

UFRRJ

INSTITUTO DE BIOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA

ANIMAL

DISSERTAÇÃO

Efeito da densidade de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) e do hospedeiro *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) sobre os aspectos biológicos do microhimenóptero.

Renata da Silva Mello

2007



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

**EFEITO DA DENSIDADE DE *Nasonia vitripennis* (WALKER, 1836)
(HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE) E DO HOSPEDEIRO *Chrysomya
megacephala* (FABRICIUS, 1794) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE) SOBRE
OS ASPECTOS BIOLÓGICOS DO MICROHIMENÓPTERO.**

RENATA DA SILVA MELLO

Sob-Orientação do professor
Gonzalo Efraín Moya Borja

Co-Orientação da professora
Valéria Magalhães Aguiar Coelho

Dissertação submetida como requisito
para obtenção do grau de **Mestre
Ciências**, no Programa de Pós-
Graduação em Biologia Animal.

Seropédica, RJ
Março de 2007

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

RENATA DA SILVA MELLO

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em **Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal.

Dissertação aprovada em 21/ III /2007

Dr. Gonzalo Efrain Moya Borja / UFRRJ
(Orientador)

Dr. Rubens Pinto de Mello / FIOCRUZ

Dra. Margareth M. de Carvalho Queiroz / FIOCRUZ

Dr. Roberto de Xerez / UFRRJ
(suplente)

578.65

M527

Mello, Renata da Silva, 1981

T

Efeito da densidade de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: pteromalidae) e do hospedeiro *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) sobre os aspectos biológicos do microhimenóptero / Renata da Silva Mello. – 2007.

70 f. : il.

Orientador: Gonzalo Efrain Moya Borja.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia.

Bibliografia: f. 51-57.

1. Parasito - Controle - Teses. 2. Parasitismo - Teses. I. Moya Borja, Gonzalo Efrain, 1935. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia. III. Título.

Dedico esta dissertação aos meus queridos e amados pais, Almir e Jane, pelo apoio incondicional e por estarem sempre ao meu lado não medindo esforços para que meus objetivos fossem alcançados. Aos meus queridos irmãos, Leandro e Luciano e aos meus amados sobrinhos Marcus Vinícius, Renato, João Vitor, Gabriel e Ana Carolina por encherem meu coração de amor e felicidade. Aos meus queridos avôs, Nilza e Jayme “in memoriam”, pelo exemplo de vida e por sempre torcerem pelo meu sucesso. E ao meu querido namorado, Leandro, pelo apoio, carinho, compreensão e estímulo em todos estes anos.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, seus funcionários e corpo docente pelo apoio e auxílio financeiro, especialmente ao prof. Hélio Ricardo da Silva, sempre solidário e disposto a me ajudar em tudo que precisei.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo fornecimento da bolsa de pesquisa durante todo período de mestrado.

A minha co-orientadora prof.^a Valéria M. Aguiar Coelho por acreditar no meu potencial desde os tempos de graduação, sempre estar disposta em me ajudar e ser muito mais do que uma co-orientadora.

Ao prof. Gonzalo Efrain Moya Borja pela orientação, confiança e apoio.

A Dra. Maria Angélica Penteado da Universidade Federal de São Carlos pela ratificação da identificação taxonômica do parasitóide.

Ao prof. André Felipe Nunes de Freitas (Inst. Florestas/ Dept. Ciências Ambientais, UFRRJ) por sua boa vontade e pertinentes sugestões e correções na escrita da dissertação.

Aos meus queridos amigos de mestrado pelos momentos agradáveis, apoio e conselhos, em especial à Rafaela sendo uma amiga muito especial, sempre disposta a me ajudar mesmo estando super atarefada com sua dissertação e por ser uma ótima companhia nas longas viagens Rio-Seropédica, onde podíamos colocar todas as fofocas em dia. Obrigada por todas as caronas!

Aos meus amigos de laboratório (LED/UNIRIO), Adriana, Leandro (Mingau), Luana, Bárbara, Pedro, Anderson e Manoela pela amizade, produtividade e momentos de descontração.

