* no terceiro (Fig. 10). Os gêneros *Aphaereta* e *Leptopilina* foram coletados apenas na estação chuvosa.

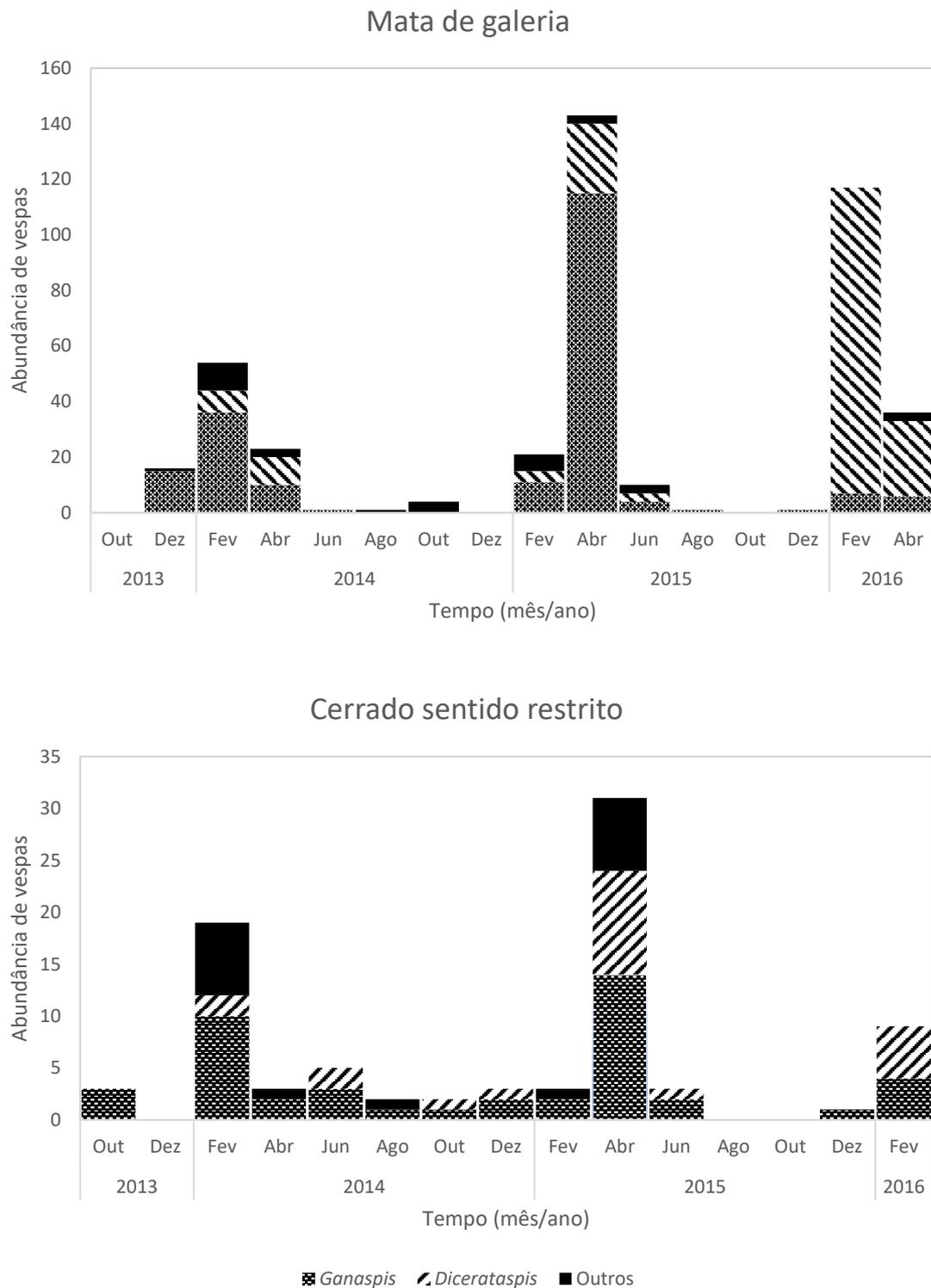


Fig. 10. Abundância absoluta e relativa de potenciais parasitoides de drosofilídeos atraídos por armadilhas de retenção em mata de galeria e cerrado sentido restrito da Reserva Ecológica do IBGE, entre outubro de 2013 e abril de 2016, com destaque para o gênero *Ganaspis*, *Dicerataspis* e a soma dos gêneros restantes.

DISCUSSÃO

Este trabalho revelou diferentes grupos de vespas já conhecidas como parasitoides de drosofilídeos, além de outras espécies e morfoespécies de cinco famílias diferentes que são potenciais parasitoides dessas moscas no Cerrado. Observou-se também que a maior probabilidade de se encontrar essas vespas ocorre quando há maior abundância de drosofilídeos, o que reforça que há interação entre os dois grupos.

A abundância total de parasitoides foi consideravelmente menor que a de drosofilídeos em todas as formas de coleta, com 1,6% e 0,6% da abundância de drosofilídeos em frutos e armadilhas de retenção, respectivamente (Oliveira 2013, Leão 2016). Essa discrepância pode ser um indício de baixo parasitismo na região de estudos, mas é possível que outros fatores, como a escolha dos frutos para a coleta e a qualidade de ambientes próximos às armadilhas, com maior quantidade de frutos em fermentação, também tenham interferido na proporção entre vespas e moscas. Frutos cítricos, por exemplo, são apreciados por *Drosophila melanogaster*, porém repelem fortemente os parasitoides (Dweck *et al.* 2013). Alguns drosofilídeos também preferem frutos com alto teor alcoólico, que não são tolerados por parasitoides na fase larval (Milan *et al.* 2012). A baixa abundância de parasitoides nas armadilhas de retenção, por outro lado, pode ter ocorrido por causa da presença de manchas de melhor qualidade, isto é, ambientes com odores de frutos em decomposição e de drosofilídeos mais atrativos do que os exalados pelas armadilhas.

Caracterização de parasitoides e potenciais parasitoides de drosofilídeos

1. Parasitoides de larva

Os três gêneros mais abundantes na coleta, *Ganaspis*, *Dicerataspis* e *Leptopilina*, pertencem à subfamília monofilética Eucoilinae (Ronquist 1999) e são conhecidos como parasitoides de drosofilídeos (Carton *et al.* 1986) que compartilham o mesmo micro-habitat dos seus hospedeiros: frutos em decomposição (Vet e Alphen 1985, Powell 1997). Estes gêneros estão distribuídos e são abundantes por todo o Brasil (Guimarães *et al.* 2004, gênero *Ganaspis* ainda como *Aganaspis*), sugerindo que além do Cerrado esses parasitoides podem estar interagindo com drosofilídeos em outros biomas brasileiros.

O gênero *Ganaspis* é cosmopolita (Díaz *et al.* 2006) e comporta espécies que parasitam outros dípteros além de drosofilídeos (Vet e Alphen 1985), como os das famílias Tephritidae e Lonchaeidae (Guimarães *et al.* 1999, 2003). Neste trabalho, não foi possível identificar nenhum indivíduo desse gênero até o nível de espécie, mas foram reconhecidas quatro morfoespécies levando em conta diferenças no anel de cerdas do sintergo, no formato do estutelo e, principalmente, na forma da placa escutelar. Esse gênero é polifilético (Forshage 2009) e está entre os mais difíceis de delimitar dentro da subfamília Eucoilinae devido à falta de estudos e revisão do grupo, o que causa uma grande incerteza taxonômica (Forshage *et al.* 2013). As chaves de identificação são antigas, há poucas descrições recentes de espécies, e por isso há a possibilidade de os indivíduos encontrados neste trabalho ainda não terem sido descritos (Prévost 2009, J. Guimarães, comunicação pessoal). *Ganaspis* aparenta ter uma forte associação com os drosofilídeos, de maneira que estudos taxonômicos deste grupo são muito importantes a fim de esclarecer melhor sua relação com as espécies dessas moscas.

O gênero *Dicerataspis* foi revisado recentemente e conta atualmente com uma única espécie, *Dicerataspis grenadensis* Ashmead (Buffington 2009, Gallardo *et al.* 2010).

Trata-se de um táxon Neotropical, que já havia sido registrado no Cerrado por Marchiori *et al.* (2001) e também na região Neártica (Gallardo *et al.* 2010). Essa espécie, já conhecida como parasitoide de drosofilídeos, é fortemente atraída por frutos com larvas dessa família (Wharton *et al.* 1998, Guimarães e Zucchi 2004, Gallardo *et al.* 2010). Há uma discussão, entretanto, sobre se haveriam outros grupos parasitados por *D. grenadensis*, como as moscas da família Tephritidae (Wharton *et al.* 1998, Costa *et al.* 2007, Gallardo *et al.* 2010). Portanto, assim como o gênero *Ganaspis*, essa espécie aparenta ter uma forte relação com drosofilídeos e, por ser neotropical e abundante, estudos de parasitismo com ela podem esclarecer como espécies nativas de parasitoides interagem com drosofilídeos introduzidos.

