

UFRRJ

INSTITUTO DE BIOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA

ANIMAL

TESE

**Biologia de Califorídeos (Diptera): Fotoresposta,
Parasitismo e Controle**

Renata da Silva Mello

2012



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

RENATA DA SILVA MELLO

Sob-Orientação do professor
Gonzalo Efraín Moya Borja

e Co-Orientação da professora
Margareth Maria de Carvalho Queiroz

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal, Área de Concentração: **Biologia, Sistemática e Ecologia de Artrópodes**.

Seropédica, RJ
Março de 2012

Mello, Renata da Silva, 1981-

595.774
M527b
T

Biologia de Califorídeos (Díptera):
fotopostura, parasitismo e controle / Renata da
Silva Mello - 2012.

150 f.: il.

Orientador: Gonzalo Efraín Moya Borja.

Tese(doutorado) - Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em
Biologia Animal.

Inclui bibliografia.

1. Mosca-varejeira - Biologia - Teses. 2.
Mosca-varejeira - Controle - Teses. 3.
Inseticidas - Efeito fisiológico - Teses. I.
Borja, Gonzalo Efraín Moya, 1935-. II.
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal. III.
Título.

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

RENATA DA SILVA MELLO

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em **Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal, área de concentração em Biologia, Sistemática e Ecologia de Artrópodes.

Tese aprovada em ____/____/____

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

Valéria Magalhães Aguiar Coelho (Dra.) UNIRIO

Marina Vianna Braga (Dra.) FIOCRUZ

Rubens Pinto de Mello (Dr.) FIOCRUZ

José Mário d'Almeida (Dr.) UFF

Roberto de Xerez (Dr.) UFRRJ

Jacenir Reis dos Santos Mallet (Dr.) FIOCRUZ
(suplente)

Katia Maria Famadas (Dra.) UFRRJ
(suplente)

Dedico este trabalho ao meu marido, Leandro e aos meus pais, Almir e Jane, com os quais muito tenho aprendido e pelos incansáveis exemplos de amor e compreensão.

*Uma dedicação especial a minha querida avó,
Nilza "in memoriam" e ao meu avô Jayme "in
memorian" por todo carinho e ensinamentos.
Saudade eterna...*

AGRADECIMENTOS

Sou muito grata aos professores e orientadores Dra. Margareth M. Carvalho Queiroz (FIOCRUZ) e Dr. Gonzalo E. Moya Borja (UFRRJ) pela atenção, apoio, confiança e incentivo.

Agradeço a Coordenação de aperfeiçoamento de nível superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos para realização deste trabalho.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Biologia Animal (PPGBA) pela oportunidade e em especial à Agra Mendonça e ao professor Dr. Gerson Araújo pela atenção.

Agradeço a Dra. Marina Vianna Braga pelas sugestões, correções e traduções relativas às produções científicas.

Agradeço à amiga Dra. Adaíses Simone Maciel da Silva (Dep. Botânica – UFRRJ) e ao Msc. Leandro Talione Sabagh pelo auxílio nas análises estatísticas.

Agradeço a todos os colegas de laboratório pela ajuda nos experimentos, pelos momentos descontraídos e boas conversas, em especial a amiga Karine Vairo (UFPR) pelo companherismo e incentivo

Agradeço ao meu marido, Leandro, pelo companherismo, carinho, paciência e amor. Grande parte da realização e finalização desta tese foi devido ao seu incentivo. Obrigada por tornar doce e feliz a minha vida.

Agradeço aos meus pais, Almir e Jane, e aos meus sogros, Habib e Maria Eugênia, por todo carinho, apoio, compreensão e incentivo.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a minha formação científica e para a elaboração final deste trabalho.

RESUMO GERAL

Mello, Renata da Silva. **Biologia de Califorídeos (Diptera): Fotoresposta, Parasitismo e Controle.** 2012. 150p. Tese (Doutorado em Biologia Animal). Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, 2012.

Califorídeos apresentam importância médica-sanitária e também na entomologia forense, pois auxiliam a datação do intervalo pós-morte. Desta forma, estudos relativos à dinâmica populacional em diferentes condições abióticas, bem como investigações sobre métodos de controle destes dípteros são de suma importância. O presente estudo foi dividido em quatro capítulos que abordaram o tema por diferentes perspectivas. Os dois primeiros capítulos foram relativos ao desenvolvimento de *Chrysomya megacephala* e *Chrysomya albiceps* submetidas a diferentes fotoperíodos (L0:E24, L12:E12, L16:E8, L24:E0). Estas espécies responderam distintamente, no entanto ambas as espécies submetidas às 24h de escotofase tiveram desenvolvimento mais acelerado em suas diferentes fases imaturas e as viabilidades foram maiores em relação aos demais fotoperíodos. Houve uma tendência para desaceleração do desenvolvimento à medida que a fotofase foi aumentada, isto foi bem evidente para a fase larval em ambas as espécies. Embora, em *C. albiceps* foi mais pronunciado no período de neolarva a adulto, havendo uma diferença de até quatro dias entre a menor (L0:E24) e a maior fotofase (L24:E0). Em *C. megacephala* houve diferença somente quando o grupo submetido às 24h de escotofase foi comparado aos demais fotoperíodos, tendo o desenvolvimento mais acelerado. Foi possível inferir que o ritmo de emergência teve periodicidade circadiana, embora com taxas diárias de emergência distintas nos diferentes fotoperíodos. No terceiro capítulo objetivou-se investigar aspectos biológicos de *Nasonia vitripennis* (Pteromalidae) quando expostas aos hospedeiros enterrados em diferentes profundidades, variando de 0,0 a 5,0 cm, a cada 0,5 cm, por dois períodos, 24h e 48h. Observou-se que a exploração do pupário foi influenciada pelos dois fatores, tempo e profundidade, havendo uma relação de dependência entre eles. Em 48h de exposição foram observados pupários parasitados somente até a profundidade de 2,0 cm, porém em 72h a capacidade parasitária foi até 3,0 cm. Houve um decréscimo do número de fêmeas emergidas por pupa com o aumento das profundidades em 48h, no entanto esta tendência não foi observada em 72h. O número de machos por pupa não diferenciou entre as profundidades e nem entre os dois tempos de exposição. Houve um desvio da razão sexual para fêmeas em ambos os tempos de exposição e em todas as profundidades. No quarto capítulo foi investigada a ação do cornosídeo, a fração metanólica do látex de *Parahancornia amapa* (Apocynaceae), sobre o desenvolvimento de *Chrysomya putoria* e sobre a progênie de *N. vitripennis*. Foi observado que o peso larval e o tempo de desenvolvimento pós-embriônico de *C. putoria* não foram alterados, com exceção do período pupal que foi mais lento no tratamento com cornosídeo a 5% quando comparado ao grupo controle (água destilada). A viabilidade de neolarva a adulto foi em torno de 60% para ambos os tratamentos. Quanto à influência do cornosídeo sobre a progênie dos parasitóides, o número de parasitóides, razão sexual e tempo de desenvolvimento não foram alterados quando comparados ao controle. Pôde-se dizer que o cornosídeo a 5% não exerceu efeito sobre os califorídeos, aspecto negativo para o controle, e nem tampouco em seus controladores naturais, aspecto positivo.

Palavras-Chave: Bioinseticidas, Fotoperíodo, Moscas, Parasitóides, Pupação.

GENERAL ABSTRACT

Mello, Renata da Silva. **Calliphorids Biology (Diptera): Photoresponse, Parasitism and Biological Control**. 2012. 150p. Tese (Doctor in Animal Biology). Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, 2012.

Calliphorids are insects of medical-sanitary and forensic entomology, contributing mainly to estimate the minimum post mortem interval. Therefore, studies on population dynamics under different abiotic conditions, as well as investigations on dipteran control are very important. This study was divided into four chapters that approached the subject from different perspectives. The first two chapters are related to post-embryonic development of *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya albiceps* submitted to different photoperiods (L0:D24, L12:D12, L16:D8, L24:D0). These species responded differently, however both species had a faster development for the different stages and their viabilities were higher in the 24h scotophase (24 hours of darkness) when compared to the other photoperiods. There was a trend for deceleration of the development as the photophase increased and it was evident for the larval stage of the both species. However, in *C. albiceps* was more pronounced for newly-larvae hatched to adult period, presenting a difference of up to four days between the shorter photophase (L0:D24) and the longer photophase (L24:D0). The total period of development of *C. megacephala* was shorter when the 24hscotophase was compared to the others. Therefore, it was possible to infer that the different photoperiods presented a circadian rhythm of emergence with distinct daily emergence rate, suggesting that this phenomenon was primarily regulated by an endogenous circadian clock, even if they presented modulations by photophases. In the third chapter, the aim was to investigate the biological aspects of *Nasonia vitripennis* (Pteromalidae) when the female explored hosts buried at different depths ranging from 0.0 to 5.0 cm at 0.5 cm intervals, for two periods of exposition: 24 and 48h. It was observed that two factors, period of exposition and pupation depths, caused differences in the parasitoid progeny and had a relation of dependence. For the group exposed for 48h, the pupae were parasitized only when buried up to 2.0 cm depth, however, for the group exposed for 72h, the parasitic capacity of parasitoids reached pupae buried up to 3.0 cm deep. The group exposed for 48h had a decreasing number of female emerged per pupae as the depth increased. This trend was not observed for the group exposed for 72h. The number of male emerged per pupae did not differ among the depths and periods of expositions. The sex deviation was higher for female for both exposure periods and for all depths. In the fourth chapter was the effect of a cornoside extract from *Parahancornia amapa* (Apocynaceae) on post-embryonic development of *Chrysomya putoria* and progeny of *N. vitripennis* was investigated. The larval weigh and post-embryonic developmental period of *C. putoria* were not affected, with exception for the pupal development that was slower with the treatment with 5% cornosideo when compared to the control (distilled water). The newly-hatched larvae to adult period presented a viability of around 60 % for boths treatments. In relation to to the effect of the cornosideo on progeny of the parasitoids the following parameters were analysed: number of parasitoids emerged per pupae, sex ratio and developmental period. None of these were affected in comparison to the control group. The lack of effect of 5% cornoside on calliphorid flies may be a negative aspect when control is being concerned. However the lack of effect on the parasitoid, used as natural controllers of calliphoridas, is a positive aspect.

Key-words: Bioinsecticide, Blowflies, Parasitoids, Photoperiod, Pupation.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 OBJETIVOS	14
3 ÁREA DE ESTUDO	15
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16
 CAPÍTULO I: COMO O FOTOPERÍODO AFETA O DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO DE ESPÉCIES DE IMPORTÂNCIA FORENSE: <i>Chrysomya albiceps</i> (CALLIPHORIDAE)?	
1 Resumo	29
2 Abstract.....	30
3 Introdução.....	31
4 Material e Métodos.....	33
5 Resultados e Discussão.....	35
6 Conclusões.....	45
7 Referências Bibliográficas.....	46
 CAPÍTULO II: RESPOSTA FOTOPERIÓDICA DO DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO DE <i>Chrysomya megacephala</i> (DIPTERA: CALLIPHORIDAE): PERSPECTIVAS PARA ENTOMOLOGIA FORENSE	
1 Resumo.....	51
2 Abstract	52
3 Introdução.....	53
4 Material e Métodos.....	55
5 Resultados.....	56
6 Conclusões.....	65
7 Referências Bibliográficas.....	65
 CAPÍTULO III: CAPACIDADE EXPLORATÓRIA DE <i>Nasonia vitripennis</i> (PTEROMALIDAE) EM HOSPEDEIROS ENTERRADOS EM DIFERENTES PROFUNDIDADES: PERSPECTIVA FORENSE E CONTROLE BIOLÓGICO	
1 Resumo.....	70
2 Abstract.....	70
3 Introdução.....	71
4 Material e Métodos.....	74
5 Resultados e Discussão.....	76
6 Conclusões.....	93
7 Referências Bibliográficas.....	94

**CAPÍTULO IV: EFEITO DO EXTRATO METANÓLICO DE *Parahancornia amapa* (APOCYNACEAE) SOBRE A PROGÊNIE DE *Chrysomya putoria* (CALLIPHORIDAE) e *Nasonia vitripennis* (PTEROMALIDAE):
IMPLICAÇÕES NO CONTROLE DE PRAGAS**

1 Resumo.....	100
2 Abstract.....	101
3 Introdução.....	102
4 Material e Métodos.....	105
5 Resultados e Discussão.....	109
6 Conclusões	123
7 Referências Bibliográficas.....	125
5 CONCLUSÕES GERAIS	130
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	131
ANEXOS.....	132

1 - INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Ordem Diptera

A ordem Diptera possui mais de 151.000 espécies descritas, sendo a segunda maior ordem da classe Insecta, menos representativa apenas que Coleoptera (BRUSCA & BRUSCA, 2003). Os dípteros são caracterizados por possuírem um par de asas membranosas anteriores bem desenvolvidas e o segundo par reduzido, sendo transformado em estruturas de equilíbrio chamadas de halteres ou balancins.

Segundo McALPINE (1981), esta ordem é dividida em duas subordens, Nematocera e Brachycera. Os nematóceros são os dípteros que possuem as antenas formadas por mais de seis artículos livremente articulados e palpos maxilares com três a cinco segmentos. Os Brachycera são os dípteros genericamente conhecidos por moscas, que se caracterizam por apresentarem corpo robusto quando comparado aos nematóceros, com antenas formadas por três segmentos, sendo o último anelado e palpos maxilares com no máximo dois segmentos (BORROR *et al.*, 1989).

A subordem Brachycera é dividida em três infraordens, Asilomorpha, Tabanomorpha as quais formavam a antiga subordem Ortorrhapha e a infraordem Muscomorpha que corresponde à antiga subordem Cyclorrhapha. A infraordem Muscomorpha é separada em duas divisões: Aschiza e Schizophora, a primeira caracterizada pela ausência e a segunda pela presença de uma sutura completa no mesonoto. Os Schizophora são conhecidos, também, como dípteros muscóides (McALPINE, 1981), neste grupo os adultos emergem do pupário através da expansão do saco ptilineal, o qual pressiona o pupário e forma uma fenda circular, pela qual o adulto emerge. A retração do saco ptilineal deixa uma "cicatriz" nos adultos, a qual é chamada de sutura frontal e/ou ptilineal, localizada na base das antenas. Possuem, ainda duas Seções, chamadas de Acalyptratae, onde as calíptas são pouco desenvolvidas ou ausentes e Calyptratae onde é sempre desenvolvida.

1.1.1 Caracterização morfológica da família Calliphoridae

Os califorídeos são dípteros muscóides pertencentes à Seção Calyptratae (GUIMARÃES & PAPAVERO, 1999; ZUCCHI *et al.*, 1993). As larvas de Calliphoridae são do tipo vermiforme com o corpo dividido em 12 segmentos, sendo a maioria com anéis de

espinhos pigmentados paralelos ou irregulares, podendo cobrir todo ou parte dos segmentos. Possuem os espiráculos anteriores com ranhuras em forma de brânquias e apresentam os espiráculos posteriores formando um anel externo chamado peritreme, podendo ser ou não fechado. Em geral, as larvas maduras apresentam três aberturas estigmáticas. Os imagos apresentam coloração variando de azul, verde, violeta a cobre metálico com tamanho corporal variando de 4 a 16 mm de comprimento. Apresentam antenas com três segmentos com uma estrutura cerdiforme no último, denominada arista, a qual é plumosa.

1.2 Histórico da introdução do gênero *Chrysomya* (Calliphoridae) no Brasil

Espécies do gênero *Chrysomya* Robineau-Desvoidy, 1830 pertencentes à família Calliphoridae, são vulgarmente conhecidas como moscas-varejeiras. Originalmente, sua distribuição compreendia o Velho Mundo, sendo introduzida no Brasil na década de 1970 (GUIMARÃES *et al.*, 1978). Os primeiros relatos deste gênero no país foram feitos por IMBIRIBA *et al.*, (1977) ao identificar *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) no Paraná e por GUIMARÃES *et al.* (1978) ao registrar a ocorrência de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819), *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) e *Chrysomya putoria* em São Paulo.

Este gênero apresenta, atualmente, ampla distribuição no território brasileiro e o sucesso de sua rápida dispersão em poucos anos é relacionado a grande capacidade adaptativa, elevada tolerância às variações climáticas e também pelo comportamento sexual r-estrategista (PIANKA, 1970; PARALUPPI & CASTELLÓN, 1994; MELLO *et al.*, 2007).

1.2.1 Flutuação populacional da família Calliphoridae

Considera-se que os principais fatores envolvidos na regulação dos eventos comportamentais, fisiológicos e bioquímicos dos dípteros muscóides estão associados às variações de temperaturas e fotoperíodos que devem agir sobre as respostas biológicas do relógio circadiano (TAKEDA, 1997). Sabe-se que a flutuação populacional sazonal nos califorídeos, como na maioria dos animais, é intimamente relacionada às variações de temperatura, umidade relativa do ar, fotoperíodo e intensidade de chuvas (NUORTEVA, 1963; COSTA *et al.*, 1992; FERREIRA *et al.*, 1995; VIANNA *et al.*, 2004; MELLO *et al.*, 2007).

Muitos estudos têm sido elaborados em diferentes condições de temperaturas com califorídeos para observar suas respostas comportamentais nas diferentes fases de

desenvolvimento pós-embrionário (BYRD & BUTLER, 1996, 1997; QUEIROZ, 1996; GRASSBERGER & REITER, 2001; SILVA *et al.*, 2004; BERKEBILE *et al.*, 2006). Tem se observado que a taxa de desenvolvimento aumenta à medida que se eleva a temperatura, apresentando um desenvolvimento pós-embrionário mais acelerado em todas as fases de desenvolvimento (QUEIROZ, 1996; SILVA *et al.*, 2004; BERKEBILE *et al.*, 2006)

Existem poucos estudos abordando os efeitos dos diferentes ciclos de luz sobre a taxa de desenvolvimento destas moscas. As investigações já realizadas foram somente com algumas espécies de califorídeos e sarcófagídeos provenientes de regiões temperadas, principalmente do continente norte Americano, Europeu, Asiático e Oceania, onde as condições climáticas não podem ser comparadas às do Brasil. Entre as espécies de califorídeos estudadas destacam-se *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy, 1830 (McWATTERS & SAUNDERS, 1998), *Calliphora stygia* Fabricius, 1781 (ROBERTS *et al.*, 1983), *Lucilia caesar* Linnaeus, 1758 (RING, 1967), *Lucilia sericata* Meigen, 1826 (TACHIBANA & NUMATA, 2004 a, b) e *Phormia regina* (Meigen, 1826) (NABITY *et al.*, 2007). Entre os sarcófagídeos *Boettcherisca peregrina* Robineau-Desvoidy, 1830 (MORIBAYASHI *et al.*, 2008), *Sarcophaga similis* Meade, 1876 (TANAKA *et al.*, 2008) e *Sarcophaga argyrostoma* (Robineau-Desvoidy, 1830) (SAUNDERS, 1976).

Estes estudos investigaram a influência dos diferentes fotoperíodos nos processos de entrada e saída da diapausa, fenômeno definido como um processo de desaceleração no crescimento e desenvolvimento dos animais, perante as condições adversas do clima (RING, 1967). Tem-se observado que a entrada da diapausa, normalmente, antecede condições de dias mais curtos e temperaturas mais baixas (RING, 1967; TACHIBANA & NUMATA, 2004 a; TANAKA *et al.*, 2008). Alguns autores, também atribuem a ocorrência da diapausa como uma indução maternal (FRASER & SMITH, 1963; TACHIBANA & NUMATA, 2004b). Poucas são as avaliações do efeito da luz sobre a taxa de desenvolvimento dos califorídeos, alguns somente se concentram em determinar o comportamento de oviposição dispersão, enterramento das larvas e pupação (GREENBERG, 1990; TESSMER *et al.*, 1995; SINGH & BHARTI, 2001; SPENCER, 2002; GOMES *et al.*, 2006).

1.3 Entomologia Forense: importância dos califorídeos (Calliphoridae)

A entomologia forense é a aplicação do estudo dos insetos e outros artrópodes necrófagos associados a um cadáver em decomposição em eventos envolvendo suspeitas de crime, com o propósito de fornecer informações úteis em uma investigação criminal (HALL, 2001). Na última década houve um grande ressurgimento do interesse das investigações forenses pelos entomologistas (CATTS & GOFF, 1992). A entomologia forense contribui, principalmente, para o estabelecimento do intervalo pós-morte (IPM), que é definido como o tempo transcorrido desde a morte ou, mais exatamente, o tempo em que um cadáver foi exposto às condições do meio ambiente e as injúrias dos insetos, até a sua descoberta (OLIVEIRA-COSTA, 2007; MELLO & AGUIAR-COELHO, 2009).

Sabe-se que o processo de decomposição é caracterizado por fenômenos transformadores que se sucedem no cadáver, resultantes da anoxia celular que reduzem o pH intra e extra celular, ocorrem o rompimento das membranas e a desintegração dos tecidos. Esta putrefação é dividida em fases, que podem apresentar diversas denominações variando de autor para autor. A duração destas fases é variável, pois dependem de condições intrínsecas (idade, *causa mortis*, constituição) e extrínsecas (temperatura, aeração, higroscopia, entre outros), embora a ordem é invariável (OLIVEIRA-COSTA, 2007). De acordo com GOMES (1997) as fases se dividem em fresca, gasosa, coliquativa e esqueletização. Cada etapa da putrefação cadavérica apresenta características próprias e oferece condições que atraem grupos específicos de insetos, os quais variam de acordo com suas preferências alimentares, levando a uma sucessão faunística (OLIVEIRA-COSTA, 2007).

Assim, o corpo em decomposição atrai uma grande diversidade de artrópodes, formando uma complexa comunidade de espécies necrófagas, predadores, parasitas, parasitóides e acidentais (TURCHETTO & VANIN, 2004). Os pioneiros no processo putrefativo pertencem à ordem Diptera, seguida pela ordem Coleoptera. As moscas são rápidas e agressivas na procura por restos animais e chegam poucas horas após a morte, destacando-se as famílias Calliphoridae, Sarcophagidae, Muscidae, Fanniidae, Phoridae, Anthomyiidae e Stratiomyidae. Nas fases iniciais é comum encontrar oviposições de califorídeos nos orifícios naturais do corpo (GOFF, 2000). Os Coleoptera, por sua vez, costumam ser mais frequentes nos estágios finais de decomposição, destacando-se as famílias Dermestidae, Cleridae, Histeridae e Scarabaeidae (GOFF, 2000).

No Brasil, as principais espécies de destaque forense pertencem à família Calliphoridae, pois são representados por espécies pioneiras, ou seja, aquelas primeiras a oviporem na carcaça em decomposição (NUORTEVA, 1977; SMITH, 1986). Em estudos realizados nas regiões Sul, Sudeste, Norte e Nordeste do Brasil foram observados colonizando as carcaças as seguintes espécies de califorídeos: *C. albiceps*, *C. megacephala*, *C. putoria*, *Lucilia eximia* (Wiedemann 1819), *Hemilucilia segmentaria* (Fabricius, 1805), *Hemilucilia semidiaphana* (Rondani, 1850) e *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (MOURA *et al.*, 1997; SOUZA & LINHARES, 1997; CARVALHO *et al.*, 2000; CARVALHO & LINHARES, 2001; GOMES *et al.*, 2009; OLIVEIRA & VASCONCELOS, 2010; BARBOSA *et al.*, 2010 a). Com relação aos sarcófagídeos destacam-se as espécies *Adiscochaeta ingens* (Walker, 1849), *Peckia (Pattonella) intermutans* (Walker, 1861), *Peckia (Pattonella) resona* (Lopes, 1935), *Sarcophaga (Liopygia) ruficornis* (Fabricius, 1794), *Oxysarcodexia riograndensis* Lopes, 1946, *Oxysarcodexia modesta* Lopes, 1946, *Ravinia belforti* (Prado & Fonseca, 1932) (SOUZA & LINHARES, 1997; CARVALHO *et al.*, 2000; OLIVEIRA & VASCONCELOS, 2010; BARBOSA *et al.*, 2010 a). E entre os muscídeos destacam-se *Ophyra aenescens* (Wiedemann, 1830), *Ophyra calcogaster* (Wiedemann, 1824), *Synthesiomyia nudiseta* (Wulp, 1883) (SOUZA & LINHARES, 1997; BARBOSA *et al.*, 2010 a).

O conhecimento taxonômico das espécies envolvidas no processo de decomposição é essencial para a entomologia forense, porém não é o suficiente. A estimativa do IPM depende também das informações ecológicas e biológicas das espécies necrófagas, como por exemplo, o conhecimento das taxas de desenvolvimento em diferentes condições climáticas (SMITH, 1986; AMENDT *et al.*, 2007). Portanto, estudos relativos à biologia das espécies necrófagas e sua interação com os fatores abióticos, tornam-se cada vez mais necessários, pois tornam possível o cálculo de IPM mais preciso, principalmente quando o tempo de morte ultrapassa três dias, onde os métodos tradicionais utilizados pelos peritos legistas se tornam menos precisos (OLIVEIRA-COSTA, 2007).

1.4 Importância médica-veterinária e sanitária dos califorídeos (Diptera: Calliphoridae)

Recentes modificações climáticas têm ocorrido em todo planeta com o aumento gradual da temperatura do planeta. Durante o século XX, a temperatura do planeta subiu em torno de 0,6°C, tendo essas modificações iniciado por volta de 1910. Dois principais períodos

de aquecimento são relatados na literatura, entre 1910 e 1945, representados pelas grandes guerras mundiais e de 1976 aos dias atuais, sendo um período marcado por uma grande revolução industrial (TURCHETTO & VANIN, 2004). Há grande evidência de que o aquecimento global influencia o comportamento de uma variedade de organismos, havendo migração de espécies entre áreas com grande variação de latitudes, ocasionando o deslocamento de espécies nativas (TURCHETTO & VANIN, 2004). Como também, podem ocorrer perdas de hábitat, extinção de algumas espécies e/ou aumento populacional de outras, especialmente para aquelas que têm sua taxa de crescimento aumentada em condições de aquecimento, como é o caso das moscas varejeiras. Tais acontecimentos podem levar a consequências desastrosas para a saúde pública.

Os califórídeos já foram incriminados como veiculadores de diversos patógenos. Como por exemplo, *C. albiceps* já foi relatada como vetor de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus* sp., *Providencia* sp., *Citrobacter* sp. e *Klebsiella* sp. (PARALUPPI *et al.*, 1996); *C. megacephala* como vetor de *Aeromonas sobria*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Providencia alcalifaciens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter* sp., *Proteus mirabilis*, *Salmonella agona*, *Morganella* sp., *Klebsiella* sp., *Pseudomonas* sp. e *Enterobacter* sp. (SUKONTASON *et al.*, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2006) e *C. putoria* (Wiedemann 1818) como vetor de: polivírus tipos I e III, vírus Coxsackie, *Shigella* sp., *Salmonella* sp., *Escherichia coli* e *Giardia lamblia* (FURLANETTO *et al.*, 1984). Estas espécies podem ainda causar miíases facultativas no homem e animais (ZUMPT, 1965; EIZEMBERG *et al.*, 2008; FERRAZ, *et al.*, 2008, 2010, 2011).

A elevada capacidade disseminadora de doenças somada à elevada prevalência do gênero *Chrysomya* sp. em ambientes urbano e rural, tornam estes dípteros grandes pragas para população (GUIMARÃES *et al.*, 1978). Sendo considerados um problema real em locais com infraestrutura inadequada de água, esgoto e acúmulo de material orgânico em decomposição, pois tornam-se criadouros naturais, ocasionando elevada transmissão de patógenos e propagação de doenças, implicando em elevados prejuízos sócio-econômicos para o país (CARVALHO *et al.*, 2005).

Estima-se que os prejuízos econômicos em decorrência das miíases provocadas em bovinos, ovinos, equinos, caprinos e cães foram da ordem de 120 milhões de dólares nos Estados Unidos da América na década de 1960 (BAUMHOVER, 1966). Atualmente, a espécie *Cochliomyia homivorax* (Coquerel, 1858), principal responsável por perdas

econômicas em outras décadas, foi erradicada deste país (MOYA-BORJA, 2003). Os custos relacionados com medidas preventivas e controle na América Central e Panamá atinge cerca de 43 milhões por ano (SNOW *et al.*, 1985) No Brasil, as perdas provocadas por estas pragas têm sido calculadas nas cifras de 150 milhões de dólares por ano (GRISI *et al.*, 2002).

1.5 Aspectos gerais do controle químico

Historicamente os inseticidas organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides foram sempre os produtos mais empregados em várias regiões do mundo no controle de insetos vetores de doenças. Embora grande parte das populações de pragas sejam eliminadas pelo uso destes compostos, a sua constante aplicação pode trazer efeitos não desejáveis, entre eles a seleção de insetos geneticamente resistentes, destruição de organismos benéficos, explosão secundária da praga, contaminação do solo e dos sistemas aquáticos e bioacumulação trófica trazendo riscos direto à saúde humana pelo manuseio, consumo indireto dos inseticidas e/ ou por meio da exposição às fontes ambientais (GULLAN & CRANSTON, 2007).

No Brasil, os inseticidas químicos são ainda os mais largamente empregados para redução dos insetos pragas, pois são relativamente baratos. Por outro lado, a maioria não é considerada biodegradável, sendo acumulado nas gorduras de animais de sangue quente. Já foi relatado como carcinogênico em camundongos e também, podem interferir no metabolismo do sódio e potássio (MARICONI, 1980). O uso de inseticidas químicos é em alguns casos necessário, quando as situações se tornam críticas, porém devem ser administrados de forma consciente e limitada, uma vez que tais produtos podem, também, reduzir as populações de controladores naturais como predadores e parasitóides.

Uma alternativa ao controle químico é a ampliação e aplicação do manejo integrado de pragas (MIP), caracterizado pela integração de diversos métodos de controle, os quais se baseiam em princípios ecológicos, econômicos e sociais, visando à redução de inseticidas e a interferência mínima possível no agroecossistema (GULLAN & CRANSTON, 2007). Entre os métodos utilizados, destacam-se a elaboração de produtos sintéticos menos tóxicos, a partir, por exemplo, de produtos naturais derivados de plantas e também através da ampliação do uso de controladores naturais.

Uma das principais etapas do MIP é o estudo detalhado sobre a biologia dos insetos pragas e de seus inimigos naturais, de modo a permitir o uso racional de várias técnicas em

diferentes circunstâncias (GULLAN & CRANSTON, 2007). Estudos relacionados à ecologia populacional são parâmetros indispensáveis para aplicação do MIP. O crescimento populacional envolve o conhecimento dos fatores ecológicos, tanto daqueles independentes da densidade (climáticos, edáficos, da planta cultivada), como daqueles dependentes das densidades (disponibilidade de alimento, competição intra e interespecífica) (GULLAN & CRANSTON, 2007). Estes fatores podem alterar as taxas de fecundidade, mortalidade e os próprios ciclos biológicos tanto da espécie foco de controle como de seu controlador natural.

1.5.1 Controle químico com substâncias naturais

A coevolução de insetos e plantas estabeleceu uma poderosa e sofisticada estratégia de defesa dos vegetais baseada em alguns metabólitos fitoquímicos secundários. Muitos desses metabólitos podem interromper algumas etapas fisiológicas dos insetos, relacionadas ao sistema trófico e neuroendócrino, influenciando aspectos reprodutivos e da metamorfose. Desta forma constituem poderosos métodos alternativos de controle (STOKA, 1987; GARCIA & AZAMBUJA, 2004).

São conhecidas no mundo aproximadamente 170 famílias e aproximadamente 2.000 espécies de plantas com propriedades inseticidas (FEINSTEIN, 1952). Algumas espécies da família Apocynaceae, como por exemplo *Parahancornia amapa* (Huber), planta típica da região Amazônica do Brasil conhecida por "amapa" ou "amapazeiro", tem seu látex (leite do amapa) utilizado pelos nativos para o tratamento gastro-intestinal, contra sífilis e também serve de repelente contra insetos (SOBRINHO *et al.*, 1991; MONTELES & PINHEIRO, 2007).

Estudos recentes com látex de Apocynaceae observaram seu efeito na taxa de desenvolvimento de alguns dípteros muscóides (EL-SHAZLY *et al.*, 1996; MENDONÇA *et al.*, 2011). O extrato etanólico de *Nerium oleander* (Apocynaceae) foi observado sobre o desenvolvimento de *Muscina stabulans* (Fallen, 1817) (Muscidae), o qual reduziu a taxa de oviposição, atrasou a duração dos estágios larval e pupal e também reduziu a taxa de sobrevivência dos adultos, afetando diretamente no sistema endócrino destes insetos (EL-SHAZLY *et al.*, 1996).

Em outro estudo, testando diferentes soluções do látex liofilizado de *P. amapa* nas concentrações de 0,5 a 3,0% o qual foi aplicado sobre o corpo das neolarvas de *C. megacephala* (Calliphoridae), foi verificada uma redução da viabilidade nos diferentes

estágios de desenvolvimento em relação ao tratamento controle (sem adição do látex). A duração de cada fase de desenvolvimento foi alterada de acordo com as concentrações do látex (MENDONÇA *et al.*, 2011).

O látex proveniente de outras espécies vegetais como *Euphorbia splendens* var. *hislopii* (Syn. *Euphorbia milii* - Zani *et al.*, 1993) (Euphorbiaceae), conhecida popularmente como coroa-de-cristo, é amplamente conhecido pelo seu poder moluscicida (ZANI *et al.*, 1993; DE-CARVALHO *et al.*, 1998; SCHALL *et al.*, 1998; VASCONCELOS & AMORIM, 2003) e recentemente teve seu efeito inseticida investigado sobre o desenvolvimento de *Megaselia scalaris* (Loew, 1866) (Diptera: Phoridae) (MELLO *et al.*, 2010 a).

Foi observado que o extrato bruto do látex, diluído em diferentes concentrações e aplicado topicamente sobre o corpo das neolarvas, também reduziu a viabilidade dos diferentes estágios de desenvolvimento de *M. scalaris* e acelerou a duração do desenvolvimento de cada estágio em relação ao tratamento controle (sem a substância) (MELLO *et al.*, 2010 a). GOMES *et al.* (2003) verificaram que o tempo de desenvolvimento foi mais acelerado nos diferentes estágios de *P. chrysostoma* (Sarcophagidae) quando tratados com látex liofilizado de *E. Splendens* var. *Hislopii* e também apresentou uma redução gradual da viabilidade de acordo com o aumento das concentrações do látex.

MATHEW *et al.* (2009) testaram a ação de *Saraca indica* (Fabales: Caesalpiniaceae), *Clitoria ternates* (Fabales: Fabaceae) e *Nyctanthes arbortristis* (Fabales: Oleaceae) contra os mosquitos vetores (Diptera: Culicidae) da malária, filariose e dengue (*Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* e *Aedes aegypti*, respectivamente). Os testes resultaram na identificação de extratos fitoquímicos poderosos contra as larvas destes mosquitos vetores.

A maioria dos estudos que testaram a ação de diferentes compostos de plantas sobre o desenvolvimento e viabilidade de moscas, foi desenvolvida com variações estruturais de lignóides que são unidades de dímeros de fenilpropanóides (C6-C3) conectados pelo carbono central a uma cadeia de lignana *e/* ou por outros tipos de conexões (neolignanas). CABRAL *et al.* (2007 a) testaram o efeito de diversos lignóides como yangambina (*Ocotea duckei* Vattimo, Lauraceae), burchelina (*Aniba burchelli* Kostern, Lauraceae), licarina A (*Nectandra amazonum* C.G.D. Nees e *N. glabrescens* Benth, ambas pertencentes a família Lauraceae) e grandisina (*Piper solmsianum* C.D.C., Piperaceae) sobre o desenvolvimento de *C. megacephala*. No estudo destes autores foi verificado que somente as larvas tratadas com yangambina tiveram o desenvolvimento afetado, sendo mais acelerado para todos os estágios

e a viabilidade do período de neolarva a adulto foi reduzida em relação aos outros tratamentos. CABRAL *et al.* (2007 b) também observaram uma redução de 20% na emergência das moscas em relação ao grupo controle, quando utilizada a yamgambina topicamente sobre o corpo das neolarvas (*O. duckei* Vattimo, Lauraceae).

Através destes estudos foi possível estabelecer que determinados extratos de plantas foram potenciais controladores químicos, apresentando ação direta (e.g. redução da taxa de viabilidade) e/ou indireta (diminuição da capacidade alimentar, aceleração ou atraso do desenvolvimento) sobre o ciclo de vida dos insetos vetores. Logo, a ampliação de investigações sobre o poder dos bioinseticidas fitoquímicos são alternativas eficazes para o manejo integrado de insetos pragas, já que utilização de substâncias naturais apresentam efeitos negativos menores para o ambiente e para as populações não pragas.

1.5.2 Controle biológico com parasitóides

No Brasil, estudos sobre o controle biológico de dípteros a partir de parasitóides têm se limitado a relatos da ocorrência de inimigos naturais parasitando moscas em regiões rurais do país (CARVALHO *et al.*, 2003). Por outro lado, pesquisas realizadas nos Estados Unidos têm demonstrado que a liberação massal de himenópteros parasitóides é eficiente no controle de moscas (LEGNER & BRYDON, 1966; MORGAN *et al.*, 1975; MORGAN *et al.*, 1981).