As grandes amizades ainda dos tempos de graduação em especial ao Leandro, Gustavo, Rafael, André, Mariana, Dani Riezen, Dani Kasper e todos que não estão listados, mas que sempre me incentivaram e apoiaram.

Um agradecimento especial a todos os amigos e professores do Curso de Ecologia da Floresta Amazônica/PDBFF/INPA, que contribuíram de forma significativa à minha formação acadêmica e pessoal.

A minha família, por ser o suporte fundamental da minha vida, pelo carinho, apoio e atenção.

RESUMO

MELLO, Renata da Silva. **Efeito da densidade de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) e do hospedeiro *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) sobre os aspectos biológicos do microhimenóptero.** 2007. 57p. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal). Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

O presente estudo teve como objetivo avaliar os aspectos reprodutivos de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) criadas em pupas de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1974) sob condições ambientais controladas (T= 27°C dia/ 25°C noite, 70±10 U.R., 14 horas de fotofase). Foi observado o desenvolvimento pós-embriônico, a produtividade de parasitóides emergidos por pupa, a taxa de parasitismo, a razão sexual e a longevidade das fêmeas parasitóides em função da utilização de diferentes densidades de parasitóides por hospedeiro (1:1, 3:1, 5:1, 7:1, 9:1, 11:1), diferentes densidades de hospedeiros (1:1, 1:2, 1:3, 1:4 e 1:5), ambos expostos ao parasitismo por 48 horas e diferentes tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide, utilizando a relação 1:1 por 24, 48, 72 e 96 horas. Pupas hospedeiras foram expostas a fêmeas nulíparas em tubos de ensaio vedados com algodão hidrófobo, seguindo as densidades e tempos de exposição descritos acima, a seguir as pupas foram individualizadas até a emergência dos dípteros ou dos parasitóides. Lotes de pupas hospedeiras não expostas ao parasitismo, seguindo o mesmo delineamento experimental, foram utilizados como controle. Cada tratamento constituiu de 20 repetições. Foi utilizada análise de variância com nível de significância 5% para inferências estatísticas. Foi observada uma tendência ao prolongamento do desenvolvimento pós-embriônico em função do aumento das densidades de parasitóides e de hospedeiros nas relações. A utilização de cinco parasitóides para um hospedeiro apresentou a maior produtividade média de parasitóides em relação às outras densidades utilizadas e a partir desta relação foi observada uma tendência a redução do número total de parasitóides emergidos, especialmente de fêmeas e um aumento na porcentagem de machos, possivelmente por efeito do superparasitismo. O mesmo foi verificado com o acréscimo de hospedeiros, onde se observou uma maior produtividade de parasitóides utilizando a relação um parasitóide para um hospedeiro e a menor produtividade utilizando a relação 1:3. Houve também um desvio da razão sexual para fêmeas nestes tratamentos, porém, não foi verificado aumento na porcentagem de machos conforme o aumento de hospedeiros nas relações. Já com a utilização de diferentes tempos de exposição do hospedeiro ao parasitismo, a exposição por 72 horas apresentou o maior tempo médio de desenvolvimento pós-embriônico de fêmeas e do total de parasitóides emergidos, os demais tempos de exposição não apresentaram diferença significativa no tempo de desenvolvimento entre si. A produtividade média de parasitóides não variou significativamente com a utilização de diferentes tempos de exposição. Houve uma tendência ao aumento da taxa de pupas inviáveis com o aumento do tempo de exposição, possivelmente pelo efeito deletério das pupas pela exploração das fêmeas parasitóides. Da mesma forma houve um aumento na porcentagem de pupas inviáveis em função do aumento da densidade de parasitóides, e de pupas com emergência de dípteros em função do aumento de hospedeiros utilizados. A taxa de parasitismo, no entanto, foi pouco influenciada pelo aumento da densidade de parasitóides e pelos diferentes tempos de exposição.

Palavras-chave: Controle biológico. Parasitóides. Superparasitismo.

