

UFRRJ

INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA

ANIMAL

TESE

**Estudo da relação do parasitóide *Nasonia vitripennis*
(Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) utilizando
como hospedeiro *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794)
(Diptera: Calliphoridae), em laboratório**

Clarissa Rezende Marinho

2007



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**ESTUDO DA RELAÇÃO DO PARASITÓIDE *Nasonia vitripennis*
(WALKER, 1836) (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE) UTILIZANDO
COMO HOSPEDEIRO *Chrysomya megacephala* (FABRICIUS, 1794)
(DIPTERA: CALLIPHORIDAE), EM LABORATÓRIO**

CLARISSA REZENDE MARINHO

Orientador:

Prof. Dr. Gonzalo Efrain Moya Borja

Co-Orientador:

Profa. Dra. Valéria Magalhães Aguiar Coelho

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor **em Biologia Animal**, no Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal.

Seropédica, RJ
Março de 2007

FICHA CATALOGRÁFICA

Marinho, Clarissa Rezende

Estudo da relação do parasitóide *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) utilizando como hospedeiro *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae), em laboratório/ Clarissa Rezende Marinho – Rio de Janeiro: UFRRJ, 2007.

7figs., 6 grafs., 8 tabs.

Orientador: Gonzalo Efrain Moya Borja

Co-orientadora: Valéria Magalhães Aguiar Coelho

Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia.

Bibliografia:

1-Pupas hospedeiras 2- Controle biológico 3- Desenvolvimento ontogenético I. Moya Borja, Gonzalo Efrain; II. Aguiar-Coelho, Valéria Magalhães. I. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-graduação em Biologia Animal; II. Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Instituto Biomédico, Depto. de Microbiologia e Parasitologia. III. Estudo da relação do parasitóide *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) utilizando como hospedeiro *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae), em laboratório.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

CLARISSA REZENDE MARINHO

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Biologia Animal,
no curso de Pós-Graduação em Biologia Animal, área de concentração em Parasitologia.

TESE APROVADA EM ____/____/____

Prof. Dr. Gonzalo Efrain Moya Borja - UFRRJ
(Orientador)

Profa. Dr. Margareth M. de Carvalho Queiroz (FioCruz)

Prof. Dr. Paulo Cassino (UFRRJ)

Prof. Dr. Roberto de Xerez (UFRRJ)

Prof. Dr. William Costa Rodrigues (Universidade Severino Sombra)

*Aos meus pais e ao meu irmão, pelo
apoio, incentivo, compreensão e
ajuda em todos os momentos de
minha vida*

AGRADECIMENTOS

A Prof^a. Valéria Magalhães Aguiar Coelho e ao Prof. Gonzalo Efrain Moya Borja pela oportunidade, ensinamentos e orientação contribuindo com a realização deste trabalho.

A Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

A Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Laboratório de Estudo de Dípteros, local onde foi realizado o experimento da Tese.

A FINEP pelo apoio financeiro e a CAPES pela bolsa concedida.

A Fundação Rio-Zoo por permitir a realização das coletas dos insetos.

Aos meus colegas do Laboratório de Estudo de Dípteros, Leandro, Adriana, Priscila pela ajuda na manutenção das colônias.

A Dra. Maria Angélica Penteado Dias da Universidade de São Carlos, pela identificação dos microhimenópteros.

Ao Prof. William Costa Rodrigues pela colaboração na análise estatística deste trabalho.

Aos meus colegas do Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal, Sérgio e Renne.

Aos meus pais e meu irmão por estarem ao meu lado, me apoiando durante todo o curso.

Aos meus tios, tias e primos que me incentivaram e apoiaram desde o início.

Aos meus amigos Maria Fernanda e Edson pela amizade e incentivo.

A todos, que de certa forma, contribuíram na realização deste trabalho.

E principalmente a Deus que tornou tudo isto possível.

BIOGRAFIA

Clarissa Rezende Marinho, filha de Alcides Marinho Junior e Lucia Helena Rezende Marinho, nasceu no dia 29 de junho de 1977, na cidade do Rio de Janeiro, RJ.

Iniciou seus estudos no Colégio Nossa Senhora do Rosário, em Campo Grande, Rio de Janeiro-RJ, concluindo o 2º grau em 1994.

Em 1995, ingressou no curso de Ciências Biológicas- Modalidade Médica (Biomedicina) pela Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), graduando-se em março de 2000.

Foi bolsista de iniciação científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) em 1998-1999, bolsista de Iniciação Científica pela Universidade do Rio de Janeiro (IC/UNIRIO) em 1999-2000 e bolsista de Aperfeiçoamento pela Universidade do Rio de Janeiro (AP/UNIRIO), no período de 2000-2001.

Foi estagiária do Laboratório de Estudo de Dípteros da UNIRIO de 1998 até 2001 e do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Central da Polícia Militar do Rio de Janeiro, em 1999.

Em 2000, cursou as disciplinas de Zoologia Médica e Parasitologia I e Parasitologia II, pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Em dezembro de 2000 ingressou no Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas- Doenças Parasitárias, da Universidade Iguazu ao nível de Mestrado, concluindo em julho de 2002.

Em 2003, iniciou o Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, ao nível de Doutorado.

RESUMO

MARINHO, Clarissa Rezende. **Estudo da relação do parasitóide *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) utilizando como hospedeiro *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae), em laboratório.** 2007. 53 p. Tese (Doutorado em Biologia Animal) Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar aspectos biológicos de *Nasonia vitripennis* sob a influência da exposição de diferentes densidades do hospedeiro *Chrysomya megacephala* ao parasitóide *N. vitripennis*, isolado e agrupado; avaliar a longevidade de *N. vitripennis* com e sem oferecimento de pupas aos adultos parasitóides; e verificar a influência da serragem como substrato de pupas hospedeiras de *C. megacephala*, sobre o parasitismo de *N. vitripennis*. Os experimentos foram conduzidos utilizando-se câmara climatizada regulada a 27°C/dia e 25°C/noite, 60±10% de umidade relativa do ar e 14 horas de fotofase. Diferentes densidades de pupas hospedeiras de *C. megacephala* congeladas foram expostas a fêmeas nulíparas em tubos de ensaio vedados com algodão hidrofóbico, por 48 horas, nas relações parasitóide:hospedeiro isoladas (1:5, 1:7, 1:9 e 1:11) e agrupadas (5:25, 5:35, 5:45 e 5:55) para observação do efeito grupamento. Foram realizadas 15 repetições por tratamento. A longevidade de *N. vitripennis* foi observada a partir de 5 casais de microhimenópteros recém-emergidos agrupados em gaiolas de vidro, oferecendo 10 pupas de *C. megacephala*, trocadas semanalmente (tratamento 1) e do não oferecimento de pupas no tratamento 2, ambos os tratamentos foram realizados em 4 repetições. A terceira etapa consistiu na exposição de uma pupa de *C. megacephala* a uma fêmea parasitóide, com e sem a utilização de serragem como substrato para a pupa, por 48 horas. Foram realizadas 5 repetições por tratamento e as condições climáticas foram registradas diariamente. A partir da exposição de diferentes densidades do hospedeiro *C. megacephala* ao parasitóide *N. vitripennis* observou-se que a duração média do desenvolvimento ontogenético oscilou entre 15,0 e 18,0 dias, havendo uma tendência a diminuição da duração do desenvolvimento em função do aumento de hospedeiros. O número médio de parasitóide por pupa variou de 8,0 a 21,6, sendo a maior progênie de *N. vitripennis* obtida na relação 1:9. Houve um desvio da razão sexual para fêmeas nestes tratamentos. O oferecimento de pupas hospedeiras aos parasitóides influenciou na longevidade de *N. vitripennis*, obtendo longevidade média de 23,5 dias para machos e 22,5 dias para fêmeas com oferecimento de pupas e 25,5 dias para machos e 25,0 dias para fêmeas sem o oferecimento de pupas. A utilização de serragem como substrato de pupas de *C. megacephala* não influenciou nos aspectos biológicos de *N. vitripennis*.

Palavra-chave: controle biológico, desenvolvimento ontogenético e pupas hospedeiras.

ABSTRACT

MARINHO, Clarissa Rezende. **Study of the relationship of parasitoid *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) in host *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae), in laboratory.** 2007. 53 p. Tese (Doutorado em Biologia Animal) Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

The object of this study was evaluate biological aspects of *Nasonia vitripennis* at different density levels of the host *Chrysomya megacephala* on parasitoid *N. vitripennis* isolated and grouped; evaluate the longevity of *N. vitripennis* with and without offering of pupas to the parasitoides adults; and verify the influence of the sawdust as substratum of pupas hostesses of *C. megacephala*, on the parasitism of *N. vitripennis*. The experiments had been lead using climatized chamber regulated the 27°C/day and 25°C/night, 60±10% of relative humidity of air and 14 hours of fotofase. Different densities of pupas hostesses congealed of *C. megacephala* had been displayed the nulliparous females in pipes of assay closed with hydrophobic cotton, for 48 hours, in the relations parasitoid:host isolated (1:5, 1:7, 1:9 e 1:11) and grouped (5:25, 5:35, 5:45 e 5:55)for observation of the effect grouping. 15 repetitions for treatment had been carried through. The longevity of *N. vitripennis* was observed from 5 couples of microhymenopteras just-emerged grouped in glass river steamers, offering 10 pupaes of *C. megacephala*, changed weekly (treatment 1) and don't offering pupaes in treatment 2, both the treatments was realizated 4 repetitions. The third stage consisted of the one exposition pupae of *C. megacephala* to a parasitoid female, with and without the sawdust use as substratum for pupae, for 48 hours. 5 repetitions for treatment had been carried through and climatic conditions had been registered daily. From the exposition of different densities of host *C. megacephala* to the parasitoid *N. vitripennis* observed that the average duration of the ontogenetic development oscillated between 15.0 and 18.0 days, having a reduction of the duration of the development in function of the increase of hosts. The average number of parasitoid for pupae varied of 8.0 the 21.6, being the biggest lineage of gotten *N. vitripennis* in relation 1:9. It had a shunting line of the sexual reason for females in these treatments. The offering of pupaes hostesses to the parasitoids influenced in the longevity of *N. vitripennis*, getting average longevity of 23.5 days for male and 22.5 days for females with offering pupaes and 25.5 days for males and 25.0 days for females without the offering pupaes. The use of sawdust as substratum of pupas of *C. megacephala* did not influence in the biological aspects of *N. vitripennis*.

Key-words: biological control, host pupae and ontogenetic development.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	01
2. Objetivos.....	03
3. Revisão de Literatura.....	04
3.1. Importância dos califorídeos.....	04
3.2. Aspectos gerais sobre a biologia dos califorídeos.....	06
3.3. Aspectos gerais sobre <i>Nasonia vitripennis</i>	08
4. Material e Métodos.....	12
4.1 Local de Experimentação.....	12
4.2. Estabelecimento e manutenção da colônia de califorídeos.....	12
4.3. Armazenamento de pupas hospedeiras.....	15
4.4. Estabelecimento e manutenção da colônia de <i>Nasonia vitripennis</i>	15
4.5. Identificação dos microhimenópteros.....	17
4.6. Fase experimental.....	17
4.6.1. Exposição de diferentes densidades do hospedeiro <i>Chrysomya megacephala</i> ao parasitóide <i>Nasonia vitripennis</i>	17
4.6.2. Longevidade do parasitóide <i>Nasonia vitripennis</i>	20
4.6.3. Influência da serragem como substrato para pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> sobre o parasitismo de <i>Nasonis vitripennis</i>	20
4.7. Análise estatística.....	24
5. Resultados.....	25
5.1. Exposição de diferentes densidades do hospedeiro <i>Chrysomya megacephala</i> ao parasitóide <i>Nasonia vitripennis</i>	25
5.2. Longevidade do parasitóide <i>Nasonia vitripennis</i>	30
5.3. Influência da serragem como substrato para pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> sobre o parasitismo de <i>Nasonis vitripennis</i>	33
6. Discussão.....	40
6.1. Exposição de diferentes densidades do hospedeiro <i>Chrysomya megacephala</i> ao parasitóide <i>Nasonia vitripennis</i>	40
6.2. Longevidade do parasitóide <i>Nasonia vitripennis</i>	44

6.3. Influência da serragem como substrato para pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> sobre o parasitismo de <i>Nasonis vitripennis</i>	44
7. Conclusão.....	46
8. Referências Bibliográficas.....	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ciclo biológico de <i>Nasonia vitripennis</i>	10
Figura 2 – Desenho ilustrativo da armadilha de captura de dípteros.....	13
Figura 3- Gaiolas de criação de <i>Chrysomya megacephala</i>	14
Figura 4 – Gaiola de criação de <i>Nasonia vitripennis</i>	16
Figura 5 - Fotografia dos tratamentos isolados e agrupados, a 27 °C/dia e 25 °C/noite, 60±10% de umidade relativa do ar e 14 horas de fotofase.....	18
Figura 6 – Gaiolas utilizadas no experimento de longevidade.....	21
Figura 7- Tratamentos para observação da influência da serragem como substrato para pupa de <i>Chrysomya megacephala</i> sobre o parasitismo de <i>Nasonia vitripennis</i>	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tratamentos estabelecidos a partir da razão parasito/hospedeiro em fêmeas de <i>Nasonia vitripennis</i> individualizadas e agrupadas sob pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> , em condições controladas de 27°C/dia e 25°C/noite, 60±10% de umidade relativa do ar e 14 horas de fotofase.....	19
Tabela 2 - Duração média do desenvolvimento ontogenético (em dias) do parasitóide de <i>Nasonia vitripennis</i> criadas em pupas congeladas de <i>Chrysomya megacephala</i> expostas ao parasitismo a diferentes densidades por 48h, 27°C/dia e 25°C/ noite, 60±10% UR e 14 horas de fotofase.....	26
Tabela 3 - Número médio de parasitóides adultos de <i>Nasonia vitripennis</i> oriundas de fêmeas nulíparas da 4ª geração e criadas em pupas frescas de <i>Chrysomya megacephala</i> expostas ao parasitismo a diferentes densidades de parasitóides por 48h, 27°C/dia e 25°C/noite, 60±10% UR e 14 horas de fotofase.....	31
Tabela 4 - Razão Sexual e Taxa de eficiência parasitária de <i>N. vitripennis</i> originadas de fêmeas matrizes criadas em pupas de <i>C. megacephala</i> expostas ao parasitismo a diferentes densidades de parasitóides por 48h, 27°C/dia e 25°C/noite, 60±10% UR e 14 horas de fotofase.....	32
Tabela 5 - Longevidade (em dias) do parasitóide <i>Nasonia vitripennis</i> oriundos de pupas congeladas de <i>Chrysomya megacephala</i> , com oferecimento de pupas (Tratamento I) e sem o oferecimento de pupas (Tratamento II), 27°C/dia e 25°C/noite, 60±10% UR e 14 horas de fotofase.....	34
Tabela 6- Duração média do desenvolvimento ontogenético (em dias) do parasitóide <i>Nasonia vitripennis</i> criadas em pupas frescas de <i>Chrysomya megacephala</i> a qual foram expostas ao parasitismo sem a utilização de serragem como substrato pupal (Tratamento I) e com a serragem (Tratamento II), por período de 48 horas.....	37
Tabela 7 - Número médio de parasitóides adultos de <i>Nasonia vitripennis</i> oriundas de fêmeas nulíparas da 3ª geração e criadas em pupas frescas de <i>Chrysomya megacephala</i> expostas ao parasitismo na ausência (TI) ou na presença da serragem (T II), por 48h.....	38

Tabela 8- Razão Sexual e Taxa de eficiência parasitária de *Nasonia vitripennis* originadas de fêmeas matrizes criadas em pupas de *Chrysomya megacephala* expostas ao parasitismo na ausência (TI) ou na presença da serragem (T II), por 48h.....