Os parasitóides são considerados agentes controladores naturais responsáveis pela redução de populações de dípteros muscóides que proliferam em esterco, cadáveres e carcaças de animais (RUEDA & AXTELL, 1985). Pertencem à ordem Hymenoptera, destacando-se principalmente as famílias Braconidae, Pteromalidae, Figitidae, Diapriidae e Eucolidae (LEGNER & OLTON, 1970; MARCHIORI & LINHARES, 1999).

A utilização de microhimenópteros no controle de dípteros de interesse médico-veterinário e sanitário é considerada uma alternativa ecológica e eficiente no manejo destas pragas (PICKENS & MILLER, 1978; PETERSEN & PAWSON, 1988; CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1996). Porém, para a sua liberação na natureza visando o controle, é necessário o conhecimento detalhado da sua biologia e ecologia em diferentes condições bióticas e abióticas.

1.6 Biologia geral do microhimenóptero *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae)

Nasonia vitripennis (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) é uma espécie de micro-vespa parasitóide de dípteros muscóides (WHITING, 1967; MELLO & AGUIAR-COELHO, 2009). Apresenta ampla distribuição geográfica com registro em países da América do Norte, África, Austrália, Europa, Ásia e ilhas do Pacífico (RUEDA & AXTELL, 1985). No Brasil, seu primeiro relato data de 1985, onde foram encontradas pupas do gênero *Chrysomya* sp. parasitadas por esta espécie de parasitóide (MADEIRA & NEVES, 1985). O ciclo de vida destes parasitóides na natureza pode ser regulado por diversos fatores abióticos como variações de temperatura, fotoperíodos, umidade relativa, intensidade de chuvas, tipo e graus de compactação do solo e por fatores bióticos como a presença de predadores, qualidade, localização e regulação fisiológica dos hospedeiros.

Nasonia vitripennis é classificada como um ectoparasitóide polífago, pois, primeiramente, se devolvem sobre as pupas de seus hospedeiros e segundo, não apresentam uma seletividade específica por uma única espécie de hospedeiro, podendo parasitar pupas de dípteros das famílias Calliphoridae, Sarcophagidae, Muscidae, Cuterebridae, Piophilidae e Tachinidae (WHITING, 1967; MADEIRA & NEVES, 1985). Em literatura específica, já foram relatados mais de 68 espécies de dípteros muscóides que podem ser potenciais hospedeiros de *N. vitripennis* (WHITING, 1967).

No Brasil, este parasitóide já foi observado na natureza parasitando uma ampla variedade de espécies de dípteros muscóides, como por exemplo pupas de muscóides pertencentes às espécies *Musca domestica* Linnaeus, 1758, *S. nudiseta* (SERENO & NEVES, 1993; MARCHIORI *et al.*, 2000 a, b; MARCHIORI *et al.*, 2002; MARCHIORI, 2001); pupas de califorídeos, pertencentes às espécies *C. albiceps*, *C. putoria*, *C. megacephala* (SERENO & NEVES, 1993; MARCHIORI & LINHARES, 2000 a, b; MARCHIORI *et al.*, 2002; MARCHIORI 2004) e pupas de sarcófadídeos pertencentes às espécies *Peckia* (*Peckia*) *chrysostoma* (Wiedemann, 1830), *Sarcodexia lambens* (Wiedemann, 1830) e *Oxysarcodexia thornax* (Walker, 1849) (MARCHIORI *et al.*, 2000; MARCHIORI *et al.*, 2002; MARCHIORI, 2004).

Nasonia vitripennis é classificada como uma espécie gregária, pois ovipõem mais de um ovo no hospedeiro, podendo vários parasitóides se desenvolver sobre uma mesma pupa (WHITING, 1967). Estudos relativos à capacidade reprodutiva de *N. vitripennis* mostram

haver variações na taxa de oviposição dependendo das condições extrínsecas e/ou intrínsecas do hospedeiro, como disponibilidade e nível de agregação dos hospedeiros (BARBOSA *et al.*, 2008), tempo de exposição do hospedeiro ao parasitóide (MELLO *et al.*, 2010 b; BARBOSA *et al.*, 2010 b), qualidade do hospedeiro, que varia de acordo com a espécie, tamanho, idade, sexo, *status* nutricional e se já se encontram ou não parasitados (WYLIE, 1962, 1963, 1964; CHABORA & PIMENTAL, 1966; KING & RAFAI, 1970; MELLO *et al.*, 2009, 2010 b); idade, expectativa de vida, tamanho das fêmeas parasitóides e seu nível de competição (VELTHUIS *et al.*, 1965; MELLO *et al.*, 2009).

O número de ovos depositados pelas fêmeas varia de 15 a 30, apresentando uma média de 20 ovos (VELTHUIS *et al.*, 1965; WYLIE, 1965, 1973; BARBOSA *et al.*, 2010 b; MELLO *et al.*, 2009, 2010 b). Em condições não ideais, a taxa de oviposição sofre uma redução, e para isto deve haver um mecanismo de reconhecimento da qualidade do hospedeiro pelas fêmeas parasitóides. Muitos estudos foram desenvolvidos para investigar a capacidade de selecionar e discriminar hospedeiros em *N. vitripennis* (WYLIE, 1965; KING & RAFAI, 1970). Este fenômeno deve conferir vantagens significativas para as fêmeas, já que elas evitam gastos energéticos e investimento reprodutivo desnecessários em hospedeiros de baixa qualidade (BRODEUR & BOIVIN, 2004).

Algumas espécies de parasitóides podem detectar a presença de ovos depositados por outros membros da sua própria espécie nos hospedeiros (KING & RAFAI, 1970). No entanto, muitas espécies são incapazes de detectar a presença de estágios de desenvolvimento iniciais (ovos) detectando apenas os estágios mais avançados e dentro deste grupo enquadram-se *N. vitripennis* (KING & RAFAI, 1970). *Nasonia vitripennis* é somente capaz de reconhecer um hospedeiro parasitado após, aproximadamente dois dias, contados a partir da primeira oviposição, ou seja, quando as larvas encontram-se no 2º instar (KING & RAFAI, 1970). O superparasitismo (sucessivas oviposições por diferentes membros da mesma espécie em um mesmo hospedeiro), portanto, ocorre normalmente nas primeiras 60h do hospedeiro já parasitado, pois as fêmeas não conseguem discriminá-lo dentro deste período. Isto pode trazer consequências desastrosas para a prole, pois os recursos tornam-se escassos. Quando a prole sobrevive, pode ocorrer um desvio da razão sexual voltado para machos, já que eles necessitam de uma quantidade inferior de recursos (WYLIE, 1965; MELLO *et al.*, 2009, MELLO *et al.*, 2010 b).

Nasonia vitripennis possui partenogênese arrenótoca, ou seja, a determinação sexual da progênie é realizada pelo sistema haplodiplóide, com ovos fertilizados originando fêmeas e ovos não fertilizados originando machos. Porém, em estudo recente, foi observado que algumas fêmeas podem, também, apresentar genótipos haplóides, no entanto esta ocorrência leva a uma redução da qualidade sexual, tanto relativa à sua fecundidade, quanto a sua fertilidade, quando comparadas às fêmeas diplóides (BEUKEBOOM *et al.*, 2007). Por estas razões e por questões adaptativas, é mais provável o encontro de fêmeas diplóides na natureza.

O controle da razão sexual em *N. vitripennis* tem sido amplamente investigado. Sabe-se que as fêmeas são responsáveis pela taxa de fertilização de seus ovos e a sua variabilidade pode estar relacionada a diversos fatores ambientais, entre eles, flutuações de temperatura, fotoperíodo, umidade relativa, como também, relacionados à idade das fêmeas parasitóides, qualidade e tamanho do hospedeiro e níveis de competição (KING, 1987).

As fêmeas, em geral, investem em uma maior proporção de machos na prole, somente quando estão sob condições adversas, como por exemplo, disponibilidade de hospedeiros reduzidos ou já parasitados (KING & HOPKINS, 1963; MELLO *et al.*, 2009, 2010 b) e quando disputam com outras fêmeas no local de cópula (MELLO *et al.*, 2009), teoria chamada de *Local mate competition* (LMC) proposta por HAMILTON (1967). Quando a situação é inversa, ou seja, quando não há disputas pelo hospedeiro com outras fêmeas, a razão sexual é sempre direcionada para um maior número de fêmeas. A "LMC" pode ser formalizada pela seguinte fórmula que leva em consideração a proporção de machos: $r = (N-1) / 2N$, onde N= número de fêmeas que ovipõem no pupário (REECE *et al.*, 2004).

Estes microhimenópteros ao parasitarem seus hospedeiros liberam toxinas que os paralizam e os matam imediatamente, sendo denominados de parasitóides idiobiontes (BRODEUR & BOIVIN, 2004). A atividade parasitária é uma interação complexa e o seu sucesso depende de algumas ações, principalmente das fêmeas parasitóides, como a localização, avaliação e regulação fisiológica do hospedeiro (BRODEUR & BOIVIN, 2004). Este processo, além de envolver estímulos sensoriais (e.g. olfato, visão, audição), envolve também, estímulos táteis e químicos (e.g. domínio do hospedeiro, alimentação de seus fluidos e comportamento de oviposição) (HASSEL, 1978). O encontro e a seleção dos hospedeiros ocorrem em curta escala de tempo, frações de minutos, e requer observação direta do comportamento forrageador das fêmeas.

Devido às características comportamentais, tróficas e reprodutivas de *N. vitripennis*, esta espécie é considerada um excelente agente controlador (BARBOSA *et al.*, 2008). Além de desempenharem esta função, os parasitóides, também, são ártropodes de importância forense, pois interrompem o ciclo de desenvolvimento das principais espécies de dípteros necrófagos.

2 - OBJETIVOS

O presente estudo foi dividido em quatro capítulos. Os dois primeiros buscou-se avaliar os efeitos de diferentes fotoperíodos (L0:E24, L12:E12, L16:E8, L24:E0) sobre o peso larval, desenvolvimento pós-embriônico e viabilidade das diferentes fases de desenvolvimento de *Chrysomya megacephala* e *Chrysomya albiceps*.

Especificamente pretendeu-se responder às seguintes questões nos dois primeiros capítulos:

- 1) Há diferença do peso das larvas maduras entre os diferentes fotoperíodos?
- 2) Há diferença no tempo de desenvolvimento dos diferentes estágios de *C. albiceps* e *C. megacephala* (larval, pupal, neolarva a adulto) entre os diferentes fotoperíodos?
- 3) Como ocorre o ritmo de emergência em *C. albiceps* e *C. megacephala* nos diferentes fotoperíodos?
- 4) A taxa de emergência dos adultos (viabilidade de neolarva a adulto) de *C. albiceps* e *C. megacephala* varia entre os diferentes fotoperíodos?

O terceiro capítulo teve como objetivo avaliar a capacidade exploratória e parasitária de fêmeas de *Nasonia vitripennis* em pupas de *Chrysomya megacephala* enterradas sob vermiculita em diferentes profundidades, que variou de 0,0 a 5,0cm em intervalos de 0,5cm, as quais foram expostas aos parasitóides por dois diferentes períodos, 48h e 72h. Especificamente se pretendeu responder as seguintes questões:

- 1) Há variabilidade no tamanho da prole (número de parasitóides) de *N. vitripennis* entre os hospedeiros enterrados em diferentes profundidades?
- 2) Pupas de *C. megacephala* enterradas em diferentes profundidades influenciarão a razão sexual dos parasitóides?
- 3) Há variabilidade nas taxas de parasitismo de *N. vitripennis* nas diferentes profundidades de enterramento das pupas?
- 4) A taxa de parasitismo de *N. vitripennis* é influenciada pelos diferentes tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide?

O quarto capítulo teve como objetivo avaliar os efeitos na progênie de *Nasonia vitripennis* quando esta espécie parasita pupas previamente tratadas com compostos secundários de plantas, bem como analisar, isoladamente, o efeito destes compostos sobre o desenvolvimento do hospedeiro. Para o modelo experimental foi utilizado como espécie parasitóide *N. vitripennis*; como espécie hospedeira *C. putoria* e como composto secundário da planta a fração metanólica do látex de *Parahancornia amapa*, apresentando como principal constituinte o cornosídeo. Pretendeu-se responder as seguintes questões:

- 1) A aplicação de cornosídeo em neolarvas altera o peso das larvas maduras de *C. putoria*?
- 2) Há alguma alteração no tempo de desenvolvimento dos diferentes estágios de *C. putoria* quando neolarvas recebem tratamento tópico de cornosídeo?
- 3) A viabilidade do período de neolarva-adulto de *C. putoria* é reduzida quando as neolarvas recebem tratamento tópico de cornosídeo?
- 4) Há variabilidade no tamanho da prole dos parasitóides (número de parasitóides: fêmeas, machos) quando parasitam pupas de *C. putoria* tratadas topicamente com cornosídeo?
- 5) Há alteração na razão sexual na prole dos parasitóides quando parasitam pupas de *C. putoria* previamente tratadas com cornosídeo?
- 6) Há alguma alteração no tempo de desenvolvimento dos parasitóides quando parasitam pupas de *C. putoria* previamente tratadas com cornosídeo?
- 7) Há alguma alteração na viabilidade dos parasitóides quando parasitam pupas de *C. putoria* previamente tratadas com cornosídeo?
- 8) Existe algum processo de discriminação de pupas de *C. putoria* previamente tratadas com cornosídeo pelas fêmeas parasitóides?

3 - ÁREA DE ESTUDO

O estudo consistiu de três etapas: 1) Coleta do látex de *P. amapa*; 2) Coleta dos dípteros muscóides: *C. megacephala*, *C. putoria* e *C. albiceps* e parasitóides: *N. vitripennis*; 3) Testes laboratoriais no Laboratório de Transmissores de Leishmanioses - Setor de Entomologia Médica e Forense, Pavilhão Herman Lent, Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ/IOC), Rio de Janeiro, RJ.

O látex de *P. amapa* foi coletado em Macapá a partir de um espécime identificado por Benedito Vitor Rabelo e depositado sob o número 07231, no Herbário Amapaense (HAMAB)

da divisão de Botânica do Museu Ângelo Moreira da Costa Lima, Instituto de Estudos e Pesquisas do Amapá (IEPA), Macapá, AP, Brasil.

As armadilhas para coleta dos insetos foram inseridas em três áreas dentro do campus da Fundação Oswaldo Cruz (22°52'33''S 43°14'47''O, 22°52'21''S 43°14'49''O; 22°52''S 43°14''O). Todos os pontos de coletas eram caracterizados por um elevado grau de perturbação antrópica com vegetações do tipo *Eugenia jambolana* (Jamelão), *Panicum maximum* (Capim-colonião), *Caesalpinia ferrea* (Pau-ferro) e *Lecythis* sp. (Sapucaia).

4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMENDT, J.; CAMPOBASSO C.; GAUDRY E; REITER C.; LEBLANE H. & HALL M. Best practice in forensic entomology - standards and guidelines. *International Journal of Legal Medicine*, v. 121, p. 90-104, 2007.

BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; AGUIAR COELHO, V. M. Desenvolvimento de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (Diptera: Calliphoridae), utilizando diferentes densidades do parasitóide. *Biota Neotropica*, v. 8, n. 1, p. 49-54, 2008.

BARBOSA, R. R.; MELLO-PATIU, C. A.; URURAHY-RODRIGUES, A.; BARBOSA, C. G.; QUEIROZ, M. M. C. Temporal distribution of ten calyprate dipteran species of medicolegal importance in Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.10, n.2, p. 191-198, 2010 a.

BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; AGUIAR COELHO, V. M. Desempenho do parasitóide *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera, Pteromalidae) utilizando como hospedeiro *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae), sob diferentes tempos de exposição. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 54, n. 1, p. 125–129, 2010 b.

BAUMHOVER, A. H. Erradication of the screwworm fly an agent of myiasis. *Journal of the American Association*, v. 196, n. 3, p. 240-248, 1966.

BERKEBILE, D. R.; SAGEL, A.; SKODA, S. R.; FOSTER, J. E. Laboratory environment effects on the reproduction and mortality of adult screwworm (Diptera: Calliphoridae) *Neotropical Entomology*, v. 35, n. 6, p. 781-786, 2006.

BEUKEBOOM, L. W.; KAMPING, A.; LOUTER M.; PIJNACKER, L. P.; KATJU V.; FERREE, P. M.; WERREN, J. H. Haplid females in the parasitic wasp *Nasonia vitripennis*. *Science*, v. 315, p. 206, 2007.

- BORROR, D. C.; TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. F. *An introduction to the study of insects*. 6th ed. Saunders College Publishing, Philadelphia, 875 pp., 1989.
- BRODEUR, J. & BOIVIN, G. Functional ecology of immature parasitoids. *Annual Review of Entomology*, v.49: p. 27-49, 2004.
- BRUSCA, R. C.; BRUSCA, G. J. *Invertebrates*. Sinauer, Sunderland, MA. 936p., 2003.
- BYRD, J. H. & BUTLER, J. F. Effects of temperature on *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) development. *Journal of Medical Entomology*, v. 33, n. 6, p. 901-905, 1996.
- BYRD, J. H. & BUTLER, J. F. Effects of Temperature on *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae) Development. *Journal of Medical Entomology*, v. 34, n. 3, p. 353-357, 1997.
- CABRAL, M. M. O., MENDONÇA, P. M., GOMES, C. M. S., BARBOSA-FILHO, J. M., QUEIROZ, M. M. C., MELLO, R. P. Biological activity of neolignans on the post-embryonic development of *Chrysomya megacephala*. *Fitoterapia*, v.78, p. 20–24, 2007 a.
- CABRAL, M. M. O., MENDONÇA, P. M., GOMES, C. M. S., BARBOSA-FILHO, J. M., DIAS, C. S., SOARES, M. J., QUEIROZ, M. M. C. Biological activity of yangambin on the post embryonic development of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, v.44, p. 225–249, 2007 b.
- CARDOSO, D. & MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. Aspectos da biologia de *Nasonia vitripennis* (Walker), (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) e *C. albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) sob condições de laboratório. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 40, n. 2, p. 143-146, 1996.
- CARVALHO, L. M. L. & LINHARES, A. X. Seasonality of insect succession and pig carcass decomposition in a natural forest area in southeastern Brazil. *Forensic Science*; v. 46, n. 3, p. 604–608, 2001.
- CARVALHO, L. M. L.; TYSSSEN, P. J.; LINHARES, A. X.; PALHARES, F. A. B. A Checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in southeastern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.*, v. 95, n.1, p. 135-138, 2000.
- CARVALHO, A. R.; MELLO, R. P.; d' ALMEIDA, J. M.. Microhimenópteros parasitóides de *Chrysomya megacephala*. *Revista de Saúde Pública*, v. 37, n. 6, p. 810-812, 2003.
- CARVALHO, A. R.; d'ALMEIDA, J. M.; MELLO, R. P. Dinâmica populacional e parasitismo de himenópteros parasitóides de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae), no Rio de Janeiro, RJ. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 49, n. 1, p. 118-122, 2005.

- CATTS, E. P. & GOFF, M. L. Forensic entomology in criminal investigations. *Annual Review of Entomology*, v. 37, p. 252-272, 1992.
- CHABORA, P. C. & PIMENTAL, D. Effect of host (*Musca domestica* Linnaeus) age on the pteromalid parasite *Nasonia vitripennis* (Walker). *Canadian Entomologist*, v. 98, p. 1226-1231, 1966.
- COSTA, P. R. P.; WIEGAND, M. M.; BRUM, J. G. W.; RIBEIRO, P. B. Flutuação populacional das espécies de *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) no Município de Capão do Leão, RS / Population variance of *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) species. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 44, n. 4, p.289-96, 1992.
- DE-CARVALHO, R. R.; MALDONADO JR., A.; OLIVEIRA-FILHO, E. C.; RIBEIRO, A. C.; PAUMGARTTEN, F. J. R.; REY, L. Effects of *Euphorbia milii* latex on *Schistosoma mansoni* eggs, Miracidia and Cercariae. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 93, p. 235–237, 1998.
- EL-SHAZLY, M.M.; NASSAR, M.I. & EL-SHERIEF, H.A. Toxic effect of ethanolic extract of *Nerium oleander* (Apocynaceae) leaves against different developmental stages of *Muscina stabulans* (Diptera-Muscidae). *Journal of Egyptian Society of Parasitology*, v. 26, p. 461-473, 1996.
- EIZEMBERG, R., SABAGH, L. T.; MELLO, R. S. First record of myiasis in *Aplastodiscus arildae* (Anura: Hylidae) by *Notochaeta bufonivora* (Diptera: Sarcophagidae) in the Neotropical area. *Parasitology Research*, v. 102, p. 329-331, 2008.
- FEINSTEIN, L. *Insecticides from plants*. In: *Insects: The Year Book of Agriculture*. U.S.D.A, Washington, DC, 229 pp., 1952.
- FERRAZ, A. C. P.; NUNES, R. V.; GADELHA, B. Q.; NASCIMENTO, B. P.; MEIRELLES, P. R. E.; AGUIAR-COELHO, V. M.; LESSA, C. S. S. Raro caso de míiase por *Cochliomyia hominivorax* e *Dermatobia hominis* em paciente humano. *Arquivos de Ciências de Saúde (FAMERP)*, v. 15, p. 38-40, 2008.
- FERRAZ, A. C. P.; PROENÇA, B.; GADELHA, B. Q.; FARIA, L. M.; BARBALHO, M. G. M.; AGUIAR-COELHO, V. M.; LESSA, C. S. S. First Record of human myiasis caused by association of the species (Diptera: Calliphoridae), (Diptera: Sarcophagidae) and (Diptera: Muscidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 47, p. 487-490, 2010.
- FERRAZ, A. C. P.; ALMEIDA, V. R. G.; JESUS, D. M.; NUNES, R. V.; NASCIMENTO, B. P.; AGUIAR-COELHO, V. M.; LESSA, C. S. S. Epidemiological study of myiasis in

- hospital of Andaraí, Rio de Janeiro, with occurrence of an exotic etiological agent. *Neotropical Entomological* (Impresso), v. 40, p. 393-397, 2011.
- FERREIRA M. J. M.; SANTOS B. B.; CUNHA H. F. Flutuação populacional de espécies de *Chrysomya* Robineau-Desvoidy (Diptera, Calliphoridae) em pomar de Goiânia, Goiás, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 12, n.3, p. 557-562, 1995.
- FRASER, A. & SMITH W. F. Diapause in larvae of green blowflies (Diptera: Cyclorrhapha: *Lucilia* spp.). *Proceedings of the Royal Entomological Society of London*, v. 38, p. 90-97, 1963.
- FURLANETTO, S. M. P.; CAMPOS, M. L. C.; HÁRSI, C. M.; BURALLI, G. M. & ISHIHATA, G. K. Microorganismos enteropatogênicos em moscas africanas pertencentes ao gênero *Chrysomya* (Diptera, Calliphoridae) no Brasil. *Revista de Microbiologia*, v. 15, p. 170–174, 1984.
- GARCIA, E. S. & AZAMBUJA, P. Lignoids in insects: chemical probes for the study of ecdysis, excretion and *Trypanosoma cruzi*–Triatomine interactions. *Toxicon*, v. 44, p. 431–440, 2004.
- GOFF, M. L. *A fly for prosecution*, Harvard University Press, London, Cambridge, 2000.
- GOMES, H. *Medicina Legal*. 21 ed. Rio de Janeiro. Freitas Bastos, 1997.
- GOMES, C. M. S., D'ALMEIDA, J. M., SANTOS, J. A. A. Avaliação do efeito do látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii* (N.E.B.) (Euphorbiaceae), no desenvolvimento pós-embrionário de *Peckya chrysostoma* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Sarcophagidae), em condições de laboratório. *Entomologia y Vectores*, v.10, p.109–120, 2003.
- GOMES, L.; GOMES, G.; OLIVEIRA H. G., SANCHES M. R.; VON ZUBEN, C. J. Influence of photoperiod on body weight and depth of burrowing in larvae of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae) and implications for forensic entomology. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 50, n. 1, p. 76-79, 2006.
- GOMES, L.; GOMES, G.; DESUÓ, I. C. A. Preliminary study of insect fauna on pig carcasses located in sugarcane in winter in southeastern Brazil. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 23, n. 2, p. 155-159, 2009.
- GRASSBERGER, M. & REITER, C. Effect of temperature on *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) development with special reference to the isomegalen- and isomorphen-diagram. *Forensic Science International*, v. 120, p. 32–36, 2001.

- GREENBERG, B. Nocturnal oviposition behavior of blowflies (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, v. 27, p. 807-810, 1990.
- GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA-BORJA, G. E.; PEREIRA, J. B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *Hora veterinária*, v. 21, n. 5, p. 8-10, 2002.
- GUIMARÃES J. H. & PAPAVERO, N. *Myiasis caused by facultative parasites*. In: Myiasis in man and animals in the Neotropical Region. Bibliographic database. São Paulo, SP: Plêiade, 35p., 1999.
- GUIMARÃES, J. H.; PRADO, A. P.; LINHARES, A. X. Three newly introduced blowfly species in Southern Brazil (Diptera: Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 22, p. 53-60, 1978.
- GULLAN, P. J. & GRANSTON, P. S. *Os insetos: um resumo de entomologia*. 3° ed., São Paulo: Roca, 2007.
- HALL R. D. Medicocriminal entomology. In: Catts EP, Haskell NH (eds) Entomology and death. *Forensic Entomology Associates*, p. 1-8, 1990.
- HALL, R. D. Introduction: Perceptions and Status of Forensic Entomology. *Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations*. J. H. Byrd and J. L. Castner. Boca Raton, CRC Press: 1-15, 2001.
- HAMILTON, W. D. Extraordinary sex ratios. *Science*, v. 156, p. 477-488, 1967.
- HASSEL, M. P. *The dynamics of arthropod predator-prey systems*. Princeton University Press, Princeton, 1978.
- IMBIRIBA, A. S.; IZUTANI, D. T.; MILHORETO, I. T. Introdução de *Chrysomya chloropyga* (Wiedemann, 1818) na Região Neotropical (Diptera, Calliphoridae). *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, v. 20, p. 35-39, 1977.
- KING, B. H. Offspring sex ratios in parasitoid wasps. *The Quarterly Review of Biology*, v. 2, n. 4, p. 362-396, 1987.
- KING, B. H. Sex-ratios of the wasp *Nasonia vitripennis* from self versus conspecifically-parasitized hosts: local mate competition versus host quality models. *Journal of Evolutionary Biology*, v. 5, p. 445-455, 1992.
- KING, P. E. & HOPKINS, C. R. Length of life of the sexes in *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera, Pteromalidae) under conditions of starvation. *Journal of Experimental Biology*, v. 40, p. 751-161, 1963.

- KING, P. E. & RAFAI, J. Host discrimination in a gregarious parasitoid *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Experimental Biology*, v. 53, p. 245-254, 1970.
- LEGNER, E. F. & BRYDON, H. W. Suppression of dung-inhabiting fly populations by pupal parasites. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 59, p. 638-651, 1966.
- LEGNER, E. F. & G. S. OLTON. Worldwide survey and comparison of adult predator and scavenger insect populations associated with domestic animal manure where livestock is artificially congregated. *Hilgardia*, v. 9, p. 225-266, 1970.
- Mac ALPINE, J. F. *et al.* (Coord.) Manual of Nearctic Diptera v. 1. *Research Branch Agriculture Canada Monograph*, v. 27, 74p., 1981.
- MADEIRA, N. G. & NEVES, D. P. Encontro de microhimenópteros *Spalangia endius* e *Nasonia vitripennis* (Pteromalidae) em pupas de Calliphoridae (Diptera) em Belo Horizonte (MG), p. 338-339. In: Resumos Congresso Brasileiro de Zoologia, 12, Campinas, 575p. 1985.
- McWATTERS, H. G. & SAUNDERS, D. S. Maternal temperature has different effects on the photoperiodic response and duration of larval diapause in blowfly (*Calliphora vicina*) strains collected at two latitudes. *Physiological Entomology*, v. 23, p. 369-375, 1998.
- MARCHIORI, C. H. & LINHARES, A. X. Constância, dominância e frequência mensal de dípteros muscóides e seus parasitóides (Hymenoptera e Coleoptera), associados a fezes frescas de bovinos em Uberlândia, MG. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 28, p. 375-387, 1999.
- MARCHIORI, C. H., CASTRO, M. E. V., PAIVA, T. C. G., TEIXEIRA, F. F., SILVA, C. G. Dípteros muscóides de importância médica e veterinária e seus parasitóides em Goiás. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.52, n. 4, p. 350-353, 2000 a.
- MARCHIORI, C. H. & LINHARES, A. X. Pteromalidae (Hymenoptera) como agentes potenciais no controle biológico de Diptera associados a fezes bovinas, matéria orgânica animal e frutas. *Brazilian Journal of Ecology*, v., n. 1, 2, p. 36-41, 2000 b.
- MARCHIORI, C. H. Moscas sinantrópicas de importância médica e seus parasitóides coletados em Itumbiara, Estado de Goiás. 2001. *Revista de Patologia Tropical*, v. 30, n. 1, p. 75-81, 2001.
- MARCHIORI, C. H.; PEREIRA, L. A.; SILVA-FILHO, O. M.; RIBEIRO, L. C. S.; BORGES, V. R. Parasitóides de dípteros sinantrópicos coletados em diferentes substratos em Itumbiara, sul de Goiás, Brasil. *Entomologia y Vectores*, n. 9, v. 4, p. 467-476, 2002.

- MARCHIORI, C. H. *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) parasitóide de dípteros muscóides coletado em Itumbiara, Goiás. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 56, n.3, p.422-424, 2004.
- MARICONI, F. A. M., 1980. *Inseticidas e seu Emprego no Combate às Pragas*. São Paulo: Editora Agronômica Ceres.
- MATHEW, N.; ANITHA, M. G.; BALA, T. S. L.; SIVAKUMAR, S. M.; NARMADHA, R.; KALYANASUNDARUM, M. Larvicidal activity of *Saraca indica*, *Nystanthes arbor-tristis* and *Clitoria ternatea* against three mosquito vector species. *Parasitology Research*, v. 104, p. 1017–1025, 2009.
- MELLO, R. S; QUEIROZ, M. M. C; AGUIAR-COELHO, V. M. Population fluctuations of calliphorid species (Diptera, Calliphoridae) in the Biological Reserve of Tinguá, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Iheringia*, v. 97, n. 4, p. 81-485, 2007.
- MELLO, R. S. & AGUIAR-COELHO, V. M. Duration of post-embryonic development period of *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) under laboratory conditions: implications for forensic entomology. *Parasitology Research*, v. 104, p. 411-418, 2009.
- MELLO, R. S; MOYA-BORJA, G. E.; AGUIAR-COELHO, V. M. Exposure of a single host (*Chrysomya megacephala*) (Calliphoridae) to different quantities of female parasitoids (*Nasonia vitripennis*) (Pteromalidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 53, n. 4, p. 672–678, 2009.
- MELLO, R. S; FERREIRA, A. R. S.; QUEIROZ, M. M. C. Bioactivity of latex from *Euphorbia splendens* var. *hislopii* (Euphorbiaceae) on post-embryonic development of *Megaselia scalaris* (Phoridae). *Veterinary Parasitology*, v. 172, n. 1 e 2, p. 100-104, 2010 a.
- MELLO, R. S; MOYA-BORJA, G. E.; AGUIAR-COELHO, V.M. Effects on Microhymenopteran Progeny of Different Host Exposure Periods (*Chrysomya megacephala*, Calliphoridae) to the Parasitoid Wasp *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 53, n. 1: p.77-85, 2010 b.
- MENDONÇA, P. M.; LIMA, M. G.; ALBUQUERQUE, L. R. M.; CARVALHO, M. G.; QUEIROZ, M. M. C. Effects of latex from “Amapazeiro” *Parahancornia amapa* (Apocynaceae) on blowfly *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) post-embryonic development. *Veterinary Parasitology*, v. 178, p. 379–382, 2011.

MONTELES, R. & PINHEIRO, C. U. B. Plantas medicinais em um quilombo maranhense: uma perspectiva etnobotânica. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, v.7, p.38-48, 2007.

MORGAN, P. B.; PATTERSON, R. S.; LA BRECQUE, G. C.; WEIDHAAS, D. E.; BENTON, A. Suppression of a field population of houseflies with *Spalangia endius*. *Science*, v. 189, p. 388-389, 1975.

MORGAN, P. B.; WEIDHAAS, D. E.; PATTERSON, R. S. Programmed releases of *Spalangia endius* and *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera: Pteromalidae) against estimated populations of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Journal of Medical Entomological*, v. 18, p. 158-166, 1981.

MORIBAYASHI, A.; HAYASHI, T.; TAYLOR, D.; KURAHASHI, H.; KOBAYASHI, M. Different responses to photoperiod in non-diapausing colonies of the flesh fly, *Boettcherisca peregrine*. *Physiological Entomology*, v. 33, p. 31-36, 2008.

MOURA, M. O.; CARVALHO, C. J. B.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. A Preliminary Analysis of Insects of Medico-legal Importance in Curitiba, State of Paraná. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 92, n. 2, p. 269-274, 1997.

MOYA-BORJA, G. E. Erradicação ou manejo integrado das miíases neotropicais das Américas? *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 23, n.3, p. 131-137, 2003.

NABITY, P. D.; HIGLEY, L. G.; HENG-MOSS, T. M. Light-Induced Variability in development of Forensically Important Blow Fly *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, v. 44, n. 2, p. 351-358, 2007.

NUORTEVA, P. *Sarcosaprophagus insects as forensic indicators*, vol. II. In: Forensic Medicine: A study of trauma and environmental hazards. Saunders, Philadelphia: By. TEDESCHI, C. G; ECKERT, W. G; TEDESCHI, G., p. 1072- 1095, 1977.

OLIVEIRA, V. C.; D'ALMEIDA, J. M.; ABALEM DE SÁ, I. V.; MANDARINO, J. R.; SOLARI, C. A. Enterobactérias associadas a adultos de *Musca domestica* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) e *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1754) (Diptera: Calliphoridae) no Jardim Zoológico, Rio de Janeiro. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 58, n.4 p. 556-561, 2006.

OLIVEIRA-COSTA, J. *Entomologia Forense - Quando insetos são vestígios*. 2. ed., Rio de Janeiro, RJ: Millennium, 448p., 2007.

- OLIVEIRA T. C. & VASCONCELOS, S. D. Insects (Diptera) associated with cadavers at the Institute of Legal Medicine in Pernambuco, Brazil: Implications for forensic entomology. *Forensic Science International*, v. 198, n. 1, p. 97-102, 2010.
- PARALUPPI, N. D. & CASTELLÓN, E. G. Calliphoridae (Diptera) em Manaus: I levantamento taxonômico e sazonalidade. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 38, p. 661-668, 1994.
- PARALUPPI, N. D.; VASCONCELOS, J. C.; AQUINO, J. S.; CASTELLÓN, E. G.; SILVA, M. S. B. Calliphoridae (Diptera) em Manaus: IV. Bacteria isolated from blowflies collected in street markets. *Acta Amazonica*, v. 26, n. 1-2, p. 93-96, 1996.
- PETERSEN, J. J. & PAWSON, B. M. Early season dispersal of *Muscidifurax zaraptor* (Hymenoptera: Pteromalidae) utilizing freeze-killed housefly pupae as hosts. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 2, p.137-140, 1988
- PIANKA, E. R. On r and k selection. *The American Naturalist*, v. 104, p. 592-597, 1970.
- PICKENS, L. G. & MILLER, R. W. Using frozen host pupae to increase in efficiency of parasite-release program. *Florida Entomologist*, v. 61, n.3, p. 153-158, 1978.
- QUEIROZ, M. M. C. Temperature requirements of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Diptera, Calliphoridae) under laboratory conditions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 91, n. 6, p. 785-788, 1996.
- REECE, S. E.; SHUKER, D. M.; PEN, I.; DUNCAN, A. B.; CHOUDHARY, A.; BATCHELOR, C. M.; WEST, S. A. Kin discrimination and sex ratios in a parasitoid wasp. *Journal of Evolutionary Biology*, v. 17, p. 208-216, 2004.
- ROBERTS, R. M.; NORTHOVER, J. M.; LEWIS, R. D. Circadian clock control of rhythm of the brown blowfly *Calliphora stygia* (Diptera: Calliphoridae). *New Zealand Entomologist*, v. 7, n. 4, p. 424-431, 1983.
- RING, R. A. Photoperiodic control of diapause induction in the larva of *Lucilia caesar* L. (Diptera: Calliphoridae). *The Journal of Experimental Biology*, v. 46, p. 117-122, 1967.
- RUEDA, L. M. & AXTELL, R. C. Guide to common species of pupal parasites (Hymenoptera: Pteromalidae) of the house fly and other muscoid flies associated with poultry and livestock manure. *North Carolina Agricultural Research Service Technical Bulletin*, p. 88, 1985.