Leptopilina está entre os gêneros de parasitoides de drosofilídeos mais bem estudados, principalmente as espécies *Leptopilina boulardi* e *L. heterotoma* (Prévost 2009, Forshage *et al.* 2013, Lue *et al.* 2016). *Leptopilina boulardi* (Barbotin, Carton & Kelner-Pillault) é cosmopolita (Forshage *et al.* 2013, Lue *et al.* 2016), abundante em outras regiões do Brasil e do mundo (Fleury *et al.* 2004, Guimarães *et al.* 2004), e acredita-se que é especialista em relação aos hospedeiros e ao micro-habitat, porque ataca apenas larvas em frutos fermentados e de algumas espécies de drosofilídeos (Carton *et al.* 1986, Vet *et al.* 1993, Guimarães *et al.* 2003). Diversos estudos mostram comportamentos específicos de ataque e defesa na interação dessa espécie com drosofilídeos (Prévost 2009). Alguns drosofilídeos, como *Drosophila simulans* e *D. melanogaster*, possuem a capacidade de reconhecer esses parasitoides visualmente e defender sua prole, colocando ovos em meios fermentados mais alcoólicos (Kacsoh *et al.* 2013). Larvas parasitadas de *D. melanogaster* tendem a andar também para meios mais alcoólicos para matar o parasitoide imaturo (Milan *et al.* 2012). Isso mostra uma possível coevolução entre *L.*

boulardi e drosofilídeos com forte pressão seletiva em ambos os lados (Fleury *et al.* 2004), o que pode estar acontecendo também no Cerrado.

A morfoespécie *Aphaereta* sp.1 pertence à família Braconidae, que é conhecida por comportar várias espécies parasitoides de drosofilídeos (Carton *et al.* 1986, Prévost 2009), mas também parasitam dípteros das famílias Muscidae e Sarcophagidae (Vet e Alphen 1985, Carton *et al.* 1986, Marchiori *et al.* 2003b). Em laboratório, Kacsoh *et al.* (2013) observaram que uma morfoespécie desse gênero também foi reconhecida visualmente por *D. melanogaster*, que exibiu o mesmo comportamento de proteção de sua prole que quando reconheceu visualmente a vespa *Leptopilina boulardi*. Não obstante essa relação com drosofilídeos, *Aphaereta* é generalista quanto ao micro-habitat e aos hospedeiros (Amendt *et al.* 2010, Alford 2014), o que poderia explicar porque foi menos abundante nas coletas, pois espécies generalistas apresentam menor resposta a sinais químicos específicos de determinado hospedeiro do que parasitoides especialistas (Hedlund *et al.* 1996, Steidle e Loon 2003). Nesse contexto, estudos mais detalhados das espécies desse gênero são necessários para se avaliar seu caráter mais generalista.

Apesar desses parasitoides, eucoilíneos e braconídeos, serem atraídos para o mesmo micro-habitat e por drosofilídeos, a forma de seleção do hospedeiro ocorre de maneiras diferentes. *Ganaspis* e *Aphaereta* selecionam principalmente por pistas vibratórias, comportamento mais comum em parasitoides de dípteros (Vet e Alphen 1985, Guimarães e Zucchi 2004, Forshage *et al.* 2013). Já *Dicerataspis grenadensis* e *Leptopilina boulardi* encontram e selecionam principalmente com o ovipositor (sondagem de sinais químicos no substrato) (Vet e Alphen 1985, Guimarães e Zucchi 2004). Buscas por vibrações são eficientes em substratos com baixa densidade de hospedeiros, isto é, com poucas vibrações onde é possível identificar indivíduos diferentes. Em contrapartida, buscas com o ovipositor são mais eficazes em substratos

com alta densidade de larvas (Prévost 2009), onde já é mais difícil detectar indivíduos específicos por causa da grande quantidade de vibrações. Essas pequenas diferenças no nicho podem explicar a coexistência desses grupos no Cerrado, já que pode levar esses grupos a serem mais eficientes e explorarem frutos com densidades de drosofilídeos diferentes (Vet e Bakker 1985).

Além desses grupos mais abundantes, alguns grupos apareceram uma única vez na armadilha, o que pode indicar uma menor preferência por drosofilídeos, que são espécies raras ou que simplesmente entraram por acaso na armadilha.

A espécie *Tropideucoila weldi* é Neotropical, encontrada no Brasil e na Argentina, e já foi vista parasitando Lonchaeidae e Tephritidae (Diptera), porém poucos indivíduos foram coletados (Guimarães *et al.* 2003, Souza *et al.* 2012). *Moneucoela* também é Neotropical, já registrada no Brasil (Selegatto *et al.* 2003), mas pode ser encontrada também na região Neártica. Buffington (2009) observou a emergência desse gênero de um díptero não identificado, e essa é a única informação biológica disponível sobre *Moneucoela* (Forshage *et al.* 2013). Como esses dois gêneros de eucoilíneos parasitam outros dípteros e foram pouco encontrados neste e em outros trabalhos, é possível que sejam parasitoides raros ou que não prefiram drosofilídeos.

A família Platygasteridae é cosmopolita, abrange cerca de 4 500 espécies e parasita uma ampla gama de hospedeiros de diversas ordens (Sandanayaka e Charles 2006, Buhl 2011), porém não encontramos nenhum relato de sua relação com drosofilídeos. *Leptacis* apresenta distribuição mundial, com várias espécies neotropicais (Buhl 2002, 2011), e seus hospedeiros são dípteros formadores de galha (Loiácono e Margaría 2002). É possível que este gênero não tenha preferência ou não parasite drosofilídeos, já que é um grupo relativamente bem estudado e com uma gama de hospedeiros relacionados a galhas.

2. Parasitoides de pupa

Entre os parasitoides de pupa, a família mais abundante foi a Pteromalidae, representada pelas espécies *Pachycrepoideus vindemmiae* (Rondani) e *Spalangia simplex*. *Pachycrepoideus vindemmiae* já é conhecida por ser parasitoide de vários dípteros, inclusive os da família Drosophilidae (Carton *et al.* 1986, Guillén *et al.* 2002, Marchiori *et al.* 2013), e por parasitar também parasitoides de larva inclusive de drosofilídeos, sendo considerado neste caso um hiperparasitoide (van Alphen e Thunnissen 1983, Noyes 2001, Reina e Vasta 2003). *Pachycrepoideus vindemmiae* é cosmopolita (Noyes 2001) e muito abundante em várias partes do mundo (Rossi Stacconi *et al.* 2013, Knoll *et al.* 2017). Trata-se de uma espécie generalista, capaz de parasitar pupas de diversas idades sem que isso interfira no seu sucesso reprodutivo (Zhao *et al.* 2013). Ela já foi coletada no Cerrado (Marchiori *et al.* 2005) e é bem estudada em todo o mundo devido ao seu potencial no controle biológico (Reina e Vasta 2003), como o de drosofilídeos que são pragas agrícolas (Rossi Stacconi *et al.* 2013, Knoll *et al.* 2017). Essa capacidade de parasitar mostra que a espécie precisa ser melhor analisada antes de ser um agente de controle biológico, pois seu caráter generalista, inclusive observado neste trabalho, pode causar impacto negativo em populações de espécies nativas de uma área.

O gênero *Spalangia* já é conhecido como parasitoide de drosofilídeos (Fernandes *et al.* 2013, Dolores *et al.* 2015), porém é generalista e parasita outros dípteros, assim como *Pachycrepoideus vindemmiae* (Fernandes *et al.* 2013). A espécie *Spalangia simplex* possui uma ampla distribuição (Gibson 2009) e no Brasil já foi encontrada no Cerrado, na Mata Atlântica (Gibson 2009, Fernandes *et al.* 2013) e na Amazônia (Silva *et al.* 2011).

Apesar dos hospedeiros de *Eurytoma* variarem entre as espécies, este gênero de distribuição cosmopolita parasita cinco ordens de insetos, incluindo Diptera (Zwoelfer *et al.* 2015), e seis famílias de plantas (Bugbee 1967). *Eurytoma* é o gênero com as espécies

de maior dificuldade de identificação dentro da família Eurytomidae, assim como ocorre com o gênero *Ganaspis*, por ter poucos estudos, chaves antigas, e nenhuma revisão recente (Bugbee 1967, Burks 1971).

O gênero *Trichopria* é amplamente distribuído pelo mundo, com grande número de espécies na região Neártica e Neotropical. Parasita a ordem Diptera (Masner e García 2002) e algumas espécies, como *Trichopria drosophilae*, são muito estudadas por parasitar drosofilídeos e serem possíveis controladores de pragas (Carton *et al.* 1986, Prévost 2009, Miller *et al.* 2015).

Em suma, percebe-se que há uma diversidade taxonômica de parasitoides no Cerrado que parasitam ou com potencial para parasitar drosofilídeos. Essa perspectiva traz novas informações sobre a distribuição dessas vespas e também sobre sua relação com os drosofilídeos, que já são relativamente bem estudados no Cerrado (Tidon 2006, Roque *et al.* 2013).

Confirmação de parasitismo em larvas e pupas de drosofilídeos

Os experimentos de parasitismo no laboratório e no campo mostraram que todas as espécies de drosofilídeos testadas, que estão entre as mais abundantes do Cerrado, são parasitadas tanto por parasitoides de larva quanto de pupa. Foi observado parasitismo tanto em áreas conservadas quanto urbanizadas. Drosofilídeos nativos e exóticos serviram como hospedeiros para as vespas, sugerindo que espécies exóticas não estão livres de parasitoides, como propõe a *enemy release hypothesis* (Torchin *et al.* 2003).

O gênero *Ganaspis* já é conhecido por seu generalismo em dípteros. Entretanto, experimentos como os do presente estudo são importantes para determinar a gama de hospedeiros de cada espécie. Algumas delas são generalistas apenas dentro da família Drosophilidae, como *Ganaspis xanthopoda* (Vet e Bakker 1985, Melk e Govind 1999),

enquanto outras parecem ser especialistas em outras famílias de dípteros, como *G. pelleranoi* (Guimarães *et al.* 2003), variação semelhante ao que acontece no gênero *Leptopilina* (Carton *et al.* 1986, Vet *et al.* 1993, Díaz *et al.* 2006). Os parasitoides de pupa *Pachycrepoideus vindemiae* e *S. simplex* também são generalistas em dípteros (Reina e Vasta 2003, Gibson 2009). *P. vindemiae* mostrou um alto grau de eficiência em relação aos outros parasitoides de pupa testados, pois foi a única que parasitou todas as espécies de drosofilídeos tanto em campo quanto em laboratório. A maior emergência de indivíduos de *P. vindemiae* em relação ao gênero *Spalangia*, já foi observada também em campo na Suíça (Knoll *et al.* 2017).