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Variação da temperatura e da umidade relativa do ar no Laboratório de Estudo de Dípteros durante a fase experimental.....	23
Gráfico 2 - Ritmo de emergência de <i>Nasonia vitripennis</i> criadas em pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> expostas ao parasitismo por 48 horas, utilizando diferentes relações parasitóides: hospedeiro, a 27°C/dia e 25°C/noite, 60±10% UR e 14 horas de fotofase.....	27
Gráfico 3 - Ritmo de emergência de machos <i>Nasonia vitripennis</i> criadas em pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> expostas ao parasitismo por 48 horas, utilizando diferentes relações parasitóides: hospedeiro, a 27°C/dia e 25°C/noite, 60±10% UR e 14 horas de fotofase.....	28
Gráfico 4 - Ritmo de emergência de fêmeas <i>Nasonia vitripennis</i> criadas em pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> expostas ao parasitismo por 48 horas, utilizando diferentes relações parasitóides: hospedeiro, a 27°C/dia e 25°C/noite, 60±10% UR e 14 horas de fotofase.....	29
Gráfico 5 - Longevidade (em dias) das fêmeas de <i>Nasonia vitripennis</i> oriundos de pupas congeladas de <i>Chrysomya megacephala</i> , com oferecimento de pupas (Tratamento I) e sem o oferecimento de pupas (Tratamento II), 27°C/dia e 25°C/noite, 60±10% UR e 14 horas de fotofase.....	35
Gráfico 6 - Longevidade (em dias) de machos de <i>Nasonia vitripennis</i> oriundos de pupas congeladas de <i>Chrysomya megacephala</i> , com oferecimento de pupas (Tratamento I) e sem o oferecimento de pupas (Tratamento II), 27°C/dia e 25°C/noite, 60±10% UR e 14 horas de fotofase.....	36

1. INTRODUÇÃO

Os califorídeos possuem uma relação estreita com o homem, convivendo com as alterações ambientais provocadas por ele, apresentando, portanto, elevado grau de sinantropia. Sua permanência e reprodução em áreas urbanas são favorecidas pelo volume de matéria orgânica produzida e o acúmulo de lixo nos lixões, sendo este ambiente, segundo BAUMGARTNER & GREENBERG (1985), um importante criadouro e atrativo para califorídeos, pois oferece alimento para diferentes espécies, funcionando como se houvesse uma fábrica de moscas. Esta estreita relação com o homem favorece a disseminação de patógenos, aliado a elevada capacidade de dispersão e diversificação no hábito alimentar.

Sendo assim, califorídeos podem ser considerados insetos-pragas, que segundo a definição de PARRA *et al.* (2002), incluem todos aqueles que causam danos econômicos nas áreas agrícolas, florestais, agropecuárias ou urbanas, podendo ser vetores de agentes etiológicos de enfermidades das plantas, dos animais ou do homem.

O controle destes insetos tem sido realizado em grande parte, por inseticidas químicos. O uso constante e indiscriminado destes produtos, somado a longa ação residual e o amplo espectro de ação dos mesmos, foram selecionando insetos resistentes. Este fato, aliado a toxicidade ao homem, animais e natureza, tem levado a busca de novos métodos que sejam menos agressivos para controlar os dípteros. Neste contexto, um fenômeno natural baseado no reconhecimento de inimigos naturais para regulação da densidade populacional de insetos-praga pode ser pensado como uma forma alternativa de controle.

O termo controle biológico foi utilizado pela primeira vez em 1919 pelo pesquisador Harry Smith, quando referiu ao uso de inimigos naturais como controladores de insetos-pragas (PARRA *et al.*, 2002). Uma série de organismos pode ser considerado agentes controladores, e entre eles estão os parasitóides, que se desenvolvem total ou parcialmente as custas de um organismo de outra espécie, acabando por provocar a sua morte, e tendo na forma adulta vida livre.

Os microhimenópteros da família Pteromalidae podem parasitar muitas espécies de dípteros, desempenhando papel importante na sua regulação, pois ovipositam no hospedeiro, que é sempre morto devido ao desenvolvimento da larva parasitóide, que dele se alimenta (LA SALLE & GAULD, 1992). *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) é um ectoparasitóide gregário de

pupas de dípteros muscóides, que vem sendo observado no Brasil, em estudo de levantamento a campo (SERENO & NEVES, 1993; MARCHIORI *et al.*, 2001; CARVALHO *et al.*, 2003; MARCHIORI, 2004; CARVALHO *et al.*, 2005) e alguns aspectos de sua biologia estudados por CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO (1995 e 1996), MOREIRA *et al.* (1996); MILWARD-DE-AZEVEDO *et al.* (2004); MESSIAS (2006); BARBOSA (2006). Devido ao comportamento gregário e a reprodução do tipo haplodiplóide, *N. vitripennis* é considerado um controlador biológico promissor (CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1995).

O controle biológico pode ser considerado uma medida alternativa dentro do controle integrado de pragas, que requer além do monitoramento da população do inseto-praga, o conhecimento aprofundado do seu comportamento, visando à aplicação de medidas que incluem a integração de práticas mecânicas, químicas e biológicas. *N. vitripennis* vem demonstrando potencial para ser utilizada dentro de um Programa de Controle Integrado, podendo suplantiar as técnicas tradicionais de uso de inseticidas químicos. E para isto torna-se necessário estudar os aspectos biológicos do parasitóide e de sua relação com o hospedeiro.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivos:

- Estudar a influência da exposição de diferentes densidades do hospedeiro *Chrysomya megacephala* ao parasitóide *Nasonia vitripennis*, isolado e agrupado, sobre parâmetros biológicos de *N. vitripennis*, tais como: duração do desenvolvimento ontogenético, produtividade de parasitóide por pupa, taxa de parasitismo e razão sexual.
- Avaliar a longevidade de *N. vitripennis* oriundas de pupas de *C. megacephala*, com e sem oferecimento de pupas aos adultos parasitóides.
- Avaliar a influência da serragem como substrato de pupas hospedeiras de *C. megacephala*, sobre o parasitismo do microhimenóptero *N. vitripennis*.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Importância dos califorídeos

Os califorídeos são animais sinantrópicos, pois tem a capacidade de conviver com as alterações do meio ambiente propiciadas pelo homem (NUORTEVA, 1963). Sua grande importância ecológica e médico-sanitária dá-se em virtude da sua elevada capacidade de dispersão e diversificação do hábito alimentar.

Ao se alimentar, o díptero liquefaz o alimento e suga-o, desta forma e aliado ao fato de visitar todo tipo de material para sua alimentação, até animais mortos, aumenta a possibilidade de veicularem mecanicamente agentes patogênicos por meio das pernas, cujas cerdas podem reter agentes infecciosos. Em 1973, GREENBERG divulgou uma lista de patógenos veiculados por califorídeos. *Chrysomya megacephala* foi incriminada na transmissão de *Toxoplasma gondii*, e junto com *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) participam na veiculação de *Entamoeba histolytica*, Coxsackie vírus, *Salmonella*, *Shigella* e ovos de vários cestódeos (FURLANETTO *et al.*, 1984). Inúmeros fungos e bactérias foram encontrados em moscas das espécies *Lucilia eximia* (Wiedemann, 1819), *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1818), *C. megacephala* e *C. putoria* (Wiedemann, 1830), em estudos realizados por NORBERG *et al.* (1999) e QUEIROZ *et al.* (1999) em hospitais, restaurantes e feiras-livres da Baixada Fluminense-RJ. Trabalhos recentes relataram a veiculação de enterobactérias por *C. megacephala* (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Algumas espécies são incriminadas como causadoras de miíases, que é a infestação em vertebrados por larvas de dípteros que se alimentam do tecido vivo ou morto do hospedeiro (GUIMARÃES *et al.*, 1983; GUIMARÃES & PAPAVERO, 1999). Em 1840, Hope em trabalho de revisão utilizou o termo grego “myiasis”, onde “myie” significa mosca e “ase” doença, desde então este termo vem sendo utilizado nas mais variadas situações, havendo uma tendência a restringi-lo à síndrome geral caracterizada pelo ataque de larvas de dípteros a vertebrados vivos (GUIMARÃES *et al.*, 1983; GUIMARÃES & PAPAVERO, 1999).

ZUMPT (1965) definiu miíase como a infestação de vertebrados vivos por larvas de dípteros que, pelo menos durante certo período, se alimentam dos tecidos vivos ou mortos do hospedeiro e de suas substâncias corporais líquidas.

Segundo LESSA & LESSA (1999), os efeitos patogênicos das larvas desses dípteros estão associados com a liquefação do tecido infestado, através de enzimas proteolíticas liberadas pelo parasito. Macroscopicamente observa-se a presença de larvas em diferentes estágios de desenvolvimento, misturadas à massa de tecido necrosado, parcialmente digeridos ao qual exsuda sangue e líquido intersticial. Os odores exalados pela pele parecem atrair as fêmeas e causar estímulo a oviposição (BRITO *et al.*, 2001).

As miíases traumáticas ocasionadas por *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1958) e miíases alternativas ocasionadas por *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1805) entre outras espécies de califorídeos (GUIMARÃES *et al.*, 1983; GUIMARÃES & PAPAVERO, 1999), vem ocasionando consideráveis perdas à pecuária nacional, provocadas pela depreciação do couro, queda na produção do leite e óbitos dos animais com elevada infestação de larvas, levando a prejuízo econômico. *Chrysomya megacephala* é encontrada causando tanto miíase animais quanto humanas (GUIMARÃES & PAPAVERO, 1999; SUKONTASON *et al.*, 2005)

A utilização dos califorídeos como veiculadores de ovos de *Dermatobia hominis* (Linnaeus Jr., 1781) é relevante, este díptero possui uma característica peculiar, captura outros insetos, fixando uma massa de ovos sobre o abdome deste inseto que passa a ser veiculador desses ovos. Quando o veiculador encontra um vertebrado, o calor corporal estimula a larva que eclode e penetra na pele integra desse hospedeiro, gerando uma miíase furuncular. Os animais afetados por este tipo de miíase ficam debilitados, havendo diminuição na produção de leite e carne, além da depreciação do couro. No Brasil, foi estimado um prejuízo em torno de \$ 250 milhões/ano (GRISI *et al.*, 2002). *Hemilucilia segmentaria* (Fabricius, 1805) foi considerada, entre os califorídeos, o mais novo vetor biológico de *D. hominis* (MARINHO *et al.*, 2003).

Os califorídeos apresentam, por outro lado, relevante função ecológica relacionada à capacidade de suas larvas atuarem como decompositores de cadáveres na natureza, auxiliando estudos relacionados à Entomologia Forense. Estudos da entomofauna associada a cadáveres, baseada na sucessão, têm valor significativo na entomologia forense. O reconhecimento das espécies em cada estágio de decomposição e o conhecimento do tempo ocupado por cada estágio, associado aos valores de temperatura e outros fatores ambientais tornam possível uma estimativa do tempo de morte ou intervalo pós-morte (TAVARES & LINHARES, 1999).

Os dípteros colonizam um estágio particular da decomposição de cadáver, mostrando uma progressão regular e ordenada, ocorrendo uma sucessão de habitantes na carcaça (HANSKI, 1987). Os califorídeos são uns dos primeiros insetos a visitarem a carcaça em decomposição e compreendem cerca de 60% do total da fauna de um cadáver, sendo reconhecidos como indicadores forenses do tempo de morte (GREENBERG, 1971 e NUORTEVA, 1977). A partir daí, o conhecimento da biologia dos califorídeos podem ser utilizados para determinar o intervalo postmortem e crimes contra animais silvestre.

O comportamento necrobiontófago das larvas de califorídeos possibilitam a sua utilização em procedimentos terapêuticos denominados Terapia larval, que consiste no uso dessas larvas em ferimentos para acelerar o processo de cicatrização, tendo sido usadas em populações aborígenes na Austrália, América Central e Birmânia. LECLERQ (1990) relatou que além da aceleração de processo de cicatrização, as larvas de alguns dípteros são utilizadas para a limpeza e desinfecção de feridas, e devido à secreção de substâncias bactericidas eficazes, ocorre a diminuição do risco de gangrena.

Esse fenômeno já havia sido relatado por médicos militares que tinham tratado soldados com ferimentos necrosados e infestados por larvas. No entanto, com a descoberta dos antibióticos a terapia larval foi abandonada e mais tarde o aparecimento de resistência a antibióticos pelas bactérias fez ressurgir este tipo de tratamento (LINHARES, 2000).

3.2. Aspectos gerais sobre a biologia e morfologia dos califorídeos

Os califorídeos, conhecidos vulgarmente como varejeiras, são moscas de médio a grande porte, medindo de 4 a 16 mm, apresentando coloração metálica azul, verde, violeta ou cobre pelo menos no abdome. Possuem evolução completa do tipo holometabólica, contendo obrigatoriamente os estágios de ovo, larva, pupa e adulto (GUIMARÃES & PAPAVERO, 1999).