ABSTRACT

MELLO, Renata da Silva. **Effect of the density of *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) and *Chrysomya megacephala* host (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) on the biological aspects of the microhymenoptera.** . 2007. 57p. Dissertation (Master in em Animal Biology). Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

The present study aimed to evaluate reproductive aspects of *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) reared in pupa of *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1974) under controlled environmental conditions (Temperature= 27°C on day/ 25°C at night, 70±10 humidity relative, 14 hours fotofase). It was observed the post-embryonic development, the productivity of parasitoids emerged by pupa, the rate of parasitism, the sexual ratio and the longevity of the parasitoids females in function of the use of different densities of parasitoids for host (1: 1, 3:1, 5:1, 7:1, 9:1, 11:1), different densities of hosts (1: 1, 1:2, 1:3, 1:4 and 1:5), both displayed to the parasitism for 48 hours, and different times of exposure of a host to one parasitoid for 24, 48, 72 and 96 hours. Pupae had been displayed to nulliparous females in test tubes covered with hidrophobic cotton, following the described relations above, to follow the pupae was individualized until an appearancy of adults dipterous or parasitoids. Lots of host pupae not exposed to parasitism and receiving the same experimental treatment, were used as control. Each treatment was constituted by 20 repetitions. It was used analyzes of variance with 5% level of significance for statistic inferences. It was observed a trend to the extend of the average time of post-embryonic development in function of the increase of the densities of parasitoids and the densities of hosts. The use of five parasitoids for host presented the highest productivity of parasitoids in relation to the other tested densities and from this the reduction of emerged the total number of parasitoids, especially of females and an increase in the percentage of males was observed, possibly for effect of the superparasitism. The same was verified with the addition of hosts, where was observed a higher productivity using a parasitoid per host and a lesser productivity using one parasitoid: three hosts. It also had a shunting line of the sexual reason for females, however, the increase of hosts was not verified increase in agreement percentage of males. Regarding the use of different times of exposure of the host to the parasitism presented the biggest times of post-embryonic development with the exposition for 72 hours for the females and the emerged total of parasitoids, the other times of exposition had not presented significant difference between itself. The average productivity of parasitoids did not vary for the use of different times of exposure however, it had a trend to the increase of the rate of pupae impracticable with the increase of the exposition time, possibly for the deleterious effect of pupae for the exploration of the females parasitoids. In the same way it had an increase in the percentage of pupas impracticable in function of the increase of the density of parasitoidss and pupae with appearancy of dipterous in function of the increase of used hosts. The parasitism rate, however, it was little influenced by the increase of the density of parasitoids and for the different times of exposure.