As estimativas dos índices de parasitismo variaram, porém não mostraram relação com drosofilídeos nativos ou exóticos. As espécies *Pachycrepoideus vindemiae* e *Spalangia simplex* apresentaram proporções altas em drosofilídeos nativos (como *Drosophila cardini* - 48% e 43%, respectivamente) e exóticos (como *D. nasuta* quanto parasitada por *S. simplex* - 66%). Na Europa e América do Norte, parasitoides de pupa como *P. vindemiae* e *Trichopria cf drosophilae* parasitaram com sucesso *D. suzukii*, que é uma espécie exótica a essas regiões (Chabert *et al.* 2012), e no Brasil *S. simplex* foi registrada por Marchiori e Silva (2003) parasitando *Zaprionus indianus* em frutos (com proporção de 3,8%). Visando aprimorar a compreensão das proporções e cálculos das taxas de parasitismo entre hospedeiros e parasitoides com diferentes origens geográficas, são necessários experimentos, tanto em campo quanto em laboratório, com maior número de réplicas e maior controle de variáveis (como em Chabert *et al.* 2012, Knoll *et al.* 2017).

Eurytoma sp. 1 foi o parasitoide de pupa que parasitou menos espécies de drosofilídeos e, além disso, teve também os menores índices de parasitismo. Isso sugere que esse parasitoide possui pouca relação com drosofilídeos ou não se adaptou às condições de laboratório, diferentemente dos outros.

Sob a perspectiva do hospedeiro, das sete espécies testadas em laboratório e armadilhas com imaturos, há registros publicados de parasitismo em *Drosophila willistoni*, *D. simulans* e *Zaprionus indianus* (Carton *et al.* 1986, Prévost 2009). *D. willistoni* é parasitada por *Leptopilina heterotoma* e foi observada taxa de parasitismo de 65% (Janssen 1989). *D. simulans*, assim como *D. melanogaster*, é parasitada por *L. boulandi*, que inclusive apresenta uma preferência inata por sinais químicos liberados por esse drosofilídeo (Vet *et al.* 1993, Prévost 2009). *Zaprionus indianus* é parasitada com sucesso por espécies e morfoespécies de gêneros encontrados no presente estudo, como *Ganaspis*, *Leptopilina* e *Trichopria*, porém apresenta grande resistência a *L. boulandi* e *Aphaereta* sp. (Kacsoh *et al.* 2014).

A falta de estudos sobre a relação espécie-hospedeiro talvez se deva à difícil identificação, a nível de espécie, dos imaturos vindos do campo (Powell 1997) e ao pouco interesse econômico dessas espécies de drosofilídeos (Alford 2014). Os parasitoides mais bem estudados são os que afetam *Drosophila melanogaster*, reconhecido modelo biológico, e espécies que causam grandes prejuízos econômicos, como *D. suzukii* (Prévost 2009, Rossi Stacconi *et al.* 2013, Knoll *et al.* 2017) e *Zaprionus indianus* (Marchiori *et al.* 2003a).

Foram observadas encapsulações em *Zaprionus indianus*, cujas larvas foram parasitadas pelo parasitoide *Ganaspis* sp. 3. A encapsulação é uma importante forma de defesa em insetos contra patógenos, parasitas e parasitoides, possibilitando uma eficiente forma de isolar rapidamente e destruir invasores (Dubovskiy *et al.* 2016), portanto, em drosofilídeos, é capaz de evitar ou diminuir a mortalidade por parasitismo de algumas espécies (Kacsoh *et al.* 2014). Pelo grande número observado desses eventos (dados não computados), pode-se inferir que as larvas apresentam resistência ao parasitismo, apesar dessa resistência não ser suficiente para evitar a emergência dos parasitoides. Resultado

semelhante foi observado por outro estudo, em que a espécie *Z. indianus* apresentou encapsulações quando parasitada por espécies e morfoespécies de *Ganaspis*, porém as morfoespécies tiveram sucesso no parasitismo (Kacsoh *et al.* 2014).

As defesas dos drosofilídeos contra o parasitismo nem sempre são eficientes, pois os parasitoides podem burlá-las, seja evitando ou atacando o sistema imune. Essas relações são bem estudadas, principalmente entre os gêneros *Drosophila* e *Leptopilina* (Prévost 2009). Foi observado no laboratório que larvas com o maior número de melanizações apresentaram comprometimento na locomoção e reflexos, sendo muito mais lentas e debilitadas que as não parasitadas (dados não mostrados). Larvas parasitadas também se alimentam mais lentamente (Kraaijeveld *et al.* 2001). Todas essas características refletem o *trade off* entre investir no sistema imune ou na competitividade da larva.

Além de haver encapsulações em várias larvas, houve também larvas com mais de uma encapsulação (dados não computados), isto é, a fêmea de *Ganaspis* sp. 3 ovipositou mais de uma vez, mesmo que apenas um parasitoide consiga emergir de cada hospedeiro (Fleury *et al.* 2004), comportamento inclusive já observado em laboratório em *Ganaspis xanthopoda* (Govind *et al.* 2000). Em caso de parasitoides solitários, o superparasitismo é uma forma de garantir que um dos imaturos sobreviva mesmo com possíveis encapsulações do hospedeiro (van Alphen e Visser 1990).

Comparações entre as metodologias de coleta

A abundância das famílias de parasitoides variou entre os métodos de coleta. Nos frutos, a ausência de parasitoides de pupa pode estar relacionada com o comportamento das larvas de drosofilídeos nesse substrato. Quando prestes a empupar, muitas vezes os drosofilídeos saem dos frutos e buscam um lugar limpo e seco, geralmente o solo, para terminar o desenvolvimento (Tyler 2000, Guillén *et al.* 2002).

As armadilhas de retenção registraram predominância de parasitoides de larva, provavelmente por causa das diferenças no modo de busca de hospedeiros entre parasitoides de larva e de pupa. Após encontrar o micro-habitat dos drosofilídeos (Vet e Bakker 1985), os parasitoides de larva se orientam pelos feromônios de agregação dos adultos e sinais químicos das larvas para encontrar frutos com hospedeiros (Couty *et al.* 1999, Wertheim *et al.* 2003, Prévost 2009), enquanto os parasitoides de pupa se orientam mais pelo odor de larvas prestes a empupar e, provavelmente, odor de pupas (Peters 2009, Machtinger e Geden 2015). Quanto maior a concentração de feromônios, mais atraídos os parasitoides de larva são para aquele local (Wertheim *et al.* 2003) e a armadilha de retenção mostrou que isso acontece mesmo que não haja sinais químicos da larva, que também são considerados sinais importantes (Guimarães e Zucchi 2004). Este feromônio de agregação faz com que todas as fêmeas de drosofilídeos ovipositem juntas, o que talvez explique a preferência inata dos parasitoides por esse sinal químico (Wertheim *et al.* 2003). Os parasitoides de larva costumam parasitar o segundo estágio dessas moscas (Carton *et al.* 1986, Melk e Govind 1999), que ocorre cerca de dois dias após a oviposição (Tyler 2000). Isto confere alto valor adaptativo para a vespa capaz de localizar rapidamente uma larva no estágio de desenvolvimento ideal para o parasitismo, período de tempo que dura apenas um dia (Chyb e Gompel 2013). No caso dos parasitoides de pupa, a antecedência na localização de hospedeiros não confere vantagem evolutiva tão acentuada, já que a fase de pupa ocorre cerca de uma semana após a oviposição (Chyb e Gompel 2013). Uma hipótese alternativa para a baixa incidência de parasitoides de pupa em armadilhas de retenção seria a menor quantidade desses parasitoides no IBGE, mas essa explicação é pouco provável tendo em vista que na TERMO uma grande quantidade de parasitoides de pupa emergiu das armadilhas com imaturos e apenas parasitoides de larva nas armadilhas de retenção.

A quase exclusividade de fêmeas nas armadilhas de retenção também foi outra diferença entre as metodologias, o que pode ser explicado pelas diferenças no comportamento entre fêmeas e machos de parasitoides. Em parasitoides de drosofilídeos, geralmente ocorre apenas uma cópula e, depois disso, as fêmeas começam o trabalho de busca e seleção de hospedeiros (Wajnberg *et al.* 2008). Neste momento os machos também começam uma busca, só que por sinais e pistas de locais com novas possibilidades de acasalamento com fêmeas virgens (Martel *et al.* 2008, Kaiser *et al.* 2009). Em suma, as armadilhas de retenção se mostraram eficazes na atração e coleta de vespas fêmeas em busca de larvas de drosofilídeos para oviposição.

Nas armadilhas com imaturos houve uma alta coleta de parasitoides de pupas em relação aos parasitoides de larva, ao contrário das outras formas de coleta. A adoção dessa armadilha conjuntamente com a armadilha de retenção, portanto, é o ideal para estudos que visam capturar diferentes tipos de parasitoides de drosofilídeos.

Com base nos resultados deste trabalho, recomendamos que armadilhas diferentes devem ser utilizadas dependendo do tipo de parasitoide que se quer capturar, já que cada grupo de parasitoides possui um comportamento diferente de busca e seleção de hospedeiros. Além disso, vale ressaltar que dados de apenas uma metodologia de coleta podem não refletir a abundância e riqueza dos parasitoides no ambiente.

Distribuição espacial dos parasitoides

As comunidades de parasitoides variaram entre as fitofisionomias, assim como ocorre com os drosofilídeos (Tidon 2006), provavelmente influenciados por fatores ambientais e, no caso de parasitoides, pela abundância de hospedeiros (Bonsall e Hassell 2005, Mata e Tidon 2013).