A fêmea deposita seus ovos em massas compactas, sendo o substrato de oviposição variável de acordo com as espécies de califorídeos, que vão desde matéria orgânica em decomposição, tecidos vivos, carcaças até lixo. As larvas que saem dos ovos, são vermiformes e ápodas e passam por três estágios de desenvolvimento, diferenciando-os pelo tamanho. No último ínstar param de se alimentar e migram para fora do substrato de criação, penetram no solo ou em outro ambiente seco para formar a pupa (GUIMARÃES & PAPAVERO *op cit*).

Há então, a formação de uma cutícula endurecida que constitui o pupário, onde ocorre o consumo das reservas alimentícias acumuladas para o desenvolvimento do inseto adulto. Os adultos emergem do pupário e se alimentam de uma variedade de substratos, como frutas, néctar das flores, substâncias açucaradas, até de origem animal (GUIMARÃES & PAPAVERO, 1999).

De acordo com a espécie de califorídeos e das condições climáticas e alimentícias, a duração do desenvolvimento ontogenético (desenvolvimento desde a oviposição até a eclosão do adulto), do desenvolvimento larval, do desenvolvimento pupal, do desenvolvimento pós-embrionário (neolarva à emergência do adulto) e a longevidade podem variar.

WIJESSUNDARA (1957) observou que o desenvolvimento ontogenético de *Chrysomya megacephala*, foi em média 7 dias e 7 horas a 30 °C. MILWARD-DE-AZEVEDO *et al.* (1995) constatou que a duração média foi de 5,05 dias para o estágio larval e 4,10 dias para o pupal, em condições de 22-33 °C e 45-90 % de UR. Em estudo sobre a influência do desenvolvimento pós-embrionário de *C. megacephala* criada em dieta a base de sardinha previamente exposta a temperatura de 30 °C por diferentes períodos, SANTOS *et al.* (1996) demonstraram que o desempenho e a duração do desenvolvimento é dependente do tempo de armazenamento prévio da fonte alimentar, onde o estágio larval variou de 4,01 a 5,68 dias. MILWARD-DE-AZEVEDO *et al.* (1995) constataram diferentes velocidades de crescimento de *C. megacephala* quando submetidas a diferentes regimes térmicos. A duração larval variou de 3,01 a 12,18 dias e o estágio pupal de 3,55 a 10,53 dias, em condições de temperatura que variaram de 18 °C a 35 °C. BARBOSA *et al.* (2004) estudando a longevidade e a capacidade reprodutiva de *C. megacephala* oriundos de larvas criadas em dieta natural e oligídica em condições de 28-20 °C, 60 ± 10% UR e 14 horas de fotofase, observaram que *C. megacephala* criadas em dieta larval a base de ração para cães foram mais longevas, vivendo em média 45,17 dias, enquanto os da dieta larval natural obtiveram longevidade média de 41,96 dias.

QUEIROZ & MILWARD-DE-AZEVEDO (1991) observaram que a duração do estágio larval e pupal de *Chrysomya albiceps*, em condições experimentais de 27 °C, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase, foi em média de 5,21 dias e 4,53 dias, respectivamente. *C. albiceps* apresentou uma longevidade média de 20 dias e seus adultos vivem cerca de 10 dias.

Em experimento conduzido a 23-29 °C e 14 horas de fotofase, *Chrysomya putoria* apresentou estágio larval de 4,16 dias e 4,12 dias de estágio pupal, desenvolvendo-se de ovo a adulto em 9,5 dias (GREENBERG & SZYSKA, 1984).

MOYA *et al.* (1999) estudando desenvolvimento pré-imaginal e longevidade de *Lucilia cuprina* (Wiedmann, 1830) observaram um desenvolvimento larval de 5,18 dias e pupal de

8,51 dias a temperatura entre 20,55 °C e 25,10 °C, UR 70 ± 5 % e 12 horas de fotofase. A duração do ciclo biológico foi de 12,40 dias para *L. cuprina*, com longevidade média de 33 dias, em condições experimentais (GUIMARÃES *et al.*, 1983 e MOYA *et al.*, 1999).

À temperatura de 27 °C, o ciclo completo de *Lucilia sericata* requer cerca de 12 dias. GUIMARÃES *et al.* (1983) relatam que a eclosão dos ovos ocorre em aproximadamente 8 horas, sendo o desenvolvimento larval de 120 horas e a pupariação de 6 dias, em média (GUIMARÃES & PAPAVERO, 1999).

Cochliomyia hominivorax apresentam um período de desenvolvimento larval de 6 a 8 dias. O período de desenvolvimento pupal dura em média 7 dias e os adultos de *C. hominivorax* apresentam longevidade de até 65 dias em cativeiro (GUIMARÃES *et al.*, 1983 e GUIMARÃES & PAPAVERO, 1999).

3.3. Aspectos gerais sobre *Nasonia vitripennis*

A vespa parasitóide *Nasonia vitripennis* vêm sendo objeto de estudos nas mais variadas áreas como genética, ecologia, biologia, comportamento, razão-sexual e forense (CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1995 e 1996; MOREIRA *et al.*, 1996; DRAPEAU & WERREN, 1999; KING *et al.*, 2000; BEUKEBOON & VAN DEN ASSEM, 2001; CARVALHO *et al.*, 2003 e 2004; e REECE *et al.*, 2004). Este microhimenóptero da família Pteromalidae foi descrito por WALKER em 1836. Encontra-se amplamente distribuído pelo mundo, sendo encontrado na América do Norte, África, Austrália, Europa, Ásia e Ilhas do Pacífico (RUEDA & AXTELL, 1985). Em 1985, MADEIRA & NEVES registraram pela primeira vez no Brasil, a presença de *N. vitripennis* parasitando pupas de *Chrysomya* sp.

A *N. vitripennis* é um ectoparasitóide gregário cujas fêmeas ovipositam mais de um ovo na pupa de dípteros muscóides. WYLIE (1963) listou 68 espécies de moscas parasitadas por *N. vitripennis*, que tem como hospedeiro preferencial representantes das famílias Calliphoridae e Sarcophagidae, devido ao pupário de maior porte, o que auxilia em melhores taxas reprodutivas (CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1995).

Segundo FRAENKEL & BHASKERAN, (1973), a fêmea espera até a última porção da cutícula da larva da mosca separar do pupário para depositar seus ovos neste espaço, tempo que leva de 24 a 30 horas a partir do início da formação do pupário. As larvas do microhimenóptero saem dos ovos, passam por quatro estágios de desenvolvimento,

alimentam-se da larva da mosca que se desenvolve dentro do pupário, matando-a. Com a rápida alimentação, ocorre um aumento de volume acentuado por não eliminar o conteúdo intestinal (GRASSBERGER & FRANK, 2003). Ao fim da alimentação, a larva entra em um estágio de descanso que termina com a ruptura do intestino e conseqüente defecação (WHITING, 1967).

Após atingir o último estágio larval, há o endurecimento da cutícula para formação do pupário. Este passa por uma série de estágios distintos durante a qual sua aparência muda, e chegando ao último estágio apresenta características morfológicas do adulto (SCHNEIDERMAN & HORWITZ, 1958 *apud* GRASSBERGER & FRANK, 2003). Ainda dentro do pupário da mosca, o adulto de *N. vitripennis* emerge do seu pupário e amadurece, podendo permanecer lá por diversas horas antes de emergir do pupário da mosca, por onde faz um pequeno e circular furo, escalando para fora do pupário da mosca (GRASSBERGER & FRANK, 2003 e WHITING, 1967) (Figura 1).

São considerados insetos haplodiplóides, cujo sexo da progênie pode ser controlado pela fêmea ovipositora, sendo fêmea originadas de ovos fertilizados e machos, de ovos não fertilizados. Vários fatores podem influenciar a razão sexual, como fotoperíodo, temperatura e umidade relativa do ar (KING, 1987). WYLIE (1965) observou que a presença de outras fêmeas estimulava a produção de macho, mas REECE *et al.* (2004) constataram um desvio da razão sexual para fêmea em seus estudos de procriação consangüínea.

De acordo com as condições climáticas ocorre variação na duração do desenvolvimento ontogenético, sendo a faixa de 15° a 30 °C ideal para o desenvolvimento deste inseto (WHITING, 1967). Em estudos sobre o desenvolvimento ontogenético de *N. vitripennis* sob diferentes temperaturas (15°, 20°, 25° e 35 °C), GRASSBERGER & FRANK (2003) observaram redução na duração do desenvolvimento ontogenético com o aumento da temperatura.

CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO (1995) observaram que a duração média do desenvolvimento ontogenético de *N. vitripennis* criadas em pupas de *C. megacephala* foi de 13 dias em condições de 26-30 °C e 60-85 % UR. MOREIRA *et al.* (1996) avaliando o desempenho reprodutivo deste microhimenóptero, verificaram o início da emergência deste parasitóide em 12 dias após a exposição das pupas hospedeiras de *C. megacephala* a 25-31 °C e 51-72 % UR.

Estudando aspectos da biologia de *N. vitripennis* sob condições laboratoriais, CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO (1996) constataram que a duração média do ciclo de

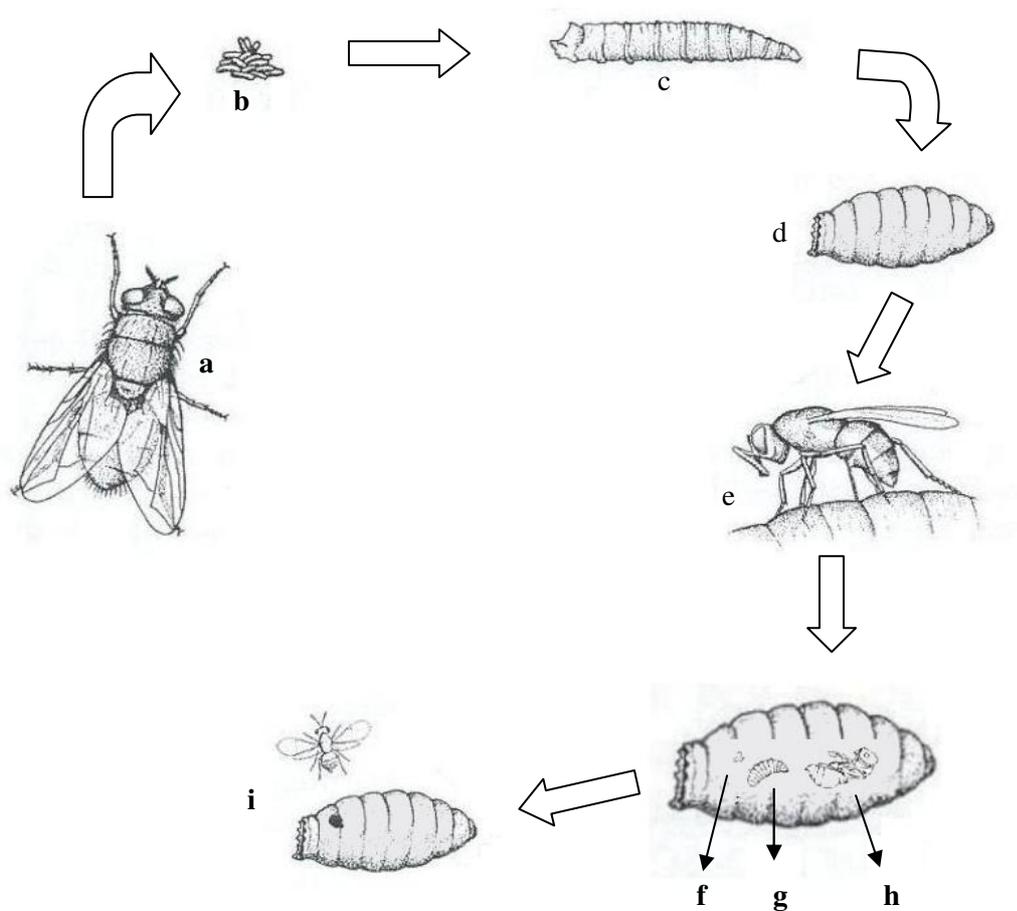


Figura 1 – Ciclo biológico de *Chrysomya megacephala* e do parasitóide *Nasonia vitripennis*. (a) díptero adulto, (b) ovos do díptero, (c) larva do díptero, (d) pupa do díptero, (e) *N. vitripennis* ovipositando na pupa do hospedeiro, (f) ovo do parasitóide, (g) larva do parasitóide, (h) pupa do parasitóide e (i) adulto de *N. vitripennis* emergindo da pupa do díptero. Modificado de GRASSBERGER & FRANK (2003).

desenvolvimento variou de 12 a 15 dias, emergindo até 46 parasitóides por pupas de *C. megacephala*. Em estudos de crioconservação de pupas de *C. megacephala*, MILWARD-DE-AZEVEDO *et al.* (2004) relataram a emergência de *N. vitripennis* ocorreu no intervalo de 12 a 15 dias após a exposição das pupas a temperatura de 19-32°C e 32-82% UR.

BARBOSA (2006) verificou que o pico de emergência de *N. vitripennis* ocorreu no 14º dia após a exposição das pupas de *C. macellaria* ao parasitóide a 27 °C, UR 60 ± 10 %.

4. Material e Métodos

4.1. Local de experimentação

O presente trabalho foi desenvolvido com a integração entre o Laboratório de Estudo de Dípteros (LED) do Departamento de Microbiologia e Parasitologia, do Instituto Biomédico, da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), através da Profa. Dra. Valéria Magalhães Aguiar Coelho e o Laboratório de Entomologia Veterinária, do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) sob orientação do Prof. Dr. Gonzalo Efrain Moya Borja.

4.2. Estabelecimento e manutenção da colônia de califorídeos

A colônia de *C. megacephala* foi composta a partir de exemplares coletados na Fundação Rio-Zoo. A Fundação apresenta uma área de 138.000m², localizada no Parque da Quinta da Boa Vista, São Cristóvão, distando aproximadamente 3km no Centro da cidade do Rio de Janeiro.