Key-words: Biological control. Parasitoids. Superparasitism.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Desenho ilustrativo do ciclo biológico de <i>Nasonia vitripennis</i> em associação com o hospedeiro: a, mosca adulta; b, ovos da mosca; c, larva da mosca; d, pupário da mosca (hospedeiro de <i>N. vitripennis</i>); e, <i>N. vitripennis</i> perfurando e ovipondo dentro do hospedeiro; f, pupário com o orifício de emergência dos parasitóides adultos.....	07
Figura 2: Estágios de desenvolvimento de <i>Nasonia vitripennis</i> sobre o hospedeiro: a, fêmea de <i>N. vitripennis</i> perfurando o pupário do hospedeiro com seu ovipositor; b, ovos sobre a superfície branca da pupa; c, larva defecando; d, pupa rosada; e, pupa com olhos vermelhos; f, pupa com cabeça e tórax enegrecidos; g, pupa completamente enegrecida; h, micrografia eletrônica mostrando orifício típico de emergência dos parasitóides.....	08
Figura 3: Figura ilustrativa de <i>Chrysomya megacephala</i> (Diptera: Calliphoridae): A, exemplar de um macho e B, exemplar de uma fêmea.....	13
Figura 4: Figuras ilustrativas do procedimento de criação de <i>Chrysomya megacephala</i> (Diptera: Calliphoridae), A: gaiola de criação dos dípteros, B; gaiola de criação com os recipientes contendo água e mel a 50% para alimentação C, D: procedimento de retirada de postura.....	18
Figura 5: Figuras ilustrativas do procedimento de criação de <i>Nasonia vitripennis</i> (Hymenoptera: Pteromalidae), A: fêmea de <i>Nasonia vitripennis</i> , B: <i>Nasonia vitripennis</i> eclodindo do pupário, C: pupários de <i>Chrysomya megacephala</i> individualizados em tubos de ensaio, aguardando a emergência da mosca ou do parasitóide, D: Câmara climatizada regulada 27°C dia/ 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase, E: potes com papel de filtro pincelado com mel, chumaço de algodão com água e oferecimento de pupas para os parasitóides, F: gaiola de criação dos parasitóides vedada com tecido escaline em forma de manga de camisa.....	20
Figura 6: Gaiola de criação de <i>Nasonia vitripennis</i> (Hymenoptera: Pteromalidae), onde foi observada a da longevidade das fêmeas.....	22
Figura 7: Ritmo de emergência de fêmeas e machos de <i>Nasonia vitripennis</i> criadas em pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> expostas por 48 horas ao parasitismo, utilizando diferentes relações parasitóides: hospedeiro (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase)	26
Figura 8: Tendência exponencial do número médio de fêmeas de <i>Nasonia vitripennis</i> originadas de pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> expostas por 48 horas ao parasitismo, utilizando diferentes relações parasitóide: hospedeiro (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10% UR e 14 horas de fotofase).....	29
Figura 9: Tendência exponencial do número médio de machos de <i>Nasonia vitripennis</i> originadas de pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> expostas por 48 horas ao parasitismo, utilizando diferentes relações parasitóide: hospedeiro (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10% UR e 14 horas de fotofase).....	29
Figura 10: Tendência exponencial da razão sexual de <i>Nasonia vitripennis</i> originadas de pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> expostas por 48 horas ao parasitismo, utilizando diferentes relações fêmeas parasitóide: hospedeiro (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase).....	30
Figura 11: Percentual de pupas parasitadas (com emergência de parasitóides), pupas com emergência de <i>Chrysomya megacephala</i> e pupas inviáveis (não originaram dípteros e nem parasitóides) após a exposição por 48 horas ao parasitismo, utilizando	