A abundância e a probabilidade de encontrar vespas foi significativamente maior na mata de galeria. A preferência pela mata pode estar refletindo a maior abundância de drosofilídeos nessa fitofisionomia, se comparado com o cerrado sentido restrito (60% do total; dados não publicados). O aumento da abundância de drosofilídeos eleva a concentração de sinais químicos, como os feromônios de agregação, importantes para a busca de hospedeiros por parasitoides, como já discutido no tópico anterior (*Wertheim et al.* 2003). A riqueza de espécies hospedeiras pode ser outra explicação para a diferença na abundância de vespas entre as duas fitofisionomias. A mata de galeria é mais rica em drosofilídeos do que o cerrado sentido restrito (Tidon 2006, Mata *et al.* 2015, Leão 2016), e poderia estar abrigando parasitoides com diferentes gamas de hospedeiros, isto é, tanto generalistas quanto especialistas.

O predomínio de drosofilídeos neotropicais na mata e exóticos a essa região no cerrado sentido restrito, também podem estar influenciando a distribuição dos parasitoides nessas fitofisionomias (Mata *et al.* 2015, Leão 2016). Espécies generalistas, como *Leptopilina heterotoma* e *Pachycrepoideus vindemiae*, parasitam eficientemente drosofilídeos exóticos no laboratório (Rossi Stacconi *et al.* 2015), mas possuem maior fecundidade e abundância quando a prole emerge de espécies nativas. Similarmente, parasitoides de larva nativos não emergem com sucesso da espécie exótica *Drosophila suzukii* na Europa e nos Estados Unidos, onde essa mosca é praga de plantações (Miller *et al.* 2015, Knoll *et al.* 2017). Assim, a predominância de espécies de drosofilídeos neotropicais nas matas de galeria pode contribuir para a maior abundância de parasitoides nessa vegetação.

Nas armadilhas com imaturos, poucos parasitoides emergiram da mata conservada em comparação com a área urbanizada. Essa diferença pode ser explicada pelo tamanho das duas áreas, pois naquelas com grande quantidade de recursos e locais com

hospedeiros (como as matas, veja Oliveira 2013, Mata *et al.* 2015), os sinais químicos da armadilha podem ser mais difíceis de detectar ou pouco atrativos, quando comparados com os da pequena área urbanizada amostrada no presente estudo, onde os recursos estão mais concentrados (van Alphen e Vet 1986). Em síntese, a maior emergência de parasitoides em área urbanizada pode estar relacionada com o comportamento de busca de hospedeiros e quantidade de manchas de recursos no ambiente, isto é, com a maior concentração de hospedeiros em uma pequena área rodeada por vegetação rasteira e construções, os parasitoides acabam se concentrando neste local também.

Conhecer a distribuição espacial dos parasitoides contribui para entender melhor como eles se comportam em ambiente natural e antropizado, e relacionar esses dados com os obtidos em estudos de laboratório. Adicionalmente, os resultados aqui obtidos salientam a importância de estudos principalmente em matas de galeria para o conhecimento da riqueza e abundância de parasitoides de drosofilídeos.

Dinâmica temporal de parasitoides

A maior abundância e a maior probabilidade de encontrar parasitoides de drosofilídeos ocorreu durante a estação chuvosa e em meses específicos: fevereiro, em 2014 e 2016 e abril, em 2015. A elevada abundância de hospedeiros drosofilídeos nessa época pode ser uma das causas, já que os parasitoides mais coletados possuem preferência ou são especialistas nessa família. Após as primeiras chuvas há um aumento na disponibilidade de frutos e, conseqüentemente, na abundância e riqueza de drosofilídeos, tanto em mata de galeria quanto em cerrado sentido restrito (Mata *et al.* 2015), viabilizando o crescimento das populações de parasitoides. Padrão semelhante foi observado na Europa e nos Estados Unidos, onde um aumento de parasitoides ocorreu meses após o período de frutificação, tanto em áreas naturais como cultivadas (Hertlein 1986, Knoll *et al.* 2017).

Ao contrário do período chuvoso, na época seca há uma queda na abundância de parasitoides nas duas fitofisionomias, o que deve estar refletindo a diminuição de frutos, conseqüentemente de drosofilídeos (Mata *et al.* 2015) e/ou a influência direta dos fatores abióticos. Pode ser que as populações de parasitoides diminuam a abundância por alta mortalidade ou baixa natalidade, mas também podem estar entrando em estado de dormência, por mais que apenas uma porcentagem pequena de indivíduos das espécies de parasitoides exibem esse comportamento (Carvalho 2005, Ovruski *et al.* 2016). Nas regiões temperadas, por exemplo, *Leptopilina boulardi* sai do estado de diapausa de dois a três meses depois do término do inverno e aparecimento de *Drosophila simulans* e *D. melanogaster* (Carton e Claret 1982).

Os picos de abundância de parasitoides ocorreram sincronizados entre a mata de galeria e o cerrado sentido restrito, mostrando que a flutuação no período chuvoso provavelmente é a mesma entre as fitofisionomias. Há também uma sincronia entre as flutuações de parasitoides e hospedeiros, principalmente na mata de galeria, o que sugere uma relação e uma resposta rápida da abundância do parasitoide à quantidade de hospedeiros. Para avaliar se essa relação é consistente, estudos futuros com maior periodicidade em curto espaço de tempo (Hassell 2000), maior esforço amostral no período chuvoso e maior número de ciclos (anos) seriam necessários.

Além das variações na abundância absoluta de parasitoides, também ocorreu variação na proporção de espécies entre os períodos chuvosos, sendo isso mais evidente na mata de galeria. Nas três estações chuvosas avaliadas, houve um aumento de *Dicerataspis grenadensis*, e diminuição do gênero *Ganaspis*, principalmente na mata de galeria. Fatores abióticos, como a precipitação, podem estar influenciando direta ou indiretamente nesse caso, já que do início ao fim da coleta a precipitação diminuiu no período chuvoso (Fig. 2), mesmo nos meses em que há maior precipitação, o que pode

estar interferindo na sobrevivência e reprodução e/ou na composição dos hospedeiros preferenciais. Comparações entre *Leptopilina boulardi* e *L. heterotoma* em ambientes naturais da Tunísia e em laboratório mostraram que o primeiro possui maior sucesso de parasitismo. Porém, se há mudanças ambientais (queda na temperatura), *L. heterotoma* consegue parasitar mais (Carton e Claret 1982, Carton *et al.* 1991). Em outro estudo na Europa, a mudança na dominância de espécies de drosofilídeos ao longo do tempo, interferiu na composição dessas mesmas espécies de parasitoides (Fleury *et al.* 2004).

A distribuição temporal de parasitoides e drosofilídeos contribuem para o entendimento das suas interações em ambientes naturais e de como fatores abióticos interferem nessas relações. Pode explicar também como as rápidas mudanças ambientais (Cai *et al.* 2014) e as transformações antrópicas podem alterar essas relações (Costa e Pires 2010). Recomendamos que esses estudos sejam feitos principalmente na mata de galeria e período chuvoso, visando otimizar a probabilidade de encontrar parasitoides.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Acredito que um dos principais desafios do estudo, e que serve de alerta para futuras pesquisas, é a importância da taxonomia. Sem uma revisão dos táxons e um investimento em novas descrições, foi difícil (e será para outros trabalhos) entender a biologia dos parasitoides, estabelecer relações com os hospedeiros, observar padrões e fazer generalizações sobre o grupo. Nesse contexto, é oportuno destacar a possível existência de novas espécies em nossas amostras e os novos registros de ocorrência no Distrito Federal.

A compilação de dados obtidos no campo e no laboratório foi fundamental para estabelecer relações hospedeiro-parasitoide. Foi possível perceber que experimentos de parasitismo realizados no laboratório nem sempre correspondem à realidade em ambientes naturais. Dessa forma, deve-se ter cuidado ao estabelecer relações hospedeiro-parasitoide, já que informações insuficientes podem dar a falsa impressão de que as mesmas interações observadas apenas em laboratório, acontecem no ambiente natural.

O uso de diferentes metodologias viabilizou a captura de uma maior gama de espécies e morfoespécies de parasitoides, fornecendo informações mais completas e próximas da realidade desse parasitoides. Além disso, o presente trabalho subsidia a escolha do tipo de armadilha mais apropriado para cada tipo de estudo, dependendo do tipo de parasitoide que se deseja coletar e do seu comportamento.

Apesar dos problemas taxonômicos e da falta de informação sobre parasitoides no Cerrado, foi possível estimar a distribuição espacial e temporal desses insetos. A mata de galeria se mostrou uma área importante de investigação, principalmente no período chuvoso. A diversidade de parasitoides na área urbanizada destaca a importância de pequenas manchas de vegetação nativa para a manutenção dessas interações e abre oportunidades para o estudo do impacto da antropização na comunidade. Já na análise

temporal foi possível observar flutuações entre o período chuvoso e seco e possíveis influências de mudanças ambientais na composição das espécies, o que evidencia a importância da continuação do monitoramento para tentar entender o impacto das mudanças ambientais regionais e globais nas comunidades locais.