Estabeleceu-se uma colônia de *C. megacephala* visando-se obter um estoque de pupas hospedeiras para os microhimenópteros. Os dípteros foram capturados utilizando armadilhas que seguiram os princípios de FERREIRA (1978), contendo sardinha como isca (Figura 2). Os insetos adultos coletados foram levados ao Laboratório de Estudo de Dípteros, a identificação taxonômica foi realizada com auxílio da chave para identificação de califorídeos (MELLO, 2003), e estes foram mantidos em gaiolas no laboratório (Figura 3), de acordo com a metodologia descrita por BARBOSA *et al.* (2004). Os adultos foram diariamente alimentados com água e mel 50%. Utilizou-se como meio de postura, bem como, dieta para o desenvolvimento das larvas, ração para cães comercializada em lata, composta de carne bovina, miúdos de boi, porco e aves, farinha de carne de frango, farinha de trigo, carragena,

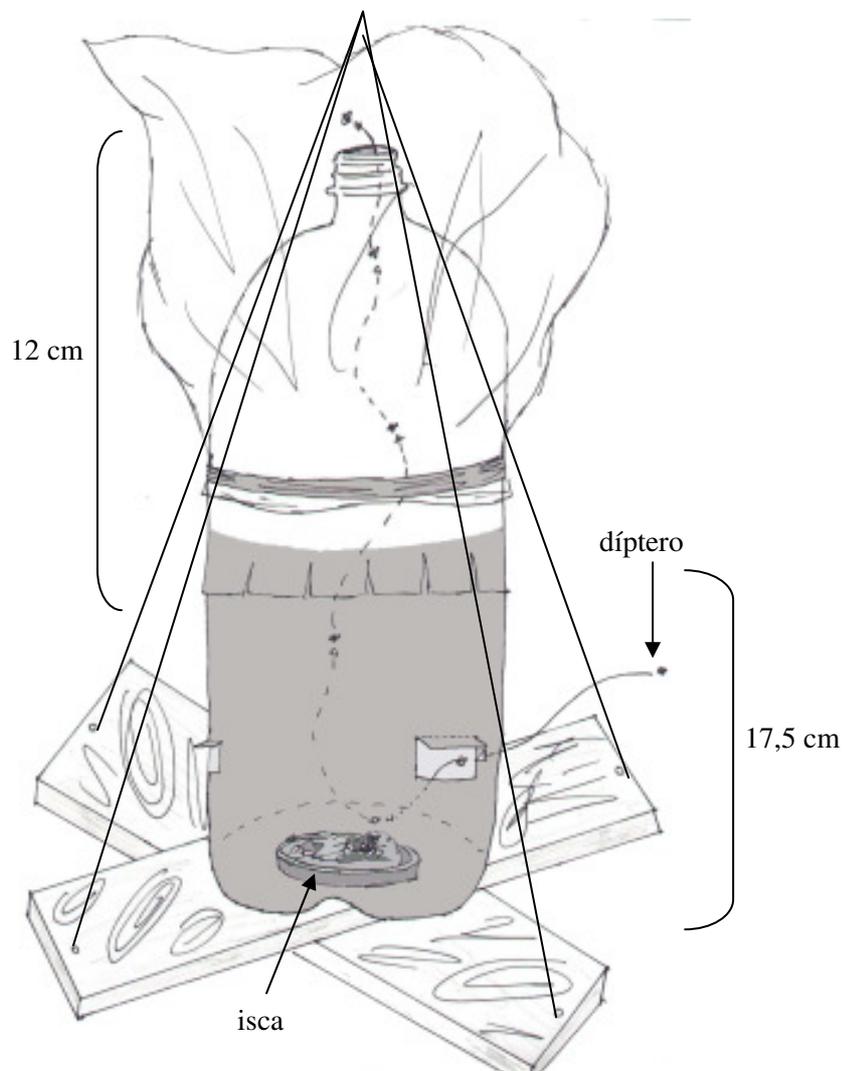


Figura 2- Desenho ilustrativo da armadilha de captura de dípteros, que seguiram os princípios de FERREIRA (1978).



Figura 3 – Gaiolas de criação de *Chrysomya megacephala*.

óleo vegetal, vitamina A, B1, B2, B6, B12, D, E, niacina, ácido pantotênico, biotina, ácido fólico, colina, cloreto de potássio, óxido de zinco, sulfeto de cobre, iodeto de cálcio, cloreto de sódio e água.

4.3. Armazenamento de pupas hospedeiras

Pupas de *C. megacephala*, em lotes de dez, com até 24 horas de idade, foram acondicionadas em sacos de polietileno transparentes de 5 cm de largura por 15 cm de comprimento. Cada lote foi pesado em balança semi-analítica da marca Gehaka BG 2000, identificados com a data, o peso, a geração da colônia estoque e espécie do díptero. Após a identificação, os sacos plásticos contendo as pupas foram congelados em freezer a -10°C para serem usadas como hospedeiros dos insetos parasitóides.

4.4. Estabelecimento e manutenção da colônia de microhimenóptero

Exemplares de *Nasonia vitripennis* foram coletados na Fundação Rio-Zoo, a partir da exposição, por três dias, de pupas recém formadas de *C. megacephala* com até 24 horas de idade, provenientes da colônia estoque do laboratório. As pupas foram expostas acondicionadas em recipiente plástico (50 mL de capacidade) no interior de pequenas gaiolas teladas (7 cm de largura por 20cm de comprimento) contendo carne bovina putrefata para atração dos insetos.

As pupas foram recolhidas e transportadas para o Laboratório de Estudo de Dípteros, onde foram acondicionadas em gaiolas confeccionadas a partir de frascos de dois litros de capacidade, vedados com tecido de náilon de malha fina (escaline) preso com elástico, para permitir o manuseio do material biológico na gaiola e evitar fuga dos parasitóides após a emergência.

O estoque foi mantido de acordo com metodologia descrita por CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO (1996), alimentados com mel e água. Pupas congeladas e frescas de



Figura 4 – Gaiola de criação de *Nasonia vitripennis*, confeccionada a partir de pote de vidro com dois litros de capacidade.

(a) pote contendo papel de filtro embebido em mel, (b) pote contendo pupas e (c) pote contendo algodão embebido em água.

C. megacephala foram sistematicamente expostas ao parasitismo e posteriormente transferidas para gaiolas de criação até a emergência dos adultos (Figura 4).

4.5. Identificação dos microheminópteros

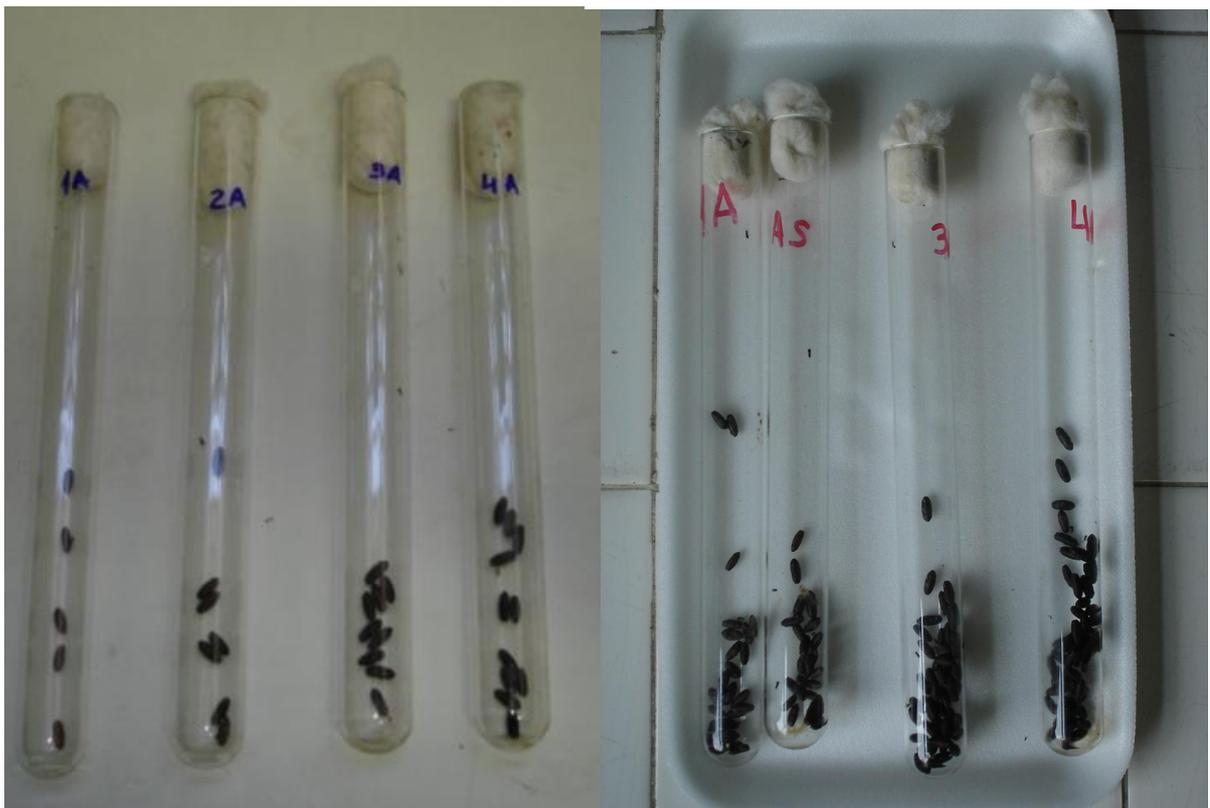
A identificação dos espécimens parasitóides recém-emergidos foi realizada por meio da descrição taxonômica detalhada por RUEDA & AXTELL (1985). A ratificação da análise foi fornecida pela Dra. Maria Angélica Penteado Dias (Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva, Universidade de São Carlos, SP).

4.6. Fases experimentais

4.6.1. Exposição de diferentes densidades do hospedeiro *Chrysomya megacephala* ao parasitóide *Nasonia vitripennis*

O estudo das diferentes densidades do hospedeiro foi realizada em duas etapas, utilizando-se câmara climatizada regulada a 27 °C/dia e 25°C/noite, 60±10% de umidade relativa do ar e 14 horas de fotofase. Foram utilizadas neste experimento pupas de *C. megacephala* criadas em dieta larval ração para cães comercializada em latas (BARBOSA *et al.*, 2004), pertencentes a 25^a geração de laboratório, apresentando peso médio de 0,533g por lotes de pupa e com até 24h de idade, e *N. vitripennis* pertencente a 3^a geração de laboratório

Na primeira etapa, uma fêmea nulípara de *N. vitripennis* foi individualizada em tubo de ensaio (50 mL de capacidade) contendo 5, 7, 9 e 11 pupas de *C. megacephala* congeladas por um período de um mês. Na segunda etapa, visou-se à compreensão do comportamento reprodutivo de *N. vitripennis* em condições mais próximas as naturais, observando o efeito grupamento, pela natureza gregária deste parasitóide. Grupos de cinco fêmeas nulíparas de *N. vitripennis* foram alocadas com 25, 35, 45 e 55 pupas hospedeiras, congeladas por três meses (Tabela 1). Em ambas as etapas, foram realizadas 15 repetições por tratamento e as pupas



Tratamentos isolados

Tratamentos agrupados

Figura 5 – Fotografia dos tratamentos isolados nas diferentes relações parasitóide: hospedeiro (1:5, 1:7, 1:9 e 1:11) e agrupados (5:25, 5:35, 5:45 e 5:55) mantidos a temperatura de 27°C/dia e 25°C/noite, 60±10% de umidade relativa do ar e 14 horas de fotofase.

Tabela 1 – Tratamentos estabelecidos a partir da razão parasitóide: hospedeiro em fêmeas de *Nasonia vitripennis* isoladas e agrupadas sob pupas de *Chrysomya megacephala*, em condições controladas (T 27°C /dia e 25°C/noite, 60±10% de umidade relativa do ar e 14 horas de fotofase).

	Tratamento	Razão microheminóptero/hospedeiro
Isolado	1	1:5
	2	1:7
	3	1:9
	4	1:11
Agrupado	5	5:25
	6	5:35
	7	5:45
	8	5:55

expostas ao parasitóides por 48 horas. Após a exposição, cada pupa hospedeira foi isolada em tubos de ensaio (10 mL de capacidade), tampados com algodão hidrófobo e mantidos na câmara climatizada até a emergência do microhimenóptero (Figura 5).

4.6.2. Longevidade do parasitóide *Nasonia vitripennis*

A longevidade de *N. vitripennis* foi observada a partir da utilização de indivíduos pertencentes a 4^a geração de laboratório, oriundos do tratamento 1 parasitóide:5 hospedeiros. Foram agrupados em gaiolas de vidro com 350 mL de capacidade, 5 casais recém-emergidos por tratamento. O tratamento I consistiu no oferecimento de 10 pupas de *C. megacephala*, trocadas semanalmente. No segundo tratamento não foi oferecido pupas (Figura 6). Os insetos foram alimentados com mel e água, pincelados em papel de filtro. Em ambos os tratamentos foram realizadas quatro repetições, utilizando-se câmara climatizada regulada a 27°C/dia e 25°C/noite, 60±10% de umidade relativa do ar e 14 horas de fotofase. As observações foram diárias para registro da mortalidade dos insetos.

4.6.3. Influência da serragem como substrato para pupa de *Chrysomya megacephala* sobre o parasitismo de *Nasonia vitripennis*

Este experimento foi realizado utilizando como hospedeiros, pupas recém-emergidas com até 24 horas de idade de *C. megacephala*, pertencentes a 23^a geração em laboratório, pesadas em lotes de 10, com peso médio de 0,364g. Utilizaram-se fêmeas nulíparas de *N. vitripennis* pertencentes a 3^a geração de laboratório, logo após a emergência. No tratamento I uma pupa de *C. megacephala* foi exposta por 48 horas a uma fêmea parasitóide, sem a utilização de serragem como substrato para a pupa. No tratamento II realizou-se o mesmo procedimento utilizando a serragem seca (Figura 7). Foram realizadas 5 repetições por tratamento. As observações foram diárias até a emergência dos parasitóides e/ou moscas. O experimento foi realizado sem controle de temperatura e umidade relativa do ar. O registro da temperatura e umidade relativa do ar estão representados no Gráfico 1.



Figura 6 – Gaiolas utilizadas no experimento de longevidade do parasitóide *N. vitripennis*, confeccionadas a partir de potes de vidro com 350 mL de capacidade.

(a) Tratamento 1, com oferecimento de pupas, (b) Tratamento 2, sem o oferecimento de pupas, a 27 °C/dia e 25 °C/noite, 60±10% de umidade relativa do ar e 14 horas de fotofase.