- SAUNDERS, D. S. The circadian eclosion rhythm in *Sarcophaga argyrostoma*: Some comparisons with the photoperiodic clock. *Journal of Comparative Physiology*, v. 110, p. 11-133, 1976.
- SCHALL, V. T.; VASCONCELLOS, M. C.; SOUZA, C. P.; BAPTISTA, D. F. Themolluscicidal activity of crown of christ (*Euphorbia splendens* var. *hislopii*) latex on snails acting as intermediate hosts of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium*. *The American Journal of Tropical and Medicine and Hygiene*, v. 58, p. 7-10, 1998.
- SERENO, F. T. P. S. & NEVES, D. P. 1992. Ocorrência natural de microhimenópteros parasitoides de pupas de moscas em aviário. *Anais da Sociedade Entomológica*, v. 22, n.3, p. 527- 531, 1993.
- SINGH, D. & BHARTI, M. Further observations on the nocturnal oviposition behaviour of blowflies (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Science*, v. 120, p. 124-126, 2001.
- SILVA, I. C. R.; GODOY, W. A. C.; VON ZUBEN, C. J.; MANCERA, P. F. A. Populations dynamic of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) at different temperature. *African Entomology*, v. 12, n. 2, p. 157-163, 2004.
- SMITH, K. G. V. A manual of forensic entomology. British Museum (Natural History), London & Cornell University Press, Ithaca, NY, 1986.
- SNOW, J. W.; WHITTEN, C. J.; SALINAS, A.; FERRER, J.; SUDLOW, W. H. The screwworm, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae), in Central America and proposed plans for its eradication South to the darien gap in Panama. *Journal of Medical Entomology*, v. 22, n. 4, p. 353-360, 1985.
- SOBRINHO, D. C.; HAUPTLI, M. B.; APPOLINÁRIO, E. V.; KOLLENZ, C. L. M.; CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO, R. Triterpenoids isolated from *Parahancornia amapa*. *Journal of Brazilian Chemical Society*, v. 2, p. 15-20, 1991.
- SOUZA, A. M. & LINHARES, A. X. Diptera and Coleoptera of potential forensic importance in southeastern Brazil: relative abundance and seasonality. *Medical and Veterinay Entomology*, v.11, n. 1, p. 8-12, 1997.
- SPENCER, J. *The nocturnal oviposition behavior of blowflies in the Southwest of Britain during months of august and September*. M.S./PGDip, Bournemouth University Poole, Dorset. United Kingdom, 2002.

- STOKA, A. *Ecdysteroids, juvenile hormones and metamorphosis in triatominae*. In: BRENER, R. R. & STOKA, A.M. (Eds.), *Chagas' Disease Vectors* (Anatomic and Physiological Aspects), v. 2, p. 71–99, 1987.
- SUKONTASON, K.; BUNCHOO, M.; KHANTAWA, B.; PIANGJAI, S.; SUKONTASON, K.; METHANITIKORN, R.; RONGSRIYAM, Y. Mechanical carrier of bacterial enteric pathogens by *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) in Chiang Mai, Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health*, v. 31 (Suppl. 1): p.157-61, 2000.
- TACHIBANA, S.-I. & NUMATA, H. Effects temperature and photoperiod on the termination of larval diapause in *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Zoological Science*, v. 21, p. 197-202, 2004 a.
- TACHIBANA, S.-I. & NUMATA, H. Maternal induction of larval diapause and its sensitive stage in the blowfly *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae). *Entomological Science*, v. 7, p. 231-235, 2004 b.
- TAKEDA, M. Photoperiodic time measurement and related physiological mechanisms in insects and mites. *Annual Review Entomology*, v. 42, p. 323–49, 1997.
- TANAKA, M.; TACHIBANA, S.-I.; NUMATA, H. Sensitive stages photoperiodic induction of pupal diapause in the flesh fly *Sarcophaga similis* (Meade) (Diptera: Sarcophagidae). *Applied Entomology and Zoology*, v. 43, n. 3, p. 403-407, 2008.
- TESSMER, J. W.; MEEK, C. L.; WRIGHT, V. L. Circadian patterns of oviposition by necrophilous flies (Diptera: Calliphoridae) in Southern Louisiana. *Southwestern Entomology*, v. 20, p. 439-445, 1995.
- TURCHETTO, M. & VANIN, S. Forensic Entomology and Climatic change. *Forensic Science International*, v. 146, p. 207-209, 2004.
- VASCONCELLOS, M. C. & AMORIM, A. Activity of *Euphorbia splendens* var. *hislopii* N.E.B. (Euphorbiaceae) latex against *Lymnaea columella* (say, 1817) (Pulmonata: Lymnaeidae), intermediate host of *Fasciola hepatica*, Linnaeus, 1758 (Trematoda: Fasciolidae). 2: limited field-testing. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 98, p. 981–985, 2003.
- VELTHUIS, H. H. W.; VELTHUIS-KLUPPELL, F. M.; BOSSINK, G. A. H. Some aspects of the biology and population dynamics of *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Entomologia Experimentalis et applicata*, v 8, p. 205-227, 1965.

- VIANNA, E. E. S.; COSTA, P. R. P.; FERNANDES, A. L.; RIBEIRO, P. B. Abundância e flutuação populacional das espécies de *Chrysomya* (Diptera, Calliphoridae) em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia*, v. 94, n. 3, p. 231-234, 2004.
- WYLIE, H. G. An effect of host age on female longevity and fecundity in *Nasonia vitripennis* Walk. (Hymenoptera: Pteromalidae). *The Canadian Entomologist*, v. 94, p. 900-993, 1962.
- WYLIE, H. G. Some effects of host age on parasitism by *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hym.: Pteromalidae). *The Canadian Entomologist*, v. 95, p. 881-886, 1963.
- WYLIE, H. G. Effect of host age on rate of development of *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hym.: Pteromalidae). *The Canadian Entomologist*, v. 96, p. 1023-1027, 1964.
- WYLIE, H. G. Discrimination between parasitized and unparasitized house fly pupae by females of *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hymenoptera: Pteromalidae). *The Canadian Entomologist*, v. 97, p. 279-286, 1965.
- WYLIE, H. G. Control of egg fertilization by *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae) when laying on parasitized house fly pupae. *The Canadian Entomologist*, v. 105, p. 709-718, 1973.
- WHITING, A. R. The biology of the parasitic wasp *Mormoniella vitripennis* (*Nasonia vitripennis*) (Walker). *The Quarterly Review of Biology*, v. 42, p.333– 406, 1967.
- ZANI, C. L.; MARSTON, A.; HAMBURGER, M.; HOSTETTMANN, K. Moluscicidal milliamines from *Euphorbia milii* var. *hislopii*. *Phytochemistry*, v. 34, p. 89-95, 1993.
- ZUCCHI, R. A.; SILVEIRA-NETO, S.; NAKANO, O. *Guia de identificação de pragas agrícolas*. Piracicaba, SP: ESALQ, 139p., 1993.
- ZUMPT, F. *Myiasis in man and animals in the Old World*. Butterworths, London, 1965.

CAPÍTULO I

COMO O FOTOPERÍODO AFETA O DESENVOLVIMENTO PÓS- EMBRIONÁRIO DE ESPÉCIES DE IMPORTÂNCIA FORENSE: *Chrysomya albiceps* (CALLIPHORIDAE)?

Publicado no periódico Parasitology Research

DOI: 10.1007/s00436-012-2933-7

1 - RESUMO

O objetivo deste estudo foi verificar a influência de diferentes fotoperíodos sobre o peso larval, desenvolvimento pós-embrionário e viabilidade de *Chrysomya albiceps* (Calliphoridae). Os bioensaios foram realizados em câmaras climatizadas sob 27 ± 1 °C e $60 \pm 10\%$ de umidade relativa do ar e reguladas com três diferentes ciclos de luz (L=Luz, E=Escuro) por um período de 24h: L12:E12, L24:E0 e L0:E24. Neolarvas foram colocadas em um recipiente contendo carne bovina moída (50 neolarvas / réplica x 4 para cada fotoperíodo), perfazendo um total de 200 larvas por fotoperíodo e 600 larvas no experimento. Após o abandono espontâneo da dieta, as larvas maduras foram coletadas, pesadas individualmente em balança semi-analítica e separadas em tubos de ensaio, onde foi aguardada a emergência dos insetos. As larvas que não abandonaram espontaneamente a dieta não foram pesadas. As observações foram realizadas diariamente. As larvas provenientes do grupo com fotofase de 24h empuparam dentro da própria dieta e não a abandonaram espontaneamente, portanto seu peso não foi aferido, bem como não foi registrado o tempo de desenvolvimento larval e pupal, os quais foram excluídos da análise estatística. O peso larval não variou entre os grupos de 24h de escotofase e 12h de fotofase. O tempo de desenvolvimento larval e pupal variaram entre os grupos mantidos com 24h de escotofase e 12h de fotofase, sendo mais acelerado nas condições de escuro total para ambos os estágios de desenvolvimento. O tempo de desenvolvimento do período de neolarva a adulto foi registrado para todos os fotoperíodos e aumentou gradualmente à medida que aumentou o comprimento da fotofase. Houve uma tendência do aumento da viabilidade do período de neolarva a adulto com a redução da fotofase. Concluiu-se que o tempo de desenvolvimento de todos os estágios e a viabilidade de neolarva a adulto foi fortemente influenciados pelos fotoperíodos testados.

2 - ABSTRACT

The purpose of this study was to verify the influence of different photoperiods on larval body weight, post-embryonic development and viability of *Chrysomya albiceps*. The bioassays were performed in acclimatized chamber with $27 \pm 1^\circ\text{C}$ and $60 \pm 10\%$ relative humidity, regulated with three different light and dark cycle (LD cycle) for a period of 24 hours: L12:D12, L24:D0 and L0:D24. Four replications (containers) with 50 newly-hatched larvae reared on 50g of bovine ground meat were performed for each photoperiod, totaling 200 larvae for each photoperiod and 600 larvae totally. The newly-hatched larvae were collected individually, weighed in semi-analytical balance and separated in glass tubes until adult emergence. The observations were performed daily. The mature larvae from 24h of photophase did not abandon the diet and pupated inside, so they were not weighed and the larval and pupal developments were not registered. The mean of mature larval body weight did not vary between 24h of scotophase and 12h of photophase. The mean duration of larval and the pupal developmental time varied significantly when comparing 24h of scotophase and 12h of photophase, for the both stages the duration of developmental was faster in shorter day condition. The developmental time of neolarvae to adult was measured for all photoperiods and there was a gradually increased as the photophase increased. There was a trend to increase of viability with the reduction of the length of the photophase. It was concluded that the developmental time and the viability were strongly influenced by the length of photoperiods.

3 - INTRODUÇÃO

Chrysomya albiceps (Wiedemann, 1819) tem ampla distribuição por todo mundo, sendo comum e abundante nos continentes Africano, Americano (principalmente América do Sul e Central), Asiático desde a Índia até a China e sudeste Europeu (BAUMGARTNER & GREENBERG, 1984; HALL & SMITH, 1993). Esta espécie apresenta amplo espectro alimentar podendo se desenvolver em vários substratos variando desde matéria orgânica decomposta até tecidos vivos de animais podendo os utilizar como sítios de oviposição (QUEIROZ, 1996). Desta forma, apresentam considerável importância médica e sanitária, pois podem causar miíases facultativas nos animais, incluindo o homem (ZUMPT, 1965; GUIMARÃES *et al.*, 1979) e atuar como vetores mecânicos de enteropatógenos, tais como: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus* sp., *Providencia* sp., *Citrobacter* sp. e *Klebsiella* sp. (PARALUPPI *et al.*, 1996).

Esta espécie tem recebido destaque na entomologia forense, pois suas larvas estão frequentemente associadas a corpos em decomposição (OLIVEIRA-COSTA, 2007). *C. albiceps* já foi observada colonizando carcaças de animais praticamente em todas as regiões do Brasil (ANDRADE *et al.*, 2005; GOMES *et al.*, 2009; BARBOSA *et al.*, 2010; BIAVATI *et al.*, 2010; KRÜGER *et al.*, 2010). Recentemente foi também relatada como uma nova indicadora forense na Europa Central (GRASSBERGER & REITER, 2003).

Uma das principais contribuições da entomologia forense para as investigações criminais é a determinação dos intervalos de tempo específicos entre a descoberta do corpo e o período em que os insetos iniciaram a colonização destes corpos, chamado de intervalo pós-morte (IPM) (OLIVEIRA-COSTA, 2007). Para o seu cálculo é necessário o conhecimento detalhado da biologia das espécies necrófagas principalmente, relacionando o tempo de desenvolvimento dos insetos com os fatores ambientais, entre eles, as variações de temperatura, luminosidade, intensidade de chuvas e umidade relativa (DANKS, 1987; HODEK & HODKOVÁ 1988; NABITY *et al.* 2007) e também, com os fatores bióticos como presença de predadores e parasitóides (MELLO & AGUIAR-COELHO, 2009).

Muitos estudos têm investigado o comportamento dos califorídeos em resposta às variações de temperaturas (WALL *et al.*, 1992; MILWARD-DE-AZEVEDO *et al.*, 1996; QUEIROZ, 1996; BYRD & BUTLER, 1997; NABITY *et al.*, 2006; RICHARDS *et al.*, 2008; KRÜGER *et al.*, 2010), porém, existem poucas avaliações sobre os efeitos dos fotoperíodos, limitando-se os estudos às espécies de ocorrência principalmente de áreas temperadas, onde se

observa uma desaceleração do desenvolvimento relacionada à entrada da diapausa em condições de dias curtos e temperaturas baixas (TACHIBANA & HIDEHARU, 2004 a, b; NABITY *et al.*, 2007).

Em vista desta carência na literatura científica e para ampliar a aplicabilidade destes insetos nas investigações criminais, o presente trabalho se propôs a testar o efeito de diferentes fotoperíodos sobre o desenvolvimento pós-embrionário, capacidade alimentar larval e viabilidade de *C. albiceps* em condições laboratoriais controladas. Partindo da hipótese de que diferentes comprimentos de fotofase devem afetar o desenvolvimento pós-embrionário de *C. albiceps* como já verificado com outras espécies de califorídeos, especialmente de áreas temperadas (NABITY *et al.*, 2006, 2007). Mais especificamente buscou-se responder as seguintes questões:

- 1) Há diferença no peso das larvas maduras de *C. albiceps* entre os diferentes fotoperíodos?
- 2) O tempo de desenvolvimento dos diferentes estágios imaturos de *C. albiceps* (larval, pupal, neolarva a adulto) varia entre os fotoperíodos?
- 3) Como ocorre o ritmo de emergência de *C. albiceps* nos diferentes fotoperíodos?
- 4) A viabilidade de neolarva a adulto é influenciada pelos diferentes fotoperíodos?

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1 – Estabelecimento da Colônia

A colônia de *C. albiceps* foi estabelecida a partir de coletas em uma área com elevada perturbação antrópica no Rio de Janeiro, RJ, Brasil, mais especificamente no Campus da Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ (22°52'33''L 43°14'47''O). Os dípteros foram coletados através de modelos de armadilhas proposto por MELLO *et al.* (2007) contendo aproximadamente 200g de sardinha descongelada 24h antes da exposição. Após a permanência por 48h no campo, as armadilhas foram retiradas e levadas para o laboratório, onde o material foi separado e os espécimes identificados segundo a chave taxonômica de MELLO (2003). A manutenção da colônia seguiu a metodologia preconizada por QUEIROZ & MILWARD-DE-AZEVEDO (1991).

4.2 - Bioensaios

O delineamento experimental foi realizado em três câmaras climatizadas pertencentes ao mesmo modelo e reguladas com a mesma temperatura $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e $60 \pm 10\%$ umidade relativa do ar (UR). A temperatura dentro das câmaras foi, também, verificada diariamente através de um termômetro para evitar possíveis oscilações internas entre as câmaras. Três diferentes ciclos de luz (L= Luz, E= Escuro) foram testados, entre eles, duas fotofases curtas L0:E24, L12:E12 e uma fotofase longa de L24:E0.

Ovos de *C. albiceps*, pertencentes a 4ª geração da colônia estoque, foram transferidos para placas de Petri, as quais continham papel filtro umedecido. Após a eclosão, as neolarvas (50 neolarvas / réplica x 4 para cada fotoperíodo) foram colocadas sobre a dieta que consistiu de carne bovina moída putrefata (50g), perfazendo um total de 200 larvas por fotoperíodo e 600 larvas no experimento. O recipiente contendo as larvas e a dieta foi colocada dentro de um recipiente maior que continha vermiculita no seu interior para pupação. O conjunto foi fechado com tecido de náilon.

Após o abandono espontâneo da dieta para a vermiculita, as larvas maduras foram coletadas, pesadas individualmente em balança semi-analítica (precisão de 0,01mg) e colocadas separadamente dentro de tubos de ensaio (30mL), os quais foram fechados com algodão hidrófobo e mantidos nos respectivos fotoperíodos. As larvas que não abandonaram espontaneamente a dieta não foram pesadas e permaneceram dentro da dieta, empupando na mesma. Todas as câmaras foram checadas em intervalos de 24h, sendo anotadas as datas das

transições dos estágios de desenvolvimento (Larva-Pupa e Pupa-Adulto) e a emergência dos insetos.

4.3 - Análise dos dados

Foi possível aferir somente o peso das larvas provenientes dos grupos submetidos a 12h de fotofase e 24h de escotofase, pois as larvas provenientes do grupo submetido a 24h de fotofase não abandonaram espontaneamente a dieta. Portanto, as comparações estatísticas do peso larval foram realizadas somente entre os tratamentos de 12h de fotofase e 24h de escotofase, através do teste t com 5% de significância. Os outros parâmetros biológicos como o desenvolvimento larval e pupal que necessitariam das larvas individualizadas e separadas em tubos de ensaio, também não foram incluídos nesta análise estatística, sendo realizadas comparações, somente entre 12h de fotofase e 24h de escotofase utilizando, também o teste t com 5% de significância.

Foi utilizada análise de variância de um fator (ANOVA *one way*) para comparar o tempo de desenvolvimento de neolarva a adulto entre os três fotoperíodos L0:E24; L12:E12; L24:E0. A variável dependente foi o tempo de desenvolvimento e as variáveis categóricas foram os diferentes fotoperíodos. Para comparações posteriores foi utilizado teste de Tukey com 5% de significância (ZAR, 1999).

O teste Qui-quadrado (χ^2) foi utilizado com dados binários de presença e ausência, para analisar possíveis diferenças na taxa de emergência dos adultos entre os diferentes fotoperíodos (L0:E24, L12:E12, e L24:E0). Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa Systat 11.0.

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

O peso das larvas maduras não variou entre 24h de escotofase e 12h de fotofase (0,07g para ambos fotoperíodos) (Tabela 1) e também, não houve significativa variação em torno da média (Figura 1). As larvas oriundas do tratamento em 24h de fotofase permaneceram mais tempo na dieta com movimentos lentos e empuparam dentro dela. É possível que estas larvas tenham entrado em quiescência, que é definido como um atraso no metabolismo que ocorre, normalmente, por um curto período de tempo (MYSKOWIAK & DOUMS, 2002). De acordo com KOSTAL (2006), a quiescência geralmente, ocorre como uma resposta abrupta a imitações de recursos, mas tão logo entra, o inseto sai deste estado, uma vez que todas as exigências tenham sido cumpridas.

Tabela 1: Duração do desenvolvimento pós-embrionário e peso das larvas maduras de *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae) em diferentes fotoperíodos, sob condições laboratoriais (T= 27 ± 1°C e UR= 60 ± 10%).

Fotoperíodos (Luz:Escuro)	Tempo de desenvolvimento pós-embrionário (dias)			
	Peso larval (g) (Média ± DP) [#]	Estágio larval (Média ± DP) [#]	Estágio pupal (Média ± DP) [#]	Neolarva a adulto (Média ± DP) [#]
L12:E12	0,07 ± 0,012a	5,7 ± 0,82a	4,6 ± 0,82a	11,2 ± 1,34b
L24:E0	--	--	--	14,3 ± 1,23a
L0:E24	0,07 ± 0,014a	5,0 ± 0,23b	4,0 ± 0,0b	10,0 ± 0,3c

[#] valores dentro da mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem significativamente em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. DP= Desvio padrão.

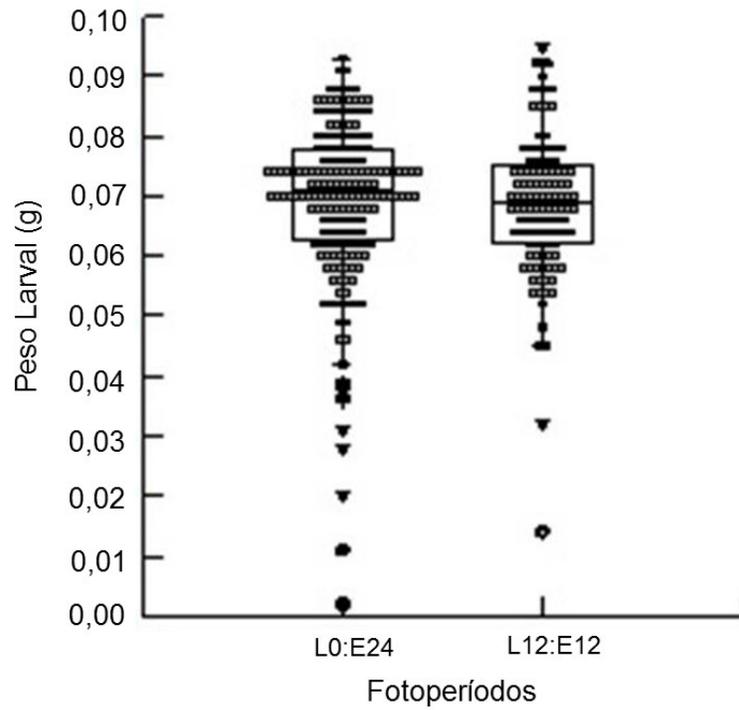


Figura 1 – Box-plot representando a relação entre o peso das larvas maduras de *Chrysomya albiceps* (Calliphoridae) e os diferentes fotoperíodos, em condições laboratoriais controladas ($T= 27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR}= 60 \pm 10\%$).

A média do tempo de desenvolvimento larval variou significativamente ($F = 125,69$, $p < 0,001$) entre 24h de escotofase (L0:E24) e 12h de fotofase (L12:E12) (5,0 e 5,7 dias, respectivamente) (Tabela 1 e Figura 2). Assim como o tempo de desenvolvimento pupal (4,0 dias em 24h de escotofase e 4,6 dias em 12h de fotofase) (Tabela 1 e Figura 3) ($F = 94,39$; $p < 0,001$). O tempo de desenvolvimento de neolarva a adulto variou significativamente entre os três fotoperíodos testados ($F = 406,30$; $p < 0,001$) (Tabela 1). Em 24h de escotofase o tempo de desenvolvimento foi mais rápido (10,0 dias) que em 12h de fotofase (11,2 dias) e 24h de fotofase (14,3 dias) (Figura 4).

Os resultados indicaram que todos os estágios de desenvolvimento de *C. albiceps* foram significativamente influenciados pelos fotoperíodos, havendo uma tendência ao prolongamento do desenvolvimento com o aumento da fotofase. O estágio larval e pupal foram significativamente afetados, principalmente quando expostos por 24h de fotofase. Nesta condição, as larvas não foram capazes de abandonar a dieta espontaneamente. Não há relatos na literatura sobre a permanência das larvas dentro da dieta quando submetidas à fotofase constante, as pesquisas somente mostram um decréscimo do tempo de desenvolvimento nestas condições (NABITY *et al.*, 2007), o que está de acordo com o presente estudo.

Muitos estudos observaram que as espécies de importância forense, especialmente provenientes de áreas temperadas, pertencentes às famílias Calliphoridae (*Lucilia caesar* Linnaeus, 1758, *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy, 1830, *Lucilia sericata* Meigen, 1826) e Sarcophagidae (*Boettcherisca peregrina* Robineau-Desvoidy, 1830, *Sarcophaga similis* Meade, 1876), entram em diapausa em condições desfavoráveis, por exemplo, quando os adultos são criados em condições de dias curtos, ao contrário do presente estudo (RING, 1967; McWATTERS & SAUNDERS, 1998; TACHIBANA & NUMATA, 2004 a, b; MORIBAYASHI *et al.*, 2008; TANAKA *et al.*, 2008). Os resultados observados não foram suficientes para indicarem uma indução à diapausa em 24h de fotofase, pois as transições dos estágios, de larva para pupa e de pupa para adulto, ocorreram em tempos regulares, embora o estágio larval tenha permanecido dentro da dieta. Possivelmente, este comportamento larval foi para evitar condições adversas de intensa luminosidade.

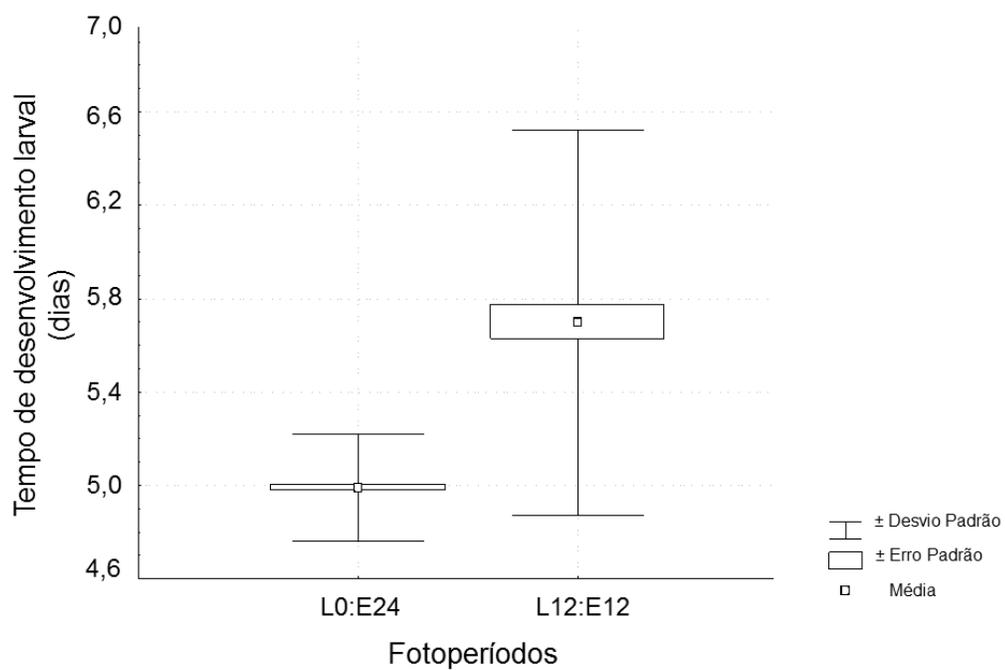


Figura 2 - Tempo de desenvolvimento larval de *Chrysomya albiceps* (Calliphoridae) quando submetido a diferentes fotoperíodos (L0:E24 e L12:E12), em condições laboratoriais controladas ($T= 27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR}= 60 \pm 10\%$).

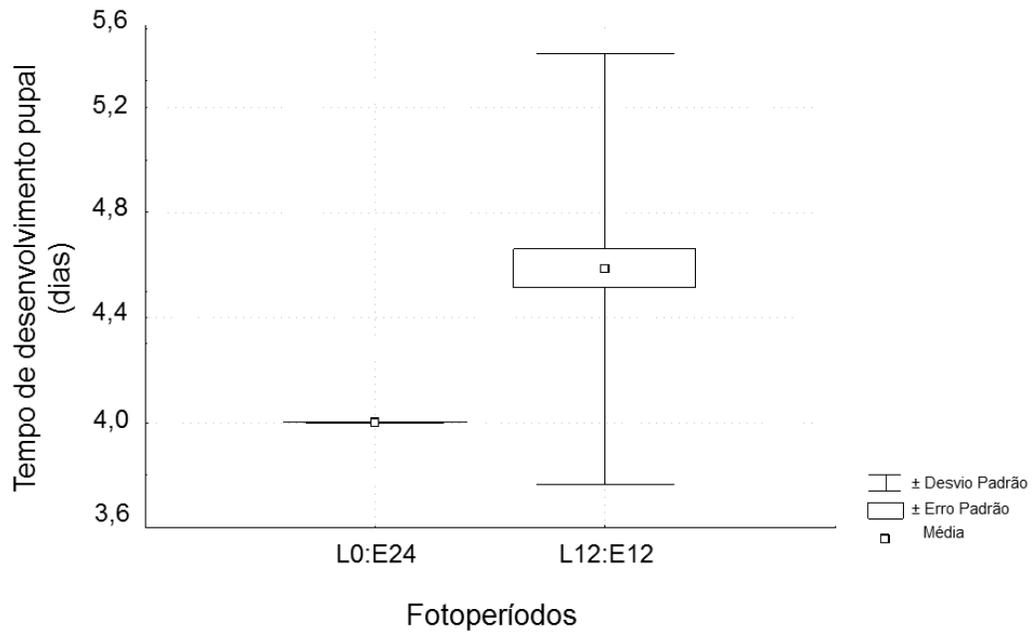


Figura 3 - Tempo de desenvolvimento pupal de *Chrysomya albiceps* (Calliphoridae) quando submetido a diferentes fotoperíodos (L0:E24 e L12:E12), em condições laboratoriais controladas ($T= 27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR}= 60 \pm 10\%$).

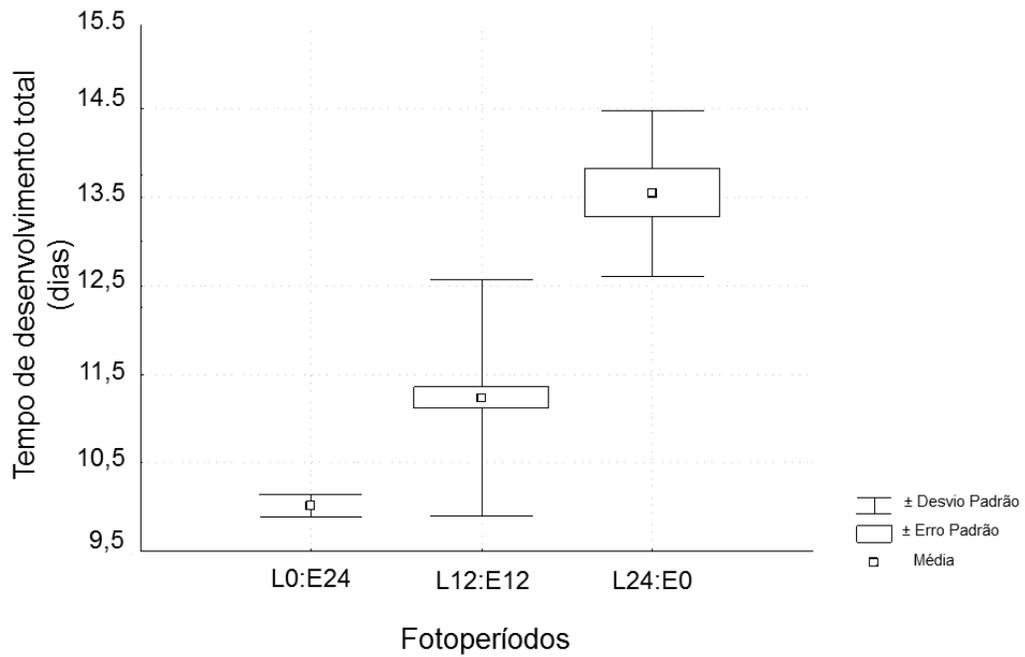


Figura 4 - Tempo de desenvolvimento pós-embrionário de neolarva a adulto de *Chrysomya albiceps* (Calliphoridae) quando submetido a diferentes fotoperíodos (L0:E24, L12:E12, L24:E0), em condições laboratoriais controladas ($T= 27 \pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}= 60 \pm 10\%$).

Em estudo desenvolvido com *Phormia regina* (Meigen, 1826) (Calliphoridae) em fotoperíodos de L24:E0 e L12:E12 e temperatura entre 18,4 e 25,5°C, foi observada uma tendência similar ao presente estudo, onde o tempo de desenvolvimento larval e de ovo a adulto foi mais acelerado em 12h de fotofase (NABITY *et al.*, 2007). QUEIROZ & MILWARD-DE-AZEVEDO (1991) usando 14h de fotofase e temperatura de 27°C, observaram que o tempo de desenvolvimento total (neolarva a adulto) de *C. albiceps* ocorreu em aproximadamente 11 dias. Observa-se que o tempo de desenvolvimento total apresenta uma relação direta com a duração da fotofase, ou seja, quando a fotofase aumenta, o tempo de desenvolvimento também aumenta.

Para checar a resposta fotoperiódica de *C. albiceps* foi observado o ritmo de emergência destas moscas. A emergência, tanto de machos quanto de fêmeas iniciou no 10° dia após eclosão dos ovos sob a luz cíclica de 12h (L12:E12), e foi regular até 14° dia (Figura 5). Na condição de luz constante (L24:E0), as fêmeas iniciaram a emergência antes dos machos, no 11° dia, enquanto que eles iniciaram no 13° dia após a eclosão das larvas, porém ambos os sexos apresentaram pico de emergência no 14° dia e pararam a emergência no 16° dia (Figura 5). Em 24h de escotofase (L0:E24) os imagos apresentaram um ritmo de emergência mais homogêneo e uniforme, com 98% dos insetos emergindo em um único dia (10° dia) (Figura 5).

Foi observado uma fotoresposta e uma ritimicidade específica para cada fotoperíodo utilizado, já que outros fatores que poderiam interferir no desenvolvimento como a temperatura foram controlados. A taxa de emergência diária variou entre os fotoperíodos, porém o início da emergência ocorreu no mesmo dia para todos os fotoperíodos, sendo no 10° dia após eclosão das larvas, com exceção para o grupo mantido em L24:E0 que iniciou a emergência no 11° dia (fêmeas) e 13° dia (machos) (Figura 5).

Alguns autores sugerem que o processo de emergência deve ser mais variável quando os insetos se desenvolvem sob a condição de luz constante, devido à ausência de estímulo externo (período sem luz) para regular a emergência (PITTENDRIGH & SKOPIK, 1970; NABITY *et al.*, 2007). Isto pôde ser verificado neste estudo, onde os insetos provenientes de 24h de fotofase tiveram um atraso de pelo menos um dia no processo de emergência e conseqüentemente um prolongamento do ciclo (Figura 5).

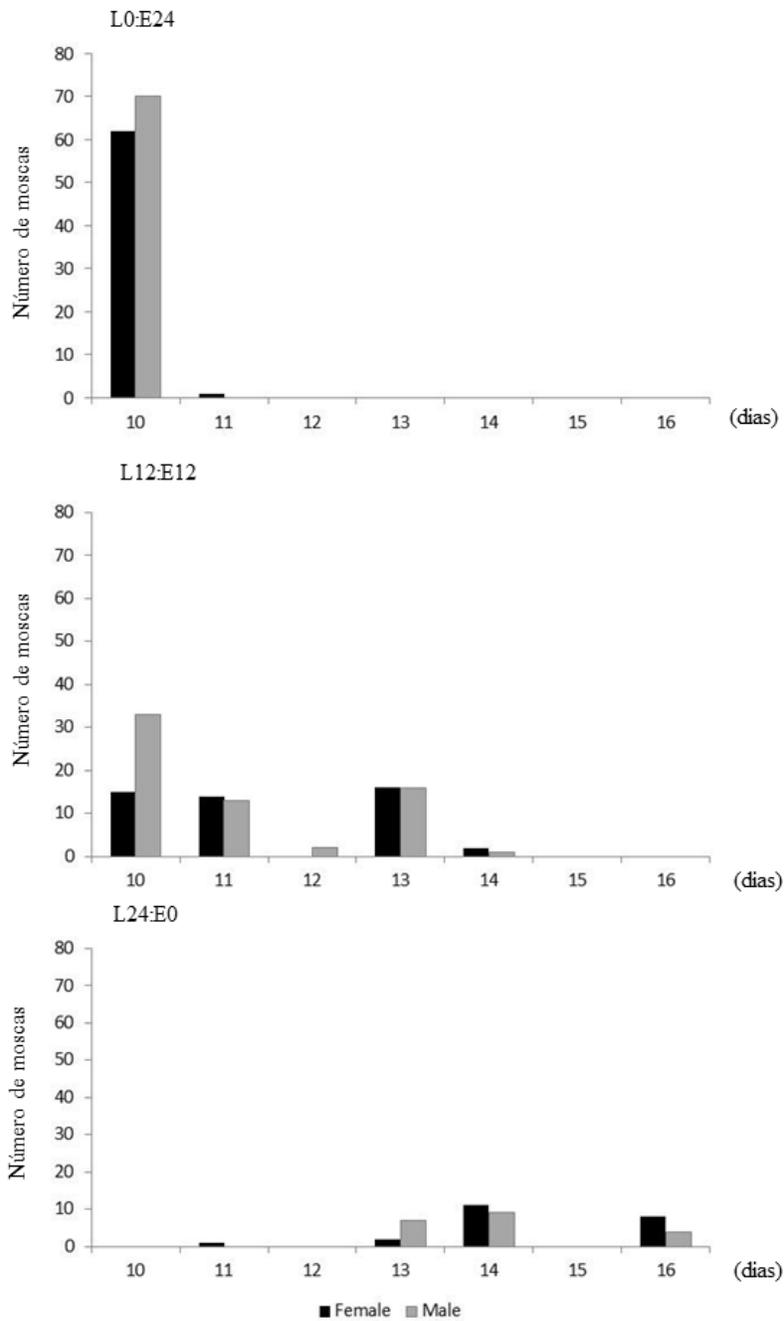


Figura 5 - Número de fêmeas e machos de *Chrysomya albiceps* (Calliphoridae) emergidos por dia, representando o ritmo de emergência nos diferentes fotoperíodos (L0:E24, L12:E12, L24:E0), em condições laboratoriais controladas ($T= 27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR}= 60 \pm 10\%$).