Em suma, o presente trabalho contribuiu para caracterizar os parasitoides de drosofilídeos no Cerrado ao proporcionar informações básicas sobre sua diversidade, distribuição e vínculos com hospedeiros. Além disso, a criação de novas metodologias de campo e laboratório irão facilitar os estudos futuros porque viabilizam a escolha das melhores metodologias para trabalhar com o grupo desejado tendo em vista os objetivos de cada trabalho. Os dados aqui obtidos também alertam para a importância de compilar diferentes metodologias de coleta para se conseguir informações que realmente reflitam a realidade dos grupos de parasitoides no ambiente natural. As interações hospedeiro-parasitoides contribuíram não apenas para confirmar parasitismos conhecidos, como mostrar que há uma gama de hospedeiros ainda por conhecer, importante para o entendimento das redes ecológicas e utilização de vespas no controle biológico, já que muitas vezes os estudos consideram apenas a espécie que se quer controlar, desconsiderando o impacto em outros possíveis hospedeiros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alford, D. 2014. Pests of fruit crops: a colour handbook. 2ª edição. CRC Press, Flórida.
- van Alphen, J. J. M., e I. Thunnissen. 1983. Host selection and sex allocation by *Pachycreopideus vindemiae* Rondani (Pteromalidae) as a facultative hyperparasitoid of *Asobara tabida* Nees (Braconidae; Alysiinae) and *Leptopilina heterotoma* (Cynipoidea; Eucoilidae). Netherlands Journal of Zoology 33:497–514.
- van Alphen, J. J. M., e L. E. M. Vet. 1986. An evolutionary approach to host finding and selection. Páginas 23–61 in J. K. Waage e D. Greathead, organizadores. Insect parasitoids: 13th symposium of the Royal Entomological Society of London. Academic Press, Londres.
- van Alphen, J. J. M., e M. E. Visser. 1990. Superparasitism as an adaptative strategy for insect parasitoids. Annual Review of Entomology 35:59–79.
- Amendt, J., C. P. Campobasso, M. Lee Goff, e M. Grassberger. 2010. Current concepts in forensic entomology. 2ª edição. Springer, Londres.
- Ashmead, W. H. 1896. Report on the parasitic Hymenoptera of the Island of Grenada, comprising the families Cynipidae, Ichneumonidae, Braconidae and Proctotrupidae. Proceedings of the Zoological Society of London 1895:742–812.
- Bächli, G. 2016. TaxoDros. The database on taxonomy of Drosophilidae. <http://www.taxodros.uzh.ch/>.
- Barbotin, F., Y. Carton, e S. Kelner-Pillaut. 1979. Morphologie et biologie de *Cothonaspis (Cothonaspis) boulandi* n. sp. parasite de Drosophiles. Bulletin de Société Entomologique de France 84:20–26.
- Bonsall, M. B., e M. P. Hassell. 2005. Understanding ecological concepts: the role of laboratory systems. Advances in Ecological Research 37:1–36.
- Buffington, M. L. 2009. Description, circumscription and phylogenetics of the new tribe Zaeucoilini (Hymenoptera: Figitidae: Eucoilinae), including a description of a new genus. Systematic Entomology 34:162–187.
- Bugbee, R. E. 1967. Revision of chalcid wasps of genus *Eurytoma* in America North of Mexico. Proceedings of the United States National Museum 118:433–552.
- Buhl, P. N. 2002. New species of *Leptacis* Förster from the Neotropical region (Insecta: Hymenoptera: Platygasteridae: Platygasterinae). Reichenbachia 34:347–355.
- Buhl, P. N. 2011. New Neotropical species of Platygasterinae and Sceliotrachelinae (Hymenoptera: Platygasteridae), with keys to species of the larger genera, some redescriptions and a checklist. Folia Heyrovskyana 19:25–128.
- Burks, B. D. 1971. A synopsis of the genera of the family Eurytomidae (Hymenoptera: Chalcidoidea). The American Entomological Society 97:1–89.

- Bussab, W. O., e P. A. Morettin. 2004. Estatística Básica. 5ª edição. Editora Saraiva, São Paulo.
- Cai, W., S. Borlace, M. Lengaigne, P. van Rensch, M. Collins, G. Vecchi, A. Timmermann, A. Santoso, M. J. McPhaden, L. Wu, M. H. England, G. Wang, E. Guilyardi, e F.-F. Jin. 2014. Increasing frequency of extreme El Niño events due to greenhouse warming. *Nature Climate Change* 4:1–6.
- Carton, Y., M. Boulétreau, J. J. M. van Alphen, e J. C. van Lenteren. 1986. The *Drosophila* Parasitic Wasps. Páginas 347–394 in M. Ashburner, J. L. Carson, e J. N. Thompson, organizadores. *The Genetics and Biology of Drosophila*. Academic Press, Londres.
- Carton, Y., e J. Claret. 1982. Adaptive significance of a temperature induced diapause in a cosmopolitan parasitoid of *Drosophila*. *Ecological Entomology* 7:239–247.
- Carton, Y., S. Haouas, M. Marrakchi, e M. Hochberg. 1991. Two competing parasitoid species coexist in sympatry. *Oikos* 60:222–230.
- Carvalho, R. D. S. 2005. Diapause in fruit fly parasitoids in the Recôncavo Baiano, Brazil. *Neotropical Entomology* 34:613–618.
- Chabert, S., R. Allemand, M. Poyet, P. Eslin, e P. Gibert. 2012. Ability of European parasitoids (Hymenoptera) to control a new invasive Asiatic pest, *Drosophila suzukii*. *Biological Control* 63:40–47.
- Chaves, N. B., e R. Tidon. 2005. Drosophilidae of the Brazilian Savanna, the forgotten ecosystem. *Drosophila Information Service* 88:25–27.
- Chyb, S., e N. Gompel. 2013. Wild-type morphology. Páginas 1–23 Atlas of *Drosophila* Morphology. Wild-type and Classical Mutants. Academic Press, Londres.
- Costa, M. H., e G. F. Pires. 2010. Effects of Amazon and Central Brazil deforestation scenarios on the duration of the dry season in the arc of deforestation. *International Journal of Climatology* 30:1970–1979.
- Costa, R. F., C. G. Silva, C. H. Marchiori, B. B. Amaral, M. M. Poletti, e L. C. Torres. 2007. Parasitismo em *Anastrepha* sp. (Diptera: Tephritidae) por *Aganaspis pelleranoi* (Brèthes, 1924) e *Dicerataspis* sp. (Hymenoptera: Figitidae: Eucoilinae). *Ciência e Agrotecnologia* 31:720–723.
- Costa Lima, A. 1940. Alguns parasitos de mosca-das-frutas. *Annais da Academia Brasileira de Scienciae* 12:17–20.
- Couty, A., L. Kaiser, D. Huet, e M. Pham-Delegue. 1999. The attractiveness of different odour sources from the fruit-host complex on *Leptopilina boulardi*, a larval parasitoid of frugivorous *Drosophila* spp. *Physiological Entomology* 24:76–82.
- Díaz, N. B., J. A. Guimarães, e F. E. Gallardo. 2006. Systematic review of species of the genus *Aganaspis* Lin (Hymenoptera: Figitidae: Eucoilinae). *Transactions of the American Entomological Society* 132:271–277.

- van Dijken, M. J., e J. J. M. van Alphen. 1998. The ecological significance of differences in host detection behaviour in coexisting parasitoid species. *Ecological Entomology* 23:265–270.
- Dolores, M., G. Cancino, A. González, J. G. Cabrera, G. M. Carrillo, A. Sánchez, H. César, e A. Bernal. 2015. Parasitoides de *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) en Colima, México. *Society of Southwestern Entomologists* 40:855–858.
- Dubovskiy, I. M., N. A. Kryukova, V. V. Glupov, e N. A. Ratcliffe. 2016. Encapsulation and nodulation in insects. *Information Systems Journal* 13:229–246.
- Dweck, H. K. M., S. a M. Ebrahim, S. Kromann, D. Bown, Y. Hillbur, S. Sachse, B. S. Hansson, e M. C. Stensmyr. 2013. Olfactory preference for egg laying on citrus substrates in *Drosophila*. *Current Biology* 23:2472–2480.
- Ebrahim, S. A. M., H. K. M. Dweck, J. Stökl, J. E. Hofferberth, F. Trona, K. Weniger, J. Rybak, Y. Seki, M. C. Stensmyr, S. Sachse, B. S. Hansson, e M. Knaden. 2015. *Drosophila* avoids parasitoids by sensing their semiochemicals via a dedicated olfactory circuit. *PLoS Biology* 13:1–18.
- Eggleton, P., e R. Belshaw. 1992. Insect parasitoids: an evolutionary overview. *Philosophical Transactions of The Royal Society of London B* 337:1–20.
- Eggleton, P., e K. J. Gaston. 1990. “Parasitoid” species and assemblages: convenient definitions or misleading compromises? *Oikos* 59:417–421.
- Fernandes, D. R. R., A. M. Vacari, E. L. Araujo, J. A. Guimarães, S. A. De Bortoli, e N. W. Perioto. 2013. Frugivorous flies (Diptera: Tephritidae and Lonchaeidae) and native parasitoids (Hymenoptera) associated with *Pouteria caimito* (Sapotaceae) in Brazil. *Florida Entomologist* 96:255–257.
- Fernández, F., e M. J. Sharkey. 2006. Introducción a los Hymenoptera de la región Neotropical. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Field, A. 2009. Descubriendo a estatística utilizando o SPSS. 2ª edição. Editora Penso.
- Flanders, S. E. 1953. Variations in susceptibility of citrus-infesting coccids. *Journal of Economic Entomology* 46:266–269.
- Fleury, F., N. Ris, R. Allemand, P. Fouillet, Y. Carton, e M. Boulétreau. 2004. Ecological and genetic interactions in *Drosophila* - parasitoids communities: a case study with *D. Melanogaster*, *D. Simulans* and their common *Leptopilina* parasitoids in south-eastern France. *Genetica* 120:181–194.
- Forshage, M. 2009. Systematics of Eucoilini. Exploring the diversity of a poorly known group of Cynipoid parasitic wasps. Uppsala Univesitet.
- Forshage, M., G. Nordlander, e M. L. Buffington. 2013. Eucoilinae of North America : a revised catalog of genera and described species. *Entomological Society to Washington* 115:225–255.