Figura 7- Tratamentos para observação da influência da serragem como substrato para pupa de *Chrysomya megacephala* sobre o parasitismo de *Nasonia vitripennis*

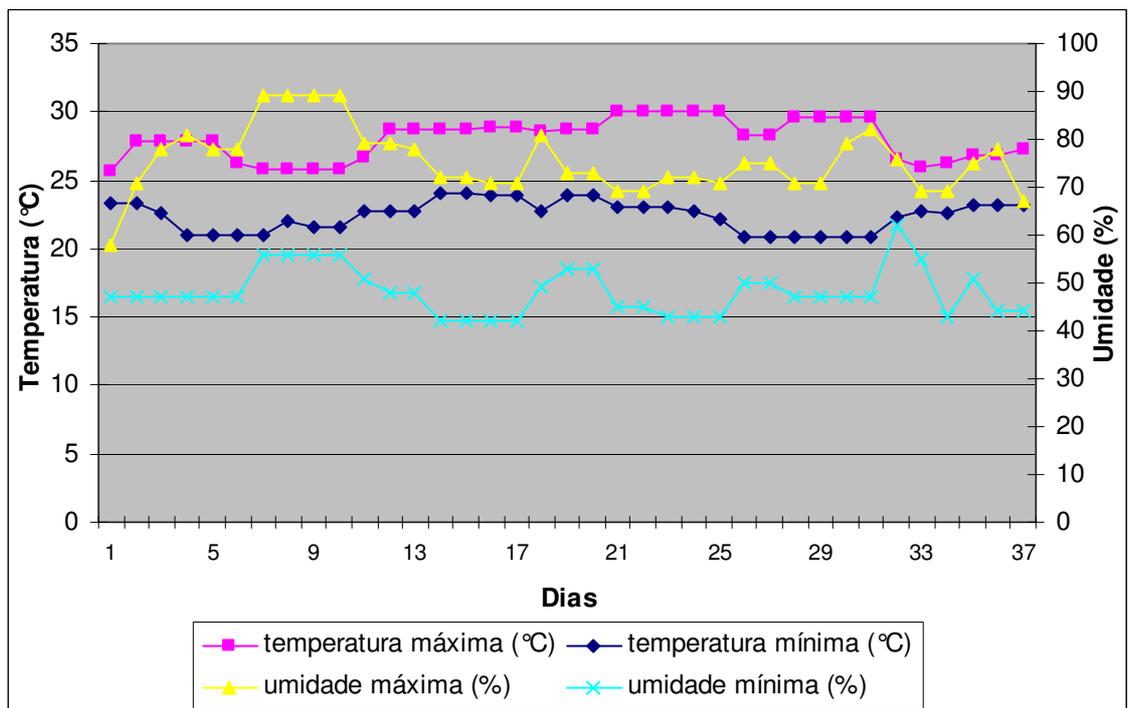


Gráfico 1 – Variação da temperatura e da umidade relativa do ar no Laboratório de Estudo de Dípteros durante a fase experimental.

4.7. Análise estatística

Os resultados foram analisados estatisticamente através da análise de variância de Friedman (quiquadrado), seguido pelo teste T. O nível de significância estabelecido foi de 5%.

5. Resultados

5.1. Exposição de diferentes densidades do hospedeiro *Chrysomya megacephala* ao parasitóide *Nasonia vitripennis*

A duração média do desenvolvimento ontogenético de *N. vitripennis* oriundas de diferentes densidades de pupas de *C. megacephala* (1:5, 1:7, 1:9, 1:11, 5:25, 5:35, 5:45 e 5:55) variou significativamente, oscilando entre 15,0 e 18,0 dias. Observou-se uma tendência a diminuição do tempo de desenvolvimento com o aumento da densidade do hospedeiro. Nos tratamentos, em que os hospedeiros foram expostos a um parasitóide (tratamentos isolados), a maior duração média do desenvolvimento foi na relação 1 parasitóide:5 hospedeiros (18,0 dias), e a menores observadas foram nas relações 1:7 e 1:11 (16,7 dias). O mesmo ocorreu com os tratamentos, em que os hospedeiros foram expostos a cinco parasitóides (tratamentos agrupados), sendo a maior média de desenvolvimento o da relação 5:25 (17,0 dias) e a maior para a relação 5:55, não diferindo significativamente na relação 5:45 (Tabela 2).

Foi constatado que nos tratamentos isolados, em relação aos agrupados, o início da emergência dos parasitóides ocorreu mais tardiamente (16º dia), com exceção da relação 1:9, observando-se uma extensão desta emergência até o 19º e 20º dias. Desta forma, nos tratamentos agrupados, o início da emergência se deu mais precoce, 14º e 15º dias, e com término anterior (Gráfico 2).

O ritmo de emergência de *N. vitripennis* apresentou padrão similar, tanto para machos quanto para fêmeas (Gráfico 3 e 4), com exceção da relação 1:9 com início da emergência de machos mais tardio. Observou-se um decréscimo na velocidade do desenvolvimento com o aumento na densidade de hospedeiro.

Tabela 2 - Duração média do desenvolvimento ontogenético (em dias) do parasitóide *Nasonia vitripennis* criadas em pupas congeladas de *Chrysomya megacephala* expostas ao parasitismo a diferentes densidades, por 48h (T: 27 °C/dia e 25 °C/noite, 60±10% UR e 14 horas de fotofase).

Tratamento	Relação Parasitóide / Hospedeiro	Duração Média do Desenvolvimento	
		x ± sd	IV
1	1 : 5	18,0 _a ± 1,36	16 - 20
2	1 : 7	16,7 _b ± 1,52	16 - 19
3	1 : 9	17,5 _c ± 0,11	15 - 20
4	1 : 11	16,7 _b ± 2,82	16 - 19
5	5 : 25	17,0 _c ± 2,81	15 - 19
6	5 : 35	16,0 _b ± 1,41	15 - 17
7	5 : 45	15,0 _d ± 0,00	-
8	5 : 55	15,5 _d ± 2,12	14 - 17

x = média

sd= desvio padrão

IV= intervalo de variação

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente entre si pelo Teste de Friedman, com nível de significância de 5%.

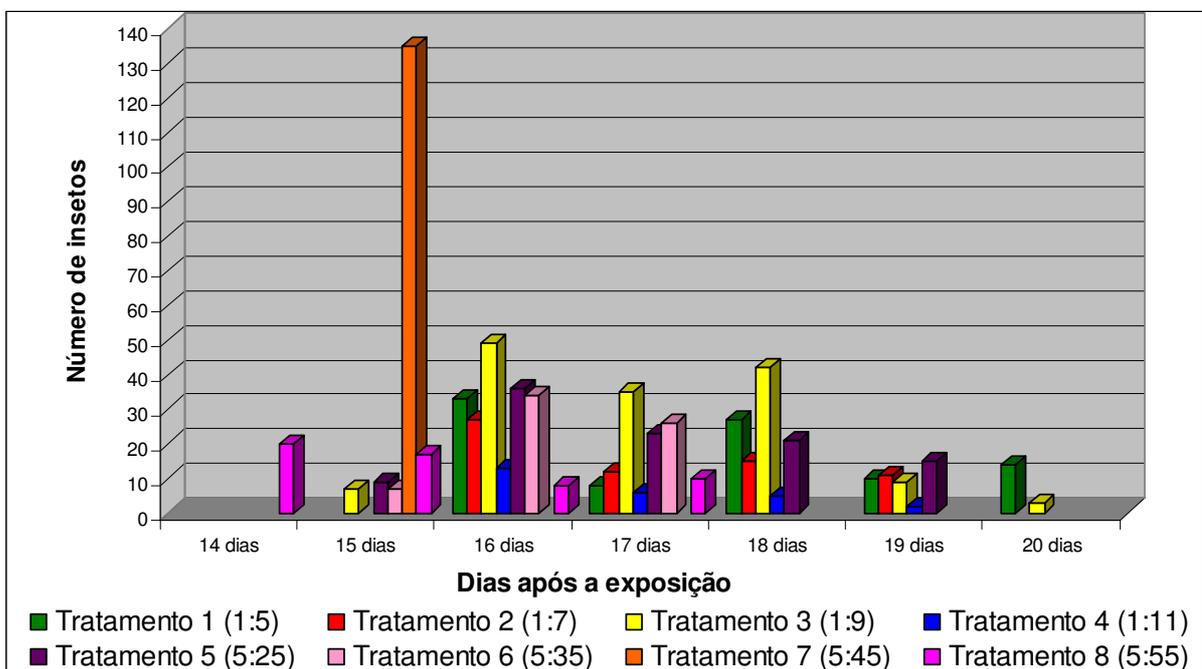


Gráfico 2 - Ritmo de emergência de machos e fêmeas de *Nasonia vitripennis* criadas em pupas de *Chrysomya megacephala* expostas ao parasitismo por 48 horas, utilizando diferentes relações parasitóides: hospedeiro, a 27 °C/dia e 25 °C/noite, 60±10% UR e 14 horas de fotofase.

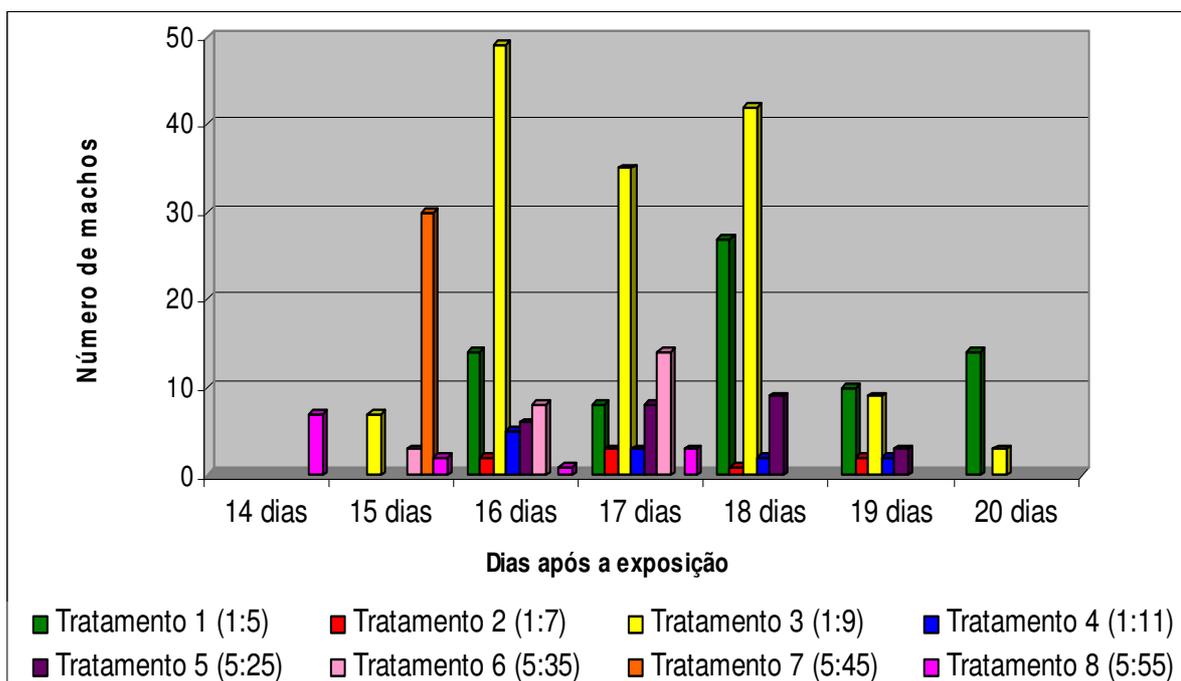


Gráfico 3 - Ritmo de emergência de machos *Nasonia vitripennis* criadas em pupas de *Chrysomya megacephala* expostas ao parasitismo por 48 horas, utilizando diferentes relações parasitóides: hospedeiro, a 27 °C/dia e 25 °C/noite, 60±10% UR e 14 horas de fotofase.

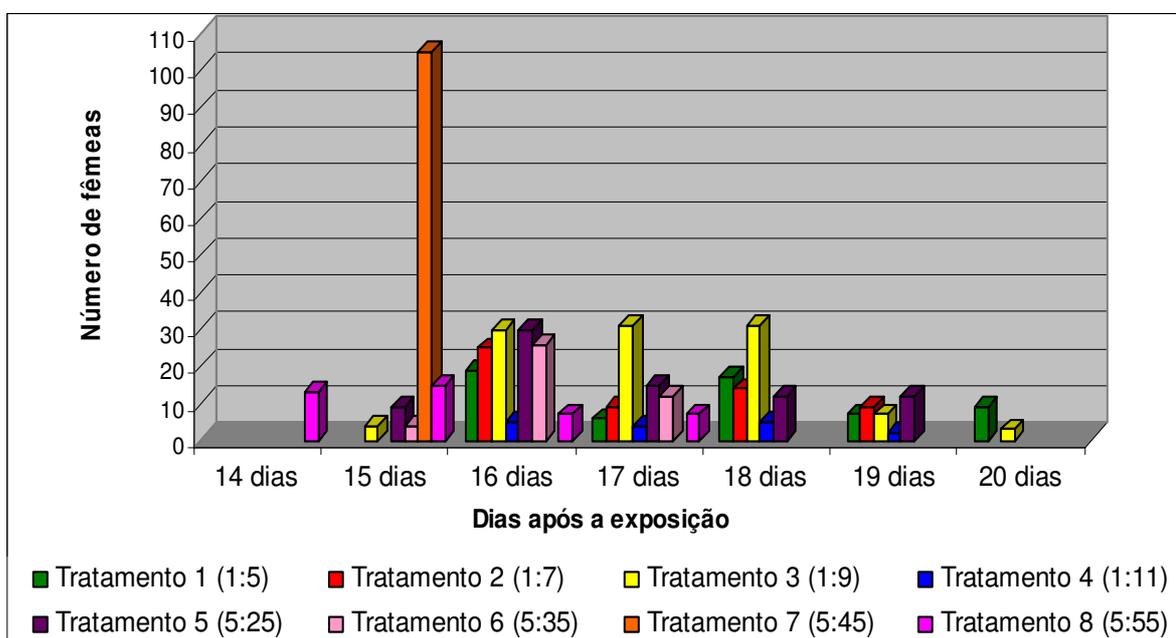


Gráfico 4 - Ritmo de emergência de fêmeas *Nasonia vitripennis* criadas em pupas de *Chrysomya megacephala* expostas ao parasitismo por 48 horas, utilizando diferentes relações parasitóides: hospedeiro, a T: 27 °C/dia e 25 °C/noite, 60±10% UR e 14 horas de fotofase.

Obteve-se uma maior progênie de *N. vitripennis* na relação 1:9, ocorrendo à emergência média de 21,6 parasitóides, com variação de 9 a 33 microhimenópteros. A média de parasitóides originados desta relação diferiu significativamente das demais relações (Tabela 3). Não foram observadas diferenças significativas na produtividade de *N. vitripennis* entre os tratamentos agrupados. No entanto, comparando-se os tratamentos agrupados com os isolados, verificou-se que os agrupados produziram significativamente menor progênie que os isolados.