Por outro lado, em 24h de escotofase a emergência ocorreu praticamente em um único dia (10° dia após a eclosão dos ovos). Houve um ritmo de emergência específico para cada fotoperíodo, onde a transição de estágios ocorreu em grupos separados por intervalos de 24h (ritmicidade circadiana) como proposto por PITTENDRIGH (1967), no entanto, os grupos apresentaram taxas diárias de emergências distintas.

Os dados do presente estudo sugeriram que os fotoperíodos provavelmente, não afetaram diretamente o início de emergência, o qual foi providenciado e primariamente modulado pelo relógio biológico interno (ciclo endógeno). Porém, os fatores exógenos, como o fotoperíodo, possivelmente ajustaram o relógio e influenciaram a taxa diária de emergência dos adultos, causando alterações na duração do desenvolvimento. Isto foi, também, observado em *Calliphora stygia* Fabricius, 1781 (Diptera: Calliphoridae), onde o ritmo de emergência persistiu em condições constantes de luz com periodicidade circadiana (ROBERTS *et al.*, 1983). De acordo com estes autores, um ritmo circadiano endógeno existe tanto na fase larval quanto pupal para regular o momento apropriado em que os insetos devem eclodir.

A viabilidade do estágio larval variou significativamente entre 12h de fotofase (58%) e 24h de escotofase (96%) ($\chi^2 = 81,536$, gl= 1, $p < 0,01$). A viabilidade do estágio pupal foi elevada para ambos fotoperíodos (L0:E24, L12:E12). A viabilidade de neolarva a adulto seguiu uma relação linear inversa com a fotofase ($\chi^2 = 200,171$; gl= 2; $p < 0,01$; Tendência Linear de Cochran= 200,157; gl= 2; $p < 0,001$), ou seja, a viabilidade decresceu gradualmente com o aumento da fotofase (Figura 6).

Alguns estudos propõem que o estágio larval seja, normalmente, o estágio mais sensível e afetado pela incidência de luz, ao contrário do estágio pupal, que responde mais a ciclos de temperatura que aos comprimentos de luz (ROBERTS *et al.*, 1983). A sensibilidade aos fotoperíodos foi observada para ambos os estágios de desenvolvimento (larval e pupal), a qual foi refletida em alterações nas durações do desenvolvimento e viabilidade para estes estágios. Em outro estudo, foi observada uma sensibilidade máxima à luz nos estágios larvais de *Sarcophaga argyrostoma* (Robineau-Desvoidy 1830) (Sarcophagidae), seguido por um decréscimo de sensibilidade nos instar finais e pré-pupa (SAUNDERS, 1976). Estes resultados foram similares aos observados neste estudo, no qual a viabilidade larval foi menor que a viabilidade pupal em todos os fotoperíodos testados (Figura 6).

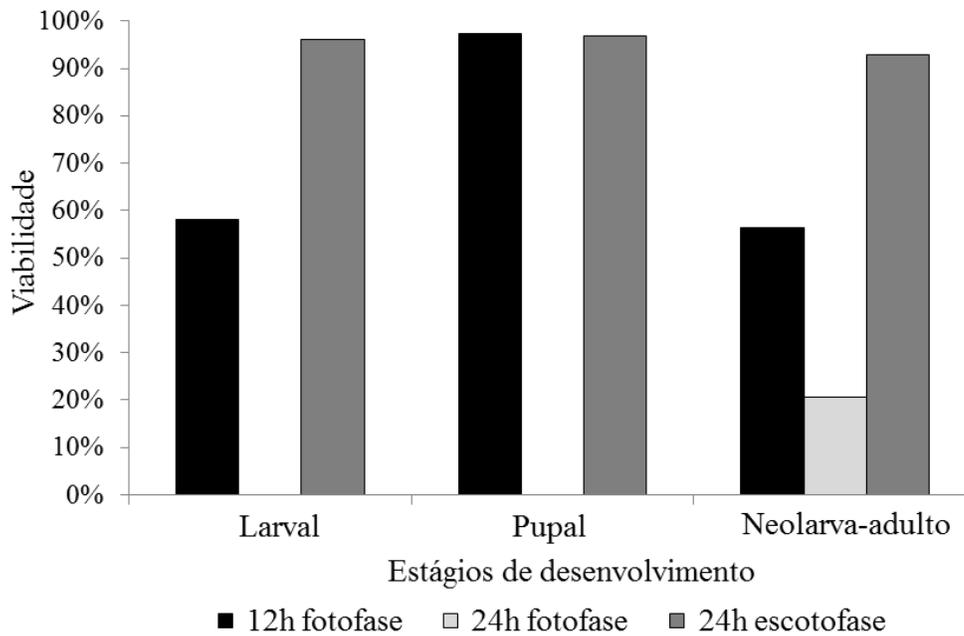


Figura 6 - Viabilidade dos diferentes estágios de desenvolvimento de *Chrysomya albiceps* (Calliphoridae) submetidos a diferentes fotoperíodos (L0:E24, L12:E12, L24:E0), em condições laboratoriais controladas ($T= 27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR}= 60 \pm 10\%$). * L-AD: períodos de neolarva a adulto.

Pelos presentes resultados, a hipótese de que os fotoperíodos influenciam o desenvolvimento foi aceita. Os dados mostraram que os diferentes comprimentos de fotofases exerceram uma forte influência na duração do tempo de desenvolvimento, ritmo de emergência e viabilidade de *C. albiceps*. Este foi o primeiro estudo a avaliar de que forma os fotoperíodos agem nos parâmetros biológicos deste califórideo. Estudos adicionais são necessários e possibilitarão maior aplicabilidade e acurácia do IPM. As variações encontradas em resposta às diferentes condições de luz são cruciais para fornecer dados mais precisos de IPM de forma a evitar cálculos inadequados quando estes insetos são utilizados para prestar auxílio às investigações criminais.

6 - CONCLUSÕES

Em vista das questões levantadas concluiu-se que:

- 1) Não foi possível aferir o peso das larvas maduras de *C. albiceps* oriundas do tratamento L24:E0, pois as mesmas não abandonaram espontaneamente a dieta, permanecendo com movimentos lentos e empupando dentro dela. Provavelmente, isso pode ter sido uma estratégia para evitar a incidência direta de luz. O peso larval foi similar entre os fotoperíodos: L0:E24 e L12:E12, havendo pouca variação em torno da média para ambos os fotoperíodos.
- 2) Houve diferença significativa do tempo de desenvolvimento para todos os estágios, sendo mais pronunciada no período de neolarva a adulto, o qual teve um aumento gradual (atraso) com o aumento da fotofase.
- 3) O ritmo de emergência de *C. albiceps* foi diferente entre os fotoperíodos. A condição de escuro constante apresentou um ciclo de emergência mais homogêneo, onde praticamente 98% dos insetos emergiram em um único dia. Por outro lado, a condição de luz constante apresentou um ritmo mais vagaroso, havendo um atraso tanto no início, quanto no término da emergência.
- 4) A taxa de emergência dos adultos de *C. albiceps* (viabilidade de neolarva a adulto) apresentou diferenças entre os fotoperíodos testados, havendo uma relação inversa com o comprimento da fotofase.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, H. T. A.; VARELA-FREIRE, A. A.; BATISTA, M. J. A.; MEDEIROS, J. F. Calliphoridae (Diptera) Coletados em cadáveres humanos no Rio Grande do Norte. *Neotropical Entomology*, v. 34, n. 5, p. 855-856, 2005.
- BARBOSA, R. R., MELLO-PATIU, C. A.; URURAHY-RODRIGUES, A.; BARBOSA, C. G.; QUEIROZ, M. M. C. Temporal distribution of ten calyprate dipteran species of medicolegal importance in Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 105, n.2, p. 191-198, 2010.
- BAUMGARTNER, D. L. & GREENBERG, B. The genus *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) in the New World. *Journal of Medical Entomology*, v. 21, p. 105–113, 1984.
- BIAVATI, G. M.; SANTANA, F. A.; PUJOL-LUZ, J. R. A checklist of Calliphoridae blowflies (Insecta, Diptera) associated with a pig carrion in Central Brazil. *Journal of Forensic Science*, v. 55, n. 6, p. 1603-1606, 2010.
- BYRD, J. H. & BUTLER, J. F. Effects of temperature on *Chrysomya rufifacies* (Diptera:Calliphoridae) development. *Journal of Medical Entomology*, v. 34, n. 3, p. 353-358, 1997.
- DANKS, H. V. *Insect Dormancy: An Ecological Perspective*. Biological Survey of Canada, Ottawa, 439 pp., 1987.
- GOMES, L.; GOMES, G.; DESUÓ, I. C. A preliminary study of insect fauna on pig carcasses located in sugarcane in winter in southeastern Brazil. *Medical and Veterinay Entomology*, v. 23, p. 155–159, 2009.
- GRASSBERGER, M. & REITER, E. F. C. The blowfly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera Calliphoridae) as a new forensic indicator in Central Europe. *International Journal of Legal Medicine*, v. 117, p. 75-81, 2003.
- GUIMARÃES, J. H.; PRADO, A. P.; BURALLI, G. M. Dispersal and distribution of three species of *Chrysomya* Robineau-Desvoidy in Brasil (Diptera, Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 23, p. 245-255, 1979.
- HALL, M. J. R. & SMITH, K. G. V. *Diptera causing myiasis in man*. In: Lane RP, Crosskey RW (eds) *Medical insects and arachnids*. Chapman and Hall, London, pp 429–469, 1993.
- HODEK, I. & HODKOVÁ, M. Multiple role of temperature during insect diapause: a review. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v. 49, p. 153-165, 1988.

- KOSTAL, V. Eco-physiological phases in insect diapause. *Journal of Insect Physiology*, v. 52, p.113-127, 2006.
- KRÜGER, R. F.; KIRST, F. D.; SOUZA A. S. B. Rate of development of forensically-important Diptera in southern Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 54, n. 4, p. 624–629, 2010.
- McWATTERS, H. G. & SAUNDERS, D. S. Maternal temperature has different effects on the photoperiodic response and duration of larval diapause in blowfly (*Calliphora vicina*) strains collected at two latitudes. *Physiological Entomology*, v. 23, p. 369-375, 1998.
- MELLO, R. P. Chave para identificação das formas adultas das espécies da família Calliphoridae (Diptera: Brachycera, Cyclorhapha) encontradas no Brasil. *Entomologia y Vectores*, v. 10, n. 2, p. 255-268, 2003.
- MELLO, R. S.; QUEIROZ, M. M. C.; AGUIAR-COELHO, V. M. Population fluctuations of calliphorid species (Diptera, Calliphoridae) in the Biological Reserve of Tingua, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Iheringia*, v. 97, p. 472-480, 2007.
- MELLO, R. S. & AGUIAR-COELHO, V. M. Duration of post-embryonic development period of *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) under laboratory conditions: implications for forensic entomology. *Parasitology Research*, v. 104, n. 2, p. 411-418, 2009.
- MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V.; CARRARO, V. M., MARTINS, C.; MOREIRA, O. I.; CRUZ, M.; SERAFIN, I. Desenvolvimento pós-embrionário de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) em diferentes temperaturas, sob condições experimentais. *Arquivo de Biologia e Tecnologia*, v. 39, p.793–798, 1996.
- MORIBAYASHI, A.; HAYASHI, T.; TAYLOR, D.; KURAHASHI, H.; KOBAYASHI, M. Different responses to photoperiod in non-diapausing colonies of the flesh fly, *Boettcherisca peregrina*. *Physiological Entomology*, v. 33, p. 31-36, 2008.
- MYSKOWIAK, J. B. & DOUMS, C. Effects of refrigeration on the biometry and development on the *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Calliphoridae) and its consequences in estimating post-mortem interval in forensic investigations. *Forensic Science International*, v. 125, n. 2-3, p. 254-261, 2002.
- NABITY, P. D.; HIGLEY, L. G.; HENG-MOSS, T. M. Effects of temperature on development of *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae) and use of developmental data in

- determining time intervals in forensic entomology. *Journal of Medical Entomology*, v. 43, n. 6, p. 1276-1286, 2006.
- NABITY, P. D.; HIGLEY, L. G.; HENG-MOSS, T. M. Light-Induced Variability in development of Forensically Important Blow Fly *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, v. 44, n. 2, p. 351-358, 2007.
- OLIVEIRA-COSTA, J. *Entomologia Forense - Quando insetos são vestígios*. 2. ed., Rio de Janeiro, RJ: Millennium, 448p., 2007.
- PARALUPPI, N. D.; VASCONCELOS, J. C.; AQUINO, J. S.; CASTELLÓN, E. G.; SILVA, M. S. B. Calliphoridae (Diptera) in Manaus: IV. Bacteria isolated from blowflies collected in street markets. *Acta amazonica*, v. 26, p. 93-96, 1996.
- PITTENDRIGH, C. S. Circadian systems I. The driving oscillation and its assay in *Drosophila pseudoobscura*. *Proceeding of the National Academy of Science*, v. 58, p. 1762-1767, 1967.
- PITTENDRIGH, C. S. & SKOPIK, D. Circadian systems V. The driving oscillation and the temporal sequence of development. *Proceeding of the National Academy of Science*, v. 65, p. 500-507, 1970.
- QUEIROZ, M. M. C. Temperature Requirements of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Diptera, Calliphoridae) under laboratory conditions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 91, n. 6, p. 785-788, 1996.
- QUEIROZ, M. M. C. & MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. Técnicas de criação e alguns aspectos da biologia de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae), em condições de laboratório. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 8, p. 75-84, 1991.
- ROBERTS, R. M.; NORTHOVER, J. M.; LEWIS, R. D. Circadian clock control of rhythm of the brown blowfly *Calliphora stygia* (Diptera: Calliphoridae). *New Zealand of Entomology*, v. 7, n. 4, p. 424-431, 1983.
- RICHARDS, C. S.; PATERSON, L. D.; VILLET, M. H. Estimating the age of immature *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae), correcting for temperature and geographical latitude. *International Journal of Legal Medicine*, v. 122, n. 4, p. 271-279, 2008.
- RING, R. A. Photoperiodic control of diapause induction in the larva of *Lucilia Caesar* L. (Diptera: Calliphoridae). *The journal of Experimental Biology*, v. 46, p. 117-122, 1967.

- SAUNDERS, D. S. The circadian eclosion rhythm in *Sarcophaga argyrostoma*: Some comparisons with the photoperiodic clock. *Journal of Comparative Physiology*, v. 110, p. 11-133, 1976.
- TACHIBANA, S. -I. & HIDEHARU, N. Effects temperature and Photoperiod on the termination of larval diapause in *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Zoological Science*, v. 21, p. 197-202, 2004 a.
- TACHIBANA, S. -I. & HIDEHARU, N. Maternal induction of larval diapause and its sensitive stage in the blow fly *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae). *Entomological Science*, v. 7, p. 231-235, 2004 b.
- TANAKA, M.; TACHIBANA, S. -I.; NUMATA, H. Sensitive stages for photoperiodic induction of pupal diapause in the flesh fly *Sarcophaga similis* (Meade) (Diptera: Sarcophagidae). *Applied Entomology and Zoology*, v. 43, n 3, p. 403-407, 2008.
- WALL, R.; FRENCH, N.; MORGAN, K. L. Effects of temperature on the development and abundance of the sheep blowfly *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Bulletin of Entomological Research*, v. 82, p. 125-131, 1992.
- ZAR, J. H. *Biostatistical analysis*. 4th ed., New Jersey. Prentice-Hall, 663 p., 1999.
- ZUMPT, F. *Myiasis in Man and Animal in the Old World*. Butterworths, London, U. K, 267p., 1965.

CAPÍTULO II

RESPOSTA FOTOPERIÓDICA DO DESENVOLVIMENTO PÓS- EMBRIONÁRIO DE *Chrysomya megacephala* (DIPTERA: CALLIPHORIDAE): PERSPECTIVAS PARA ENTOMOLOGIA FORENSE

1- RESUMO

Chrysomya megacephala (Calliphoridae) é considerada um inseto vetor de diversas doenças parasitárias e também é uma espécie muito importante para entomologia forense, contribuindo principalmente na estimativa do intervalo pós-morte nas investigações criminais. Assim, o conhecimento de como os fatores ambientais agem no desenvolvimento pós-embriônico destes insetos são de grande importância. O presente estudo testou diferentes fotoperíodos sobre o peso larval, tempo de desenvolvimento e viabilidade de *C. megacephala*. Os bioensaios foram realizados em câmaras climatizadas reguladas em $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e $60 \pm 10\%$ de umidade relativa do ar, sob diferentes fotoperíodos (Luz: Escuro) por um período de 24h: L0:E24, L12:E12, L16:E8 e L24:E0. Trinta neolarvas foram colocadas em um recipiente de criação contendo 30g de carne bovina moída putrefata (30 neolarvas x 4 repetições/fotoperíodo), com um total de 480 larvas em todo experimento. As larvas maduras ao abandonarem a dieta foram separadas, pesadas e individualizadas em tubos de ensaio, onde foi aguardada a emergência dos adultos. As que não abandonaram espontaneamente a dieta, não foram pesadas. Houve uma tendência ao decréscimo do peso larval com o aumento da fotofase. O tempo de desenvolvimento larval em 24h de escotofase foi mais rápido que quando comparado aos outros fotoperíodos, seguido por 24h e 12h de fotofase. O tempo de desenvolvimento pupal em 24h de fotofase foi mais lento e variou em relação aos outros fotoperíodos. O tempo de desenvolvimento de neolarva a adulto em 24h de escotofase foi o mais acelerado, diferenciando dos demais fotoperíodos, os quais não apresentaram diferença entre eles. O ritmo de emergência foi similar entre os grupos mantidos em L0:E24 e L12:E12, apresentando início de emergência no 8º dia e término no 10º dia após eclosão dos ovos. O início de emergência nos fotoperíodos L16:E8 e L24:E0 foram, também, similares aos outros fotoperíodos, no entanto a emergência continuou até o 11º e 12º dia, respectivamente. A menor taxa de moscas emergidas foi observada em 24h de fotofase (60,8%) e a maior em 24h de escotofase (84,2%). Com estes dados pode se dizer que os diferentes fotoperíodos influenciaram o ciclo de desenvolvimento de *C. megacephala*.

2 - ABSTRACT

Chrysomya megacephala (Calliphoridae) is a vector for several diseases and a very important fly for forensic entomology, contributing mainly to estimate the minimum post mortem interval. Therefore, knowledge on how environmental factors affect the post-embryonic development are of great importance. This study tested different photoperiods on the larval body weight, post-embryonic developmental time and viability of *C. megacephala*. The bioassays were performed in acclimatized chambers at $27 \pm 1^\circ\text{C}$ and $60 \pm 10\%$ relative humidity regulated regulated with four different light and dark cycle (LD cycle) for a period of 24 hours : L0:D24, L12:D12, L16:D8 and L24:D0. Four replications with 30 newly-hatched larvae each in rearing containers (120 larvae per photoperiod) were used in the experiment, totalizing 480 larvae. The larvae were reared on ground bovine meat. When the mature larvae spontaneously abandoned the diet, they were individually weighed and separated in glass tubes. The larvae that did not abandon the diet were not weighed. Larval weight tended to decrease with the increase in the photophase. The larval developmental time in the 24h scotophase was faster than other photoperiods, followed by L24:D0 and L12:D12. The pupal developmental time was slower with a photoperiod of L24:D0 when compared to all the other photoperiods. The developmental time of newly-hatched larvae to adult in the 24h scotophase was the fastest, and there was no difference among the other photoperiods. The rhythm of emergence was similar between L0:D24 and L12:D12 with the onset of emergence on the 8th day after egg eclosion, and ceasing on the 10th day. The onsets of emergence in L16:D8 and L24:D0 were similar to the other photoperiods, but flies ceased the emergence on the 11th and 12th days, respectively. The newly-hatched larvae to adult period viabilities were higher in the 24h scotophase (84.2%) and lower in the 24h photophase (60.8%). It was concluded that the different photoperiods were influenced the developmental cycle of *C. megacephala*.

3 - INTRODUÇÃO

Chrysomya megacephala (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) é um califorídeo que apresenta amplo espectro alimentar e de oviposição, podendo se desenvolver em vários substratos que variam desde matéria orgânica decomposta até tecidos vivos de animais. Devido a este hábito alimentar, é considerada uma espécie de importância médica-sanitária, já que causam míases nos animais, incluindo o homem (GUIMARÃES *et al.*, 1978; SUKONTASON *et al.*, 2005). E é, também, vetor mecânico de diversos patógenos entéricos como vírus, helmintos e bactérias, tais como, *Aeromonas sobria*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Providencia alcalifaciens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter* sp., *Proteus mirabilis*, *Salmonella agona*, *Morganella* sp., *Klebsiella* sp., *Pseudomonas* sp. e *Enterobacter* sp. (SUKONTASON *et al.*, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Esta espécie de califorídeo é frequentemente associada a carcaças de animais, portanto, é considerada como indicadora forense na medicina Legal (ZUMPT, 1965; GREENBERG, 1991; BARBOSA *et al.*, 2010). Sua principal aplicação nesta área destina-se ao estabelecimento do intervalo mínimo pós-morte (IPM), isto é, o tempo gasto desde a morte ou, mais exatamente, o tempo perante o qual o corpo foi exposto às variáveis ambientais até a data em que for encontrado (OLIVEIRA-COSTA, 2007). Para esta finalidade, é necessário o conhecimento detalhado de como as condições ambientais afetam o tempo de desenvolvimento dos estágios imaturos das moscas que são encontradas nas carcaças (MYSKOWIAK & DOUMS, 2002; FENG *et al.*, 2002). Muitos estudos mostram que o fotoperíodo e a temperatura influenciam o funcionamento do relógio circadiano, o qual é responsável pela regulação de eventos comportamentais, fisiológicos e bioquímicos nos organismos eucariontes, incluindo dípteros muscóides (TAKEDA, 1997).

O efeito da temperatura na duração do desenvolvimento pós-embrionário tem sido amplamente estudado por muitos autores (WALL *et al.*, 1992; MILWARD-DE-AZEVEDO *et al.*, 1996; QUEIROZ, 1996; BYRD & BUTLER, 1997; NABITY *et al.*, 2006; RICHARDS *et al.*, 2008; KRÜGER *et al.*, 2010). No entanto, existem poucas avaliações sobre a influência direta da luz sobre o tempo de desenvolvimento das espécies de importância forense (TACHIBANA & NUMATA, 2004 a, b; NABITY *et al.*, 2007). A maioria dos estudos tem sido realizada com espécies com predominância em áreas de clima temperado e tem mostrado, principalmente, os processos de entrada e saída da diapausa destes insetos (RING,

1967; TACHIBANA & NUMATA, 2004 a, b; MORIBAYASHI *et al.*, 2008; TANAKA *et al.*, 2008).

A proposta deste estudo foi testar o efeito de diferentes fotoperíodos sobre o tempo de desenvolvimento total, capacidade alimentar e viabilidade de *C. megacephala*. Partindo da hipótese de que os diferentes comprimentos das fotofases devem afetar o desenvolvimento pós-embrionário de *C. megacephala*, como já verificado com outras espécies de califorídeos, encontradas em áreas temperadas (NABITY *et al.*, 2006, 2007). E tentar responder as seguintes questões:

- 1) Há diferença no peso das larvas maduras de *C. megacephala* quando criadas em diferentes fotoperíodos?
- 2) Há diferença na duração do tempo de desenvolvimento de *C. megacephala* (larval, pupal, neolarva a adulto) nos diferentes fotoperíodos?
- 3) O ritmo de emergência de *C. megacephala* varia entre os diferentes fotoperíodos?
- 4) Os diferentes fotoperíodos afetam a taxa de emergência dos adultos de *C. megacephala* (viabilidade de neolarva a adulto)?

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1 - Estabelecimento da Colônia

A colônia de *C. megacephala* foi estabelecida a partir de adultos e larvas coletados no Campus da Fundação Instituto Oswaldo Cruz (22°52'33''L 43°14'47''O), Rio de Janeiro, RJ, Brasil, em uma área com elevada perturbação antrópica. Os dípteros foram coletados através de modelos de armadilhas proposto por MELLO *et al.* (2007) contendo sardinha (200g) descongelada 24h antes da exposição no campo. Após 48h, as armadilhas foram retiradas e levadas para o laboratório, onde se procedeu a separação e identificação dos espécimens a partir da chave taxonômica descrita por MELLO (2003). A manutenção da colônia seguiu a metodologia preconizada por QUEIROZ & MILWARD DE AZEVEDO (1991).

4.2 - Bioensaios

O delineamento experimental foi realizado com quatro câmaras climatizadas, pertencentes ao mesmo modelo e reguladas em temperatura igual a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e $60 \pm 10\%$ umidade relativa do ar (UR). A temperatura dentro das câmaras foi, também, verificada diariamente através de um termômetro para evitar possíveis oscilações internas entre as câmaras. Quatro diferentes ciclos de luz (L= Luz, E= Escuro) foram testados, entre eles, duas fotofases curtas L0:E24, L12:E12 e duas fotofases longas L16:E8 e L24:E0.

Foram utilizados espécimes de *C. megacephala* pertencente a 4ª geração da colônia estoque para coleta de ovipostura. Os ovos foram tranferidos para placas de Petri contendo papel filtro umedecido com 1mL de água destilada e mantidos sob 27°C . Após a eclosão, as neolarvas (30 neolarvas / réplica x 4 para cada fotoperíodo) foram colocadas sobre a dieta que consistiu de carne bovina moída putrefata (30g), perfazendo um total de 120 larvas por fotoperíodo e 480 larvas no experimento, incluindo todos os fotoperíodos. O recipiente, contendo as larvas e a dieta, foi colocado dentro de um recipiente maior, contendo vermiculita como substrato de pupação. O conjunto foi fechado com tecido de náilon e colocado nos respectivos fotoperíodos.

Após o abandono espontâneo da dieta, as larvas maduras foram coletadas e o seu peso foi aferido individualmente em balança semi-analítica (precisão de 0,01mg) e posteriormente foram colocadas separadamente dentro de tubos de ensaio (30mL) contendo como substrato de pupação vermiculita. Os tubos foram fechados com algodão hidrófobo e mantidos nos respectivos fotoperíodos. As larvas que não abandonaram espontaneamente a dieta não foram pesadas e permaneceram dentro da dieta, empupando na mesma. Todas as câmaras

climatizadas foram checadas em intervalos de 24h, sendo anotadas as datas de transições dos estágios de desenvolvimento (Larva-Pupa e Pupa-Adulto) e a emergência dos insetos.

4.3 - Análise dos dados

Para comparar o efeito dos fotoperíodos sobre os diferentes estágios de desenvolvimento e peso larval de *C. megacephala*, os resultados foram analisados pela Análise de variância de um fator (ANOVA *one way*) com nível de significância de 5% e pós-hoc teste de Tukey para comparações posteriores.

O teste Qui-quadrado (χ^2) foi utilizado, com dados de presença e ausência, para analisar possíveis diferenças na taxa de emergência das moscas (viabilidade de neolarva-adulto) entre os diferentes fotoperíodos. Todas as análises estatísticas tiveram nível de significância de 5% e foram realizadas no programa Systat 11.0 (ZAR, 1999).

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

O peso das larvas maduras variou entre os diferentes fotoperíodos (ANOVA: $F_{3,379}=8,925$; $p < 0,01$) (Tabela 1). As larvas mais pesadas foram oriundas da escotofase de 24h (69mg) e fotofase de 12h (67mg). Por outro lado, as larvas mais leves foram oriundas da fotofase de 24h de (63mg) (Tabela 1). Algumas larvas criadas em 24h de fotofase não abandonaram espontaneamente a dieta, empupando em seu interior. Este comportamento larval pode ser reflexo da fototaxia e possivelmente é uma estratégia comportamental dos dípteros para evitar condições de intensa luminosidade (NABITY *et al.*, 2007).

O peso das larvas maduras foi mais uniforme na fotofase de 12h. Houve uma grande variabilidade em torno da média (distância entre o máximo e mínimo) em 24h de escotofase e 16h de fotofase (Figura 1). Outro estudo também observou uma pequena variação do peso larval em torno da média utilizando três fotoperíodos (L0:E24, L12:E12, L24:E0), no entanto, a variação apresentada não foi significativa (GOMES *et al.*, 2006). Estes autores observaram um peso mais uniforme em 24h de fotofase, ao contrário do presente estudo. Foi possível sugerir que os diferentes fotoperíodos alteraram a massa larval, porém não pode se estabelecer uma relação direta, de causa e efeito, com o comprimento da fotofase.

Tabela 1: Duração do desenvolvimento pós-embriónico e peso das larvas maduras de *Chrysomya megacephala* (Calliphoridae) criadas em diferentes fotoperíodos, em condições laboratoriais controladas (T= 27 ± 1°C e UR= 60 ± 10%).

Fotoperíodos	Duração do desenvolvimento pós-embriónico (dias)			
	Média do peso larval (g)	Estágio larval (Média ± DP) [#]	Estágio pupal (Média ± DP) [#]	Neolarva a adulto (Média ± DP) [#]
L0:E24	0,069a	3,48± 0,50c	4,02±0,24b	8,39±0,53b
L12:E12	0,067a	3,87±0,40b	4,02±0,15b	8,90±0,46a
L16:E8	0,064b	4,04±0,24a	4,03±0,18b	9,06±0,32a
L24:E0	0,063c	3,78±0,45b	4,26±0,44a	9,08± 0,85a

[#] valores, dentro da mesma coluna, seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. DP= Desvio Padrão.

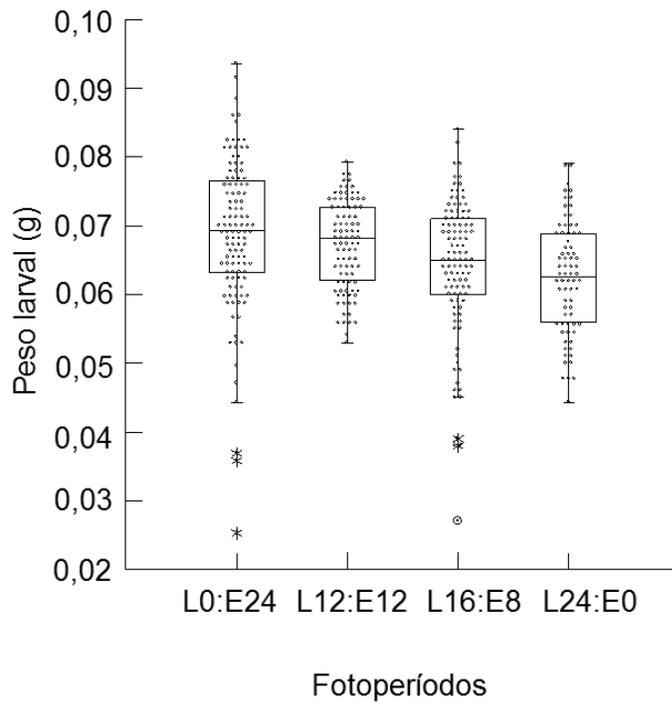


Figura 1: Box-plot representando a relação entre o peso larval de *Chrysomya megacephala* (Calliphoridae) e os diferentes fotoperíodos, em condições laboratoriais controladas ($T= 27 \pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}= 60 \pm 10\%$).

O tempo de desenvolvimento larval variou significativamente (ANOVA: $F_{3,381} = 36.530$, $p < 0,01$) entre os fotoperíodos (Tabela 1 e Figura 2). Em 24h de escotofase, as larvas abandonaram a dieta mais cedo quando comparada aos outros fotoperíodos. Não houve diferença no tempo de desenvolvimento entre os grupos mantidos em 12h de fotofase e 24h de fotofase. O tempo de desenvolvimento larval em 16h de fotofase foi mais vagaroso quando comparado aos outros fotoperíodos (Tabela 1). O desenvolvimento pupal somente apresentou diferença significativa quando a fotofase de 24h foi comparada aos outros fotoperíodos (Tabela 1 e Figura 2). O tempo de desenvolvimento de neolarva a adulto variou significativamente entre os fotoperíodos estudados (ANOVA: $F_{3,354} = 33.174$; $p < 0,001$), sendo mais acelerado em 24h de escotofase (Tabela 1 e Figura 2) e diferiu estatisticamente dos demais fotoperíodos. Esta ocorrência pode estar associada às diferentes datas de picos de emergência. Em 24h de escotofase, o pico de emergência ocorreu no 8º dia após a eclosão das larvas (62,2% de moscas emergidas), enquanto nos outros fotoperíodos, o pico de emergência ocorreu no 9º dia após a eclosão das larvas (78,4% em 12h de fotofase; 95,8% em 16h de fotofase e 64,4% em 24h de fotofase) (Figura 3).

Estes resultados indicaram que o tempo de desenvolvimento pós-embrionário de *C. megacephala* foi significativamente afetado pelas oscilações de fotoperíodos. Foi possível observar que na condição de escuro constante (24h de escotofase) o tempo de desenvolvimento para todos os estágios (larval, pupal e neolarva a adulto) foi mais acelerado quando comparado aos fotoperíodos com condições cíclicas ou constantes de luz.

De acordo com NABITY *et al.* (2007) o tempo de desenvolvimento larval e pupal é primariamente modulado pela temperatura, embora os fotoperíodos também exerçam influência, mas em uma menor extensão. Estes autores observaram que a fotofase de 12h reduziu o tempo de desenvolvimento de *Phormia regina* (Meige, 1826) quando comparada à fotofase constante (L24:E0), ao contrário do que foi observado no presente estudo (NABITY *et al.*, 2007), onde não houve diferença significativa. Através da análise dos dados, pode se estabelecer que o tempo de desenvolvimento é influenciado pelos diferentes fotoperíodos, porém, os ciclos de luz agem diferentemente dependendo das espécies de dípteros.

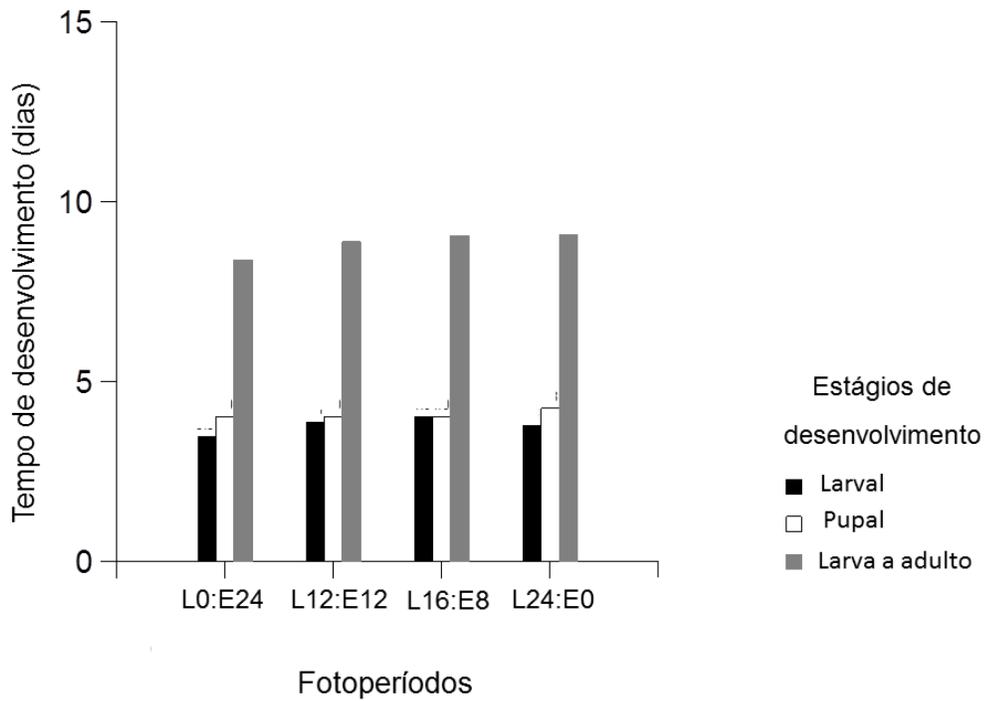


Figura 2: Tempo de desenvolvimento pós-embrionário de *Chrysomya megacephala* (Calliphoridae) (estágio larval, pupal e neolarva a adulto) quando submetida a diferentes fotoperíodos (L0:E24, L12:E12, L16:E8, L24:E0), em condições laboratoriais controladas ($T = 27 \pm 1^\circ\text{C}$ e $UR = 60 \pm 10\%$).