- Gallardo, F. E., N. B. Diaz, e A. Jorge. 2010. Contribution to the systematics of *Dicerataspis* Ashmead, 1896 (Hymenoptera: Cynipoidea: Figitidae). *Entomological News* 121:23–30.
- Gaston, K. J. 1991. The magnitude of global insect species richness. *Conservation Biology* 5:283–296.
- Gibert, P., R. Allemand, H. Henri, e R. B. Huey. 2010. Local adaptation and evolution of parasitoid interactions in an invasive species, *Drosophila subobscura*:873–883.
- Gibson, G. A. P. 2009. Revision of New World Spalangiinae (Hymenoptera: Pteromalidae). *Zootaxa* 159:1–159.
- Godfray, H. C. J. 1994. Parasitoids. Behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press, Nova Jersey.
- Gottschalk, M. S., L. Bizzo, J. S. Döge, M. S. Profes, P. R. P. Hofmann, e V. L. S. Valente. 2009. Drosophilidae (Diptera) associated to fungi: differential use of resources in anthropic and Atlantic Rain Forest areas. *Iheringia, Série Zoologia* 99:442–448.
- Goulet, H., e J. T. Huber. 1993. Hymenoptera of the world: an identification guide to families. Agriculture Canada, Ottawa.
- Govind, S., J. P. Melk, e J. Morales. 2000. Developmental arrest and physical entrapment eliminates supernumerary *Gnaspis xanthopoda* parasitoids in *Drosophila melanogaster*. *The Journal of parasitology* 86:463–470.
- Gross, P. 1993. Insect behavioral and morphological defenses against parasitoids. *Annual Review of Entomology* 38:251–273.
- Guillén, L., M. Aluja, M. Equihua, e J. Sivinski. 2002. Performance of two fruit fly (Diptera: Tephritidae) pupal parasitoids (*Coptera haywardi* [Hymenoptera: Diapriidae] and *Pachycrepoideus vindemiae* [Hymenoptera: Pteromalidae]) under different environmental soil conditions. *Biological Control* 23:219–227.
- Guimarães, J. A., M. F. D. S. Filho, A. Raga, e R. A. Zucchi. 2004. Levantamento e interações tritróficas de figitídeos (Hymenoptera: Eucoilinae) parasitoides de larvas frugívoras (Diptera) no Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico* 71:51–56.
- Guimarães, J. A., e R. A. Zucchi. 2004. Parasitism behavior of three species of Eucoilinae (Hymenoptera: Cynipoidea: Figitidae) fruit fly parasitoids (Diptera) in Brazil. *Neotropical Entomology* 33:217–224.
- Guimarães, J. A., R. A. Zucchi, N. B. Diaz, M. F. de Souza Filho, e M. A. Uchôa F. 1999. Espécies de Eucoilinae (Hymenoptera: Cynipoidea: Figitidae) parasitoides de larvas frugívoras (Diptera: Tephritidae e Lonchaeidae) no Brasil. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 28:263–273.
- Guimarães, J. a, F. E. Gallardo, N. B. Díaz, e R. a. Zucchi. 2003. Eucoilinae species (Hymenoptera: Cynipoidea: Figitidae) parasitoids of fruit-infesting dipterous larvae in Brazil: identity, geographical distribution and host associations. *Zootaxa*

278:1–23.

- Hanson, P. E., e I. D. Gauld. 1995. *The Hymenoptera of Costa Rica*. Oxford University Press, Oxford.
- Hassell, M. P. 2000. *The spatial and temporal dynamics of host-parasitoids interactions*. Oxford University Press, Nova York.
- Hedlund, K., L. E. M. Vet, e M. Dicke. 1996. Generalist and specialist parasitoid strategies of using odours of adult drosophilid flies when searching for larval hosts. *Oikos* 77:390–398.
- Hertlein, M. B. 1986. Seasonal development of *Leptopilina boulardi* (Hymenoptera: Eucoilidae) and its hosts, *Drosophila melanogaster* and *D. simulans* (Diptera: Drosophilidae), in California. *Environmental Entomology* 15:859–866.
- Hosmer, D. W., S. Lemeshow, e R. X. Sturdivant. 2013. *Applied Logistic Regression*. 3ª edição. Wiley, Nova York.
- Hwang, R. Y., L. Zhong, Y. Xu, T. Johnson, F. Zhang, K. Deisseroth, e W. D. Tracey. 2007. Nociceptive neurons protect *Drosophila* larvae from parasitoid wasps. *Current Biology* 17:2105–2116.
- Janssen, A. 1989. Optimal host selection by *Drosophila* parasitoids in the field. *Functional Ecology* 3:469.
- De Jong, R., e L. Kaiser. 1991. Odor learning by *Leptopilina boulardi*, a specialist parasitoid (Hymenoptera: Eucoilidae). *Journal of Insect Behavior* 4:743–750.
- Jr Hair, J. F., R. E. Anderson, R. L. Tatham, e W. C. Black. 2005. *Análise Multivariada de Dados*. 5ª edição.
- Kacsoh, B. Z., J. Bozler, e T. a Schlenke. 2014. A role for nematocytes in the cellular immune response of the drosophilid *Zaprionus indianus*. *Parasitology* 141:697–715.
- Kacsoh, B. Z., Z. R. Lynch, N. T. Mortimer, e T. A. Schlenke. 2013. Fruit flies medicate offspring after seeing parasites. *Science* 339:947–949.
- Kaiser, L., A. Couty, e R. Perez-Maluf. 2009. Dynamic Use of fruit odours to locate host larvae: individual learning, physiological state and genetic variability as adaptive mechanisms. Páginas 67–97 in G. Prévost, organizador. *Advances in Parasitology: Parasitoids of Drosophila*. Academic Press, Londres.
- Knoll, V., T. Ellenbroek, J. Romeis, e J. Collatz. 2017. Seasonal and regional presence of hymenopteran parasitoids of *Drosophila* in Switzerland and their ability to parasitize the invasive *Drosophila suzukii*. *Scientific Reports* 7:1–11.
- Kraaijeveld, A. R., E. C. Limentani, e H. C. J. Godfray. 2001. Basis of the trade-off between parasitoid resistance and larval competitive ability in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 268:259–261.

- LaSalle, J. 2003. Parasitic Hymenoptera, biological control and biodiversity. Páginas 197–215 in J. LaSalle e I. Gauld, organizadores. Hymenoptera and Biodiversity. CAB International Wallingford, London.
- Leão, B. D. 2016. Variação Temporal das Assembleias de Drosophilídeos (Diptera, Drosophilidae) na Reserva Ecológica do IBGE. Universidade de Brasília.
- Loiácono, M. S., e C. B. Margaría. 2002. Systematics, morphology and physiology. Ceraphronoidea, Platygastroidea and Proctotrupeoidea from Brazil (Hymenoptera). Neotropical Entomology 31:551–560.
- Lue, C.-H., A. C. Driskell, J. Leips, e M. L. Buffington. 2016. Review of the genus *Leptopilina* (Hymenoptera, Cynipoidea, Figitidae, Eucoilinae) from the Eastern United States, including three newly described species. Journal of Hymenoptera Research 53:35–76.
- Machtiger, E. T., e C. J. Geden. 2015. Comparison of the olfactory preferences of four of filth fly pupal parasitoid species (Hymenoptera: Pteromalidae) for hosts in equine and bovine manure. Environmental Entomology 44:1417–1424.
- Marchiori, C. H. 2003. First report of parasitoid *Pachycrepoideus vindemmiae* Rondani (Hymenoptera: Pteromalidae) in pupae of *Zaprionus indianus* Gupta (Diptera: Drosophilidae) in Brazil. Biotemas 16:129–133.
- Marchiori, C. H., S. B. Arantes, L. A. Pereira, O. M. S. Filho, e V. R. Borges. 2003a. Primeiro registro de *Leptopilina boulandi* Barbotin *et al.* (Hymenoptera: Figitidae: Eucoilinae) parasitando *Zaprionus indianus* Gupta (Diptera: drosophilidae) no Brasil. Semina: Ciências Agrárias 24:321–324.
- Marchiori, C. H., O. M. S. Filho, F. C. O. . Fortes, J. F. Laurindo, e R. B. Ferreira. 2005. Parasitóides (Insecta : Hymenoptera) de dípteros (Insecta : Diptera) coletados em diferentes altitudes e substratos no Parque da Serra de Caldas Novas, Goiás, Brasil. Biotemas 18:117–128.
- Marchiori, C. H., L. Miranda, e L. L. Ferreira. 2013. Hosts of the parasitoid *Pachycrepoideus vindemmiae* (Rondani) (Hymenoptera : Pteromalidae) of medical-veterinary and economic importance collected in the state of Goiás , Brazil. American Journal of Life Sciences 1:228–231.
- Marchiori, C. H., L. a Pereira, e O. M. Filho. 2003b. *Aphaereta* sp. (Hymenoptera: Braconidae: Alysiniinae) as a natural enemy to *Peckia chrysostoma* (Wiedemann) (Diptera: Sarcophagidae), in Brazil. Brazilian journal of biology 63:169–172.
- Marchiori, C. H., e C. G. Silva. 2003. First occurrence of parasitoid *Spalangia endius* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) in pupae of *Zaprionus indianus* Gupta (Diptera: Drosophilidae) in Brazil. Brazilian journal of biology 63:361–362.
- Marchiori, C. H., E. R. Silva, K. G. S. Caldas, S. A. Carvalho, S. A. Almeida, N. B. Pentead-Dias, e F. E. Gallardo. 2001. Parasitoides da subfamília Eucoilinae (Hymenoptera: Cypioidea: Figitidae) coletados em um remanescente de mata de cerrado em Itumbiara, GO. Arquivos do Instituto Biológico 68:65–67.