O número de machos emergidos dos tratamentos isolados foi significativamente menor na relação 1:7, não diferindo dos tratamentos agrupados. Observou-se significativamente maior produção de fêmeas na relação 1:9 (28 parasitóides), entre todas as relações estudadas (Tabela 3).

Foi observada uma maior emergência de parasitóides do sexo feminino, havendo um desvio na razão sexual em todos os tratamentos estudados, como pode ser observado na Tabela 4.

O percentual de parasitismo oscilou entre 60% e 12%. Nos tratamentos isolados, observaram-se as maiores taxas de parasitismo, constatando-se um decréscimo na taxa de parasitismo com o aumento da densidade do hospedeiro. A maior taxa alcançada foi na relação 1:5 e a menor na relação 1:11. O mesmo decréscimo foi observado nos tratamentos agrupados, sendo a maior taxa alcançada na relação 5:25 (52%) e a menor na relação 5:55 (12%). Comparando ambos os tratamentos, verificou-se maior taxa de parasitismo nos tratamentos isolados. Além do parasitismo, foram observadas pupas inviabilizadas pelo parasitóide em todas as relações (Tabela 4).

5.2. Longevidade do parasitóide *Nasonia vitripennis*

A longevidade de casais agrupados de *N. vitripennis*, criadas com oferecimento de pupas de *C. megacephala*, variou entre 17 a 31 dias e sem o oferecimento de pupas de 19 a 28 dias. Embora o tempo médio de sobrevivência das fêmeas parasitóides criadas com oferecimento de pupas hospedeiras seja menor do que os do macho, esta diferença não foi significativa. O mesmo ocorrendo com o tratamento sem o oferecimento de pupas.

Tabela 3 - Número médio de parasitóides adultos de *Nasonia vitripennis* oriundas de fêmeas nulíparas da 4ª geração e criadas em pupas frescas de *Chrysomya megacephala* expostas ao parasitismo a diferentes densidades de parasitóides, por 48h, (T: 27 °C/dia e 25 °C/noite, 60±10% UR e 14 horas de fotofase).

Relação Parasitóide / Hospedeiro	Número Médio de Parasitóides					
	Total		Masculino		Feminino	
	x ± sd	IV	x ± sd	IV	x ± sd	IV
1 : 5	15,6 _a ± 0,93	4 – 26	5,6 _a ± 0,74	2 - 11	10,0 _a ± 0,59	2 - 16
1 : 7	13,0 _b ± 0,51	5 – 21	1,5 _b ± 0,08	1 - 3	11,5 _a ± 0,75	5 - 18
1 : 9	21,6 _c ± 0,77	9 – 33	6,0 _a ± 2,01	1 - 15	15,6 _b ± 1,43	7 - 28
1 : 11	15,7 _a ± 0,97	1 - 26	5,0 _a ± 0,41	1 - 10	10,0 _a ± 0,41	1 - 16
5 : 25	8,0 _d ± 0,27	1 – 10	2,0 _b ± 0,26	1 - 3	6,0 _c ± 0,83	5 – 7
5 : 35	9,0 _d ± 0,23	1 – 7	1,5 _b ± 1,77	1 – 2	2,5 _d ± 1,11	1 – 5
5 : 45	9,0 _d ± 0,00	1 – 9	2,0 _b ± 0,00	1 - 2	7,0 _c ± 0,00	1 - 7
5 : 55	7,8 _d ± 0,24	2 – 9	2,5 _b ± 0,31	2 - 3	6,0 _c ± 0,37	2 - 6

x = média

sd= desvio padrão

IV= intervalo de variação

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente entre si pelo Teste de Friedman, com nível de significância de 5%.

Tabela 4 - Razão Sexual e taxa de eficiência parasitária de *N. vitripennis* originadas de fêmeas matrizes criadas em pupas de *C. megacephala* expostas ao parasitismo a diferentes densidades de parasitóides por 48h, (T: 27 °C/dia e 25 °C/noite, 60±10% UR e 14 horas de fotofase).

Relação Parasitóide/ Hospedeiro	Razão Sexual	Pupas hospedeiras parasitadas (%)	Pupas inviabilizadas pelo parasitóide (%)
1 : 5	0,63	60,0	7,0
1 : 7	0,87	57,1	6,0
1 : 9	0,72	55,5	5,5
1 : 11	0,62	54,5	10,9
5 : 25	0,75	52,0	24,0
5 : 35	0,62	48,0	16,0
5 : 45	0,77	33,3	16,5
5 : 55	0,76	12,0	16,0

$$\text{Razão sexual} = \frac{\text{fêmeas}}{\text{fêmeas} + \text{machos}}$$

Quando se comparou os dois tratamentos, constatou-se diferença significativamente menor, tanto para macho, quanto para fêmeas, entre os indivíduos criados com oferecimento de pupas comparado com os indivíduos criados sem oferecimento de pupas (Tabela 5).

Nos Gráficos 5 e 6 podem-se observar as longevidades das fêmeas e dos machos em ambos os tratamentos.

5.3. Influência da serragem como substrato para pupa de *Chrysomya megacephala* sobre o parasitismo de *Nasonia vitripennis*

O desenvolvimento ontogenético de *N. vitripennis* criadas em pupas de *C. megacephala*, com serragem e sem serragem, como substrato para pupas foi similar, variando de 17 a 19 dias (Tabela 6). Embora no tratamento sem a utilização de serragem observou-se um número médio de parasitóides emergidos de 7,5 e com a presença de serragem de 6,2, esta diferença não foi significativa (Tabela 7). Constatou-se um maior nascimento de fêmeas em ambos os tratamentos, sendo a razão sexual para o tratamento I e II de 0,86 e 0,84, respectivamente. Das pupas expostas ao parasitismo 66,67% (T1) e 83,33% (T2) viabilizaram a emergência de parasitóides adultos (Tabela 8).

Tabela 5 - Longevidade (em dias) do parasitóide *Nasonia vitripennis* oriundos de pupas congeladas de *Chrysomya megacephala*, com oferecimento de pupas (Tratamento I) e sem o oferecimento de pupas (Tratamento II), 27 °C/dia e 25 °C/noite, 60±10% UR e 14 horas de fotofase.

Sexo	Tratamentos			
	I		II	
	x	IV	x	IV
Masculino	23,5 _{aA}	19-31	25,5 _{aB}	20-28
Feminino	22,5 _{aA}	17-31	25,0 _{aB}	19-28

x = média

IV= intervalo de variação

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si, pelo Teste T, com nível de significância de 5%. Letras minúsculas representam a análise entre linhas, letras maiúsculas entre colunas.

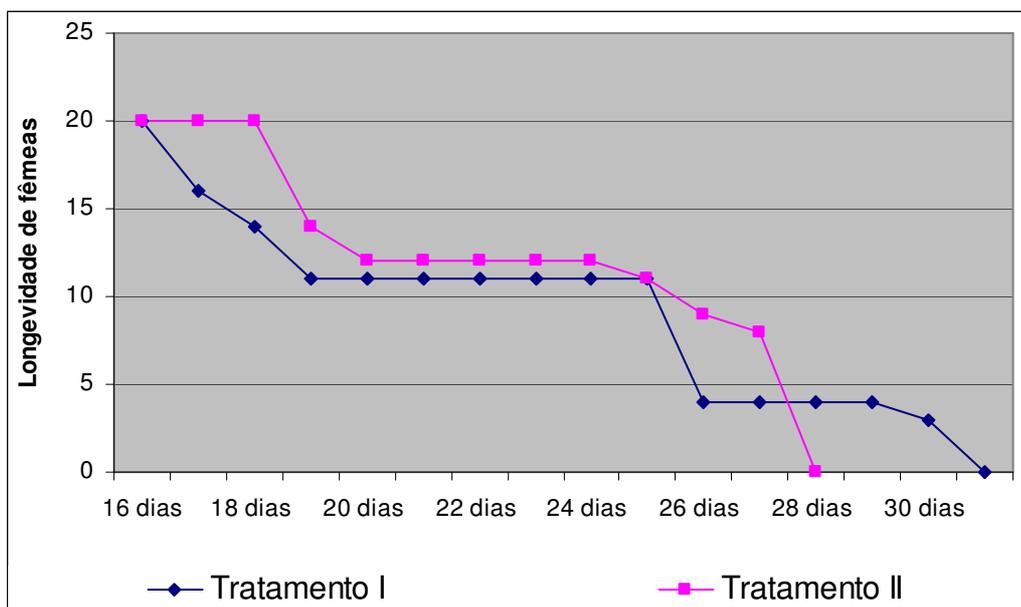


Gráfico 5 - Longevidade (em dias) das fêmeas de *Nasonia vitripennis* oriundos de pupas congeladas de *Chrysomya megacephala*, com oferecimento de pupas (Tratamento I) e sem o oferecimento de pupas (Tratamento II), T: 27 °C/dia e 25 °C/noite, 60±10% UR e 14 horas de fotofase.

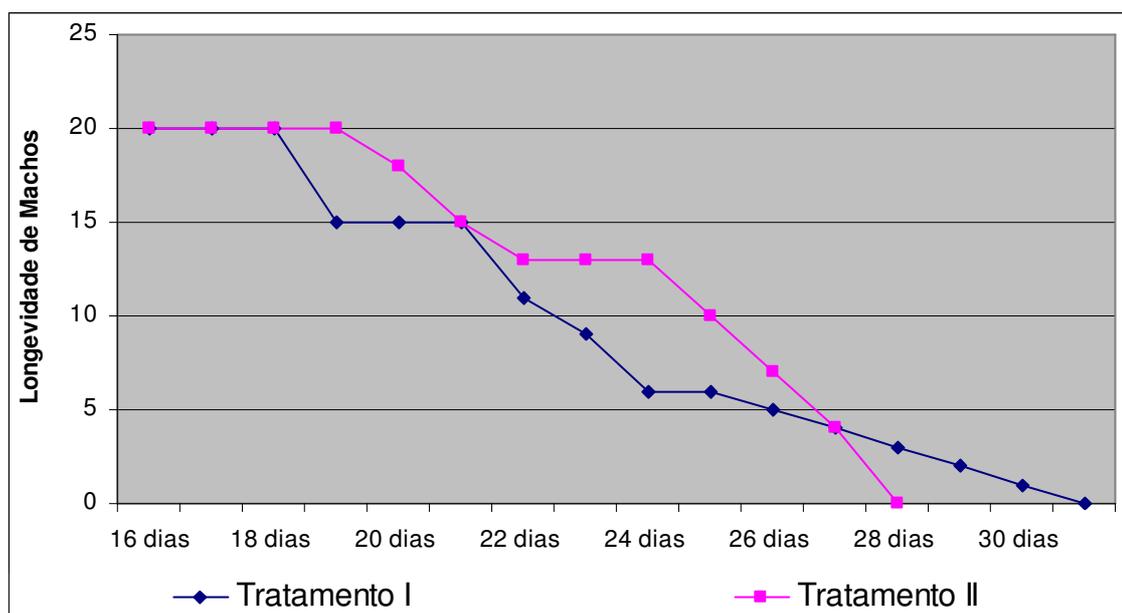


Gráfico 6 - Longevidade (em dias) de machos de *Nasonia vitripennis* oriundos de pupas congeladas de *Chrysomya megacephala*, com oferecimento de pupas (Tratamento I) e sem o oferecimento de pupas (Tratamento II), T: 27 °C/dia e 25 °C/noite, 60±10% UR e 14 horas de fotofase.

Tabela 6- Duração média do desenvolvimento ontogenético (em dias) do parasitóide *Nasonia vitripennis* criadas em pupas frescas de *Chrysomya megacephala* a qual foram expostas ao parasitismo sem a utilização de serragem como substrato pupal (Tratamento I) e com a serragem (Tratamento II), por período de 48 horas (Tmáx. 30 °C e Tmin. 19 °C, sem controle de luz).

Sexo	Tratamentos			
	I		II	
	X ± sd	IV	X ± sd	IV
Masculino	17,80 _a ± 0,87 (17-19)		18,00 _a ± 0,89 (17-19)	
Feminino	17,20 _a ± 0,41 (17-18)		17,32 _a ± 0,63 (17-19)	

X = média

sd= desvio padrão

IV= intervalo de variação

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si, pelo Teste T, com nível de significância de 5%.

Tabela 7 - Número médio de parasitóides adultos de *Nasonia vitripennis* oriundas de fêmeas nulíparas da 3ª geração e criadas em pupas frescas de *Chrysomya megacephala* expostas ao parasitismo na ausência (T I) ou na presença da serragem (T II), por 48h. (Tmáx. 30 °C e Tmin. 19 °C, sem controle de luz).

Tratamento	Total		Masculino		Feminino	
	X	IV	X	IV	C	IV
I	7,50 _a	1-20	1,50 _a	1-2	6,25 _a	1-20
II	6,20 _a	2-19	1,20 _a	1-2	6,25 _a	1-19

x = média

IV= intervalo de variação

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente entre si pelo Teste T, com nível de significância de 5%.

Tabela 8- Razão Sexual e taxa de eficiência parasitária de *Nasonia vitripennis* originadas de fêmeas matrizes criadas em pupas de *Chrysomya megacephala* expostas ao parasitismo na ausência (T I) ou na presença da serragem (T II), por 48h (Tmáx. 30 °C e Tmin. 19 °C, sem controle de luz).

Tratamentos	Razão Sexual	Taxa de Eficiência Parasitária (%)
I	0,83	66,67
II	0,81	83,33

6. Discussão

6.1. Diferentes densidades do hospedeiro *Chrysomya megacephala* expostos ao parasitóide *Nasonia vitripennis*, individualizado e agrupado.

Resultados encontrados neste trabalho mostraram uma tendência à diminuição da duração do desenvolvimento pós-embrionário em função do aumento de hospedeiros, tanto em tratamentos isolados (exposição de um parasitóide a diferentes densidades do hospedeiro), quanto nos tratamentos agrupados (exposição de cinco parasitóides a diferentes densidades do hospedeiro). Este comportamento pode estar relacionado, provavelmente, ao calor metabólico de vários indivíduos se desenvolvendo na mesma pupa, propiciando uma aceleração do desenvolvimento pós-embrionário. Comportamento evidenciado em insetos gregários e observado por BARBOSA (2006) para microhimenópteros e por AGUIAR-COELHO & MILWARD-DE-AZEVEDO (1996) para califorídeos. CARDOSO E MILWARD-DE-AZEVEDO (1995) observaram que a duração média do desenvolvimento ontogenético de *N. vitripennis* criadas em pupas de *C. megacephala*, não foi influenciada pelo aumento da densidade do hospedeiro. Portanto, as autoras estudaram densidades de parasitóide: hospedeiro (1:1, 1:2, 1:4 e 1:5) inferiores que as do presente estudo, a temperatura de 26-30 °C e 60-85 % UR, observando a duração média de 13 dias.