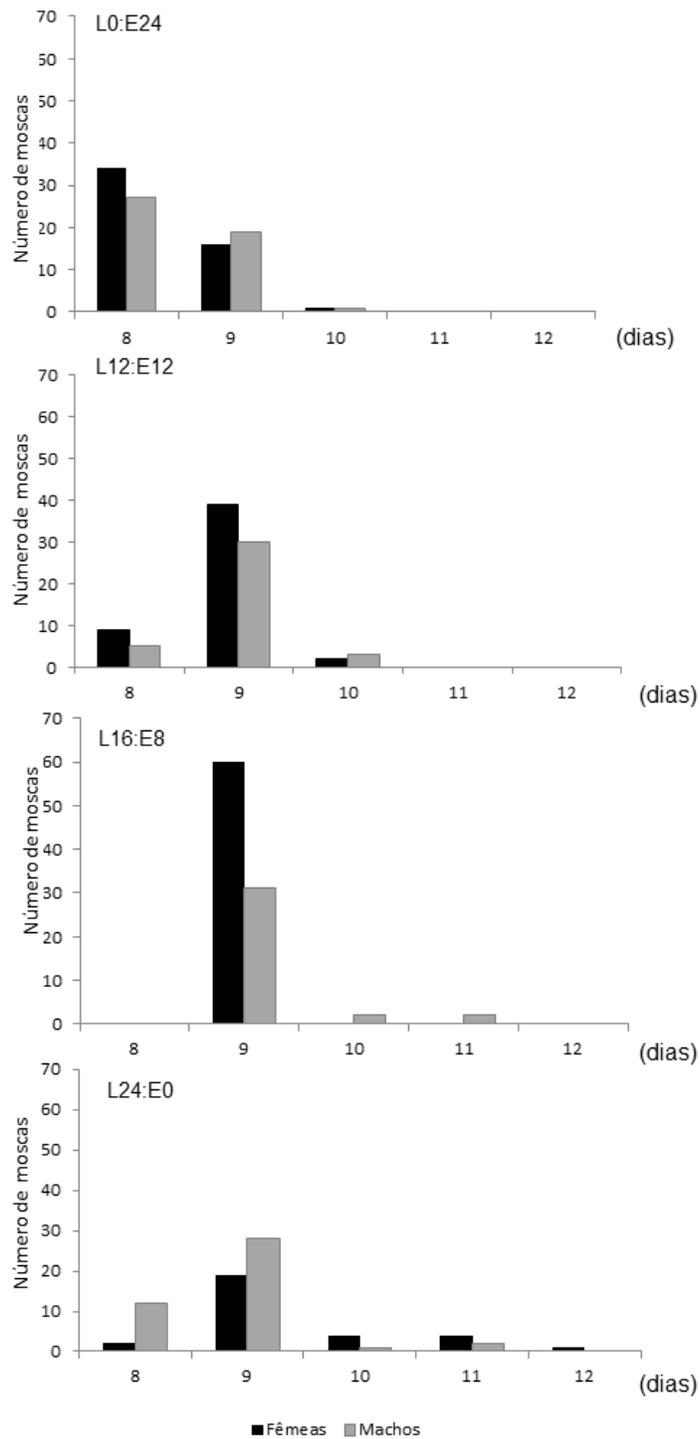


Figura 3: Número de fêmeas e machos de *Chrysomya megacephala* (Calliphoridae) emergidos por dia representando o ritmo de emergência nos diferentes fotoperíodos (L0:E24, L12:E12, L16:E8, L24:E0), em condições laboratoriais controladas ($T= 27 \pm 1^\circ\text{C}$ e $UR= 60 \pm 10\%$).

O ritmo de emergência dos dípteros foi diferente entre os fotoperíodos testados. Tanto os machos quanto as fêmeas iniciaram emergência no 8º dia após a eclosão das larvas em todos os fotoperíodos, exceto em 16h de fotofase, no qual as moscas iniciaram emergência no 9º dia após a eclosão das larvas (Figura 3). Os fotoperíodos L0:E24 e L12:E12 apresentaram ritmo de emergência similar, iniciando emergência no 8º dia e terminando no 10º dia, no entanto, os picos foram em tempos distintos (8º e 9º dia, respectivamente) (Figura 3). Em L16:E8 a emergência foi mais homogênea, pois a maioria dos imagos emergiram em um único dia (96% dos insetos emergiram no 9º dia após a eclosão das larvas) com poucos indivíduos emergindo no 10º (2%) e 11º dia (2%) (Figura 3). Os insetos criados em 24h de fotofase tiveram um prolongamento do ciclo de emergência com início no 8º dia e término no 12º dia após a eclosão das larvas (Figura 3).

Para explicar essas diferenças no ritmo de emergência é fundamental mencionar um conceito previamente estabelecido por PITTENDRIGH (1967), que definiu "emergence gate" como um fenômeno onde as transições de estágios ocorrem em sincronia com os ciclos ambientais (exemplo: fotoperíodo diurno ou início de um ciclo de luz), porém estes *gates* temporais são determinados por um relógio circadiano (PITTENDRIGH & SKOPIK, 1970). Logo espera-se padrões de emergência, onde as transições dos estágios devam ocorrer em tempos e grupos separados por um intervalo de 24h dependendo do fotoperíodo utilizado.

Neste estudo houve uma periodicidade dentro de 24h (ritmicidade circadiana), porém a taxa diária de insetos emergidos para cada fotoperíodo foi distinta. De acordo com PITTENDRIGH (1967), a transição de estágios ocorre em sincronia com o ciclo de luz, assim, seria esperado uma pausa no tempo de desenvolvimento dos insetos mantidos no escuro total (L0:E24) até que um estímulo específico ocorresse, como por exemplo, um ciclo de luz (NABITY *et al.*, 2007). No entanto, isto não foi observado. Os insetos mantidos em 24h de escotofase tiveram emergência similar à condição de 12h de fotofase, já os insetos criados em luz constante apresentaram um ritmo mais variável, provavelmente pela falta de estímulo (período sem luz) como proposto por NABITY *et al.* (2007).

Foi observado que o ritmo circadiano persistiu independente das condições de luz (ausência e/ou presença constante e em ciclos) a que foram expostos, embora as taxas de emergência diária e a duração do desenvolvimento de cada estágio de *C. megacephala* tenham sido diferentes para cada fotoperíodo. Em outro estudo realizado com *Calliphora stygia* Fabricius, 1781 (Calliphoridae), foi observado que o ritmo de eclosão desta espécie não

respondeu diretamente aos fatores externos persistindo em condições constantes (L24:E0 e L0:E24) e com periodicidade circadiana (ROBERTS *et al.*, 1983), assim como observado no presente estudo. De acordo com estes autores, o controle da emergência dos insetos é por um processo endógeno. Porém, sugere-se que o relógio circadiano seja adicionalmente modulado por fatores exógenos, como os fotoperíodos, os quais devem influenciar os mecanismos fisiológicos das moscas, principalmente relativos aos receptores de luz que coordenam a liberação de hormônios envolvidos no processo de muda.

A viabilidade larval foi diferente entre os fotoperíodos sendo as maiores observadas em 24h de escotofase (94,2%) e 16h de fotofase (88,3%) (Figura 4). A viabilidade pupal foi elevada em todos os fotoperíodos, em torno de 90% (Figura 4). Foi verificado que as taxas de emergência dos insetos (viabilidade de neolarva a adulto) foram estatisticamente diferentes entre os fotoperíodos ($\chi^2 = 20,89$, gl= 3, $p < 0,01$), mostrando uma tendência onde a viabilidade decresceu com o aumento da fotofase (Figura 4). Portanto, foi possível estabelecer que a viabilidade de neolarva a adulto e a fotofase tiveram uma relação inversa, ou seja, quanto maior a fotofase menor a viabilidade.

Alguns estudos têm mostrado que o estágio larval é frequentemente mais afetado e sensível às oscilações de luz que o estágio pupal, o qual responde mais as oscilações de temperaturas (ROBERTS *et al.*, 1983). No presente estudo foi possível verificar que ambos os estágios de desenvolvimento (larval e pupal) foram influenciados pelos diferentes fotoperíodos. No entanto, de fato o estágio pupal mostrou uma menor variabilidade na viabilidade entre os fotoperíodos, quando comparado ao estágio larval.

Os resultados obtidos vão ao encontro da hipótese inicial do estudo de que os fotoperíodos afetam o desenvolvimento pós-embrionário de *C. megacephala*. Foi verificada uma fotoresposta que alterou o comportamento de desenvolvimento e principalmente o ritmo de emergência destes insetos. No entanto, essas diferenças, provavelmente, não devem ter efeito significativo quando consideradas no intervalo mínimo pós-morte em condições naturais, pelo menos para esta espécie, pois o tempo gasto não excedeu um dia entre as durações de desenvolvimentos, com exceção para a escotofase constante. Estudos futuros, incluindo outros parâmetros, como flutuações de temperatura em diferente fotoperíodos, devem ser investigados para observar se ocorrem mudanças significativas em termos técnicos e legais.

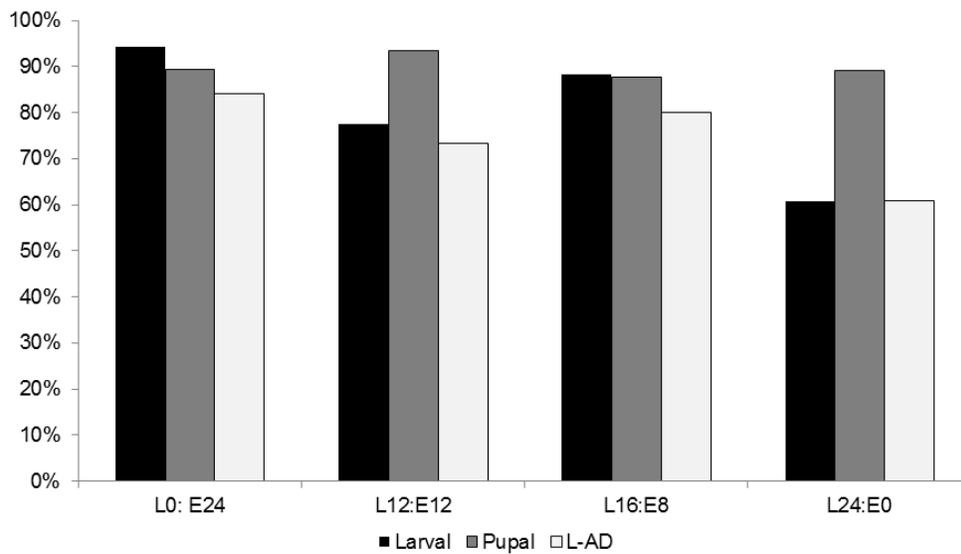


Figura 4: Viabilidade dos diferentes estágios de desenvolvimento de *Chrysomya megacephala* (Calliphoridae) submetidos a diferentes fotoperíodos (L0:E24, L12:E12, L16:E8, L24:E0), em condições laboratoriais controladas ($T= 27 \pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}= 60 \pm 10\%$). * L-AD: período de Neolarva a adulto.

6 - CONCLUSÕES

Em vista das questões levantadas concluiu-se que:

- 1) O peso das larvas maduras de *Chrysomya megacephala* em L12:E12 e L0:E24 foi maior que o peso das larvas criadas em outros fotoperíodos, os quais não diferenciaram entre si.
- 2) Houve diferença no tempo de desenvolvimento de *C. megacephala* para todos os estágios, sendo mais pronunciada no estágio larval e no período de neolarva a adulto, onde houve uma tendência ao prolongamento do desenvolvimento com o aumento da fotofase em ambos os estágios.
- 3) O início da emergência foi similar para todos fotoperíodos, no 8º dia após a eclosão das larvas, com exceção do tratamento L16:E8, havendo atraso de um dia.
- 4) A taxa de emergência dos insetos foi diferente entre os fotoperíodos testados, apresentando uma relação inversa com a duração da fotofase, ou seja, quanto maior a fotofase, menor foi a viabilidade.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA, R. R.; MELLO-PATIU, C. A.; URURAHY-RODRIGUES, A.; BARBOSA, C. G.; QUEIROZ, M. M. C. Temporal distribution of ten calyptrate dipterans species of Medico-legal importance in the municipality of Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 105, p. 191-198, 2010.
- BYRD, J. H. & BUTLER, J. F. Effects of temperature on *Chrysomya rufifacies* (Diptera:Calliphoridae) development. *Journal of Medical Entomology*, v. 34, n. 3, p. 353-358, 1997.
- FENG, W. C.; CUI, H.; CHUAN, C. Y.; XIONG, M. J.; TAO, L. J.; WANG, J. F.; HU, C.; CHEN, Y. C.; MIN, J. X.; LI, J. T. Effect of temperature over the body-length change of *Chrysomya megacephala* (Fabricius). *Acta Parasitology of Medical Entomology Sin*, v. 9, p. 100–105, 2002.
- GOMES, L.; GOMES, G.; OLIVEIRA, H. G.; SANCHES, M. R.; VON ZUBEN, C. J. Influence of photoperiod on body weight and depth of burrowing in larvae of

Chrysomya megacephala (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae) and implications for forensic entomology. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 50, n. 1, p. 76-79, 2006.

GREENBERG, B. Flies as forensic indicators. *Journal of Medical Entomology*, v. 28, n. 5, p. 565-577, 1991.

GUIMARÃES, J. H.; PRADO, A. P.; LINHARES, A. X. Three newly introduced blowfly species in southern Brazil (Diptera: Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 22, p. 53-60, 1978.

KRÜGER, R. F.; KIRST, F. D.; SOUZA, A. S. B. Rate of development of forensically important Diptera in southern Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 54, n. 4, p. 624-629, 2010.

MELLO, R. P. Chave para identificação das formas adultas das espécies da família Calliphoridae (Diptera: Brachycera, Cyclorrhapha) encontradas no Brasil. *Entomologia y Vectores*, v. 10, n. 2, p. 255-268, 2003.

MELLO, R. S.; QUEIROZ, M. M. C.; AGUIAR-COELHO, V. M. Population fluctuations of calliphorid species (Diptera, Calliphoridae) in the Biological Reserve of Tingua, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Iheringia*, 97, p. 472-480, 2007.

MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V.; CARRARO, V. M.; MARTINS, C.; MOREIRA, O. I.; CRUZ, M.; SERAFIN, I. Desenvolvimento pós-embrionário de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) em diferentes temperaturas, sob condições experimentais. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, v. 39, p. 793-798, 1996.

MORIBAYASHI, A.; HAYASHI, T.; TAYLOR, D.; KURAHASHI, H.; KOBAYASHI, M. Different responses to photoperiod in non-diapausing colonies of the flesh fly, *Boettcherisca peregrine*. *Physiological Entomology*, v. 33, p. 31-36, 2008.

MYSKOWIAK, J. B. & DOUMS, C. Effects of refrigeration on the biometry and development of *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Calliphoridae) and its consequences in estimating the post-mortem interval in forensic investigations. *Forensic Science International*, v. 125, p. 254-261, 2002

NABITY, P. D.; HIGLEY, L. G.; HENG-MOSS, T. M. Effects of temperature on development of *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae) and use of developmental data in determining time intervals in forensic entomology. *Journal of Medical Entomology*, v. 43, n. 6, p. 1276-1286, 2006.

- NABITY, P. D.; HIGLEY, L. G.; HENG-MOSS, T. M. Light-Induced Variability in development of Forensically Important Blow Fly *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, 44, n. 2, p. 351-358, 2007.
- OLIVEIRA, V. C.; d'ALMEIDA, J. M.; ABALEM DE SÁ, I. V.; MANDARINO, J. R.; SOLARI, C. A. Enterobactérias associadas a adultos de *Musca domestica* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) e *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1754) (Diptera: Calliphoridae) no Jardim Zoológico, Rio de Janeiro. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 58, n. 4, p. 556-561, 2006.
- OLIVEIRA-COSTA, J. *Entomologia Forense - Quando insetos são vestígios*. 2. ed., Rio de Janeiro, RJ: Millennium 448p., 2007.
- PITTENDRIGH, C. S. Circadian systems I. The driving oscillation and its assay in *Drosophila pseudoobscura*. *Proceeding of the National Academy of Science*, v. 58, p. 1762-1767, 1967.
- PITTENDRIGH, C. S. & SKOPIK, D. Circadian systems V. The driving oscillation and the temporal sequence of development. *Proceeding of the National Academy of Science*, v. 65, p. 500-507, 1970.
- QUEIROZ, M. M. C. Temperature Requirements of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Diptera, Calliphoridae) under laboratory conditions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 91, n. 6, p. 785-788, 1996.
- QUEIROZ, M. M. C. & MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. Técnicas de criação e alguns aspectos da biologia de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae), em condições de laboratório. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 8, p. 75-84, 1991.
- ROBERTS, R. M.; NORTHOVER, J. M.; LEWIS, R. D. Circadian clock control of rhythm of the brown blowfly *Calliphora stygia* (Diptera: Calliphoridae). *New Zealand Entomologist*, v. 7, n. 4, p. 424-431, 1983.
- RICHARDS, C. S.; PATERSON, L. D.; VILLET, M. H. Estimating the age of immature *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae), correcting for temperature and geographical latitude. *International Journal of Legal Medicine*, v. 122, n. 4, p. 271-279, 2008
- RING, A. Photoperiodic control of diapause induction in the larva of *Lucilia caesar* L. (Diptera: Calliphoridae). *The Journal of Experimental of Biology*, v. 46, p. 117-122. 1967.
- SUKONTASON, K.; BUNCHOO, M.; KHANTAWA, B.; PIANGJAI, S.; SUKONTASON, K.; METHANITIKORN, R.; RONGSRIYAM, Y. Mechanical carrier of bacterial enteric

- pathogens by *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) in Chiang Mai, Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health*, v. 31, Suppl. 1, p. 157-61, 2000.
- SUKONTASON, K. L.; NARONGCHAI, P.; SRIPAKDEE, D.; BOONCHU, N.; CHAIWONG, T.; NGERN-KLUN, R.; PIANGJAI, S.; SUKONTASON, K. First Report of Human Myiasis Caused by *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae) in Thailand, and Its Implication in Forensic Entomology. *Journal of Medical Entomology*, v. 42, n. 4, p. 702-704, 2005.
- TACHIBANA, S. -I. T. & NUMATA, H. Effect of temperature and photoperiod on the termination of larval diapause in *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Zoological Science*, v.21, p. 197-202, 2004 a.
- TACHIBANA, S. -I. T. & NUMATA, H. Maternal induction of larval diapause and its sensitive stage in the blowfly *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae). *Entomological Science*, v. 7, p. 231-235, 2004 b.
- TAKEDA, M. Photoperiodic time measurement and related physiological mechanisms in insects and mites. *Annual Review Entomology*, v. 42, p. 323-49, 1997.
- TANAKA, M.; TACHIBANA, S. -I. T.; NUMATA, H. Sensitive stages photoperiodic induction of pupal diapause in the flesh fly *Sarcophaga similis* (Meade) (Diptera: Sarcophagidae). *Applied Entomology and Zoology*, v. 43, n. 3, p. 403-407, 2008.
- WALL, R.; FRENCH, N.; MORGAN, K. L. Effects of temperature on the development and abundance of the sheep blowfly *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Bulletin of Entomological Research*, v. 82, p. 125-131, 1992.
- ZAR, J. H. *Biostatistical analysis*. 4th ed., New Jersey. Prentice-Hall, 663 p., 1999.
- ZUMPT, F. *Myiasis in man and animal in the Old World*. Butterworths, London, U. K, 267p., 1965.

CAPÍTULO III

CAPACIDADE EXPLORATÓRIA DE *Nasonia vitripennis* (PTEROMALIDAE) EM HOSPEDEIROS ENTERRADOS EM DIFERENTES PROFUNDIDADES: PERSPECTIVA FORENSE E CONTROLE BIOLÓGICO

1 - RESUMO

Estudos sobre hábitos de pupação de dípteros muscóides são de grande importância no entendimento da dinâmica populacional, para o desenvolvimento de planos de manejo envolvendo o controle biológico, bem como em pesquisas no âmbito forense. Entre as espécies de dípteros estudadas incluem-se a do gênero *Chrysomya* sp., devido a sua importância forense e médica-sanitária. A interação parasitóide–hospedeiro é um mecanismo complexo e envolve uma série de fatores que interferem na dinâmica trófica e parasitária, entre elas a profundidade em que os hospedeiros se enterram. O objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade parasitária das fêmeas parasitóides de *Nasonia vitripennis* em pupas de *Chrysomya megacephala* enterradas em diferentes profundidades (0,0 a 5,0 cm em intervalos de 0,5 cm). Para cada profundidade foi utilizado dois tempos de exposição, 48h e 72h, e a relação de 1 parasitóide / 1 hospedeiro. Houve um decréscimo no número de fêmeas parasitóides emergidas por pupa com o aumento da profundidade em 48h, no entanto, esta mesma tendência não foi observada em 72h. Para o número de machos não houve diferença significativa entre as diferentes profundidades e nem entre os tempos de exposição. Houve diferença significativa na razão sexual quando analisada a interação dos dois fatores (profundidade e tempo), observando-se valores menores em 48h, no entanto, para ambos os tempos e todas as profundidades houve um desvio da razão sexual para fêmeas. Foi observada uma tendência ao decréscimo da taxa de parasitismo à medida que as pupas estavam em maiores profundidades para ambos os tempos de exposição. Foram observadas pupas parasitadas até a profundidade de 2,0 cm em 48h e até 3,0 cm em 72h de exposição do hospedeiro ao parasitóide. Concluímos que a capacidade parasitária de fêmeas de *N. vitripennis* foi modulada tanto pelo fator profundidade de enterramento das pupas, como também pelo tempo em que foram expostas aos parasitóides.

2 - ABSTRACT

To increase the knowledge on the population dynamics of muscoid Diptera it is very important to study their pupation habits. These data may also be used for biological control and forensic studies. Several species of dipterans have been studied due to its forensic, medical and public health importance including those of the genus *Chrysomya*. The host-parasitoid relationship is a complex mechanism that involves a series of factors that interfere

in the trophic and parasitic dynamics, and one factor that can be highlighted is the depth in which the host is buried. The aim of this study was to evaluate the parasitic capacity of female parasitoids of *Nasonia vitripennis* exposed to pupae of *Chrysomya megacephala* buried at different depths in vermiculite ranging from 0.0 to 5.0 cm at 0.5 cm intervals. Two different periods of exposure were used for each depth: 48 and 72h for a ratio of 1 parasitoid/1 host. The number of parasitoid females emerged per pupae decreased as the depth increased during the 48h exposure, however, this same trend had not been observed for the 72h exposure. There has been no significant difference for the number of males comparing the different depths and times of exposure. There has been a difference in the sexual ratio when the interaction between depths and exposure times was analyzed: they were lower for the 48h exposure, however, for both periods of exposure and all depths, the ratio of females was higher ($r_s > 0.5$). There was a trend for a decrease in the parasitic rate for both periods of exposure as the pupae were buried farther from the surface. Parasitized pupae were observed in depths reaching 2.0 cm for 48h and 3.0 cm for 72h of exposure of the hosts to the parasitoids. In conclusion, the parasitic capacity of females of *N. vitripennis* was modulated both by the depth in which the pupae are buried and by the time during which they have been exposed to the parasitoids.

3 - INTRODUÇÃO

Espécies de dípteros muscóides apresentam como estratégia ecológica fototropismo negativo no estágio larval enterrando-se no solo para evitar a incidência direta de luz, perdas excessiva de água e também para se proteger do ataque intensivo de predadores e parasitóides (SIVINSKI, 1998). Estudos relacionados às profundidades de pupação mostram haver diferenças comportamentais entre as larvas de dípteros muscóides, podendo algumas espécies empupar próximas a superfície do solo como também em maiores profundidades (ULLYETT, 1950; MADEIRA; 1985; CAMACK *et al.*, 2009). Este comportamento pode ser influenciado por diversos fatores físicos (eg. temperatura, umidade relativa do ar, tipos de granulação e compactação do solo) e biológicos (eg. número de agregação larval e presença de potenciais parasitóides) (GOMES & VON ZUBEN, 2002, 2003; DIMOU *et al.*, 2003; GOMES & VON ZUBEN, 2005; CAMMACK *et al.*, 2009).

O conhecimento do comportamento de dispersão e enterramento larval é de grande importância, pois determina e interfere diretamente na suscetibilidade dos dípteros aos seus inimigos naturais (ULLYETT, 1950; MADEIRA, 1985; GREENBERG, 1990; CAMMACK *et al.*, 2009). Além disso, o conhecimento dos hábitos de pupação dos califorídeos é considerada uma ferramenta adicional que pode auxiliar as investigações forenses e fornecer pistas por onde procurar pelas evidências biológicas no local do crime.

As moscas do gênero *Chrysomya* Robineau-Desvoidy, 1830 (Diptera: Calliphoridae) costumam utilizar substratos discretos e efêmeros, entre eles carcaças de animais e fezes como recursos alimentares e sítios de ovipostura. São consideradas de grande importância médica e sanitária, pois são transmissoras de microorganismos patogênicos, além de causar miíases secundárias aos animais (ZUMPT, 1965; BAUMGARTNER & GREENBERG, 1984). Dentro deste gênero destaca-se *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) que além de ser um inseto vetor de diversos patógenos (FURLANETTO, *et al.*, 1984; SUKONTASON *et al.*, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2006), é também, considerada uma das principais espécies de importância forense no Brasil (OLIVEIRA-COSTA, 2007).

O estágio pupal de *C. megacephala* dura aproximadamente a metade do seu tempo de desenvolvimento total e muitos organismos estão envolvidos na exploração deste estágio, entre eles os insetos parasitóides (GREENBERG & KUNICH, 2002). Estudos relacionados à levantamento de microhimenópteros em diferentes áreas do Brasil, mostram uma grande variedade de espécies parasitando pupas de *C. megacephala* destacando-se *Brachymeria podagrica* (Fabricius, 1789) (Chalcididae), *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Pteromalidae) e *Pachycrepoideus vindemiae* Rondani, 1875 (Pteromalidae) (CARVALHO *et al.*, 2003; MARCHIORI, 2004 a). A espécie *N. vitripennis* costuma estar relacionada como a de maior incidência, tanto pelo fato de ser gregária (oviposição de mais de um ovo por hospedeiro) como também, por parasitar um grande número de pupas de *Chrysomya* sp. quando comparada às outras espécies de parasitóides (CARVALHO *et al.*, 2003; MARCHIORI, 2004 a).

Nasonia vitripennis é classificada como ectoparasitóide idiobionte de califorídeos, sarcófagídeos e muscídeos (WHITING, 1967). No Brasil, esta espécie já foi observada na natureza parasitando uma ampla variedade de pupas de dípteros muscídeos, como muscídeos entre eles, as espécies *Musca domestica* Linnaeus, 1758, *Synthesiomyia nudiseta* (Wulp, 1883) (SERENO & NEVES; 1993; MARCHIORI *et al.*, 2000; MARCHIORI, 2001);

califorídeos como *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819), *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818), *C. megacephala* (SERENO & NEVES, 1993; MARCHIORI & LINHARES 2000; MARCHIORI *et al.*, 2000; MARCHIORI, 2004 b) e sarcófagídeos como *Peckia* (*Peckia*) *chrysostoma* (Wiedemann, 1830), *Sarcodexia lambens* (Wiedemann, 1830) e *Oxysarcodexia thornax* (Walker, 1849) (MARCHIORI *et al.*, 2000; MARCHIORI, 2002).

A atividade parasitária de *N. vitripennis* é uma interação complexa e seu sucesso depende de algumas ações relacionadas principalmente às fêmeas, destacando-se a capacidade de localização, avaliação da qualidade e regulação fisiológica do hospedeiro (BRODEUR & BOIVIN, 2004). Estas ações envolvem estímulos sensoriais (olfato, visão, audição) e domínio do hospedeiro para a exploração dos recursos tróficos e reprodutivos (HASSEL, 1978). Este processo de encontro e seleção dos hospedeiros ocorre em curta escala de tempo e requer observação direta do comportamento forrageador das fêmeas.

Um dos principais fatores na regulação natural do ciclo dos parasitóides é o encontro de seus hospedeiros e isto dependerá da habilidade das fêmeas em explorá-los sob diferentes profundidades no solo. Estudos referentes à capacidade parasitária são de extrema importância para direcionar programas de controle biológico, ecologia de populações e pesquisas no âmbito forense.

Alguns estudos sobre comportamento de dispersão e enterramento das larvas de dípteros muscóides já foram desenvolvidos (GOMES & VON ZUBEN, 2002; GOMES & VON ZUBEN, 2003; GOMES & VON ZUBEN, 2005), no entanto, existem poucas pesquisas relacionadas à atividade parasitária de *N. vitripennis* em hospedeiros localizados em diferentes profundidades (ULLYETT, 1950). Em vista disto, o objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade parasitária de *N. vitripennis* em pupas de *C. megacephala* enterradas em diferentes profundidades por dois períodos de exposição do hospedeiro ao parasitóide. A hipótese do estudo é que hospedeiros enterrados em maiores profundidades são menos suscetíveis ao ataque dos parasitóides e prolongados tempos de exposição dos hospedeiros aos parasitóides aumentam as chances da ocorrência do parasitismo. Especificamente pretendeu-se responder às seguintes questões:

- 1) As diferentes profundidades de enterramento das pupas exercerá influência no número de parasitóides emergidos por pupa de *C. megacephala*?
- 2) Ocorrerá variabilidade da razão sexual dos parasitóides entre hospedeiros enterrados em diferentes profundidades?

- 3) As maiores taxas de parasitismo de *N. vitripennis* serão encontradas em pupas mais próximas da superfície?
- 4) O tempo de exposição do hospedeiro ao parasitóide influenciará sua taxa de parasitismo?

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1 - Coleta e estabelecimento da colônia de insetos

As colônias de *N. vitripennis* e *C. megacephala* foram formadas a partir de coletas no município do Rio de Janeiro, RJ, mais exatamente no campus da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). As armadilhas foram expostas em um local com alto grau de perturbação antrópica (22°52'S 43°14'O), onde a vegetação predominante era *Eugenia jambolana* (Jamelão), *Panicum maximum* (capim colonial), *Caesalpinia ferrea* (pau-ferro) e *Lecythis* sp. (sapucaia).

A coleta de *C. megacephala* foi realizada a partir de modelos de armadilhas descritas por MELLO *et al.* (2007), as quais continham sardinha putrefata (200g) descongelada 24h antes da exposição. Estas armadilhas permaneceram no campo por 48h. Após este período, os dípteros adultos foram coletados e levados para o laboratório, onde foi realizada a identificação taxonômica baseada em MELLO (2003). A manutenção da colônia seguiu a metodologia preconizada por QUEIROZ & MILWARD-DE-AZEVEDO (1991).

Para coleta de *N. vitripennis* as larvas maduras de *C. megacephala* provenientes da colônia pré-estabelecida em laboratório, foram levadas para o campo, onde foram mantidas no interior de recipientes plásticos (300 mL), os quais foram inseridos no interior de armadilhas seguindo o mesmo modelo das armadilhas de dípteros. Nas armadilhas foi, também, colocado aproximadamente 100g de sardinha em processo de decomposição que serviu de fonte de apneumônio para os parasitóides. Este conjunto permaneceu no campo por sete dias (168h). Após este período, as pupas foram levadas para o laboratório e individualizadas em tubos de ensaio, onde foi aguardada a emergência do hospedeiro e/ou parasitóide.

Após a obtenção dos parasitóides, eles foram identificados a partir de RUEDA & AXTELL (1985 a). Os parasitóides adultos foram criados em recipientes plásticos transparentes (capacidade 2L), os quais foram vedados com tecido de náilon de malha fina, que permitia a entrada de ar e impedia a fuga dos insetos. Foram colocados aproximadamente 50 casais por gaiola (n=10). Como fonte nutricional foi oferecido mel puro pincelado em papel filtro e água em algodão. Regularmente foram oferecidas pupas de califorídeos que

serviram como fonte nutricional adicional para as fêmeas e também para manutenção da colônia estoque de parasitóides (MELLO & AGUIAR-COELHO, 2009).

4.2 - Delineamento experimental

Pupas recém formadas de *C. megacephala*, oriundas da 2ª geração mantida em laboratório, foram colocadas em tubos de ensaio (10,0 cm altura x 1,5 cm diâmetro) graduados em centímetros. Cada pupa foi colocada no fundo do tubo e coberta por vermiculita (substrato de pupação) de acordo com as profundidades a serem testadas: 0,0 (correspondeu a superfície); 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0 cm, totalizando 11 níveis e 20 réplicas / nível. Foi utilizada a relação de uma fêmea nulípara do parasitóide para um hospedeiro em cada tubo de ensaio (1:1), o qual foi vedado com algodão hidrófobo. Para cada profundidade foram testados dois tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide, 48h e 72h. Adicionalmente, foi utilizado um tratamento controle, contendo somente a pupa sem a presença da fêmea parasitóide (20 réplicas), com a finalidade de avaliar a taxa natural de mortalidade do hospedeiro. Portanto, no experimento foram utilizados 23 tratamentos contendo cada um 20 réplicas, totalizando 460 amostras.

Todas as pupas utilizadas seguiram a mesma padronização de qualidade, ou seja, foram oriundas da mesma geração de moscas, idade e peso similares, os quais foram aferidos em balança semi-analítica com precisão de 0,01mg. Todos os tratamentos foram acompanhados diariamente até o 30º dia após o início do experimento. O experimento foi realizado em condições ambientais, sendo aferida diariamente a temperatura, a qual variou de 22 a 26 °C e com umidade relativa de aproximadamente 60 ± 10%.

4.3 - Análise dos dados

As variáveis respostas consideradas no experimento foram o número de parasitóides (fêmeas, machos e soma de machos e fêmeas), a razão sexual e a porcentagem de parasitismo. Para testar as possíveis diferenças no número de parasitóides emergidos de cada pupa foi utilizada análise de variância de dois fatores (ANOVA *two way*), estabelecendo-se como fatores aleatórios a profundidade de enterramento das pupas (cinco níveis: 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 cm) e o tempo de exposição das pupas aos parasitóides (dois níveis: 48h e 72h). A profundidade de enterramento foi reduzida para cinco níveis, pois a partir de 2,0 cm não houve pupas parasitadas em 48h de exposição do hospedeiro ao parasitóide. Para esta análise foi realizada a verificação da homogeneidade da distribuição das variâncias dentro de cada nível testado. O número de machos emergidos por pupa foi transformado em log (x) para

obter a homocedasticidade. Para comparações posteriores foi utilizado teste Tukey-HSD com nível significância de 5% (GOTELLI & ELLISON, 2011).

A razão sexual (proporção de fêmeas) foi realizada seguindo a fórmula proposta por SILVEIRA NETO *et al.* (1976): definido por: $rs = \text{número de fêmeas} / (\text{número de fêmeas} + \text{número de machos})$.

$$rs = \frac{N_{\text{fêmeas}}}{(N_{\text{fêmeas}} + N_{\text{machos}})}$$

onde: rs = razão sexual; $N_{\text{fêmeas}}$ = número de fêmeas; e N_{machos} = número de machos

As diferenças entre as razões sexuais foram estimadas pela ANOVA de dois fatores assumindo como fatores aleatórios: a profundidade e o tempo de exposição (GOTELLI & ELLISON, 2011). Para comparações posteriores foi utilizado o teste Tukey-HSD com nível significância de 5% (GOTELLI & ELLISON, 2011).

As taxas de parasitismo nas diferentes profundidades de enterramento das pupas foram testadas dentro de cada tempo de exposição através do teste Qui-quadrado (χ^2), usando dados binários de presença e ausência e nível de significância de 5%. Para fortalecer e complementar o teste χ^2 foi realizado o teste linear de Cochran para verificar se houve tendência linear nas taxas de parasitismo entre as diferentes profundidades (COCHRAN, 1954; ARMITAGE, 1955).

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de parasitóides emergidos por pupa indicou diferenças significativas pela ANOVA de dois fatores ($p < 0,001$). Quando analisado o número de fêmeas emergidas por pupa foi observado que a análise isolada do fator tempo teve efeito significativo ($p < 0,038$), havendo um maior número de fêmeas em pupas expostas por 72h (Figura 1). Quando analisado somente o fator profundidade, não houve diferença significativa entre o número de fêmeas emergidas por pupas nas diferentes profundidades ($p = 0,5$) (Figura 1).