- Markow, T. A., e P. O'Grady. 2008. Reproductive ecology of *Drosophila*. *Functional Ecology* 22:747–759.
- Markow, T. A., e P. M. O'Grady. 2006. *Drosophila*. A guide to species identification and use. Academic Press, Londres.
- Martel, V., E. Wajnberg, e G. Boivin. 2008. Patch time allocation in male parasitoids. *Ecological Entomology* 33:608–613.
- Masner, L., e J. L. García. 2002. The genera of diapiriinae (Hymenoptera: Diapriidae) in the new world. American Museum of Natural History, Nova York.
- Mata, R. A., e R. Tidon. 2013. The relative roles of habitat heterogeneity and disturbance in drosophilid assemblages (Diptera, Drosophilidae) in the Cerrado. *Insect Conservation and Diversity* 6:663–670.
- Mata, R. A., H. Valadão, e R. Tidon. 2015. Spatial and temporal dynamics of drosophilid larval assemblages associated to fruits. *Revista Brasileira de Entomologia* 59:50–57.
- Medeiros, H. F., e L. B. Klaczko. 1999. A weakly biased *Drosophila* trap. *Drosophila Information Service* 82:100–102.
- Melk, J. P., e S. Govind. 1999. Developmental analysis of *Ganaspis xanthopoda*, a larval parasitoid of *Drosophila melanogaster*. *The Journal of experimental biology* 202:1885–1896.
- Milan, N. F., B. Z. Kacsoh, e T. A. Schlenke. 2012. Report alcohol consumption as self-medication against blood-borne parasites in the fruit fly. *Current Biology* 22:488–493.
- Miller, B., G. Anfora, M. Buffington, K. M. Daane, D. T. Dalton, K. M. Hoelmer, M. Valerio Rossi Stacconi, A. Grassi, C. Ioriatti, A. Loni, J. C. Miller, M. Ouantar, X. Wang, N. G. Wiman, e V. M. Walton. 2015. Seasonal occurrence of resident parasitoids associated with *Drosophila suzukii* in two small fruit production regions of Italy and the USA. *Bulletin of Insectology* 68:255–263.
- Moraes, A. B., P. Perre, e J. F. Sobczak. 2012. Fauna de vespas parasitoides (Insecta, Hymenoptera) coletadas em um fragmento de Cerrado, Jataí, Goiás, Brasil. *Arq. Inst. Biol* 79:437–441.
- Myers, N., R. A. Mittermeier, C. G. Mittermeier, G. A. B. da Fonseca, e J. Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853–858.
- Noyes, J. S. 2001. Catalogue of world Chalcidoidea 2001. Vancouver.
<http://www.taxapad.com/local.php?&indexstartGS=64595&taxgroupGS=chalcidoidea>.
- Oliveira, H. 2013. Associação entre drosofilídeos (Insecta: Diptera) e frutos como sítios de criação larval. Universidade de Brasília.
- Ovruski, S. M., P. Schliserman, e M. Aluja. 2016. Occurrence of diapause in

- neotropical parasitoids attacking *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) in a subtropical rainforest from Argentina. *Austral Entomology* 55:274–283.
- Parra, J. R. P., P. S. Botelho, B. Corrêa-Ferreira, e J. M. Bento. 2002. Controle biológico no Brasil. Parasitoides e predadores. Manole, São Paulo.
- Paula, M. A. 2015. Diversidade de drosofilídeos (Diptera, Drosophilidae) na Reserva Ecológica do IBGE, em área afetadas pelo fogo. Universidade de Brasília.
- Pennacchio, F., e M. R. Strand. 2006. Evolution of developmental strategies in parasitic hymenoptera. *Annual review of entomology* 51:233–258.
- Perkins, R. C. L. 1910. Fauna Hawaiiensis. Supplement to Hymenoptera 2:600–686.
- Peters, R. S. 2009. New habitat and host records and notes on the life history of *Pachycrepoideus vindemmiae* (Rondani, 1875) (Hymenoptera: Chalcidoidea: Pteromalidae). *Mitteilungen aus dem Hamburgischen Zool. Museum und Institut*:39–49.
- Peters, R. S. 2011. Two ways of finding a host: a specialist and a generalist parasitoid species (Hymenoptera: Chalcidoidea: Pteromalidae). *European Journal of Entomology* 108:565–573.
- Poolman Simons, M. T. T., B. P. Suverkropp, L. E. M. Vet, e G. de Moed. 1992. Comparison of learning in related generalist and specialist eucoilid parasitoids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 64:117–124.
- Powell, J. R. 1997. Progress and prospects in evolutionary biology. Oxford University Press, Nova York.
- Prévost, G. 2009. Advances in Parasitology. Parasitoids of *Drosophila*. Página (D. Rollinson e S. I. Hay, Orgs.) Advances in parasitology. Academic Press, Londres.
- Rafael, J. A., S. A. Carvalho, G. A. R. Melo, Casari, e R. Constatino, organizadores. 2012. Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia. Holos, Ribeirão Preto.
- Reina, P., e M. C. Vasta. 2003. *Pachycrepoideus vindemmiae* (Rondani) (Hymenoptera Pteromalidae) on *Megaselia scalaris* (Loew) (Diptera Phoridae), new host recorded in Italy. *Bollettino di Zoologia agraria e di Bachicoltura* 35:83–89.
- Ribeiro, J. F., e B. M. T. Walter. 2008. As principais fitofisionomias do bioma Cerrado. Páginas 152–212 in S. M. Sano, Semíramis P. de Almeida, e José F. Ribeiro, organizadores. Cerrado: Ecologia e flora. v. 1. Embrapa Cerrados.
- Rondani, C. 1875. Nota sul moscerino dell’uva. *Bul Comizio agr. parmen.* 8:145–148.
- Ronquist, F. 1999. Phylogeny, classification and evolution of the Cynipoidea. *Zoologica Scripta* 28:139–164.
- Roque, F., R. A. Mata, e R. Tidon. 2013. Temporal and vertical drosophilid (Insecta; Diptera) assemblage fluctuations in a neotropical gallery forest. *Biodiversity and Conservation* 22:657–672.

- Roque, F., S. C. F. Oliveira, e R. Tidon. 2011. Technical adaptations of retention traps used to catch drosophilids. *Drosophila Information Service* 94:140–141.
- 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, e G. Anfora. 2015. Host stage preference, efficacy and fecundity of parasitoids attacking *Drosophila suzukii* in newly invaded areas. *Biological Control* 84:28–35.
- Rossi Stacconi, M. V., A. Grassi, D. T. Dalton, B. Miller, M. Ouantar, A. Loni, C. Ioriatti, V. M. Walton, e 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.
- Roy, H. E., L. J. L. Handley, K. Schonrogge, R. L. Poland, e B. V. Purse. 2011. Can the enemy release hypothesis explain the success of invasive alien predators and parasitoids? *BioControl* 56:451–468.
- Sandanayaka, W. R. M., e J. G. Charles. 2006. Host location and ovipositional behavior of *Platygaster demades* Walker (Hymenoptera: Platygastriidae), an egg parasitoid of apple and pear leaf curling midges. *Journal of Insect Behavior* 19:99–113.
- Sandanayaka, W. R. M., e P. Ramankutty. 2007. Temperature dependent emergence and survival of *Platygaster demades* (Hymenoptera: Platygastriidae), parasitoid of apple leaf curling midge. *Biological Control* 42:41–47.
- Santos, R. D. C. O. Dos, e C. R. Vilela. 2005. Breeding sites of Neotropical Drosophilidae (Diptera). IV. Living and fallen flowers of *Sessea brasiliensis* and *Cestrum* spp. (Solanaceae). *Revista Brasileira de Entomologia* 49:544–551.
- Schneider, D. I., H. Valadão, e R. Tidon. 2014. Parasitoid wasps in the Brazilian Savanna : adding complexity to the *Drosophila* - fruit system. *Drosophila Information Service* 97:116–119.
- Selegatto, A., N. W. Perioto, e R. I. R. Lara. 2003. Registros preliminares sobre ocorrência de eucoilíneos (Hymenoptera, Figitidae, Eucoilinae) presentes em cultura de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. - Mavaceae) em Ribeirão Preto, SD, Brazil. *Arquivos do Instituto Biológico* 70:71–72.
- Silva, J. M. C., e J. M. Bates. 2009. Biogeographic patterns and conservation in the South American Cerrado: a tropical savanna hotspot. *BioScience* 52:255–233.
- Silva, R. A., E. G. Deus, J. D. B. Pereira, e R. A. Zucchi. 2011. Conhecimento sobre moscas-das-frutas no estado do Amapá. Páginas 223–236 in R. A. Silva, W. Lemos, e R. A. Zucchi, organizadores. *Moscas-das-frutas na Amazônia brasileira: diversidade, hospedeiros e inimigos naturais*. Embrapa Amapá, Macapá.
- Souza, A. R. de, G. N. Lopes-Mielezrski, E. N. Lopes, R. B. Querino, C. D. A. Corsato, T. A. Giustolin, e R. A. Zucchi. 2012. Hymenopteran parasitoids associated with frugivorous larvae in a brazilian Caatinga-Cerrado ecotone. *Environmental Entomology* 41:233–237.
- Steidle, J. L. M., e J. J. A. Van Loon. 2003. Dietary specialization and infochemical use