Contrastando com os resultados obtidos neste trabalho, BARBOSA (2006) estudando o hospedeiro *Cochliomyia macellaria* e o parasitóide *N. vitripennis*, constatou um aumento da duração do desenvolvimento pós-embrionário à medida que aumentou a densidade de hospedeiros, observando menor duração média na densidade de 1:1 (14,28 dias) e a maior na densidade 1:5 (14,66 dias). Ressalta-se que este autor utilizou densidades inferiores a do presente estudo, bem como, hospedeiro. MELLO (2007) observou uma tendência ao alongamento do desenvolvimento pós-embrionário com o acréscimo de parasitóides por pupa (1:1, 3:1, 5:1 e 7:1) e com a adição de hospedeiros nos tratamentos (1:1, 1:2, 1:3, 1:4 e 1:5), a 27 °C dia/ 25 °C noite, 70% UR.

A velocidade média de desenvolvimento de *N. vitripennis* variou entre 15,0 e 18,0 dias, a 27 °C dia/ 25 °C noite, no presente estudo. CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO (1996) observaram que a velocidade de desenvolvimento tanto em pupas de *Chrysomya albiceps* como de *C. megacephala* oscilaram entre 12 e 15 dias, em variação de temperatura maiores (26-30 °C) que a do presente trabalho. Em experimento conduzido sob condições laboratoriais variando de 25–31 °C e 51-72% UR, este parasitóide iniciou a emergência 12 dias após a exposição das pupas hospedeiras de *C. megacephala* (MOREIRA *et al.*, 1996). MILWARD-DE-AZEVEDO *et al.* (2004) relataram que a emergência ocorreu no intervalo de 12 a 15 dias após o início da exposição das pupas a temperatura de 19-32 °C e 32-82 % UR, utilizando pupas criopreservadas como hospedeiras. As diferenças observadas no presente estudo em relação aos trabalhos citados podem ser explicadas levando-se em consideração que a duração do desenvolvimento ontogenético do parasitóide *N. vitripennis* é influenciada pela idade do parasitóide e da pupa hospedeira, pelo tamanho do hospedeiro e fatores climáticos que também podem influenciam na taxa de velocidade de desenvolvimento de *N. vitripennis* (WYLIE, 1966, WYLIE, 1967, CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1996). O presente trabalho utilizou temperatura de 27°C/dia e 25°C/noite, sendo estas temperaturas consideradas dentro da faixa ideal, que segundo WHITING (1967) é de 15°C a 30°C. GRASSBERGER & FRANK (2003) estudando a influência de diferentes temperaturas (15°, 20°, 25° e 35°C) sob o desenvolvimento ontogenético de *N. vitripennis*, observaram redução na duração do desenvolvimento ontogenético com o aumento da temperatura.

Analisando a exposição de parasitóide em tratamentos isolados, observou-se uma tendência ao aumento da emergência de fêmeas parasitóides por pupa à medida que aumentou o número de hospedeiros até a densidade 1 parasitóide: 9 hospedeiros. Este comportamento, não é evidente quando se analisa a emergência de machos, provavelmente pelo número reduzido de parasitóides emergidos deste sexo. Observou-se nesta densidade (1:9) a emergência máxima de 33 parasitóides de uma única pupa, com média de 21,6 insetos. Acima desta densidade, ocorreu uma tendência a diminuição da produtividade por pupa, tanto de fêmeas quanto de machos. Isto se justifica, provavelmente, pelo fato dos parasitóides atingirem seu desempenho máximo em densidades específicas, havendo queda da performance dos indivíduos acima ou abaixo desta densidade. O mesmo comportamento foi observado por CARDOSO & MILWARD-DE AZEVEDO (1995) que relataram um aumento acentuado do número total de adultos de *N. vitripennis* ao incrementar-se o número de hospedeiros expostos ao parasitismo, obtendo maior prole na maior relação parasitóide: hospedeiro (1:5). Por outro lado, foi observado por MELLO (2007) que o número médio de

adultos parasitóides não diferiu significativamente, quando analisou diferentes relações parasitóide: hospedeiro (1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5). No entanto, BARBOSA (2006) relatou um decréscimo na emergência de parasitóides em função do aumento do número de hospedeiros. Este autor propõe que ocorreu o “subparasitismo”, fenômeno oposto ao superparasitismo.

Outro fator a ser considerado na produtividade de parasitóide é o peso das pupas hospedeiras. MADDEN & PIMENTEL (1965) e WYLIE (1967) sugeriram que a relação entre o peso corporal das pupas hospedeiras e o número final de parasitóides gregários produzidos é diretamente proporcional. CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO (1996) corroboraram esta observação, relatando que pupas de *C. albiceps* oriundas de larvas mais robustas que as de *C. megacephala* permitiram a formação de um maior número de parasitóides. Utilizando pré-pupas criadas em dieta a base de peixe putrefato com peso médio de 72 mg (*C. megacephala*) e 77mg (*C. albiceps*) obtiveram emergência de 46 e 49 insetos, respectivamente. As pupas utilizadas neste trabalho, oriundas de dieta oligídica, possuíam peso médio inferior ao relatado por CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO (1996), 53,3 mg, permitindo a formação máxima de 33 microheminópteros. MOREIRA *et al.* (1996) trabalhando com gerações distintas, utilizando apenas a relação de 1 parasitóide para 4 hospedeiros e tempo de exposição de 48 horas, obtiveram média de 20,88 para a 9ª geração do parasitóide e média de 20,31 para a 62ª. CARVALHO *et al.* (2004) em um trabalho realizado a campo (Instituto Oswaldo Cruz e Jardim Zoológico) observaram número médio de 8,5 e 13,7 exemplares de *N. vitripennis*, respectivamente.

Em ambas as relações propostas é possível visualizar uma tendência ao nascimento de insetos fêmeas. Esta tendência foi também constatada em trabalhos desenvolvidos por CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO (1996). A razão sexual de parasitóides microhimenópteros é altamente variável, e fortemente influenciada pelas condições ambientais, tais como fotoperíodo, temperatura e umidade (KING, 1987). A determinação sexual de *N. vitripennis* é do tipo haplodiplóide, o que proporciona às fêmeas parasitóides a capacidade de determinar o sexo de sua progênie por meio de controle da fertilização dos ovos. Sabe-se que os ovos fertilizados dão origem a fêmeas e os ovos não fertilizados dão origem a machos. WYLIE (1965) observou que na presença de outras fêmeas ocorre maior produção de um percentual de machos, entretanto, REECE *et al.* (2004) relataram que a variação da razão sexual para fêmea pode ser explicada pela procriação consanguínea, GREEFF (1996) criou um modelo onde se relacionou a cópula entre parentes (inbred) levando a tendência a uma emergência de fêmeas, do que quando a cópula ocorre com não parentes

(outbred). Embora haja um ajuste na razão sexual, quando ocorre cópula entre parentes, *N. vitripennis* não é capaz de distinguir parentes (GREEFF, 1996).

O percentual máximo de parasitismo encontrado no presente trabalho foi de 60% na relação 1:5, ocorrendo um decréscimo na taxa de parasitismo com o aumento da densidade de pupas hospedeiras. Por outro lado, devemos destacar que foi observada a inviabilidade de 7 a 24%, das pupas por alimentação do parasitóide que inviabiliza o nascimento dos dípteros e desta forma, contribui também para o controle do inseto praga. Os resultados deste estudo corroboram os encontrados por BARBOSA (2006) que verificou uma redução na taxa de parasitismo com o aumento do número de hospedeiros. CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO (1995) obtiveram taxa de 68,00 a 93,3%. Em estudo posterior, as mesmas autoras relataram taxas de 91,7% (CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1996). Diferindo do presente trabalho, MELLO (2007) observou uma taxa de parasitismo similar entre as diferentes densidades de parasitóides por hospedeiro utilizado em seu estudo, variando em torno de 45 a 60%, sendo as maiores porcentagens verificadas nas relações 3 parasitóides: 1 hospedeiro e 5 parasitóides: 1 hospedeiro.

O percentual de parasitismo de 60% ou abaixo deste valor, observado no presente estudo, pode ser explicado pelo fato de terem sido utilizadas pupas congeladas, bem como, dieta oligídica para o desenvolvimento larval do hospedeiro. Estes fatores podem influenciar na taxa de parasitismo, bem como, na extensão do desenvolvimento do parasitóide e emergência do número de parasitóides por pupa. Estes aspectos referidos, juntamente com o efeito grupamento, podem explicar a diferença observada entre os tratamentos isolados e agrupados. MESSIAS (2006) estudando o efeito do congelamento de pupas, pelos períodos de 1, 3 e 6 meses, sobre o desempenho reprodutivo de *N. vitripennis*, relatou que não houve emergência de parasitóides quando utilizado pupas com mais de 3 meses de congelamento, e a duração média do desenvolvimento ontogenético foi de 15,32 dias em pupas congeladas por um mês. Observou também em seu estudo, a influência da dieta larval de *C. megacephala* na relação parasitóide: hospedeiro e verificou que a velocidade de desenvolvimento de *N. vitripennis* oriundas de pupas criadas em dieta larval a base de ração para cães (16,56 dias) foi maior que as oriundas de pupas criadas em carne (14,73 dias).

Diferindo do presente trabalho, MOREIRA *et al.* (1996) observaram eficiência parasitária de 100%, estudando a relação de 1 parasitóide: 1 hospedeiro, este fato pode ser explicado provavelmente pela exposição de pupas frescas ao parasitismo, o que não ocorreu neste estudo, onde foram utilizadas pupas congeladas como hospedeiros. As modificações morfofisiológicas determinadas pelo processo de congelamento reduzem o desempenho

reprodutivo *N. vitripennis*, mas o armazenamento das pupas em baixas temperaturas viabiliza a criação dos parasitóides, apresentando-se como uma boa fonte de estoques.

6.2. Longevidade do parasitóide *Nasonia vitripennis*

A longevidade de *N. vitripennis* vem sendo pouco estudada, MELLO (2007) relatou que as fêmeas originadas da relação um parasitóide: um hospedeiro, sem o oferecimento de pupas hospedeiras e a temperatura de 27 °C dia/ 25°C noite, apresentou média em torno de 20,48 dias de tempo de vida. KING & HOPKINS (1963) estudaram a longevidade de machos e fêmeas sem o fornecimento de alimento ao longo dos dias e relataram que fêmeas freqüentemente possuem longevidade maior que os machos pelo fato de se alimentarem dos fluidos dos hospedeiros, ao contrário dos machos que só são capazes de se alimentar de soluções açucaradas. Estes autores observaram que em temperatura de 18-20 °C, as fêmeas sobreviveram de 20-25 dias. Contrastando com os resultados obtidos neste trabalho, onde se observou diferença não significativa entre a longevidade de machos e fêmeas. Os indivíduos criados com oferecimento de pupas obtiveram longevidade menor que os indivíduos criados sem oferecimento de pupas, sugerindo que provavelmente o estresse da oviposição influencia na longevidade dos insetos adultos.

6.3. Influência da serragem como substrato para pupa de *Chrysomya megacephala* sobre o parasitismo de *Nasonia vitripennis*

Habitualmente os dípteros califorídeos quando atingem o último estágio de desenvolvimento larval migram para fora do substrato de criação, se enterrando e pupariam próximo ou na superfície do seu habitat de criação (GUIMARÃES *et al.*, 1983). Condições climáticas desfavoráveis e ressecamento do pupário influenciam no desenvolvimento tanto do díptero quanto do parasitóide. WYLIE (1958) sugere que a procura do hospedeiro se dá pelo odor exalado pelo pupário, sendo um dos fatores que interferem no parasitismo de *N. vitripennis* relaciona-se a profundidade de pupariação dos hospedeiros (WHITING, 1967).

Os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que a presença da serragem como substrato de pupariação de larvas de terceiro ínstar de *C. megacephala* não interfere no desenvolvimento ontogenético, na razão sexual de *N. vitripennis*, no número de parasitóides por pupa e taxa de parasitismo. Visto que CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO (1995) e MOREIRA *et al.* (1996) obtiveram resultados semelhantes sem a utilização da serragem.

7. Conclusão

A partir dos resultados obtidos no presente trabalho, pôde-se concluir que:

1. A exposição de diferentes densidades do hospedeiro *Chrysomya megacephala* ao parasitóide *Nasonia vitripennis*, tanto isolado, quanto agrupado, influenciaram significativamente a duração do desenvolvimento ontogenético. Com o aumento da densidade do hospedeiro observou-se: (a) uma tendência à diminuição da duração do desenvolvimento ontogenético; (b) aumento da produtividade por pupa até a densidade 1:9 e decréscimo acima desta densidade; (c) tendência ao nascimento de fêmeas e (d) decréscimo da taxa de parasitismo.
2. A longevidade média de *N. vitripennis* foi significativamente reduzida ao criar-se os indivíduos na relação sexual (1:1) com oferecimento diário de pupas hospedeiras de *C. megacephala*. aos parasitóides.
3. Os aspectos biológicos de *N. vitripennis* não foram influenciados ao expor pupas de *C. megacephala* utilizando serragem como substrato pupal.

8. Referencias Bibliográficas

- AGUIAR-COELHO, V. M. & MILWAD-DE-AZEVEDO. 1996. Associações entre larvas de *Chrysomya megacephala* (Fabricius), *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) e *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) sob condições de laboratório. **Rev. Bras. Zool.**, v. 12, n. 4, p. 991-1000.
- BARBOSA, L. S.; JESUS, D. M. L. & AGUIAR-COELHO, V. M. 2004. Longevidade e capacidade reprodutiva de casais agrupados de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera, Calliphoridae) oriundos de lavras criadas em dieta natural e oligídica. **Rev. Bras. Zoociências**, v.6, n2, p. 207-217.
- BARBOSA, L. S. 2006. Relações quantitativas e temporárias na exposição do hospedeiro *Cochlyomyia macellaria* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) ao parasitóide *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) em Laboratório. **Dissertação de Mestrado**. Museu Nacional, UFRJ, 62pp.
- BAUMGARTNER, D. L. & GREENBERG, B. 1985. Distribution and medical ecology of the blowflies (Diptera: Calliphoridae) of Peru. **Ann. Ent. Soc. Am.**, v.78, n., p.565-587.
- BRITO, L. G.; LIMA, M. A. M.; SANTOS, M. J. P. & MOYA, G.E. 2001. Estudo comparativo de *Cochlyomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) e *Lucilia cuprina* (Wiedemann, 1830) em caprinos artificialmente infestados. **Rev. Med. Vet.**, v. 23, n. 5, p. 203-206.
- BEUKEBOOM, L.W. & VAN DEN ASSEM, J. 2001. Courtship and mating behaviour of interspecific *Nasonia* hybrids (Hymenoptera, Pteromalidae): a grandfather effect. **Behavior Genetics**. n. 31, p. 167-177.