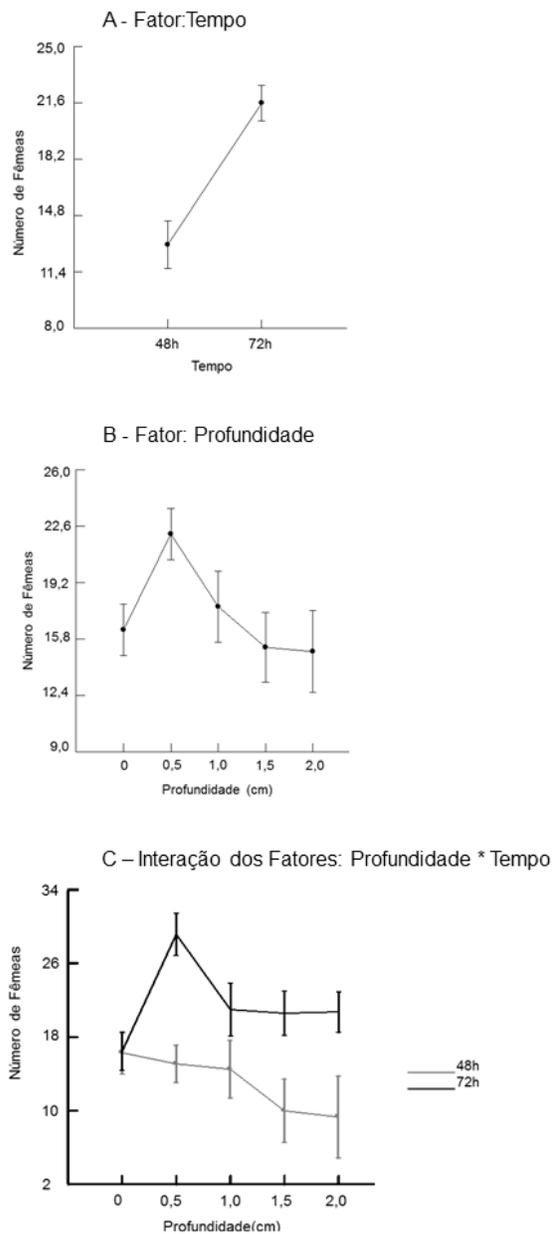


Figura 1: Média (\pm desvio padrão) do número de fêmeas de *Nasonia vitripennis* (Pteromalidae) emergidas por pupa de *Chrysomya megacephala* (Calliphoridae) nas diferentes profundidades e tempos de exposição, analisados pela ANOVA de dois fatores (A- Fator: Tempo; B- Fator: Profundidade; C- Interação dos fatores: Profundidade*Tempo).

Por outro lado, considerando a interação dos dois fatores (profundidade e tempo) foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) (Tabelas 1 e 2; Figura 1). O número de machos emergidos por pupa não mostrou diferença significativa nem quando analisados os dois fatores separadamente ($p > 0,05$) e nem quando considerada a interação dos dois fatores ($p = 0,2$) (Tabela 1 e 2; Figura 2). Para o número total de parasitóides (soma de machos e fêmeas) somente a interação entre os dois fatores foi significativa ($p < 0,001$) (Tabelas 1 e 2; Figura 3).

Foi observada uma tendência ao decréscimo do número de fêmeas com o aumento da profundidade em 48h de exposição do hospedeiro ao parasitóide. Houve um declínio progressivo com o aumento das profundidades até atingir o mínimo de fêmeas nas pupas enterradas em 2,0 cm de profundidade (Tabela 2 e Figura 1). Em 72h, não foi observada esta tendência, já que o maior número de fêmeas foi observado em pupas próximas à superfície, precisamente em 0,5 e 1,0 cm de profundidade. O número de fêmeas em 72h provenientes das pupas encontradas nas outras profundidades não mostrou diferenças (Tabela 1). Em relação aos machos, apesar do número de indivíduos ter sido maior na superfície em 48h, o valor não foi suficiente para diferir estatisticamente das demais profundidades, nem mesmo quando comparado ao outro tempo de exposição (Tabela 2 e Figura 2).

Assim, foi observado que as diferentes profundidades, bem como o tempo de exposição, exerceram influência no número de parasitóides emergidos por pupa, principalmente de fêmeas. Provavelmente, essa diferença está relacionada ao número de ovos colocados por pupa, já que para tempos de exposição mais longos, é possível que ocorra uma maior taxa de oviposição, principalmente em pupas próximas a superfície. Estes dados não corroboram os dados de MELLO *et al.* (2010), em que observaram que os diferentes períodos de exposição (24h, 48h, 72h e 96h) do hospedeiro ao parasitóide não influenciaram o número de parasitóides emergidos por pupa. Porém em seu estudo, os hospedeiros não se encontravam enterrados a qualquer profundidade, estavam somente na superfície.

Tabela 1: Análise de variância de dois fatores comparando o número de parasitóides (*Nasonia vitripennis*) emergidos por pupa de *Chrysomya megacephala* entre os diferentes níveis dos fatores utilizados (análise isolada dos dois fatores: profundidade, tempo e análise da interação destes dois fatores: profundidade * tempo).

Fonte de variação	Efeito (F/R)	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
Fêmeas						
Profundidade	Aleatório	668,14	4	167,03	1,002	0,499
Tempo	Aleatório	1.354,97	1	1.354,97	8,688	0,038
Profundidade *	Aleatório	666,76	4	166,69	2,855	0,028
Tempo						
Erro		4.844,99	83	58,37		
Machos						
	Aleatório	95,071	4	23,768	1,131	0,453
Profundidade					4	
Tempo	Aleatório	11,660	1	11,660	0,572	0,486
Profundidade *	Aleatório	84,025	4	21,006	1,524	0,203
Tempo						
Erro		1.102,530	80	13,782		
Total						
(fêmeas+machos)						
Profundidade	Aleatório	771,49	4	192,87	0,720	0,620
Tempo	Aleatório	1.148,60	1	1.148,60	4,642	0,0935
Profundidade *	Aleatório	1.070,77	4	267,69	3,840	0,0064
Tempo						
Erro		5.925,20	85	69,71		

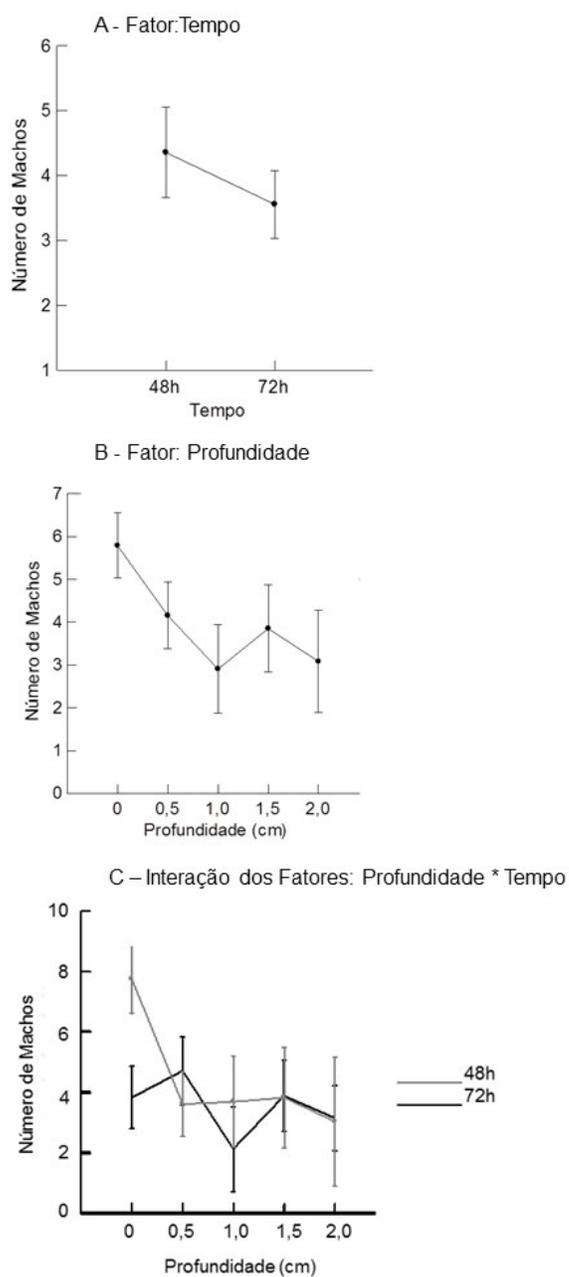


Figura 2: Média (\pm desvio padrão) do número de machos de *Nasonia vitripennis* (Pteromalidae) emergidos por pupas de *Chrysomya megacephala* (Calliphoridae) nas diferentes profundidades e tempos de exposição, analisados pela ANOVA de dois fatores (A- Fator: Tempo; B- Fator: Profundidade; C- Interação dos fatores: Profundidade*Tempo).

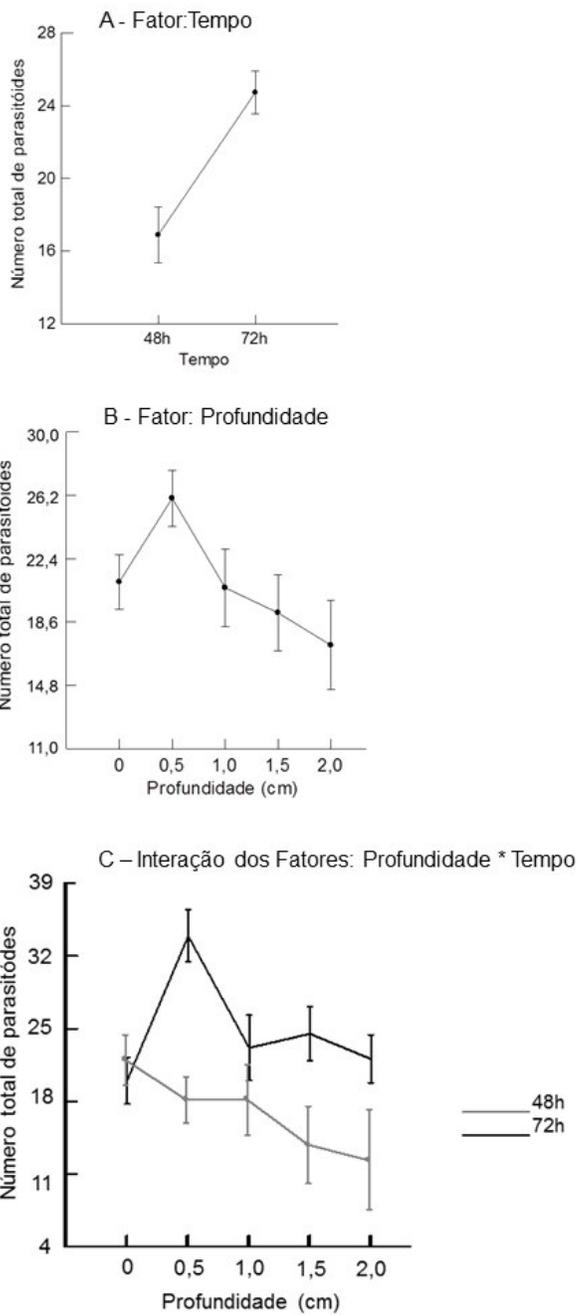


Figura 3: Média (\pm desvio padrão) do número total (machos + fêmeas) de *Nasonia vitripennis* (Pteromalidae) emergidos por pupa de *Chrysomya megacephala* (Calliphoridae) nas diferentes profundidades e tempos de exposição, analisados pela ANOVA de dois fatores (A-Fator: Tempo; B- Fator: Profundidade; C- Interação dos fatores: Profundidade*Tempo).

Tabela 2: Número médio (\pm desvio padrão) de parasitóides (*Nasonia vitripennis*) emergidos por pupa de *Chrysomya megacephala* (Calliphoridae) nas diferentes profundidades de enterramento das pupas e tempos de exposição destas pupas ao parasitóide.

Profundidade de pupação (cm)	N° de Fêmeas (Média \pm DP)		N° de Machos (Média \pm DP)		N° Total (Fêmeas + Machos) (Média \pm DP)	
	48h	72h	48h	72h	48h	72h
0,0	16,27 \pm 5,88 b	16,43 \pm 5,39 b	7,27 \pm 8,44 a	3,85 \pm 2,03 a	22,00 \pm 2,37 b	20,00 \pm 6,45 b
0,5	15,07 \pm 6,84 b	29,18 \pm 8,66 a	3,58 \pm 1,24 a	4,73 \pm 1,62 a	18,14 \pm 1,88 b	33,91 \pm 8,96 a
1,0	14,50 \pm 6,44 b	21,00 \pm 8,91 a,b	3,67 \pm 1,86 a	2,14 \pm 0,69 a	18,17 \pm 2,96 b	23,14 \pm 8,91 a,b
1,5	10,00 \pm 6,04 b	20,60 \pm 0,74 a,b	3,80 \pm 3,03 a	4,33 \pm 4,90 a	13,80 \pm 1,39 b	24,5 \pm 10,54 a,b
2,0	9,33 \pm 6,81 b	20,75 \pm 8,54 a,b	3,00 \pm 1,73 a	3,17 \pm 1,53 a	12,33 \pm 3,33 b	22,08 \pm 10,59 b
2,5*	-	23,14 \pm 9,04	-	2,29 \pm 0,95	-	25,43 \pm 9,52
3,0*	-	24,44 \pm 3,56	-	2,56 \pm 1,33	-	27,00 \pm 4,24

Na tabela entende-se: colunas referentes ao sexo do parasitóide \rightarrow letras diferentes diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey-HSD.

*Para as profundidades 2,5 e 3,0 cm não foi realizada uma análise comparativa, pois a emergência de parasitóide somente ocorreu nestas profundidades utilizando 72h de exposição. DP = Desvio padrão.

Outros estudos já foram desenvolvidos visando inferir quais fatores afetariam a produtividade de parasitóides por pupa. Por exemplo, MELLO *et al.* (2009) observaram que na exposição de 48h do hospedeiro ao parasitóide, houve um decréscimo de fêmeas parasitóides emergidas por pupa à medida que se aumentava a competição por sítios de ovipostura (número de fêmeas sobre um único hospedeiro). BARBOSA *et al.* (2008) observaram que à medida que se aumentava o número de hospedeiros expostos a uma única fêmea havia uma diminuição do número de parasitóides emergidos por pupa e explicou este fenômeno como uma consequência das distribuições regulares de postura entre os hospedeiros disponíveis. Observa-se, então, que o número de parasitóides emergidos por pupa, ou até mesmo, o número de ovos colocados, pode ser afetado por diversas razões, como pela profundidade de enterramento dos hospedeiros, tempo de exposição do hospedeiro ao parasitóide, número de fêmeas localizadas no sítio de cópula e distribuições agregadas de hospedeiros.

A análise de dois fatores mostrou diferenças na razão sexual entre os dois tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide, apresentando valores inferiores no grupo exposto por 48h quando comparado ao grupo exposto por 72h (Tabela 3 e Figura 4). Os valores das razões sexuais foram similares na análise isolada do fator profundidade ($p = 0,64$) e pela interação dos dois fatores (tempo e profundidade, $p = 0,38$) (Tabela 3 e Figura 4). Pôde se observar que para ambos os tempos e todas as profundidades, houve um desvio da razão sexual voltado para fêmeas ($r_s > 0,5$) (Tabela 4).

Muitos estudos têm sido desenvolvidos no sentido de propor teorias para explicar a regulação da razão sexual em microhimenópteros com partenogênese arrenótoca, onde machos se desenvolvem de ovos não fertilizados e fêmeas de ovos fertilizados (HAMILTON, 1967; KING, 1987; KING 1992; REECE *et al.*, 2004; WERREN, 1983). Em geral, quando a fêmea parasitóide não disputa por sítios de cópula e oviposição com outras fêmeas, elas tendem a produzir uma razão sexual tendenciada ao sexo feminino ($r_z > 0,5$) (MELLO & AGUIAR-COELHO, 2009; MELLO *et al.*, 2009). No presente estudo, não foi diferente, houve um desvio da razão sexual para o sexo feminino em todas as profundidades e tempos de exposição. Possivelmente, este fato deve estar relacionado à exposição de uma única fêmea a um único hospedeiro.

Tabela 3: Análise de variância de dois fatores comparando as razões sexuais de *Nasonia vitripennis* (Pteromalidae) emergidos das pupas de *Chrysomya megacephala* (Calliphoridae) dispostas em diferentes profundidades de enterramento e tempos de exposição.

Fonte de variação	Efeito F/R	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
Profundidade	Aleatório	0,057	4	0,014	0,669	0,646
Tempo	Aleatório	0,175	1	0,175	8,298	0,035
Profundidade*Tempo	Aleatório	0,084	4	0,021	1,052	0,385
Erro		1,672	83	0,020		

Tabela 4: Média da razão sexual de *Nasonia vitripennis* (Pteromalidae) para cada profundidade de enterramento das pupas de *Chrysomya megacephala* (Calliphoridae) e para os diferentes tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide.

Profundidade de pupação (cm)	Razão Sexual (Média ± DP)	
	48h	72h
0,0	0,79±0,25	0,82±0,09
0,5	0,81±0,12	0,85±0,07
1,0	0,78±0,08	0,85±0,16
1,5	0,67±0,33	0,85±0,22
2,0	0,70±0,23	0,88±0,25
2,5*	-	0,90±0,05
3,0*	-	0,91±0,04

*Para as profundidades 2,5 e 3,0 cm não foi realizada uma análise comparativa, pois houve somente emergência de parasitóides em 72h para estas profundidades. DP= Desvio padrão.

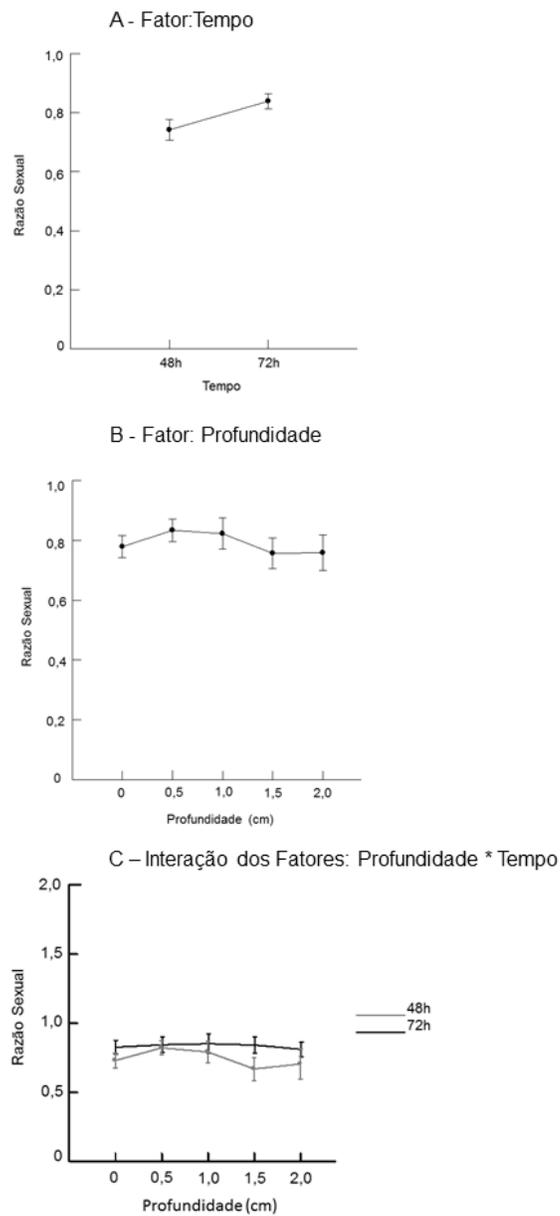


Figura 4: Média (\pm desvio padrão) da razão sexual de *Nasonia vitripennis* (Pteromalidae) provenientes de pupas de *Chrysomya megacephala* (Calliphoridae) nas diferentes profundidades e tempos de exposição, analisados pela ANOVA de dois fatores (A- Fator: Tempo; B- Fator: Profundidade; C- Interação dos fatores: Profundidade*Tempo).

As fêmeas de *N. vitripennis* podem regular a taxa de ovos que serão fertilizados e colocados em seus hospedeiros, dependendo das condições encontradas nos sítios de oviposição, como as variações do número de fêmeas competidoras no local de cópula, teoria notoriamente conhecida por *local mate competition* (LMC) proposta por HALMINTON (1967). E também pelos níveis de agregação e qualidade dos hospedeiros (KING, 1992), idade das fêmeas parasitóides e oscilações de temperaturas (KING, 1987).

Segundo a teoria *local mate competition* (HALMINTON, 1967), as fêmeas costumam investir em uma maior quantidade de machos em sua progênie quando há disputas com outras fêmeas no local de cópula, pois desta forma aumentam as chances de um de seus filhos, ao emergirem, copularem com outras fêmeas disponíveis no orifício de emergência. Isto ocorre, pois os machos são incapazes de voar para se dispersarem e procurarem por outras fêmeas, longe do local de emergência. Quando a situação é contrária, ou seja, uma única fêmea parasitóide está no local de cópula, ela produz um número reduzido de machos, o suficiente para copular com as fêmeas disponíveis no local de emergência (MELLO & AGUIAR-COELHO, 2009). Desta forma, os dados do presente estudo estão de acordo com a proposta desta teoria.

Com relação à influência da qualidade do hospedeiro sobre a razão sexual, sabe-se que os machos necessitam de um menor investimento da qualidade do recurso, portanto pupas consideradas de baixa qualidade (eg. idade avançada, tamanho reduzido, contaminação) terão um desvio da razão sexual para machos ($rs < 0,5$) (KING & HOPKINS, 1963). No presente estudo como todas as pupas seguiram um mesmo padrão de qualidade, ou seja, foram oriundas da mesma geração de moscas, com a mesma idade e pesos similares, essa variável não seria preditora da razão sexual.

As taxas de parasitismo diferenciaram entre as profundidades e os tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide. Em 48h houve uma tendência linear (tendência linear de Cochran: valor = 1,188; gl = 1; $p < 0,001$) para a redução das pupas parasitadas com o aumento da profundidade (Teste χ^2 : valor = 18,75; gl = 4; $p < 0,01$) (Tabela 5 e Figura 5). No entanto, no período de 72h de exposição não houve essa tendência linear (tendência linear de Cochran: valor = 2,065; gl = 1; $p = 0,158$), as taxas de parasitismo não diferenciaram estatisticamente entre as diferentes profundidades de enterramento das pupas (Teste χ^2 : valor = 8,97; gl = 6; $p = 0,175$) (Tabela 5).

Tabela 5: Tabela da taxa de emergência (frequência) de *Nasonia vitripennis* (Pteromalidae) e do hospedeiro *Chrysomya megacephala* (Calliphoridae) e sua inviabilidade (*) a partir do teste χ^2 com nível de significância 5%, nas diferentes profundidades de enterramento das pupas dentro de cada período de exposição do hospedeiro ao parasitóide.

Profundidade de pupação (cm)	Taxa de emergência do parasitóide (%)		Taxa de emergência do hospedeiro(%)		Taxa de inviabilidade do hospedeiro*(%)	
	48h	72h	48h	72h	48h	72h
0,0	60	70	5	30	35	0
0,5	70	55	25	25	5	20
1,0	30	35	45	60	25	5
1,5	25	50	75	45	0	5
2,0	15	65	80	30	5	5
2,5	0	35	100	60	0	5
3,0	0	45	100	50	0	5

*Taxa de inviabilidade do hospedeiro: não emergiu nem parasitóide e nem mosca.

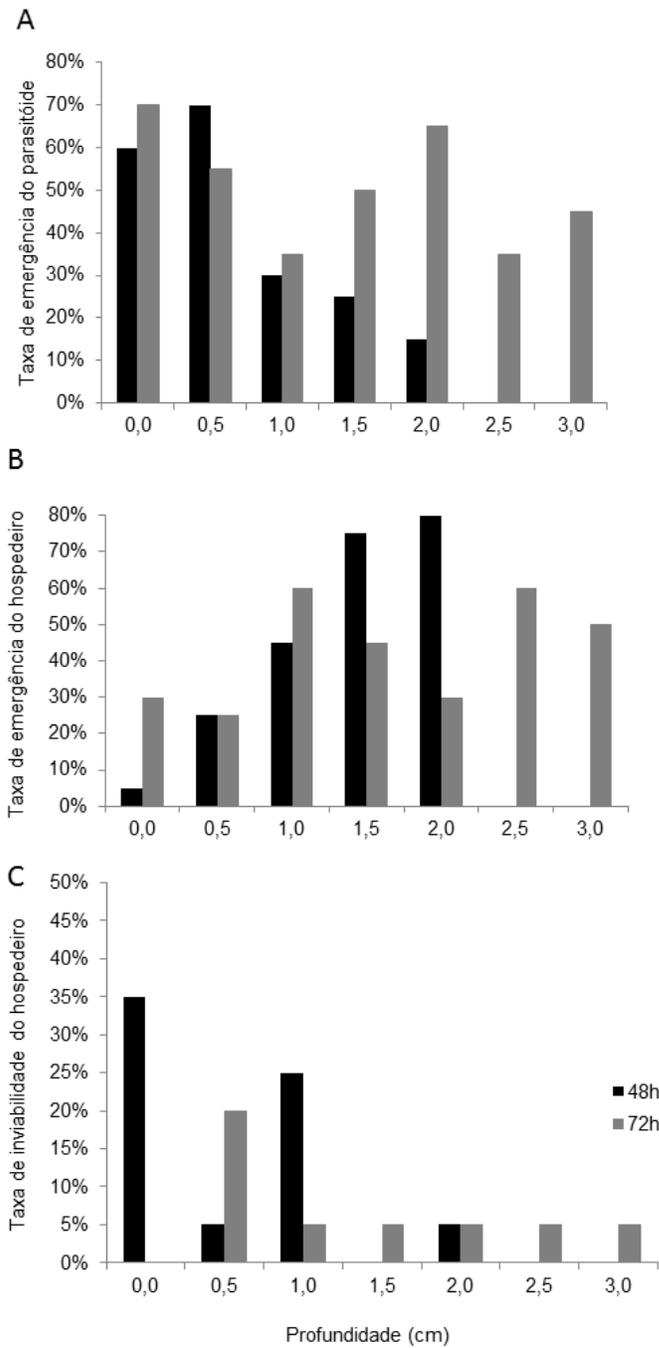


Figura 5: Taxa de emergência de *Nasonia vitripennis* (A) (Pteromalidae) e do hospedeiro *Chrysomya megacephala* (B) (Calliphoridae) com sua inviabilidade (C), nas diferentes profundidades de enterramento das pupas e diferentes tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide.

As frequências de pupas parasitadas foram similares desde a superfície até a profundidade de 1,0 cm quando foi comparado os dois tempos de exposição (Figura 5). Porém, nas maiores profundidades, as taxas de parasitismo foram sempre mais elevadas quando as pupas foram expostas aos parasitóides por 72h. As taxas de parasitismo em 72h nas profundidades de 1,5 cm foram o dobro e em 2,0 cm o quádruplo quando comparadas às mesmas profundidades em 48h (Tabela 5 e Figura 5). Pode se dizer que até a profundidade de 1,0 cm o tempo de exposição do hospedeiro ao parasitóide não afeta tanto a taxa de parasitismo, porém para pupas enterradas em profundidades maiores o parasitóide será capaz de parasitar, principalmente, se o tempo de exposição for aumentado.

Com relação à capacidade parasitária de *N. vitripennis* foi observado que tanto o fator profundidade quanto o tempo de exposição ao parasitismo foram determinantes. Em 48h de exposição, os parasitóides só conseguiram parasitar pupas até a profundidade de 2,0 cm. Pupas enterradas em maiores profundidades não foram parasitadas, porém, não se pode dizer apenas com este dado que 2,0 cm é a a profundidade máxima que um parasitóide pode alcançar, pois ao incluir o outro fator tempo (72h) essa capacidade exploratória se estendeu até 3,0 cm. Logo, é possível dizer que os dois fatores foram capazes de modular a capacidade exploratória de *N. vitripennis*, tendo o tempo de exposição exercido um efeito adicional e indispensável.

É possível dizer que o limite de parasitismo desta espécie de microhimenóptero seja próximo à profundidade de 3,0 cm, já que aumentando o tempo de exposição do hospedeiro ao parasitóide, existirá um limite temporal e biológico em que o parasitóide pode alcançar e parasitar seu hospedeiro. À medida que o tempo transcorre a cutícula do pupário do hospedeiro torna-se mais rígida e de difícil acesso a penetração do ovipositor do parasitóide. Além disso, ocorre a transição dos estágios de desenvolvimento do hospedeiro e os parasitóides somente ovipõem no estágio de pupa. Alguns estudos indicam que o período de desenvolvimento larval de *C. megacephala* dura aproximadamente 96h e o período pupal varia de 96h até 168h em $27 \pm 1^\circ\text{C}$ (MARTINS *et al.*, 2009; PIRES *et al.*, 2009).

Houve uma relação positiva entre a taxa de emergência de moscas e a profundidade de enterramento das pupas para ambos os tempos de exposição. Essa relação foi significativa em 48h, onde se observou a menor taxa de emergência do hospedeiro na superfície (5,0%) e a maior em 2,0 cm de profundidade (80,0%) (Tabela 5 e Figura 5). Em 72h de exposição, essa tendência não foi significativa.

Foi observado que fêmeas parasitóides de *N. vitripennis* foram capazes de parasitar pupas encontradas enterradas no solo, porém, essa taxa de parasitismo foi fortemente influenciada pelo tempo de exposição do hospedeiro ao parasitóide. A taxa de inviabilidade de pupas (sem emergência de hospedeiro e nem de parasitóides) foi similar entre as diferentes profundidades e tempos de exposição, variando em torno de 5,0%, com exceção das pupas expostas na superfície, como também em 1,0 cm para 48h de exposição (30,0 e 25,0%, respectivamente) e 0,5 cm em 72h de exposição (20%) (Tabela 5 e Figura 5). A inviabilidade destas pupas pode ter sido por causas diversas como a utilização das pupas somente como recurso alimentar e/ ou pela própria tentativa frustrada de oviposição (GODFRAY, 1994; HEIMPEL *et al.*, 1996).

Uma das principais questões que o presente estudo vem tentar responder está relacionada à indicação dos hospedeiros mais suscetíveis aos ataques de *N. vitripennis*, no entanto, para isso é também, necessário o conhecimento do comportamento de pupação de alguns dípteros muscóides. No estudo de MADEIRA (1985), foi observado que o maior número de pupas encontradas na superfície (0,0 cm) foi de *C. albiceps* (84,21%), alcançando a profundidade máxima de 2,9 cm (2,26%) e *Chrysomya chloropyga* (Wiedemann, 1818) que apresentou frequência de 100% na superfície (0,0 cm). Já as pupas de *Hemilucilia flavifacies* (Engel, 1931) tiveram frequências uniformes até 2,0 cm, sendo encontradas pupas até 2,9 cm. *Lucilia eximia* (Wiedemann, 1819) apresentou hábito de pupação diferente das demais espécies, enterrando-se mais profundamente, sendo observadas desde 2,0 cm até 10,0 cm e com maior frequência na faixa de 5,0 - 5,9cm (MADEIRA, 1985). ULLYETT (1950) obteve dados semelhantes com relação aos hábitos de pupação de *Lucilia sericata*, *C. chloropyga* e *C. albiceps*, ou seja, a maior frequência de *L. sericata* foi encontrada na faixa de 1,27 - 3,81 cm (54,6%) e ocorreu até 6,35 cm de profundidade, já as pupas do gênero *Chrysomya* foi mais frequente na superfície (57,0% de *C. albiceps* e 98,7% de *C. chloropyga*).

Através dos estudos de pupação e dos resultados presentes foi possível inferir quais dentre estas espécies de dípteros são mais suscetíveis ao ataque de *N. vitripennis*, sendo aquelas que empupam mais próximas a superfície como é o caso das espécies de califorídeos pertencentes aos gêneros *Chrysomya* sp. e *Hemilucilia* sp. Larvas do gênero *Lucilia* sp., por outro lado, devido à sua maior capacidade de enterramento seriam menos suscetíveis aos ataques destes parasitóides. Por outro lado, foi observado em condições não controladas que as maiores taxas de parasitismo de *N. vitripennis* foram em *L. sericata* e *C. albiceps*

(REIGADA, 2009). CAMACK *et al.* (2009) observaram que a dispersão das larvas, pupação e parasitismo de *L. sericata* foi potencialmente influenciada pelos graus de compactação do solo. Estes autores observaram que quanto menor o grau de compactação do solo mais profundamente as larvas de *L. sericata* se enterrariam e conseqüentemente seriam menores as taxas de parasitismo. No entanto, à medida que o grau de compactação do solo aumentou as larvas se enterraram em menor densidade e conseqüentemente ficaram mais expostas ao parasitismo de *N. vitripennis* (CAMACK *et al.*, 2009).

Com todas estas observações é possível dizer que a profundidade de enterramento do hospedeiro e o seu parasitismo são influenciados pelo tempo de exposição do hospedeiro ao parasitóide, profundidade de pupação, tamanho da granulação e compactação do solo, umidade, dispersão radial das larvas e até mesmo a presença de outros parasitóides no momento do parasitismo (GUILLÉN *et al.*, 2001; CAMACK *et al.*, 2009).

A hipótese inicial de que as diferentes profundidades e os tempos de exposições influenciariam as taxas de parasitismo de *N. vitripennis* foi aceita. Foi possível inferir que *N. vitripennis* tem sua atividade parasitária ampliada em áreas onde os hospedeiros tendem a empupar próximos à superfície, podendo o parasitismo se estender até profundidades próximas a 3,0 cm por longos períodos de exposição do hospedeiro ao parasitóide. Portanto, pode se dizer que *N. vitripennis* apresenta comportamento de localização do hospedeiro similar a *Muscidifurax raptor* Girault & Sanders, 1910, *Muscidifurax zaraptor* Kogan & Legner 1970 e *P. vindemiae* por parasitam principalmente dípteros que empupam próximos à superfície. E apresentam comportamento distinto aos parasitóides do gênero *Spalangia* sp. (eg. *Spalangia cameroni* Perkins, 1910, *S. endius* Walker, 1839 e *Spalangia nigroaenea* (Curtis, 1839) que costumam parasitar hospedeiros em locais bem abaixo da superfície, alcançando profundidades de até dez centímetros (RUEDA & AXTELL, 1985b).

O presente estudo contribui de forma significativa para pesquisas no âmbito da ecologia populacional, controle biológico e entomologia forense, principalmente quando os insetos (eg. dípteros ou parasitóides) são as únicas evidências biológicas do crime. Através destes resultados é possível relacionar as espécies de dípteros mais vulneráveis ao ataque de *N. vitripennis* e auxiliar a elaboração de programas de controle de insetos vetores.

6 - CONCLUSÕES

Em vista das questões levantadas concluiu-se que:

- 1) O número de parasitóides emergidos por pupa de *C. megacephala* é influenciado principalmente pelo tempo em que o hospedeiro fica exposto as fêmeas parasitóides, havendo uma tendência ao aumento do número de parasitóides com o aumento do tempo de exposição. No entanto, é importante considerar a profundidade de enterramento em que se encontram as pupas, pois este fator, interagindo com o tempo de exposição, influenciará no número de parasitóides emergidos. Houve uma exceção para o número de machos que permaneceu similar entre as diferentes profundidades e tempos de exposição;

- 2) Houve um desvio da razão sexual para fêmeas de *N. vitripennis* em todas as profundidades e tempos de exposição, apresentando valores da razão sexual menores quando as pupas de *C. megacephala* foram expostas por tempos mais curtos ao parasitóide;

- 3) Houve um decréscimo da taxa de parasitismo de *N. vitripennis* com o aumento das profundidades de enterramento da pupas de *C. megacephala*;

- 4) A queda do parasitismo de *N. vitripennis* com o aumento da profundidade foi mais pronunciada quando as pupas de *C. megacephala* foram expostas a 48h. Sendo assim, observa-se que além da variável profundidade, o fator tempo de exposição do hospedeiro ao parasitóide, também, exerceu um efeito adicional na capacidade exploratória de *N. vitripennis*.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARMITAGE, P. Tests for Linear Trends in Proportions and Frequencies. *Biometrics* (International Biometric Society), v. 11, n. 3, p. 375–386, 1955.
- BAUMGARTNER, D. L. & GREENBERG, G. The genus *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, v. 15, p. 375-384, 1984.
- BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; AGUIAR-COELHO, V. M. Influence of the increase of the number of the host pupae of *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) in the development of the parasitoid *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae) in the laboratory. *Iheringia*, v. 98, p. 339–344, 2008.
- BRODEUR, J. & BOIVIN, G. Functional ecology of immature parasitoids. *Annual Review of Entomology*, v. 49, p. 27-49, 2004.
- CAMMACK, J. A.; ADLER, P. H.; TOMBERLIN, J. K.; ARAI, Y.; BRIDGES, W. C. JR. Influence of parasitism and soil compaction on pupation of the green bottle fly, *Lucilia sericata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v. 136, p. 134–141, 2009.
- CARVALHO A. R., MELLO, R. P., d'ALMEIDA J. M. Microhimenópteros parasitóides de *Chrysomya megacephala*. *Revista de Saúde Pública*, v. 37, n 6, p. 810-8122, 2003.
- COCHRAN, W. G. Some methods for strengthening the common chi-square tests. *Biometrics* (International Biometric Society), v. 10, n. 4, p. 417–451. 1954.
- DIMOU, I; KOUTSIKOPOULOS, C.; ECONOMOPOULOS, A. P., LYKAKIS, J. Depth of pupation of the wild olive fruit fly, *Bactrocera* (Dacus) *oleae* (Gmel.) (Dipt., Tephritidae), as affected by soil abiotic factors. *Journal of Applied Entomology* 127: 12–17, 2003.
- FURLANETTO, S. M. P.; CAMPOS, M. L. C.; HÁRSI, C. M.; BURALLI, G. M. & ISHIHATA, G. K. Microorganismos enteropatogênicos em moscas africanas pertencentes ao gênero *Chrysomya* (Diptera, Calliphoridae) no Brasil. *Revista de Microbiologia*, v. 15, p. 170–174, 1984.
- GODFRAY, H. C. J. *Parasitoids. Behavioral and Evolutionary Ecology*. Princeton University Press. 1994.
- GOMES, L. & VON ZUBEN, C. J. Dispersão larval pós-alimentar em *Chrysomya megacephala* (F.) (Diptera: Calliphoridae): profundidade, distância e peso de enterramento para pupariacão. *Bioscience Journal*, v. 18, p. 67–76, 2002.