- in carnivorous arthropods: testing a concept. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 108:133–148.
- Tidon, R. 2006. Relationships between drosophilids (Diptera, Drosophilidae) and the environment in two contrasting tropical vegetations. *Biological Journal of the Linnean Society* 87:233–247.
- Tidon, R., M. S. Gottschalk, H. J. Schmitz, e M. B. Martins. 2017. Drosophilidae. <http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/listaBrasil/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=183186>.
- Torchin, M. E., K. D. Lafferty, A. P. Dobson, V. J. McKenzie, e A. M. Kuris. 2003. Introduced species and their missing parasites. *Nature* 421:628–630.
- Tyler, M. S. 2000. Development of the Fruit Fly *Drosophila melanogaster*. Páginas 1–27 in M. S. Tyler, organizador. *Developmental Biology, A Guide for Experimental Study*. 3ª. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Valadão, H., J. D. V. Hay, e R. Tidon. 2010. Temporal dynamics and resource availability for drosophilid fruit flies (Insecta, Diptera) in a gallery forest in the Brazilian savanna. *International Journal of Ecology*:1–7.
- Vet, L. E. M. 1983. Host-habitat location through olfactory cues by *Leptopilina Clavipes* (Hartig) (Hym.:Eucoilinae), a parasitoid of frugivorous *Drosophila*: the influence of conditioning. *Netherlands Journal of Zoology* 33:225–248.
- Vet, L. E. M. 1985. Olfactory microhabitat location in some eucoilid and alysiine species (Hymenoptera), larval parasitoids of Diptera. *Netherlands Journal of Zoology* 35:720–730.
- Vet, L. E. M., e J. J. M. Van Alphen. 1985. A comparative functional approach to the host detection behavior of parasitic wasps. 1. A qualitative study on Eucoilinae and Alysiinae. *Oikos* 44:478–486.
- Vet, L. E. M., e K. Bakker. 1985. A comparative functional approach to the host detection behavior of parasitic wasps. 2. A quantitative study on eight eucoilid species. *Oikos* 44:487–498.
- Vet, L. E. M., M. B. Sokolowski, D. E. MacDonald, e H. Snellen. 1993. Responses of a generalist and a specialist parasitoid (Hymenoptera: Eucoilidae) to drosophilid larval kairomones. *Journal of Insect Behavior* 6:615–624.
- Vet, L. E. M., F. L. Wackers, e M. Dicke. 1991. How to hunt for hiding hosts: the reliability-detectability problem in foraging parasitoids. *Netherlands Journal of Zoology* 41:202–213.
- Wajnberg, E., C. Bernstein, e J. J. M. van Alphen. 2008. Behavioral ecology of insect parasitoids. *Página Book*. Blackwell Publishing, Malden, MA.
- Wertheim, B., L. E. M. Vet, e M. Dicke. 2003. Increased risk of parasitism as ecological costs of using aggregation pheromones: laboratory and field study of *Drosophila-Leptopilina* interaction. *Oikos* 100:269–282.

- Wharton, R. A., P. M. Marsh, e M. J. Sharkey, organizadores. 1997. Manual of the New World genera of the family Braconidae (Hymenoptera). The International Society of Hymenoptera, Washington, DC.
- Wharton, R. A., S. M. Ovruski, e F. E. Gilstrap. 1998. Neotropical Eucoilinae (Cynipoidea) associated with fruit-infesting Tephritidae, with new records from Argentina, Bolivia and Costa Rica. *Journal of Hymenoptera Research* 7:102–115.
- Zhao, H.-Y., L. Zeng, Y.-J. Xu, Y.-Y. Lu, e G.-W. Liang. 2013. Effects of host age on the parasitism of *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae), an ectoparasitic pupal parasitoid of *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist* 96:451–457.
- Zwoelfer, H., M. Boenheim, e E. Beck. 2015. *Eurytoma serratulae* and *E. robusta* (Hymenoptera, Eurytomidae): complementary host exploitation strategies of coexisting parasitoids and their impact on the host *Urophora cardui*. *Journal of Hymenoptera Research* 42:47–62.

Anexo 1

Receita dos meios de banana para criação de drosofilídeos em laboratório

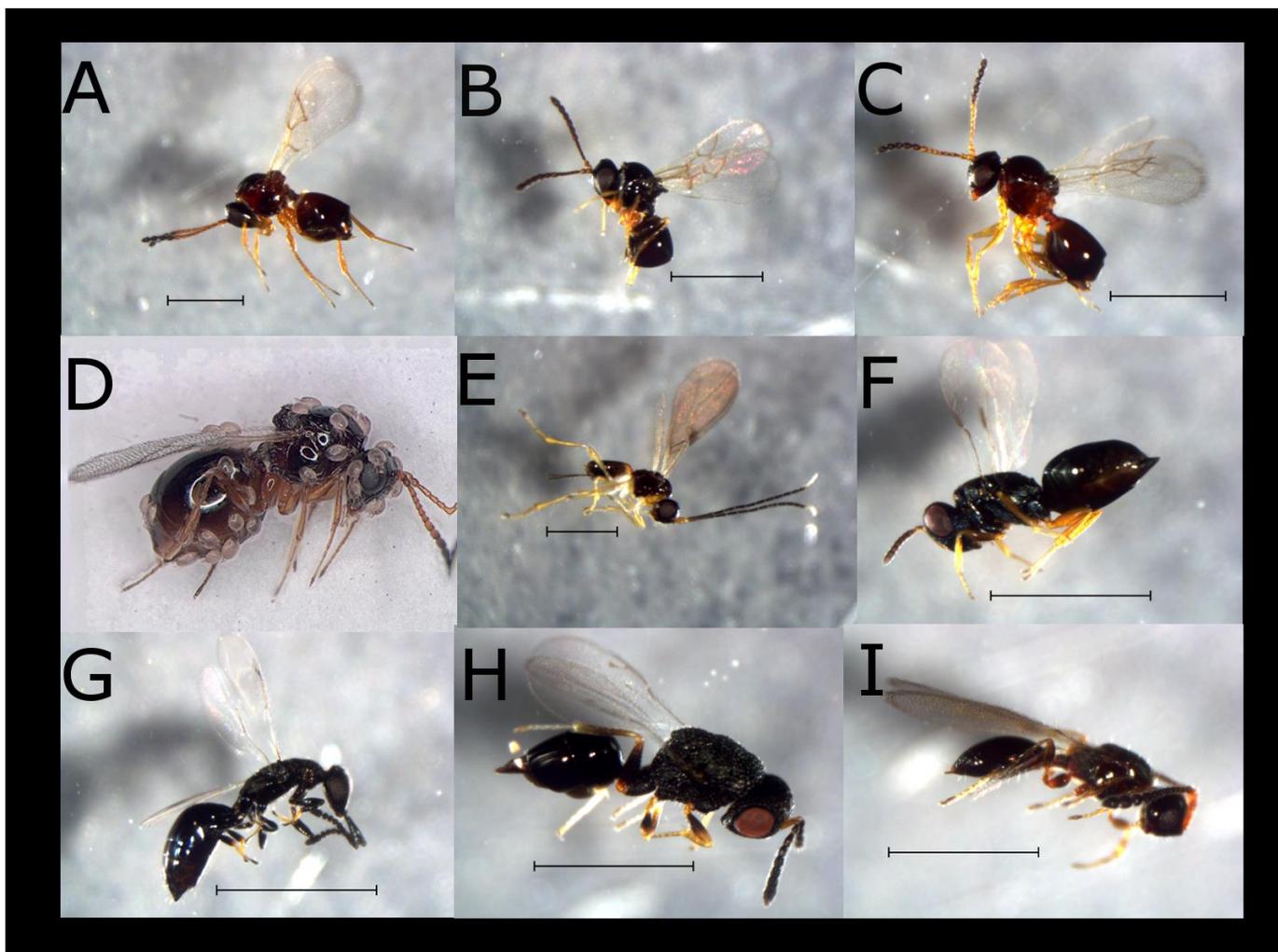
INGREDIENTES	PESO LÍQUIDO
Banana prata	69 g
Ágar	11 g
Fermento	17 g
Nipagim diluído em álcool	11 mL
Água	1000 mL
Ácido propiônico	5 mL

MODO DE PREPARO

- Bater a banana no liquidificador com metade da água (500 ml). Aquecer a outra metade na panela em fogo baixo.
- Colocar o ágar na água antes de ferver. Mexer constantemente o ágar até dissolver.
- Colocar em fogo alto para acelerar o processo e continuar mexendo.
- Quando ferver, adicionar o fermento e abaixar o fogo novamente.
- Esperar dissolver o fermento e após isso aumentar o fogo até ferver.
- Colocar na panela a banana batida. Mexer até ferver.
- Quando ferver, desligar o fogo. Continuar mexendo e esperar abaixar da temperatura de 70°C (15 minutos).
- Coloque o Nipagim diluído em álcool e o ácido propiônico à panela e mexer até dissolver.
- Transferir a mistura da panela para uma jarra de alumínio.
- Encher cada recipiente de vidro com a mistura até 1,5 mm (~1 dedo). Após encher o recipiente, tampar imediatamente.
- Guardar todos os recipientes numa sala climatizada a 25°C.

Anexo 2

Fêmeas das principais espécies e morfoespécies de vespas parasitoides que foram coletadas no Cerrado



Parasitoides de larva: (A) *Ganaspis* sp.3, (B) *Dicerataspis grenadensis* Ashmead 1896, (C) *Leptopilina boulandi* (Barbotin, Carton & Kelner-Pillaut, 1979), (D) *Ganaspis* sp. 2 do campo com carrapatos (Figitidae), (E) *Aphaereta* sp. 1 (Braconidae). Parasitoides de pupa: (F) *Pachycrepoideus vindemiae* (Rondani, 1875), (G) *Spalangia simplex* Perkins, 1910 (Pteromalidae), (H) *Eurytoma* sp. 1 (Eurytomidae), (I) *Trichopria* sp. 1 (Dipriidae). Escala de 1mm, com exceção da imagem D que está sem escala.