- CARDOSO, D. & MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. 1995. Influência da densidade de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) sobre a capacidade reprodutiva de fêmeas nulíparas de *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae). **Revta bras. Ent.**, v.39, n. 4, p. 779-786.
- CARDOSO, D. & MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. 1996. Aspectos da biologia de *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas de *Chrysomya megacephala* (FABRICIUS) e *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae), sob condições de laboratório. **Revta bras. Ent.**, v.40, n. 2, p.143-146.
- CARVALHO, A. R.; MELLO, R. P. & D'ALMEIDA, J. M. 2003. Microhimenópteros parasitóides de *Chrysomya megacephala*. **Rev. Saúde Pública**, v. 37, n. 6, p. 810-812.
- CARVALHO, A. R.; D'ALMEIDA, J. M. & MELLO, R. P. 2004. Mortalidade de larvas e pupas de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Díptera: Calliphoridae) e seu parasitismo por microhimenópteros na Cidade do Rio de Janeiro, RJ. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 4, p 505-509.
- CARVALHO, A. R.; MELLO, R. P. & D'ALMEIDA, J. M. 2005. Dinâmica populacional de himenópteros parasitóides de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Díptera, Calliphoridae) no Rio de Janeiro, RJ. **Rev. Bras. Ent.**, v. 49, n.1, p. 118-122.
- DRAPEAU, M. D. & WERREN, J. H. 1999. Differences in mating behaviour and sex ratio between three sibling species of *Nasonia*. **Evolutionary Ecology Research**, v.1, p. 223-234.
- FERREIRA, M. J. M. 1978. Sinantropia de dípteros muscóides de Curitiba Paraná I Calliphoridae. **Rev. bras. Biol.**, v. 38, n.2, p.445-454.
- FRAENKEL, G. & BHASKERAN, G. 1973. Pupariation and pupation in cyclorrhaphous flies (Díptera): terminology and interpretation. **Ann. Ent. Soc. Am.**, v. 66, p. 418-422.

- FURLANETTO, S. M. P.; CAMPOS, M. L. C.; HÁRSI, C. M.; BURALLI, G. M. & ISHIHATA, G. K. 1984. Microorganismos enteropatogênicos em moscas africanas pertencentes ao gênero *Chrysomya* (Díptera: Calliphoridae) no Brasil. **Rev. Microb.**, v. 15, n.3, p. 170-174.
- GRASSBERGER, M. & FRANK, C. 2003. Temperature-related development of the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis* as forensic indicator. **Med. Vet. Ent.**, v. 17, n. 3, p. 257-262.
- GREEFF, J. M. 1996. Alternative mating strategies, partial sib-mating and split sex ratio in haplodiploid species. **J. Evol. Biol.**, v. 9, p. 855-869.
- GREENBERG, B. 1971. Flies and Disease, vol I: Ecology, classification and biotic associations. **Princeton Univ. Press**, N.I., 865p.
- GREENBERG, B. 1973. Flies and Disease, vol II: Biology and disease transmission. **Princeton**, N. J., X+447p., 54figs.
- GREENBERG, B. & SZYSKA, M. L. 1984. Immature stage and biology of fifteen species of Peruvian Calliphoridae (Diptera). **Ann. Ent. Soc. Am.**, v. 77, p. 488-517.
- GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA-BORJA, G. E & PEREIRA, J.B. 2002. Impacto econômico das principais ectoparasitas em bovinos no Brasil. **Hora Vet.**, v.21, p. 8-10.
- GUIMARÃES, J. H.; PAPAVERO, N. & PRADO, A. P.1983) As míases na região Neotropical (identificação, biologia, bibliografia). **Rev. Bras. Zoo.**, v. 1, n. 4, p.239-416.
- GUIMARÃES, J. H.& PAPAVERO, N. 1999. Myiasis in man and animals in the Neotropical region. Editora Plêiade/FAPEST, São Paulo, 308p.
- HANSKI, I. 1987. Carrion fly community dynamics: patchiness, seasonality and coexistence. **Ecol. Ent.**, v.12, p. 257-266.
- KING, B. H. 1987. Offspring sex ratios in parasitoid wasps. **Q. Ver. Biol.**, v. 62, n. 4, p. 362-396.

- KING, B. H. & HOPKINS, C. R. 1963. Length of Life of the Sexes in *Nasonia Vitripennis* (Walker) (Hymenoptera, Pteromalidae) Under Conditions of Starvation. **Journal of Experimental Biology**, v. 40, p. 751-761.
- KING, B. H., GRIMM, K. M. & RENO, H. E. 2000. Effects of matting on female locomotor activity in the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae). **Environmental Entomology**, v. 29, p. 927-933.
- LA SALLE, J. & GAULD, D. 1992. Parasitic Hymenoptera and biodiversity crisis. **Redia**, v. 74, p. 315-334.
- LECLERQ, M. 1990. Les myiases. **Ann. Soc. Ent. Fr.**, v. 26, n. 3, p. 335-350.
- LESSA, C. S. S. & LESSA, D. A. B. 1999. Efeito preventivo de Ivermectin (liberação lenta) em miíases decorrente de castração em bovinos. **Rev. Bras. Med. vet.**, v. 21, n. 4, p.147-148.
- LINHARES, A. X. 2000. Miíases. In: NEVES, D.P.; MELO, A. L.; GENARO, O. & LINARDI, P. M. (2000). Parasitologia humana. São Paulo Ed. Atheneu., 10º edição, 428p.
- MADDEN, J. L. & PIMENTEL, D. 1965 Density and spatial relationship between a wasp parasite and its house fly host. **Can. Entomol.**, v. 97, p. 1031-1037.
- MADEIRA, N. G. & NEVES, D. P. 1985. Encontro de microhimenópteros *Spalangia endius* e *Nasonia vitripennis* (Pteromalidae) em pupas de Calliphoridae (Diptera) em Belo Horizonte (MG). In: Resumo do Congresso Brasileiro de Zoologia, n. 12, p. 388-339.
- MARCHIORI, C. H. 2004. Parasitoids of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) collected in Itumbiara, Goiás, Brazil. (Fabricius) collected in Itumbiara, Goiás, Brazil. **Rev. Saúde Pública**, v. 38, n. 2, p. 323-325.
- MARCHIORI, C. H.; SILVA, C. G.; CALDAS, E. R.; ALMEIDA, K. G. S. & CARVALHO, S. A. 2001. Primeira ocorrência do parasitóide *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas de *Peckia chrysostoma* (Wiedemann) (Díptera: Sarcophagidae). **Arq. Inst. Biol.**, v. 68, n. 1, p. 107-109.

- MARINHO, C. R.; BARBOSA, L. S.; AZEVEDO, A. C. G.; QUEIROZ, M. M. C.; VALGODE, M. A. & AGUIAR-COELHO, V. M. 2003. *Hemilucilia segmentaria* (Fabricius, 1805) (Diptera: Calliphoridae) as New Biological Vector of eggs of *Dermatobia hominis* (Linnaeus Jr., 1781) (Diptera: Oestridae) in Reserva Biológica do Tinguá, Rio de Janeiro, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 937-938.
- MELLO, R. P. 2003. Chave para a identificação das formas adultas das espécies de Família Calliphoridae (Díptera, Brachycera, Cyclorhapha) encontradas no Brasil. **Entomol. Vect.**, v. 10, n. 2, p. 255-268.
- MELLO, R. S. 2007. Efeito da densidade de *Nasonia vitripennis* (walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) e do hospedeiro *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae), sob aspectos biológicos do microheminópteros. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 82pp.
- MESSIAS, L. C. F. 2006. Efeito do congelamento de pupas e da dieta larval de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) sobre o desempenho reprodutivo de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae). **Monografia de Conclusão de Curso**, Rio de Janeiro, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, 87pp.
- MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M.; HERZOG, J. D.; FREITAS, M. A. S. & FARIAS, E. H. (1995). Desenvolvimento ontogenético, potencial reprodutivo e longevidade de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae), em condições de laboratório. **Rev. Bras. Ent.**, v. 39, n. 3, p. 623-632.
- MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M.; SERAFIN, I.; PIRANDA, E. M. & GULIAS-GOMES, C. C. 2004. Desempenho reprodutivo de *Nasonia vitripennis* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas crioconservadas de *Chrysomya megacephala* Fabricius (Díptera: Calliphoridae): Avaliação preliminar. **Cienc. Rural.**, v. 34, n. 1, p. 207-211.

- MOREIRA, O. I.; MARTINS, C. & MILWARD-DE-AVEZEDO, E. M. 1996. Avaliação preliminar do desempenho reprodutivo de *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera:Pteromalidae) em função do número de gerações. **Arq. Biol. Tecnol.**, v. 39, n. 3, p. 491-495.
- MOYA-BORJA, G. E. M.; CARRARO, V. M.; SANTOS, M. J. P. & MOGNATO, C. M. 1999. Desenvolvimento pré-imaginal, longevidade e potencial reprodutivo de *Lucilia cuprina* (Wiedmann, 1830) (Diptera: Calliphoridae) em condições de laboratório. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v. 21, n. 4, p. 159-164.
- NORBERG, A. N.; QUEIROZ, M. M. C.; MAURIE, E. A. P.; TOLEDO, R. F.; GAZÊTA, G. S.; NORBERG, C. M. B. & GUIMARÃES, R. R. 1999. Vetoração de fungos por moscas sinantrópicas coletadas em hospitais, restaurantes e feiras livres da baixada Fluminense, RJ, Brasil. **Resumo XIV Congresso LatinoAmericano de Parasitologia**, p.103.
- NUORTEVA, P. (1963). Synantropy of blowfly (Dip., Calliphoridae) in Finland. **Annls. Ent. Fenn.**, n. 29, p. 1-49.
- OLIVEIRA, V. C.; D'ALMEIDA, J. M.; DE SÁ, I. V. A.; MANDARINO, J. R. & SOLARI, C. A. 2006. Enterobactérias associadas a adultos de *Musca domestica* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) e *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1754) (Díptera: Calliphoridae) nno Iradim Zoológico, Rio de Janeiro. **Arq. Bras. Med. Zootec.**, v. 58, n. 4, p. 556-561.
- PARRA, J. R. P; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. & BENTO, J. M. S. 2002. Controle Biológico no Brasil. Editora Manole, 626pp.
- QUEIROZ, M. M. C. & MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. 1991. Técnicas de criação e alguns aspectos da biologia de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann)(Díptera: Calliphoridae), em condições de laboratório. **Rev. Bras. Zool.**, v.8, p. 75-84.
- QUEIROZ, M. M. C.; NORBERG, A. N.; PILE, E.; TOLEDO, R. F.; GAZETA, G. S.; DUTRA, A. E. A. & GUIMARÃES, R. R. 1999. Veiculação de bactérias patogênicas por moscas sinantrópicas coletadas em hospitais, restaurantes, feiras livres da baixada fluminense, RJ, Brasil. **Resumo do XIV Cong. Latinoamerican. De Parasitol.**, p102.

- REECE, S. E.; SHUKER, D. M.; PEN, I.; DUNCAN, A. B.; CHOUDHARY, A.; BATCHELOR, C. M. & WEST, S. A. 2004. Kin discrimination and sex ratios in a parasitoid wasp. **J. Evol. Biol.**, v. 17, p. 208-216.
- RUEDA, L. M. & AXTELL, R. C. A. 1985. Guide to common species of pupal parasites (Hymenoptera: Pteromalida) of the house fly and other muscoid flies associated with poultry and livestock manure. **N. C. Agric. Res. Serv. Tech. Bull.**, 278p.
- SANTOS, M. B.; MARTINS, C. & MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. (1996). Desenvolvimento pós-embrionário de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Díptera: Calliphoridae) criada em dieta a base de sardinha previamente exposta, por diferentes períodos, à condições controladas. **Arq. Biol. Tecnol.**, v. 39, n. 4, p. 799-805.
- SERENO, F. T. P.S. & NEVES, D. P. 1993. Ocorrência natural de parasitóides e pupas de moscas em aviário. **Na. Soc. Entomol. Bras.**, v. 22, p. 527-533.
- TAVARES, M. C. H. & LINHARES, A. X. 1999. Calliphoridae e Sarcophagidae associados a a decomposição de carcaças de suínos expostos em diferentes altitudes e regiões pluviométricas da Reserva Biológica Japi, Jundiaí-SP, durante o verão. **Res. XIV Cong. Bras. Parasitol.**, p. 10.
- WIJESSUNDARA, M. M. 1957. The life history and bionomic oh *Chrysomya megacephala* (Fabricius). **Ceylon J. Sci.**, v. 25, p. 169-185.
- WHITING, A. R. 1967. The biology of the parasitic wasp *Mormoniella vitripennis* (= *Nasonia vitripennis*) (Walker). **Q. Rev. Biol.**, v. 42, p. 333-406.
- WYLIE, H. G. 1958. Factors that affect host finding by *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hymenoptera: Pteromalidae). **Can. Entomol.**, v. 90, p. 597-608.
- WYLIE, H. G. 1963. Some effects of host age on parasitism by *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hymenoptera: Pteromalidae). **Can. Entomol.**, v. 95, p. 881-886.

- WYLIE, H. G. 1965. Effects of superparasitism on *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hymenoptera: Pteromalidae). **Can. Entomol.**, v. 97, p. 326-331.
- WYLIE, H. G. 1966. Survival and reproduction of *Nasonia vitripennis* (Walk.) at different host population densities. **Can. Entomol.**, v. 85, p. 275-281, 1966.
- WYLIE, H. G. 1967. Some effects of host size on *Nasonia vitripennis* and *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera: Pteromalidae). **Can. Entomol.**, v. 99, p. 742-748.
- ZUMPT, F. 1965. Myiasis in man and animals in the old world. London. **Butterworths**, 267p.