- GOMES, L. & VON ZUBEN, C. J. Distribuição larval radial pós-alimentar em *Chrysomya albiceps* (Wiedmann) (Diptera: Calliphoridae): profundidade, distância e peso para pupação. *Entomologia y Vectores*, v. 10: 211–222, 2003.
- GOMES, L. & VON ZUBEN, C. J. Postfeeding radial dispersal in larvae of *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae): implications for forensic entomology. *Forensic Science International*, v. 155, p. 61–64, 2005.
- GOTELLI, N. J. & ELLISON, A. M. *Princípios de Estatística em Ecologia*. Artmed. Porto Alegre, 527pp., 2011.
- GREENBERG, B. Behavior of postfeeding larvae of some Calliphoridae and a muscid (Diptera). *Annals of the Entomological Society of America*, v. 83, p. 1210–1214, 1990.
- GREENBERG, B. & KUNICH, J. C. *Entomology and the Law: Flies as Forensic Indicators*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 2002.
- GUILLÉN, L.; ALUJA, M.; EQUIHUA, M.; SIVINSKI, J. 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*, v. 23, p. 219–227, 2001.
- HAMILTON, W. D. Extraordinary sex ratio. *Science*, v. 156, p. 477–488, 1967.
- HASSEL, M. P. *The dynamics of arthropod predator-prey systems*. Princeton Univ. Press, Princeton, NJ. 1978.
- HEIMPEL, G. E.; ROSENHEIM, J. A.; MANGEL, M. Egg limitation, host quality, and dynamic behavior by a parasitoid in the field. *Ecology*, v. 77, p. 2410–2420, 1996.
- KING, B. H. Offspring sex ratios in parasitoid wasps. *The Quarterly Review of Biology*, v. 62, p. 362–396, 1987.
- KING, B. H. Sex-ratios of the wasp *Nasonia vitripennis* from self-versus conspecifically-parasitized hosts: local mate competition versus host quality models. *Journal of Evolutionary Biology*, v. 5, p. 445–455, 1992.
- KING, P. E. & HOPKINS, C. R. 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, 1963.
- MADEIRA, N. G. Hábito de pupação de Calliphoridae (Diptera) na natureza e o encontro do parasitóide *Spalangia endius* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Revista Brasileira de Biologia*, v. 45, n. 4, p. 481–484, 1985.

- MARCHIORI, C. H., CASTRO, M. E. V., PAIVA, T. C. G., TEIXEIRA, F. F., SILVA, C. G. Dípteros muscóides de importância médica e veterinária e seus parasitóides em Goiás. *Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 52, n. 4, p. 350-353, 2000.
- MARCHIORI, C. H. & LINHARES A. X. Pteromalidae (Hymenoptera) como agentes potenciais no controle biológico de Diptera associados a fezes bovinas, matéria orgânica animal e frutas. *Brazilian Journal of Ecology*, v. 1, p. 36-41, 2000.
- MARCHIORI, C. H. Moscas sinantrópicas de importância médica e seus parasitóides coletados em Itumbiara, Estado de Goiás. *Revista de Patologia Tropical*, v. 30, n.1, p. 75-81, 2001.
- MARCHIORI, C. H., PEREIRA, L. A., SILVA FILHO, O., M., RIBEIRO, L. C. S., BORGES, V. R. Parasitóides de Dípteros Sinantrópicos coletados em diferentes substratos em Itumbiara, Sul de Goiás, Brasil. *Entomologia y Vectores*, v. 9, n. 4, p. 467-476, 2002.
- MARCHIORI, C. H. Parasitóides de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) coletados em Itumbiara, Goiás. *Revista de Saúde Pública*, v. 38, n. 2, p. 323-325, 2004 a.
- MARCHIORI, C. H. *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) parasitóide de dípteros muscóides coletado em Itumbiara, Goiás. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 56, n. 3, p. 422-424, 2004 b.
- MARTINS, P. M.; QUEIROZ, M. M. C.; d'ALMEIDA, J. M. Rearing *Chrysomya megacephala* on artificial diets composed of varying concentrations of albumin. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 52, n. 2, p. 421-426, 2009.
- MELLO, R. P. Chave para identificação das formas adultas das espécies da família Calliphoridae (Diptera, Brachycera, Cyclorrhapha) encontradas no Brasil. *Entomologia y Vectores*, v. 10, p. 255-268, 2003.
- MELLO, R. S; QUEIROZ, M. M. C.; AGUIAR-COELHO, V. M. Population fluctuations of calliphorid species (Diptera: Calliphoridae) in the Biological Reserve of Tingua, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Iheringia*, v. 97, p. 472-480, 2007.
- MELLO, R. S. & AGUIAR-COELHO, V. M. Durations of immature stage development period of *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera, Pteromalidae) under laboratory conditions: implications for forensic entomology. *Parasitology Research*, v. 104, p. 411-418, 2009.
- MELLO, R. S.; MOYA BORJA, G. E.; AGUIAR-COELHO, V. M. Exposure of a single host (*Chrysomya megacephala*) (Calliphoridae) to different quantities of female parasitoids

- (*Nasonia vitripennis*) (Pteromalidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 53, n. 4, p. 672-678, 2009.
- MELLO, R. S.; MOYA BORJA, G. E.; AGUIAR-COELHO, V. M. Effects on Microhymenopteran Progeny of Different Host Exposure Periods (*Chrysomya megacephala*, Calliphoridae) to the Parasitoid Wasp *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Brazilian Archives Biology and Technology*, v. 53, n. 1, p. 77-85, 2010.
- OLIVEIRA, V. C.; D'ALMEIDA, J. M.; ABALEM DE SÁ, I. V.; MANDARINO, J. R.; SOLARI, C. A. Enterobactérias associadas a adultos de *Musca domestica* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) e *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1754) (Diptera: Calliphoridae) no Jardim Zoológico, Rio de Janeiro. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 58, n. 4, p. 556-561, 2006.
- OLIVEIRA-COSTA, J. *Entomologia Forense - Quando insetos são vestígios*. 2° ed., Rio de Janeiro, RJ: Millennium 448p., 2007.
- PIRES, S. M.; CÁRCAMO, M. C.; ZIMMER, C. R.; RIBEIRO P. B. Influência da dieta no desenvolvimento e investimento reprodutivo de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae). *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 76, n. 1, p. 41-47, 2009.
- QUEIROZ, M. M. C. & MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. Técnicas de criação e alguns aspectos da biologia de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae), sob condições de laboratório. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 8, p. 75-78, 1991.
- REECE, S. E.; SHUKER, D. M.; PEN, I.; DUNCAN, A. B.; CHOUDHARY, A.; BATCHELOR, C. M.; WEST, S. A. Kin discrimination and sex ratios in a parasitoid wasp. *Journal of Evolutionary Biology*, v. 17, p. 208-216, 2004.
- REIGADA, C. *Dinâmica tritrófica experimental em populações de moscas varejeiras*. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, 178p., 2009.
- RUEDA, L. M. & AXTELL, R. C. Guide to common species of pupal parasites (Hymenoptera: Pteromalidae) of the house fly and other muscoid flies associated with poultry and livestock manure. *North Carolina Agricultural Research Service Technical Bulletin*, 88 p., 1985 a.
- RUEDA, L. M. & AXTELL, R. C. Effect of depth of house fly pupae in poultry manure on parasitism by six species of Pteromalidae. *Journal of Entomological Science*, v. 20, n. 4, p. 444-449, 1985 b.

- SERENO, F. T. P. S. & NEVES, D. P. Ocorrência natural de microhimenópteros parasitóides de pupas de moscas em aviário. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 22, n. 3, p. 527- 531, 1992.
- SILVEIRA-NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA NOVA, N. A. *Manual de Ecologia dos Insetos*. Ceres, São Paulo, SP, 419p., 1976.
- SIVINSKI, J. M. Phototropism, bioluminescence, and the Diptera. *Florida Entomologist*, n. 81, n. 3, 282-292, 1998.
- SUKONTASON, K.; BUNCHOO, M.; KHANTAWA, B.; PIANGJAI, S.; SUKONTASON, K.; METHANITIKORN, R.; RONGSRIYAM, Y. Mechanical carrier of bacterial enteric pathogens by *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) in Chiang Mai, Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health*, v. 31, Suppl. 1, p. 157-61, 2000.
- ULLYETT, G. C. Pupation habits of sheep blowflies in relation to parasitism by *Mormoniella vitripennis*, Wlk. (Hymenoptera, Pteromalidae). *Bulletin of Entomological Research*, v. 40, p. 533 – 537, 1950.
- WERREN J. H. Sex ratio evolution under local mate competition in a parasitic wasp. *Evolution*, v. 37, p. 116-124, 1983.
- WHITING, A. R. The biology of the parasitic wasp *Mormoniella vitripennis* (*Nasonia vitripennis*) (Walker). *The Quarterly Review of Biology*, v. 42, p. 333-406, 1967.
- ZUMPT, F. *Myiasis in man and animals in Old World*. Butterworths, London. 1965.

CAPÍTULO IV

**EFEITO DO EXTRATO METANÓLICO DE *Parahancornia amapa*
(APOCYNACEAE) SOBRE A PROGÊNIE DE *Chrysomya putoria*
(CALLIPHORIDAE) e *Nasonia vitripennis* (PTEROMALIDAE):
IMPLICAÇÕES NO CONTROLE DE PRAGAS**

1 - RESUMO

O controle de moscas com a aplicação de produtos naturais em substituição aos inseticidas químicos, bem como, o uso de insetos parasitóides, é uma alternativa menos prejudicial ao ambiente. Para esta aplicação são necessários estudos sobre a eficácia destes métodos. O presente trabalho teve como objetivo investigar o efeito do extrato metanólico do látex de *Parahancornia amapa*, chamado de cornosídeo, agindo sobre o desenvolvimento de *Chrysomya putoria* (Calliphoridae) e sobre a progênie de *Nasonia vitripennis* (Pteromalidae). Para testar os efeitos sobre a progênie dos parasitóides, neolarvas de *C. putoria* receberam tratamento tópico de cornosídeo a 5% (50 neolarvas / repetição x 2) e água destilada (50 neolarvas / repetição x 2). As larvas maduras ao abandonarem a dieta foram pesadas individualmente. Pupas oriundas do tratamento com cornosídeo foram marcadas e colocadas juntas a pupas provenientes do tratamento com água destilada, par a par, dentro de tubos de ensaio e expostas com uma fêmea nulípara parasitóide por 48h (1 par de pupas/ repetição x 30). Após este período, as pupas foram isoladas nos tubos de ensaio, onde foi aguardada a emergência de parasitóides e/ou moscas. Paralelamente dois grupos controle foram formados (com e sem cornosídeo), sem a exposição dos hospedeiros às fêmeas parasitóides, a fim de verificar a taxa natural de emergência do hospedeiro e o efeito do cornosídeo sobre o desenvolvimento de *C. putoria*. Para isso 50 neolarvas foram colocadas em um recipiente de criação contendo 50g de carne bovina moída putrefata (50 neolarvas / repetição x 4 para cada tratamento controle). As larvas maduras ao abandonar espontaneamente a dieta foram pesadas individualmente e colocadas separadamente em tubos de ensaio, onde foi aguardada a emergência dos adultos. Foi observado que o peso larval, o tempo de desenvolvimento e a viabilidade de *C. putoria* não diferenciaram entre os tratamentos, com exceção da duração do tempo de desenvolvimento pupal, o qual foi mais vagaroso no tratamento com cornosídeo. Para verificar respostas sobre a discriminação do hospedeiro pelas fêmeas parasitóides, foi analisado o tamanho da prole, tempo de desenvolvimento, razão sexual e a taxa de parasitismo. O tamanho da prole dos parasitóides não diferiu entre os tratamentos. Foi observada a emergência de dois machos por pupa em ambos os tratamentos. O número de fêmeas emergidas por pupa foi superior ao de machos. O número total de parasitóides emergidos por pupa foi aproximadamente 17,0 para ambos os tratamentos. O tempo de desenvolvimento dos parasitóides somente diferenciou para os machos, que foi mais acelerado no tratamento com cornosídeo (16,0 dias) em relação ao tratamento controle

(17,0 dias). A duração média do desenvolvimento das fêmeas foi de 17,0 dias para ambos os tratamentos. Com relação ao ritmo de emergência, os machos, em geral, tiveram início de emergência anterior às fêmeas. As taxas de parasitismo (pupas com emergência de parasitóides) não variaram entre os tratamentos, apresentando taxas próximas a 50% para ambos os tratamentos. Concluiu-se que o cornosídeo a 5% não afetou o desenvolvimento, nem tampouco a viabilidade das moscas e nem dos parasitóides.

2 – ABSTRACT

The control flies with the use of natural products replacing chemical products, as well as the use of parasitoids insects is less detrimental to the environment. Studies about the efficiency of these methods are necessary. The present study aimed to investigate the effect of methanolic extract from the latex of *Parahancornia amapa* (Apocynaceae), called cornoside, on the post-embryonic development of *Chrysomya putoria* (Calliphoridae) and *Nasonia vitripennis*. To test the effects on the progeny of the parasitoids, newly-hatched larvae of *C. putoria* received topic treatment of cornoside 5% (50 larvae/ repetition x 2) and distilled water for the control treatment (50 larvae/ repetition x 2). After spontaneously abandon the diet the larvae were weighed individually. The pupae from treatment with cornoside were marked and placed together to pupae from the control treatment, as pairs, within the test tube and exposed to one female of *N. vitripennis* for a period of 48h (one pair of pupae/repetition x30). After this period, the pupae were isolated in tubes, where it was expected the emergence of parasitoids and/or flies. In parallel, it was performed two control groups (with and without cornoside), both without the exposure of pupae to female parasitoids, with the aim to verify the natural rate of host emergence (viability), as well as the effect of cornoside on development of *C. putoria*. For this, 50 newly-hatched larvae were placed in reared container with 50g of bovine meat ground (50 larvae/ repetition x 4 for each treatment). The mature larvae after spontaneously leave the diet were individually weighed and placed isolated into glass tubes, where it was expected the emergence of flies. It was observed that larval weigh, duration of post-embryonic development and viability of *C. putoria* were not differ between the treatments. Exception for pupal development, it had a slower development in the treatment with cornoside 5%. For verify the responses on host discriminations by female parasitoids, the parasitoids progenies sizes, development time, sex ration and parasitism rate were analysed. The progeny size (number of male, female and total) did not differ between treatments.

A mean of two male emerged per pupae was observed for both treatments. The number of female emerged per pupae was higher than male. The development time of parasitoids only differed for male, where it was more accelerated with cornoside (16.0 days) when compared to control treatment (17.0 days). The female development time lasted approximately 17.0 days, for both treatments. The majority of male started the emergence before than female. The parasitism rate (pupae with emergence of parasitoids) did not vary between the treatments and presented rates near by 50% for both treatments. It was concluded that cornoside 5% was not affected the development and nor the viability of flies, in addition, did not affect the progeny of parasitoids.

3 – INTRODUÇÃO

Os califorídeos são moscas que despertam grande interesse sob o aspecto médico-sanitário, pois são responsáveis pela veiculação de uma infinidade de patógenos causadores de graves doenças entéricas. Além disso, muitas larvas desses dípteros causam miíases em homens e animais. Entre estas moscas varejeiras, destaca-se *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) considerada como um potencial vetor mecânico de patógenos entéricos como polivírus tipos I e III, vírus Coxsackie, *Shigella* sp., *Salmonella* sp., *Escherichia coli* e *Giardia lamblia*, entre outros, atuando também como agentes irritantes e espoliantes (GREENBERG, 1971, 1973; FURLANETTO *et al.*, 1984).

Nos últimos anos as investigações sobre os métodos alternativos de controle de insetos vetores têm aumentado, destacando-se pesquisas com microhimenópteros parasitóides (MOREIRA *et al.*, 1996; MILWARD-DE-AZEVEDO *et al.*, 2004; BARBOSA *et al.*, 2008 a, b, 2010; MELLO & AGUIAR-COELHO, 2009, MELLO *et al.*, 2009, 2010 a) e com fungos entomopatogênicos (OLIVEIRA *et al.*, 2006). Os inseticidas químicos, porém, continuam sendo a técnica mais difundida e utilizada, apesar dos elevados custos de produção e de seus efeitos tóxicos para o ambiente e para a população. Outra desvantagem dos inseticidas químicos é o seu amplo espectro de ação, matando não somente a espécie alvo, como também, possíveis predadores e parasitóides naturais.

A maioria dos inseticidas sintéticos atua na transmissão dos impulsos nervosos dos insetos, como também nos processos metabólicos e desenvolvimento dos insetos, seja por imitarem e/ ou interferirem na produção hormonal, como por exemplo, naquela que regula o

processo de muda (GULLAN & CRANSTON, 2007). Atualmente vem sendo amplamente investigada a elaboração de produtos sintéticos a partir de compostos naturais de plantas, os quais são chamados de inseticidas botânicos. Neste grupo estão incluídas as substâncias alcalóides (incluindo nicotina de tabaco), rotenonas de raízes de leguminosas, piretrinas (derivados de flores da espécie *Tanacetum cinerariifolium*) e o nim (extratos de árvores pertencentes à espécie *Azadirachta indica*) (GULLAN & CRANSTON, 2007). Existem, porém, poderosos inseticidas químicos que ainda não possuem análogos naturais, incluindo os carbamatos, organofosforados e organoclorados (COSTA *et al.*, 2004).

O látex de *Parahancornia amapa* conhecido popularmente como leite do amapa teve sua eficiência inseticida e repelente testada sobre o desenvolvimento de *Chrysomya megacephala*, sendo observado que em diferentes concentrações, quando aplicado topicamente sobre corpo das neolarvas, acelerou o tempo de desenvolvimento e reduziu a viabilidade dos diferentes estágios destas moscas (MENDONÇA *et al.*, 2011). No sentido de obter as frações ativas do leite do amapa, CARVALHO *et al.* (2008) verificaram a presença de compostos do tipo hexano, diclorometano e metanol. As frações obtidas a partir de hexano e diclorometano forneceram misturas de estéres 3-o-acil-lupeol e triterpenos e no extrato metanólico foi identificada uma grande quantidade de mistura de carboidratos, metilmioinositol e derivados de feniletanóides, apresentando como principal constituinte o cornosídeo. Considerando que estes compostos têm sido encontrados em importantes ervas medicinais estes feniletanóides e inositol possivelmente são os compostos ativos da fração polar do látex de *P. amapa* (TESHIMA *et al.*, 1996).

Em estudos realizados por MELLO *et al.* (2010 b), foi testado o efeito de diferentes concentrações do látex liofilizado de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*, popularmente conhecida como coroa de cristo, sobre o desenvolvimento de *Megaselia scalaris* (Phoridae). Foi observado que a aplicação tópica sobre o corpo das neolarvas, também, acelerou o desenvolvimento e reduziu as viabilidades dos estágios imaturos desta mosca. Muitos derivados e metabólitos secundários de plantas, também, já foram testados em dípteros muscóides como a azadiractina, piretro, naftoquinona BTG 505, yangambina (extraída de *Ocotea duckei* Vattimo, Lauraceae). Dentre eles, a yangambina teve um efeito deletério na prole de califórídeos, verificando-se alterações no tempo de desenvolvimento e na formação dos folículos ovarianos (GREEN *et al.*, 2004; CABRAL *et al.*, 2007 a, b).

Além do controle à base de compostos naturais, existe também, o controle biológico realizado por parasitóides pertencentes às famílias Braconidae, Pteromalidae, Figitidae, Diapriidae e Eucolidae (LEGNER & OLTON, 1970; MARCHIORI & LINHARES, 1999). Entre estas microvespas destaca-se a espécie *Nasonia vitripennis* (Pteromalidae) que são microhimenópteros ectoparasitóides de pupas de califorídeos, muscídeos e sarcófagídeos. Por serem espécies gregárias e polífagas, estes parasitóides têm se destacado em estudos que visam sua liberação em áreas próximas a atingir níveis de controle. Para esta aplicação é primordial a realização de estudos relativos a biologia dos agentes biocontroladores, incluindo as diferentes condições que podem afetar o *fitness* e o desenvolvimento da prole dos parasitóides, como a qualidade do hospedeiro (espécie, idade, tamanho, toxicidade, defesas químicas), idade e tamanho das fêmeas parasitóides, níveis de competição e tempos de exposição ao parasitismo (WYLIE, 1962, 1963, 1964; VELTHUIS *et al.*, 1965; CHABORA & PIMENTAL, 1966; KING & RAFAI, 1970; BARBOSA *et al.*, 2008 a, b, BARBOSA *et al.*, 2010; MELLO & AGUIAR-COELHO, 2009; MELLO *et al.*, 2009 ; MELLO *et al.*, 2010 a).

Até o presente momento não foi realizada nenhuma investigação sobre a interação de parasitóides e compostos secundários de plantas para o controle de dípteros muscídeos, bem como sobre a atuação destes compostos na progênie dos parasitóides. Algumas indagações são levantadas, entre elas: 1) quais seriam as consequências para a prole dos parasitóides se as fêmeas parasitassem hospedeiros que recebessem tratamentos com compostos secundários de plantas? 2) seria vantajoso um controle que integrasse parasitóides e compostos secundários de plantas?

Partindo do conhecimento que o látex de *P. amapa* afetou o desenvolvimento de *C. megacephala* (MENDONÇA *et al.*, 2011), foi levantada a hipótese de que o cornosídeo, que possivelmente é o extrato ativo do látex de *P. amapa*, também exerceria efeito sobre o desenvolvimento de *C. putoria* e através de um modo sistêmico poderia influenciar o *fitness* da prole dos parasitóides. Para este fim, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos sobre a progênie do parasitóide quando parasitam hospedeiros previamente tratados com extrato metanólico do látex de *P. amapa*, bem como analisar, isoladamente, o efeito deste extrato sobre o desenvolvimento do hospedeiro. Para o modelo experimental foi utilizada como espécie parasitóide *N. vitripennis*, *C. putoria* como espécie hospedeira e o extrato

metanólico do látex de *P. amapa* como composto secundário da planta, apresentando como principal constituinte o cornosídeo. Pretendeu-se responder as seguintes questões:

- 1) A aplicação de cornosídeo em neolarvas altera o peso das larvas maduras de *C. putoria*?
- 2) Há alguma alteração no tempo de desenvolvimento dos diferentes estágios de *C. putoria* quando as neolarvas recebem tratamento tópico de cornosídeo?
- 3) A viabilidade do período de neolarva-adulto de *C. putoria* é reduzida quando as neolarvas recebem tratamento tópico de cornosídeo?
- 4) Há variabilidade no tamanho da prole dos parasitóides quando parasitam pupas de *C. putoria* tratadas topicamente com cornosídeo?
- 5) Há alteração na razão sexual da prole dos parasitóides quando parasitam pupas de *C. putoria* previamente tratadas com cornosídeo?
- 6) Há alguma alteração no tempo de desenvolvimento dos parasitóides quando parasitam pupas de *C. putoria* previamente tratadas com cornosídeo?
- 7) Há alguma alteração na viabilidade dos parasitóides quando parasitam pupas de *C. putoria* previamente tratadas com cornosídeo?
- 8) Existe algum processo de identificação das pupas de *C. putoria* previamente tratadas com cornosídeo pelas fêmeas parasitóides?

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1 - Coleta e manutenção da colônia de moscas e parasitóides

A colônia de *C. putoria* foi estabelecida a partir de coletas no campus da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ. As armadilhas utilizadas seguiram o modelo de MELLO *et al.* (2007), contendo aproximadamente 200g de sardinha putrefata, a qual foi descongelada 24h antes da sua exposição em campo. Após 48h, as armadilhas foram retiradas e levadas para o laboratório, onde se procederam a separação dos espécimes e a identificação taxonômica dos mesmos a partir da chave taxonômica descrita por MELLO (2003). A manutenção da colônia seguiu a metodologia preconizada por QUEIROZ & MILWARD DE AZEVEDO (1991).

A captura de *N. vitripennis* foi realizada na mesma área e com o mesmo modelo de armadilha utilizado para os dípteros muscóides, no entanto, em seu interior além de uma pequena quantidade de isca putrefata (sardinha= 50g), que serviu como fonte de apneumônio, também foi colocada larvas maduras de califorídeos provenientes da colônia estoque mantida

em laboratório. O conjunto permaneceu no campo por sete dias (168h). Após este período, as armadilhas foram retiradas e levadas para o laboratório, onde se procedeu à triagem do material, que consistiu em separar individualmente as pupas e colocá-las dentro de tubos de ensaio, que foram vedados com algodão hidrófobo. O material foi mantido em câmara climatizada regulada com 27 ± 1 °C e $60 \pm 10\%$ de umidade relativa do ar, onde foi aguardada a emergência dos parasitóides e/ou moscas. A identificação dos parasitóides foi feita de acordo com RUEDA & AXTELL (1985).

Os parasitóides adultos foram criados em recipientes de plásticos transparentes (capacidade 2L), vedados com tecido fino de náilon, que permitia a entrada de ar e impedia a fuga dos insetos. Foram colocados aproximadamente 50 casais em cada gaiola. Como fonte nutricional foi oferecida mel puro pincelado em papel filtro e água em algodão. Para manutenção da colônia estoque de parasitóides foram oferecidas regularmente pupas frescas de califorídeos com idade de até 24h (MELLO & AGUIAR-COELHO, 2009).

4.2 - Extrato Vegetal

O látex de *P. amapa* foi coletado em Macapá, AP a partir de um espécime identificado por Benedito Vitor Rabelo (IEPA) e depositado sob o número 07231, no herbário Amapaense da divisão de botânica (HAMAB) do Museu Ângelo Moreira da Costa Lima, Instituto de estudos e pesquisas do Amapá (IEPA), Macapá, AP, Brasil.

O látex seco (100g) de *P. amapa* foi obtido a partir de sucessivas macerações com hexano, diclorometano e metanol em temperatura ambiente. As soluções foram obtidas a partir do método de filtração e os solventes foram removidos por destilação a vácuo até obtenção de PALAH (hexano) (37,5g), PALAD (diclorometano) (30,0g) e PALAM (metanol) (25,0g). A partir destes compostos, foi obtido o extrato metanólico, apresentando como principal constituinte o cornosídeo. O material foi encaminhado para o Laboratório de transmissores de leishmanioses - Setor de Entomologia Médica e Forense, (FIOCRUZ/IOC), Rio de Janeiro, RJ, onde foi armazenado sob-refrigeração abaixo de -5°C. Para a fase experimental foi utilizado o composto cornosídeo dissolvido em água destilada 50 µg/mL, ou seja, na concentração de 5%.

4.3 - Fase experimental

4.3.1 - Parasitóides

O experimento foi realizado em temperatura ambiente que variou de 22-26 °C, apresentando uma média de 24,6 °C e umidade relativa de $60 \pm 10\%$. O experimento sobre a discriminação dos hospedeiros pelos parasitóides foi dividido em duas etapas:

1) Neolarvas de *C. putoria* (n=50) pertencentes à 4ª geração e oriundas da colônia do laboratório, foram agrupadas em 5mg de carne bovina moída putrefata e colocadas sobre uma placa de Petri forrada com papel filtro. Foi aplicada a solução de cornosídeo (50 µg/mL = 5%) topicamente sobre o corpo das neolarvas através de pipeta automática (tamanho 1000 µL). Logo após, as neolarvas foram transferidas para uma quantidade maior de dieta (50g) e colocadas dentro de um recipiente (100 mL), o qual foi colocado no interior de outro maior (500 mL), contendo vermiculita como substrato de pupação. O conjunto foi fechado com tecido de náilon. Foram utilizadas 50 neolarvas/ repetição (x2).

2) Neolarvas de *C. putoria* (n=50) pertencentes à 4ª geração e oriundas da colônia do laboratório, foram agrupadas em 5mg de carne bovina moída putrefata e colocadas sobre uma placa de Petri forrada com papel filtro. Foi aplicada a água destilada topicamente sobre o corpo das neolarvas através de pipeta automática (tamanho 1000 µL). Logo após, as neolarvas foram transferidas para uma quantidade maior de dieta (50g) e colocadas dentro de um recipiente (100mL), o qual foi colocado no interior de outro maior (500 mL), contendo vermiculita como substrato de pupação. O conjunto foi fechado com tecido de náilon. Foram utilizadas 50 neolarvas/ repetição (x2).

Em ambas as etapas experimentais, após o abandono espontâneo da dieta, as larvas maduras foram separadas e pesadas em balança semi-analítica (precisão de 0,01 mg). Um par de pupas recém formada (com e sem cornosídeo) foi colocado dentro de um tubo de ensaio com uma fêmea nulípara de *N. vitripennis* (relação 2 hospedeiros: 1 parasitóide) por um período de 48h (30 réplicas). As pupas provenientes do tratamento com cornosídeo foram marcadas com líquido branco à base de água (liquepaper) e a outra pupa, tratada com água destilada, permaneceu sem a marcação. Após 48h de exposição dos hospedeiros às fêmeas parasitóides, as pupas foram separadas e individualizadas em tubos de ensaio e estes foram identificados pelos respectivos tratamentos sendo aguardada a emergência do parasitóide e/ ou díptero muscóide. As observações foram diárias. Estudos prévios demonstraram que a

marcação utilizada não interferiu em nenhum aspecto do desenvolvimento das moscas e dos parasitóides (MELLO, dados não publicados).

4.3.1 - Dípteros muscóides

Foram realizados dois tratamentos controles para verificar a taxa natural de emergência dos hospedeiros (*C. putoria*) quando não expostos aos parasitóides, sendo esta etapa dividida em dois grupos 1) tratamento controle com cornosídeo (5%) e 2) tratamento controle com a água destilada (sem cornosídeo). Esta etapa também teve como objetivo verificar a ação isolada do cornosídeo sobre o desenvolvimento de *C. putoria*.

Neolarvas de *C. putoria* (50 neolarvas / tratamento controle x 4 repetições) oriundas da colônia do laboratório, foram agrupadas em 5 mg de carne bovina moída putrefata e colocadas sobre uma placa de Petri forrada com papel filtro. Foi aplicada topicamente sobre o corpo das neolarvas a solução de cornosídeo (50 µg/mL = 5%) e/ ou água destilada através de pipeta automática (tamanho 1000 µL), dependendo do tratamento controle. Após aplicação, as neolarvas foram transferidas para uma quantidade maior de dieta (50 g) e colocadas dentro de um recipiente (100 mL), o qual foi colocado no interior de outro maior (500 mL), contendo vermiculita como substrato de pupação. Após o abandono espontâneo da dieta, as larvas maduras foram pesadas em balança semi-analítica com precisão de 0,01 mg e individualizadas em tubos de ensaio. As observações foram diárias até a emergência das moscas.

4.4 - Análises dos Dados

Para verificar se os dípteros muscóides foram afetados pelo uso tópico do cornosídeo, foram analisadas as seguintes variáveis: peso larval e tempo de desenvolvimento pós-embriônico. A análise foi realizada através do teste t. A viabilidade de neolarva a adulto foi comparada através do teste Qui-quadrado (χ^2), sendo utilizado dados binários de presença e ausência. Para ambos os testes foi utilizado nível de significância de 5%.

Para verificar a resposta da discriminação dos hospedeiros pelas fêmeas parasitóides, foram observados os seguintes parâmetros: número de parasitóides emergidos por pupa (machos e fêmeas), tempo de desenvolvimento, razão sexual da progênie e taxa de emergência dos parasitóides. Alguns dados foram transformados para obter a normalidade e a homocedasticidade, entre eles o número de parasitóides (número de fêmeas, machos e total: soma de machos e fêmeas). Por se tratar de dados contáveis, foram transformados em $\text{Sqr}(x+0,5)$, onde: Sqr = raiz quadrada, x = valor da variável a ser transformada (GOTELLI & ELLISON, 2011). Para verificar possíveis diferenças no tamanho da prole (número de

parasitóides emergidos por pupa) e tempo de desenvolvimento dos parasitóides entre os tratamentos foi utilizado o teste t com nível de significância de 5%.

A razão sexual (proporção de fêmeas) dos parasitóides foi calculada seguindo a fórmula proposta por SILVEIRA NETO *et al.* (1976):

$$rs = \frac{N_{fêmeas}}{(N_{fêmeas} + N_{machos})}$$

onde: rs = razão sexual; $N_{fêmeas}$ = número de fêmeas; e N_{machos} = número de machos. Para verificar possíveis diferenças entre os tratamentos foi utilizado teste χ^2 com nível de significância de 5%, utilizando dados de proporção.

A taxa de parasitismo foi calculada através da fórmula:

$$Tx = \frac{N_{emergido}}{(100 * N_{total})}$$

onde: Tx = taxa de parasitismo; $N_{emergido}$ = número de pupários com parasitóides emergidos; N_{total} = número total de pupários expostos. Para verificar as possíveis diferenças entre os tratamentos também foi utilizado teste χ^2 , porém com dados binários de presença e ausência e com mesmo nível de significância de 5% (ZAR, 1999).

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

O peso das larvas maduras de *C. putoria* não variou entre os tratamentos, sendo aferido um peso igual a 0,512 g no tratamento com cornosídeo e 0,524 g no tratamento sem o cornosídeo ($t = -0,901$; $gl = 58$; $p = 0,371$) (Figura 1). O tempo de desenvolvimento pós-embrionário não mostrou diferenças significativas na maioria das fases de desenvolvimento, com exceção do tempo de desenvolvimento pupal, onde foi mais vagaroso no tratamento contendo cornosídeo ($t = -2,32$; $gl = 264$; $p = 0,02$) (Tabela 1). A viabilidade de neolarva a adulto foi em torno de 60% para ambos os tratamentos (Tabela 2).

Estes resultados vão de encontro aos dados observados por MENDONÇA *et al.* (2011), que observaram que o uso de látex puro de *P. amapa* em diferentes concentrações acelerou o tempo de desenvolvimento e reduziu a viabilidade de *C. megacephala* nas concentrações mais elevadas, refutando a hipótese de que o cornosídeo afetaria o desenvolvimento de *C. putoria*.

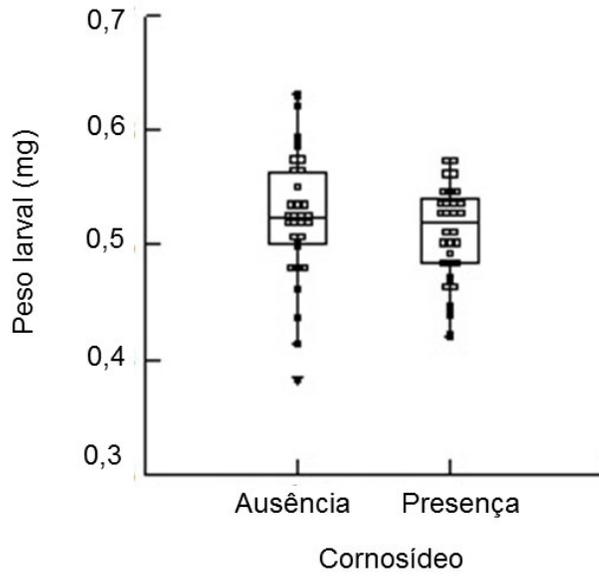


Figura 1: Peso (\pm desvio padrão) das larvas maduras de *Chrysomya putoria* (Calliphoridae) expostas ao tratamento tópico sem e com cornosídeo (extrato metanólico do látex de *Parahancornia amapa*), sob condições laboratoriais.

Tabela 1: Tempo de desenvolvimento e viabilidade de *Chrysomya putoria* (Calliphoridae) entre os tratamentos sem e com cornosídeo (extrato metanólico do látex de *Parahancornia amapa*), sob condições laboratoriais.

Fonte de variação	T	gl	p
Tempo de desenvolvimento			
Larval	1,18	300	0,24
Pupal	-2,32	264	0,02
Neolarva a adulto	-1,47	258	0,14
Viabilidade			
	χ^2	gl	p
Neolarva a adulto	0,18	1	0,67

Tabela 2: Tempo de desenvolvimento pós-embrionário (larval, pupal e neolarva-adulto) de *Chrysomya putoria* (Calliphoridae) tratados sem e com cornosídeo (extrato metanólico do látex de *Parahancornia amapa*), sob condições laboratoriais.

Tratamento	Tempo de desenvolvimento pós-embrionário (dias)		
	Larval Média ± DP*	Pupal Média ± DP*	Neolarva-Adulto Média ± DP*
Cornosídeo	4,01 ± 0,11 a	4,13 ± 0,44 a	9,20 ± 0,50 a
Sem cornosídeo (Controle)	4,32 ± 0,18 a	4,04 ± 0,19 b	9,10 ± 0,30 a

Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD.

*DP= Desvio Padrão.

É possível que o cornosídeo não seja, como sugerido em outros estudos, a fração ativa do látex de *P. amapa* (TESHIMA *et al.*, 1996), ou a concentração do composto a 5% não tenha sido suficientemente capaz de alterar o desenvolvimento dos califorídeos. Outra possibilidade, é que o próprio mecanismo de armazenamento da substância pode não ter sido o mais apropriado para manter as suas propriedades inseticidas.

Com relação à influência do cornosídeo sobre a prole dos parasitóides, o número total de parasitóides emergidos por pupa (machos + fêmeas) não variou entre os tratamentos ($t = -1,744$; $gl = 30$; $p = 0,091$) (Tabela 3 e Figura 2). A análise separada por sexo, também não mostrou diferenças significativas entre os tratamentos (Fêmeas: $t = - 1,503$; $gl = 29$; $p = 0,136$ e Machos: $t = 0,073$; $gl = 16$; $p = 0,943$) (Tabela 3 e Figura 2).

Os resultados relativos aos números de parasitóides emergidos por pupas vão ao encontro de resultados observados por MILWARD-DE-AZEVEDO *et al.* (2004), que observaram em *C. megacephala* um reduzido número de parasitóides emergidos por pupário (aproximadamente 10,0), quando estes hospedeiros tiveram sua qualidade reduzida na criopreservação em nitrogênio líquido. Os autores sugeriram que a redução da prole tenha sido em função do resfriamento, já que no grupo controle (pupas frescas) a média de parasitóides foi mais elevada (15,3). MOREIRA *et al.* (1996) observaram, ao utilizar pupas frescas de *C. megacephala* expostas por 48h ao parasitismo de *N. vitripennis*, uma média igual a 20 parasitóides emergidos por pupa. Em seu estudo a temperatura foi de aproximadamente 28°C, ao contrário do presente trabalho (em torno de 24°C) e também a espécie hospedeira foi distinta, o que pode ter causado as variações entre os trabalhos. BARBOSA *et al.* (2008 a) observaram um número médio de fêmeas e machos emergidos por hospedeiro superior (18,33 e 6,1, respectivamente) ao presente estudo, no entanto utilizaram uma relação de 1:2 (parasitóides : hospedeiro) e temperatura média igual a 27°C. Em seu trabalho, tanto a espécie hospedeira (*Cochliomyia macellaria*) quanto o tempo de exposição ao parasitóide (72h) foram distintos em relação ao presente estudo, porém quando aumentaram a relação parasitóide: hospedeiro (1:5) e reduziram o tempo de exposição (48h), observaram um decréscimo da progênie (fêmeas= 11,0 e machos= 2,19) (BARBOSA *et al.*, 2010), se aproximando dos valores encontrados no presente estudo.

Tabela 3: Estatística descritiva (média ± desvio padrão) do peso larval de *Chrysomya putoria* (Calliphoridae), número de parasitóides emergidos por pupa, razão sexual e tempo de desenvolvimento dos imaturos de *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae) tratados sem e com cornosídeo (extrato metanólico do látex de *Parahancornia amapa*), sob condições laboratoriais.

Tratamento	Peso larval (g)	N° Parasitóides			Razão Sexual	Tempo de Desenvolvimento (dias)	
		Fêmeas	Machos	Total		Fêmeas	Machos
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
Com Cornosídeo	0,51±0,04a	7,36±6,62a	1,71±1,25a	7,68±7,43a	0,88±0,25	17,18±0,78a	16,75±0,45a
Sem Cornosídeo (Controle)	0,52±0,06a	10,23±5,53a	1,64±0,92a	11,30±6,25a	0,93±0,07	17,14±0,39a	17,06±0,24b

Valores dentro da mesma coluna seguidos pela mesma letra não são significativamente diferentes em nível de 5% pelo teste Tukey's HSD. DP= Desvio Padrão.

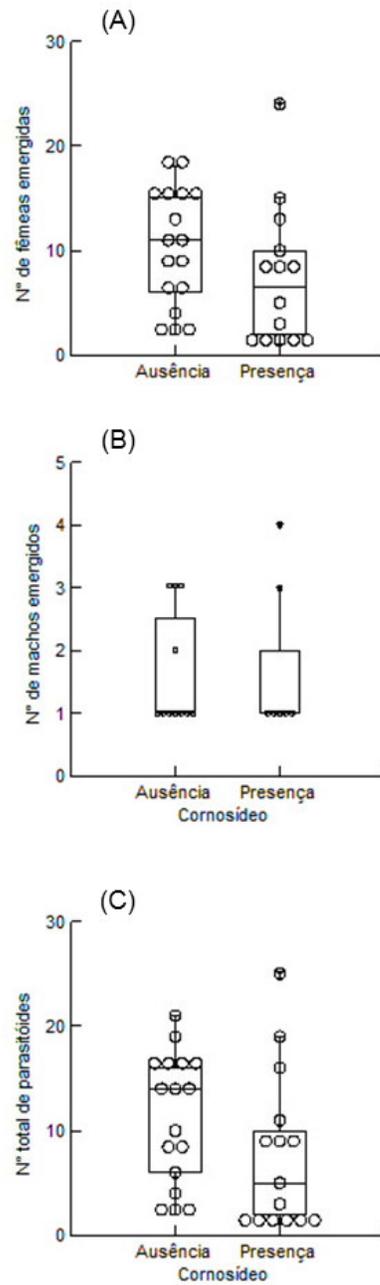


Figura 2: Média (\pm desvio padrão) do número de fêmeas (A), machos (B) e total (machos + fêmeas) (C) de *Nasonia vitripennis* (Pteromalidae) emergidos por pupa de *Chrysomya putoria* (Calliphoridae) tratadas sem e com cornosídeo (extrato metanólico do látex de *Parahancornia amapa*), sob condições laboratoriais.

A partir da comparação com os outros trabalhos foi observado que o número de parasitóides emergidos por pupa variou amplamente dependendo das condições em que foram expostos. No presente estudo, foi observada uma taxa reduzida de parasitóides emergidos por pupa em relação à maioria dos trabalhos já realizados (BARBOSA *et al.*, 2008 a, b, 2010; MELLO *et al.*, 2010 a). No entanto, não é possível fazer uma associação deste decréscimo de parasitóides emergidos por pupa ao composto da planta utilizado, pois no tratamento sem a substância, também, foi observado um número reduzido de parasitóides emergidos. Deve ser chamada a atenção para o uso de diferentes temperaturas e espécies hospedeiras entre os estudos, o que possivelmente, foi à razão principal para as variações dos resultados.

Muitos trabalhos relacionam o tamanho da progênie (número e tamanho dos parasitóides) ao tamanho do hospedeiro, havendo uma relação positiva e direta (CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1996; HARVEY & GOLS, 1998). *C. putoria* costuma apresentar um pupário relativamente menor e mais leve em relação às espécies de hospedeiros *C. megacephala* e *C. macellaria*, trabalhados nos outros estudos. Fazendo uma análise isolada do fator tamanho do hospedeiro, era de se esperar uma prole reduzida no presente estudo, o que de fato ocorreu.

Além do tamanho do hospedeiro, muitas pesquisas afirmam que a produção de parasitóides pode ser afetada por outros aspectos relacionados ao hospedeiro, incluindo a espécie, idade, contaminação, ocorrência do superparasitismo (quando mais de uma mesma espécie ovipõe no hospedeiro) (WYLIE, 1963; CHABORA & PIMENTAL, 1966; CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1996; HARVEY & GOLS, 1998; MELLO *et al.*, 2009), tempo de exposição do hospedeiro ao parasitóide (CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1995; MELLO *et al.*, 2010 a) e também, por aspectos relacionados às fêmeas parasitóides como a geração, idade, seu estado nutritivo e seus níveis de competição (VELTHUIS *et al.*, 1965; WYLIE, 1965 a; MELLO *et al.*, 2009).

Foi observado que em ambos os tratamentos houve um maior número de fêmeas emergidas em relação ao número de machos, havendo um desvio da razão sexual para fêmeas (razão sexual > 0,5) (Tabela 3). Não houve diferenças significativas nos valores da razão sexual entre os tratamentos (Teste χ^2 : valor= 13,547; gl = 12; p = 0,331) (Figura 3). Portanto, pode se dizer que o fator cornosídeo, também, não afetou este parâmetro reprodutivo dos parasitóides, refutando a hipótese inicial do experimento.

São citados na literatura dois fatores inter-relacionados que geralmente influenciam a razão sexual dos parasitóides na oviposição, são eles a *Local mate competition* e a qualidade do hospedeiro. Na *local mate competition* é assumido que o valor médio da razão sexual depende do número de fêmeas colonizando o hospedeiro (HAMILTON, 1967). Quando há poucas fêmeas disputando pelo hospedeiro, a oviposição da fêmea é direcionada a uma maior quantidade de ovos fertilizados, ou seja, em favor de fêmeas (filhas), já que a determinação sexual na ordem Hymenoptera segue a haplodiploidia. Em consequência, é produzida uma reduzida quantidade de machos com somente o número suficiente para copular as fêmeas oriundas da mesma prole e/ ou outras fêmeas presentes no local de emergência (HAMILTON, 1967). Desta forma, pode se dizer que os resultados do presente estudo estão de acordo com o fundamento desta teoria.

Em geral, quando as fêmeas parasitam hospedeiros de baixa qualidade (tamanho reduzido, idade avançada, com presença de substâncias tóxicas) aumentam a quantidade de machos na prole, já que a necessidade nutricional deles é inferior às das fêmeas, por possuírem tamanhos menores e não gastarem energia na produção de ovos (KING & HOPKINS, 1963). No presente estudo, a aplicação tópica do cornosídeo a 5% sobre o corpo das neolarvas de *C. putoria*, teve como primeiro objetivo diminuir a qualidade das pupas e posteriormente testá-las na produção dos parasitóides. Esperava-se com isso uma maior produção de machos, se de fato a substância reduzisse a qualidade do hospedeiro.

Sugerem-se duas explicações para os dados observados: 1) as fêmeas parasitóides não discriminaram e /ou selecionaram hospedeiros com e/ou sem cornosídeo, parasitando-os sem distinção; 2) o cornosídeo não afetou a qualidade do hospedeiro, permitindo uma maior produção de fêmeas, como é proposto na teoria *Local mate competition*, em casos em que não há competição por hospedeiro, como no presente estudo. Possivelmente, esta última explicação é a mais plausível pelo fato da substância não ter alterado os parâmetros biológicos do hospedeiro *C. putoria*, como o peso, o desenvolvimento e a viabilidade.

O tempo de desenvolvimento dos parasitóides variou significativamente somente para os machos ($t = -2,247$; $df = 28$; $p = 0,022$), sendo mais acelerado no tratamento com o cornosídeo (com cornosídeo = 16,8 dias e sem cornosídeo = 17,1 dias) (Tabela 3). Entre as fêmeas, não houve diferença significativa ($t = 0,661$; $df = 275$; $p = 0,509$) com média igual a 17,0 dias (Tabela 3). Para ambos os sexos e tratamentos houve pico de emergência no 17º dia. As fêmeas tiveram um prolongamento do desenvolvimento, encerrando sua emergência no

20° dia, enquanto os machos encerraram no 18° dia (Figura 4). Em geral, os machos costumam anteceder a emergência em relação às fêmeas, como uma estratégia para garantir a cópula quando elas emergem, já que possuem asas vestigiais, limitando-se a sítios de cópula próximos (WYLIE, 1965 a).

É amplamente conhecido que as condições ambientais, como por exemplo, a temperatura, fotoperíodo e a umidade relativa, e também fatores intrínsecos ao hospedeiro, como o tamanho, peso, idade, presença de toxinas, tempo de exposição e superparasitismo (WYLIE, 1963; CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1996; HARVEY & GOLS, 1998, HUSNI & HONDA, 2001; MELLO & AGUIAR-COELHO, 2009; MELLO *et al.*, 2009, MELLO *et al.*, 2010 a, b) influenciam o tempo de desenvolvimento dos parasitóides (GRASSBERGER & FRANK, 2003; BARBOSA *et al.*, 2008 a, b)

Foi observada uma duração média de desenvolvimento de 17,0 dias para fêmeas para ambos os tratamentos e uma variação de 16,8 a 17,1 para machos (com cornosídeo e sem cornosídeo, respectivamente) em uma temperatura que variou de 22 a 26°C (média = 24,6°C). GRASSBERGER & FRANK (2003) testaram o desenvolvimento de *N. vitripennis* em pupas de *Protophormia terraenovae* (Calliphoridae) e observaram uma relação inversa do tempo de desenvolvimento com a temperatura, apresentando uma média de 14,8 dias em 25°C e 22,5 dias em 20°C. Em outros estudos com temperaturas mais elevadas ($27 \pm 1^\circ\text{C}$) e outras espécies de hospedeiro, *C. macellaria*, *C. megacephala*, sendo ambas de tamanho e peso maior que *C. putoria*, o tempo de desenvolvimento foi em torno de 14 dias (BARBOSA *et al.* 2008 a, b, 2010; MELLO & AGUIAR-COELHO, 2009; MELLO *et al.*, 2009; MELLO *et al.* 2010 a). Logo, é possível dizer que o tempo de desenvolvimento é inversamente proporcional ao aumento de temperatura.

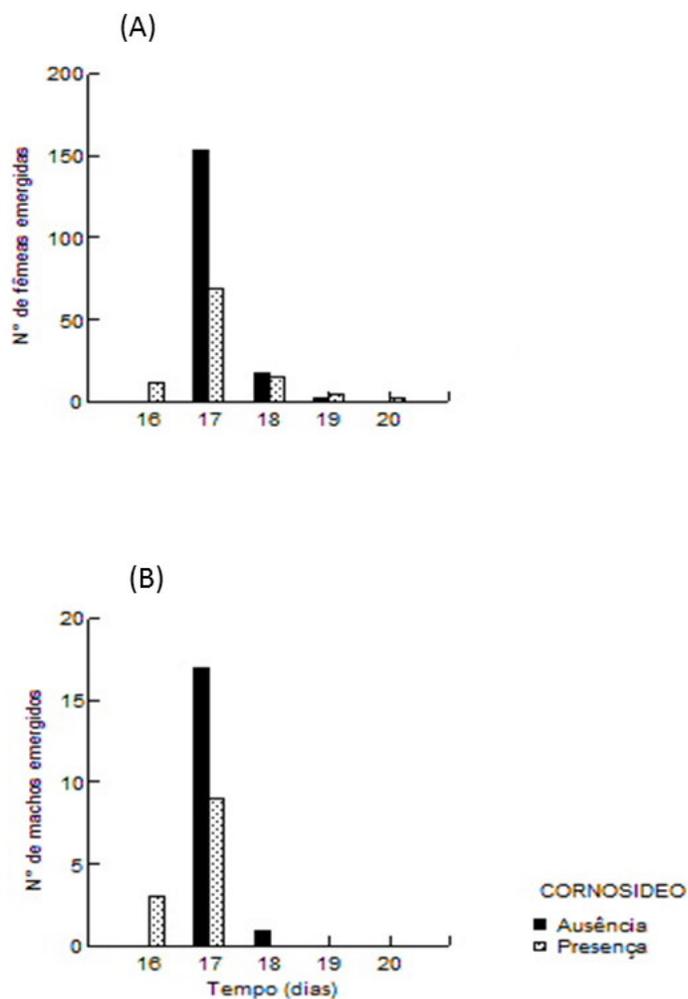


Figura 4: Ritmo de emergência de fêmeas (A) e machos (B) de *Nasonia vitripennis* (Pteromalidae) criados em hospedeiros (*Chrysomya putoria*: Calliphoridae) tratados sem e com cornosídeo (extrato metanólico do látex de *Parahancornia amapa*), sob condições laboratorias.

MOREIRA *et al.* (1996) observaram que os fatores tamanho e espécie de hospedeiro, afetaram a quantidade de parasitóides que emergiram do hospedeiro e indiretamente, também, exerceram efeito na duração do tempo desenvolvimento. Isto porque, em insetos gregários quando se aumenta a densidade de parasitóides dentro do pupário observa-se uma elevação de temperatura interna que acelera o metabolismo e reflete em um desenvolvimento mais acelerado. Assim, pode se dizer que os dois fatores, a espécie de hospedeiro e a temperatura utilizada, foram o que efetivamente contribuíram para as oscilações da duração do tempo de desenvolvimento em relação aos outros estudos.

A taxa de parasitismo não variou significativamente entre os tratamentos (Teste χ^2 : valor = 0,268; gl = 1; p = 0,605), apresentando taxa de 57% de emergência dos parasitóides em pupas sem o cornosídeo e 50% em pupas tratadas com cornosídeo (Figura 5). A taxa de emergência das moscas foi maior na ausência de cornosídeo que na presença de cornosídeo (23% e 17%, respectivamente). Foi observada uma taxa de 33% de pupas inviáveis quando tratada com cornosídeo e 20% sem o cornosídeo. Com relação aos tratamentos controle (moscas criadas com e sem cornosídeo, mas sem exposição às fêmeas parasitóides) a taxa de emergência das moscas foi em torno de 60% para ambos os tratamentos (Figura 5).

Os mecanismos de discriminação de hospedeiro vêm sendo estudados desde a década de 1950, os quais têm investigado a capacidade das fêmeas em identificar hospedeiros parasitados (WYLIE, 1965 b; KING & RAFAI, 1970). Foi possível observar através destes estudos, que as fêmeas apresentam limitações temporais para análise do hospedeiro, sendo capazes de determinar se um hospedeiro encontra-se ou não parasitado somente após 60h do parasitismo (KING & RAFAI, 1970). O mecanismo discriminatório é baseado na avaliação bioquímica da hemolinfa das pupas; para isso as fêmeas perfuram o pupário recolhendo uma pequena amostra deste líquido. As alterações bioquímicas decorrentes da morte do hospedeiro devido a oviposições anteriores são reconhecidas pelas fêmeas (KING & RAFAI, 1970; WYLIE, 1965 a, b). Estas alterações bioquímicas da hemolinfa foram determinadas pelo processo de eletroforese, onde foram observadas bandas extras somente em hospedeiros com três dias de parasitismo (KING & RAFAI, 1970).

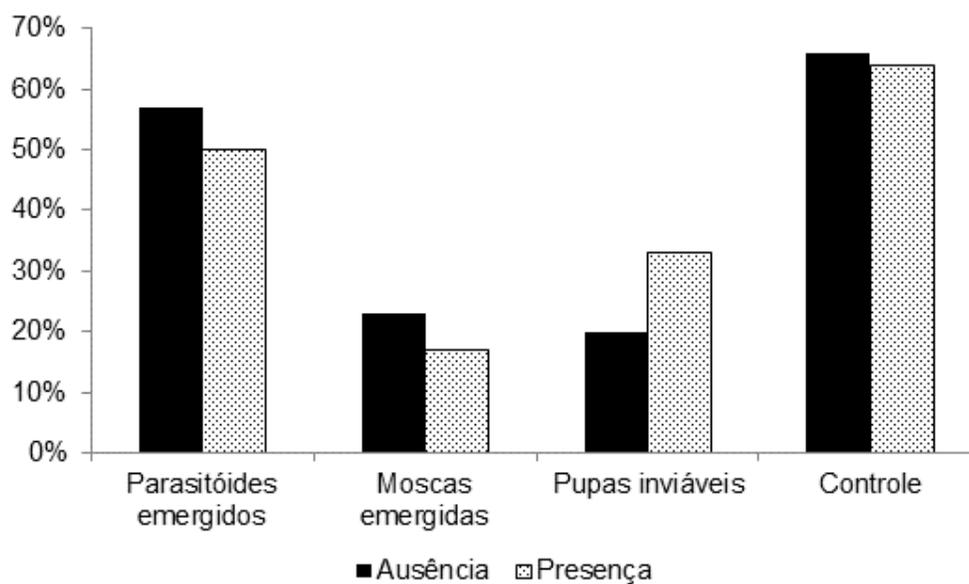


Figura 5: Taxa de emergência de parasitoides (*Nasonia vitripennis*), moscas (*Chrysomya putoria*), pupas inviáveis (sem emergência de parasitoides e nem de moscas) e emergência de moscas no grupo controle (sem exposição aos parasitoides), na ausência e presença de cornosídeo (extrato metanólico do látex de *Parahancornia amapa*), sob condições laboratoriais.

Outros estudos, também, foram desenvolvidos com o objetivo de verificar a existência de mecanismos discriminatórios baseados na identificação de características intrínsecas do hospedeiro, como por exemplo, idade e tamanho (HARVEY & GOLS, 1998; HUSNI & HONDA, 2001). Foi observado que as fêmeas frequentemente não rejeitam e/ ou selecionam os hospedeiros em função destas características, o que pode causar consequências para sua prole quando parasitaram hospedeiros mais velhos e menores, tais como a redução do tamanho; alterações na razão sexual e no tempo de desenvolvimento. No presente estudo, também foi observado que as fêmeas parasitóides utilizaram os dois tipos de hospedeiros (com e sem cornosídeo) na mesma proporção, sem haver qualquer tipo de seleção, sendo aleatória a exploração do pupário. Alguns autores sugerem que as fêmeas, geralmente, não selecionam e/ou rejeitam hospedeiros baseados na sua qualidade, pois, preferem garantir a oviposição em detrimento de não parasitá-los, principalmente em condições naturais (BRODEUR & BOIVIN, 2004).

A partir dos resultados apresentados pode-se dizer que o controle de dípteros muscóides a partir do composto cornosídeo na concentração de 5% não foi um mecanismo eficiente. Os dados, também, mostraram não haver nenhum sinal que indicasse que as fêmeas parasitóides discriminassem hospedeiros tratados com o cornosídeo, pois a partir dos parâmetros investigados (tamanho da prole; razão sexual; tempo de desenvolvimento; e taxa de parasitismo) não houve diferença entre os tratamentos. Portanto, apesar do cornosídeo não afetar a prole de *N. vitripennis*, considerado um fator positivo, também, não resultou em alteração na biologia de *C. putoria*, o que é considerado um fator negativo para o controle. Sugere-se a continuidade do estudo para analisar a interação dos parasitóides com outros compostos naturais e observar se há efeitos deletérios na prole dos controladores naturais.

6 – CONCLUSÕES

Em vista das questões levantadas concluiu-se que:

- 1) A aplicação tópica do cornosídeo a 5% não afetou a capacidade alimentar das neolarvas de *C. putoria*, pois o peso larval não diferenciou entre os tratamentos;
- 2) A duração do tempo de desenvolvimento pós-embrinário de *C. putoria* (larval e neolarva a adulto) não variou entre os tratamentos com cornosídeo e sem cornosídeo. Apenas o desenvolvimento pupal foi alterado, sendo mais acelerado no tratamento sem o cornosídeo;

- 3) A viabilidade do período de neolarva a adulto de *C. putoria* não variou estatisticamente entre os dois tratamentos (66% com cornosídeo e 64% sem cornosídeo);
- 4) O tamanho da prole de parasitóides (número de parasitóides) não diferenciou entre os tratamentos, tanto para as fêmeas quanto para os machos, havendo uma maior número de fêmeas em ambos os tratamentos;
- 5) A razão sexual da prole dos parasitóides foi direcionada para o sexo feminino ($rs > 0,5$) para ambos os tratamentos, além disso, não houve diferença significativa entre os tratamentos;
- 6) Os parasitóides, machos e fêmeas, se desenvolveram em aproximadamente 17,0 dias sob temperatura que oscilou de 22 a 26°C com uma média igual a 24,6°C;
- 7) A frequência de emergência dos parasitóides foi maior nas pupas sem o cornosídeo (57%), no entanto, não houve diferença estatística ao compará-las com as pupas tratadas com o cornosídeo (50%);
- 8) Pelos dados observados não houve preferência e/ou discriminação dos hospedeiros pelas fêmeas parasitóides, pelo fato do cornosídeo não afetar a qualidade do hospedeiro, ou até mesmo pela escolha das fêmeas ser aleatória para garantir a oviposição.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; AGUIAR COELHO, V. M. Influência do aumento do número de pupas hospedeiras de *Cochliomyia macellaria* (Diptera, Calliphoridae) no desenvolvimento do parasitóide *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera, Pteromalidae) em laboratório. *Iheringia*, v. 98, n. 3, p. 339-344, 2008 a.
- BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; AGUIAR COELHO, V. M. Desenvolvimento de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (Diptera: Calliphoridae), utilizando diferentes densidades do parasitóide. *Biota Neotropica*, v. 8, n. 1, p. 49-54, 2008 b.
- BARBOSA, L. S.; COURI, M. S.; AGUIAR COELHO, V. M. Desempenho do parasitóide *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera, Pteromalidae) utilizando como hospedeiro *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae), sob diferentes tempos de exposição. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 54, n. 1, p. 125–129, 2010.
- BRODEUR, J. & BOIVIN, G. Functional ecology of immature parasitoids. *Annual Review of Entomology*, v. 49, p. 27-49, 2004.
- CABRAL, M. M. O.; MENDONÇA, P. M.; GOMES, C. M. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; QUEIROZ, M. M. C.; MELLO, R. P. Biological activity of neolignans on the post-embryonic development of *Chrysomya megacephala*. *Fitoterapia*, v.78, p. 20–24, 2007 a.
- CABRAL, M. M. O.; MENDONÇA, P. M.; GOMES, C. M. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; DIAS, C. S.; SOARES, M. J.; QUEIROZ, M. M. C. Biological activity of yangambin on the post embryonic development of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, v. 44, p. 225–249, 2007 b.
- CARDOSO, D. & MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. Influência da densidade de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) sobre a capacidade reprodutiva de fêmeas nulíparas de *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 39, n. 4, p. 779-786, 1995.
- CARDOSO, D. & MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. 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. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 40, n. 2, p. 143-146, 1996.
- CARVALHO, M. G.; ALBUQUERQUE, L. A.; ALVES, C. C. F.; CASCON, V. Cornoside and other constituents from the latex of *Parahancornia amapa* (Hub.) Ducke (Apocynaceae) a

- medicinal plant in Northern Brazil. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 18, p.667-669, 2008.
- CHABORA, C. & PIMENTAL, D. Effect of host (*Musca domestica* Linnaeus) on the Pteromalid parasite *Nasonia vitripennis* (Walker). *The Canadian Entomologist*, v. 96, p. 1226-1231, 1966.
- COSTA, E. L. N.; SILVA, R. F. P.; FIÚZA, L. M. Efeito, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. *Acta Biologica Leopoldensa*, v. 26, n. 2, p. 73-85, 2004.
- FURLANETTO, S. M. P.; CAMPOS, M. L. C.; HÁRSI, C. M.; BURALLI, G. M.; ISHIHATA, G. K. Microorganismos enteropatogênicos em moscas africanas pertencentes ao gênero *Chrysomya* (Diptera, Calliphoridae) no Brasil. *Revista de Microbiologia*, v. 15, p. 170-174, 1984.
- GOTELLI, N. J. & ELLISON, A. M. *Princípios de Estatística em Ecologia*. Artmed, Porto Alegre, 527 pp., 2011.
- GRASSBERGER, M. & FRANK, C. Temperature-related development of the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis* as forensic indicator. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 17, p. 257-262, 2003.
- GREEN, P. W. C.; SIMMONDS M. S. J., BLANEY W. M.; KHAMBAY B. P. S. Effects of Plant-derived Compounds on Larvae of a Blowfly Species that causes Secondary Myiases: Laboratory Studies. *Phytotherapy Research*, v. 18, p. 538–541, 2004.
- GREENBERG, B. *Flies and disease*, vol. 1. Ecology, classification and biotic association. Princeton University Press, Princeton, NJ. 856 pp., 1971.
- GREENBERG, B. *Flies and disease*, vol. 2. Biology and disease transmission. Princeton University Press, Princeton, NJ., 1973.
- GULLAN, P. J. & GRANSTON, P. S. *Os insetos: um resumo de entomologia*. 3º ed., São Paulo: Roca, 2007.
- HAMILTON, W. D. Extraordinary sex ratios. *Science*, v. 156, p. 477-488, 1967.
- HARVEY, J. A. & GOLS, G. J. Z. The influence of host quality on progeny and sex allocation in the pupal ectoparasitoid, *Muscidifurax raptorellus* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Bulletin of Entomological Research*, v. 88, p. 299-304, 1998.
- HUSNI, Y. K. & HONDA, H. Effects of host pupal age on host preference and host suitability IN *Brachymeria lasus* (Walker) (Hymenoptera) *Applied Entomology and Zoology*, v. 36, n. 1, p. 97-102, 2001.

- KING, P. E. & HOPKINS, C. R. 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, 1963.
- KING, P. E. & RAFAI, J. Host discrimination in a gregarious parasitoid *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Experimental Biology*, v. 53, p. 245-254, 1970.
- LEGNER, E. F. & G. S. OLTON. Worldwide survey and comparison of adult predator and scavenger insect populations associated with domestic animal manure where livestock is artificially congregated. *Hilgardia*, v. 9, p. 225-266, 1970.
- MARCHIORI, C. H. & LINHARES, A. X. Constância, dominância e frequência mensal de dípteros muscóides e seus parasitóides (Hymenoptera e Coleoptera), associados a fezes frescas de bovinos em Uberlândia, MG. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 28, p. 375-387, 1999.
- MELLO R. P. Chave para identificação das formas adultas das espécies da família Calliphoridae (Diptera: Brachycera, Cyclorrhapha) encontradas no Brasil. *Entomologia y Vectores*, v. 10, n. 2, p. 255-268, 2003.
- MELLO, R. S; QUEIROZ, M. M. C; AGUIAR-COELHO, V. M. Population fluctuations of calliphorid species (Diptera, Calliphoridae) in the Biological Reserve of Tinguá, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Iheringia*, v. 97, n. 4, p. 81-485, 2007.
- MELLO, R. S; MOYA-BORJA, G. E.; AGUIAR-COELHO, V. M. Exposure of a single host (*Chrysomya megacephala*) (Calliphoridae) to different quantities of female parasitoids (*Nasonia vitripennis*) (Pteromalidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 53, n. 4, p. 672–678, 2009.
- MELLO, R.S; & AGUIAR-COELHO, V. M Duration of post-embryonic development period of *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) under laboratory conditions: implications for forensic entomology. *Parasitology Research*, v. 104, p. 411-418, 2009.
- MELLO, R. S; MOYA-BORJA, G. E.; AGUIAR-COELHO, V. M. Effects on Microhymenopteran progeny of different host exposure periods (*Chrysomya megacephala*, Calliphoridae) to the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 53, n. 1: p.77-85, 2010 a.

MELLO, R. S.; FERREIRA, A. R. S.; QUEIROZ, M. M. C. Bioactivity of latex from *Euphorbia splendens* var. *hislopii* (Euphorbiaceae) on post-embryonic development of *Megaselia scalaris* (Phoridae). *Veterinary Parasitology*, v. 172, n. 1 e 2, p. 100-104, 2010 b.

MENDONÇA, P. M.; LIMA, M. G.; ALBUQUERQUE, L. R. M.; CARVALHO, M. G.; QUEIROZ, M. M. C. Effects of latex from “Amapazeiro” *Parahancornia amapa* (Apocynaceae) on blowfly *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) post-embryonic development. *Veterinary Parasitology*, v. 178, p. 379–382, 2011.

MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V.; SERAFIN, I.; PIRANDA, E. M.; GULIAS-GOMES, C. C. Desempenho reprodutivo de *Nasonia vitripennis* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas crioconceradas de *Chrysomya megacephala* Fabricius (Diptera: Calliphoridae): avaliação preliminar. *Ciência Rural*, v. 4, n. 1, p. 207-211, 2004.

MOREIRA, O. I.; MARTINS, C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. Avaliação preliminar do desempenho reprodutivo de *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) em função do número de gerações. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, v. 39, n. 3, p. 491-495, 1996.

OLIVEIRA, M. S.; NASCIMENTO, M. A., CAVADOS, C. F. G.; CHAVES, J. Q.; RABINOVITCH, L., LIMA, M. M.; QUEIROZ, M. M. C. Biological activity of *Bacillus thuringiensis* strains against larvae of the blowfly *Chrysomya putoria* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae). *Neotropical Entomology*, v. 35, n. 6, p. 849-852, 2006.

QUEIROZ, M. M. C. & MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. Técnicas de criação e alguns aspectos da biologia de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae), em condições de laboratório. *Revista Brasileira de Zoologia*, v.8, p. 75-84, 1991.

RUEDA, L. M. & AXTELL, R. C. Guide to common species of pupal parasites (Hymenoptera: Pteromalidae) of the house fly and other muscoid flies associated with poultry and livestock manure. *North Carolina Agricultural Research Service Technical Bulletin*: 88 p., 1985.

SILVEIRA-NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D. & VILLA NOVA, N. A. *Manual de Ecologia dos Insetos*. Ceres, São Paulo, SP, 419p., 1976.

TESHIMA, K.; KANEKO, T.; OHTANI, K.; KASAI, R.; LHIEOCHAIPHANT, S.; YAMASAKI, K. Phenylethanoids and ciclohexylethanoids from *Oroxylum indicum*. *Journal of Natural Medicines*, v. 50, p. 307, 1996.

- VELTHUIS, H. H. W.; VELTHUIS-KLUPPELL, F. M.; BOSSINK, G. A. H. Some aspects of the biology and population dynamics of *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v 8, p. 205-227, 1965.
- WYLIE, H. G. An effect of host age on female longevity and fecundity in *Nasonia vitripennis* Walk. (Hymenoptera: Pteromalidae). *The Canadian Entomologist*, v. 94, p. 900-993, 1962.
- WYLIE, H. G. Some effects of host age on parasitism by *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hymenoptera: Pteromalidae). *The Canadian Entomologist*, v. 95, p. 881-886, 1963.
- WYLIE, H. G. Effect of host age on rate of development of *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hymenoptera: Pteromalidae). *The Canadian Entomologist*, v. 96, p. 1023-1027, 1964.
- WYLIE, H. G. Some factors that reduce the reproductive rate of *Nasonia vitripennis* (Walk.) at high adult population densities. *The Canadian Entomologist*, v. 97, p. 970-977, 1965 a.
- WYLIE, H. G. Discrimination between parasitized and unparasitized house fly pupae by females of *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hymenoptera: Pteromalidae). *The Canadian Entomologist*, v. 97, 279-286, 1965 b.
- ZAR, J. H. Biostatistical analysis. 4th ed., New Jersey. Prentice-Hall, 663 p., 1999.

5 – CONCLUSÕES GERAIS

- 1 – Foi observado que o desenvolvimento das diferentes fases imaturas de *C. albiceps* e *C. megacephala* tiveram uma resposta fotoperiódica, com uma tendência ao aumento do tempo de desenvolvimento com o aumento do comprimento da fotofase, para ambas as espécies. Este fotoperiodismo incidiu diretamente no ritmo de emergência, sendo mais pronunciado em *C. albiceps*, onde o tempo de desenvolvimento de neolarva a adulto apresentou uma diferença de até quatro dias quando comparada a menor fotofase (10 dias) com a maior fotofase (14 dias). A viabilidade de neolarva a adulto apresentou uma relação inversa com a fotofase para ambas as espécies.

- 2 – Foi observado que a exploração dos hospedeiros pela fêmeas *N. vitripennis* foi diretamente relacionada à profundidade de enterramento das pupas e ao tempo de exposição. Fêmeas de *N. vitripennis* foram capazes de parasitar pupas enterradas somente até a profundidade de 2,0 cm em 48h de exposição do hospedeiro às fêmeas parasitóides e até 3,0 cm quando expostas por 72h. O conhecimento deste comportamento parasitário traz informações importantes para condução de programas de manejo de pragas.

- 3 – O extrato metanólico do látex de *P. amapa*, contendo como principal constituinte o cornosídeo, não foi eficiente como inseticida na concentração de 50 µg/mL (5 %) quando aplicado topicamente sobre o corpo das neolarvas *C. putoria*. Assim como, também não exerceu efeito na progênie de *N. vitripennis*, quando parasitaram pupas tratadas previamente na fase de neolarva com cornosídeo. Portanto, tal composto natural, nesta concentração, não foi considerado um bioinseticida eficiente e nem tampouco, exerceu efeito sistêmico nos parasitóides.

6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo contém resultados importantes envolvendo diferentes áreas de conhecimento, destacando-se a dinâmica de regulação populacional, a entomologia forense e o controle biológico. Através dos dados, foi observado que as espécies *C. megacephala* e *C. albiceps* tiveram seu desenvolvimento influenciado pelos diferentes fotoperíodos, apresentando uma relação direta com a fotofase. Este comportamento é contrário às espécies que vivem predominantemente em áreas temperadas. Estes resultados são importantes para entomologia forense já que estas variações comportamentais incidem diretamente nas estimativas de IPM. Pôde se inferir que as taxas de parasitismo de *N. vitripennis* são moduladas tanto pelas profundidades de enterramento em que se encontram os hospedeiros como, também, pelo tempo de exposição em que são expostos às fêmeas parasitóides. Estes aspectos são considerados importantes para a condução de programas de manejo integrado de pragas. Além disso, foi verificado que o extrato metanólico contendo como principal constituinte o cornosídeo de *P. amapa* na concentração de 5%, não exerceu efeito significativo sobre o desenvolvimento do califorídeo *C. putoria* e nem tampouco, sobre seu controlador natural, *N. vitripennis*. São sugeridos estudos adicionais que integrem variações de temperatura e fotoperíodos com diferentes espécies de dípteros, principalmente com aqueles de maior importância forense, de forma a construir um banco de dados com estas informações. Além disso, é sugerido o desenvolvimento de outras pesquisas que envolvam diferentes compostos de plantas para avaliação das suas efetividades como bioinseticidas em dípteros muscóides e posterior análise de seus efeitos sobre seus inimigos naturais.