diferentes relações parasitóide ¹ : hospedeiro ² (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10% UR e 14 horas de fotofase).....	30
Figura 12: Ritmo de emergência de fêmeas e machos de <i>Nasonia vitripennis</i> criadas em pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> expostas por 48 horas ao parasitismo, utilizando diferentes relações parasitóide: hospedeiro (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10% UR e 14 horas de fotofase).....	33
Figura 13: Tendência exponencial da razão sexual de <i>Nasonia vitripennis</i> originadas de pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> expostas por 48 horas ao parasitismo, utilizando diferentes relações parasitóide: hospedeiro (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase).....	35
Figura 14: Percentual de pupas parasitadas (com emergência de parasitóides), pupas com emergência de <i>Chrysomya megacephala</i> e pupas inviáveis (não originaram dípteros e nem parasitóides), após a exposição por 48 horas ao parasitismo, utilizando diferentes relações parasitóide ¹ : hospedeiro ² (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase).....	36
Figura 15: Ritmo de emergência de fêmeas e machos de <i>Nasonia vitripennis</i> criadas em pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> por diferentes tempos de exposição ao parasitismo, utilizando um parasitóide: um hospedeiro (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase).....	39
Figura 16: Tendência exponencial da razão sexual de <i>Nasonia vitripennis</i> originadas de pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> utilizando um parasitóide: um hospedeiro em diferentes tempos de exposição (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase).....	41
Figura 17: Percentual de pupas parasitadas (com emergência de parasitóides), pupas com emergência de <i>Chrysomya megacephala</i> e pupas inviáveis (não originaram dípteros e nem parasitóides) utilizando um parasitóide ¹ : um hospedeiro ² expostos por diferentes tempos de parasitismo (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase).....	41
Figura 18: Longevidade média de fêmeas adultas parasitóides originadas de diferentes relações parasitóide: hospedeiro, exposto por 48h ao parasitismo (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10% UR e 14 horas de fotofase).....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Duração média do desenvolvimento pós-embriônico (em dias) de <i>Nasonia vitripennis</i> criadas em pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> expostas ao parasitismo por 48 horas, utilizando diferentes relações parasitóide ¹ : hospedeiro ² (T: 27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase). Letras diferentes indicam diferenças significativas obtidas através do teste de Tukey.....	25
Tabela 2: Razão sexual, peso médio da pupa hospedeira e número de parasitóides adultos de <i>Nasonia vitripennis</i> criados em pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> expostas ao parasitismo por 48 horas, utilizando-se diferentes relações parasitóide ¹ : hospedeiro ² (T: 27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase). Letras diferentes indicam diferenças significativas obtidas através do teste de Tukey.....	28
Tabela 3: Duração média do desenvolvimento pós-embriônico (em dias) de <i>Nasonia vitripennis</i> criadas em pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> expostas ao parasitismo por 48 horas, utilizando diferentes relações parasitóide ¹ : hospedeiro ² (T: 27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase). Letras diferentes indicam diferenças significativas obtidas através do teste de Tukey.....	32
Tabela 4: Razão sexual, peso médio da pupa hospedeira e número de parasitóides adultos de <i>Nasonia vitripennis</i> criados em pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> expostas ao parasitismo por 48 horas, utilizando-se diferentes relações parasitóide ¹ : hospedeiro ² (T: 27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase). Letras diferentes indicam diferenças significativas obtidas através do teste de Tukey.....	34
Tabela 5: Duração média do desenvolvimento pós-embriônico (em dias) de <i>Nasonia vitripennis</i> criadas em pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> expostas por diferentes períodos de parasitismo, utilizando a relação um parasitóide ¹ : um hospedeiro ² (T: 27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase). Letras diferentes indicam diferenças significativas obtidas através do teste de Tukey.....	38
Tabela 6: Razão sexual, peso médio da pupa hospedeira e número de parasitóides adultos de <i>Nasonia vitripennis</i> criados em pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> expostas por diferentes períodos ao parasitismo, utilizando-se diferentes relações parasitóide ¹ : hospedeiro ² (T: 27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase). Letras diferentes indicam diferenças significativas obtidas através do teste de Tukey.....	40
Tabela 7: Tempo médio da longevidade de fêmeas parasitóides adultas originadas de diferentes relações parasitóide ¹ : hospedeiro ² , mantidas sob condições controladas (T: 27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % U R e 14 horas de fotofase). Letras diferentes indicam diferenças significativas obtidas através do teste de Tukey.....	42

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Características gerais dos parasitóides (Hymenoptera: Chalcidoidea).....	4
2.2 <i>Nasonia vitripennis</i> (Walker, 1836).....	6
2.2.1 Sinonímia (WHITING, 1967, RUEDA & AXTELL, 1985).....	6
2.2.2 Distribuição geográfica e Habitat.....	6
2.2.3 Aspectos morfológicos e ciclo biológico	6
2.2.4 Comportamento de corte dos machos.....	9
2.2.5 Discriminação de hospedeiros parasitados de não parasitados pelas fêmeas parasitóides.....	9
2.2.6 Razão Sexual.....	9
2.2.7 Diapausa, desenvolvimento ontogenético e longevidade de adultos.....	10
2.3 Família Calliphoridae.....	12
2.3.1 Morfologia Geral.....	12
2.4 <i>Chrysomya megacephala</i>	12
2.4.1 Distribuição, denominações e alguns caracteres morfológicos.....	12
2.4.2 Importância Médica-sanitária.....	14
2.4.3 Importância Ecológica dos Dípteros muscóides.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 Estabelecimento da colônia de <i>Chrysomya megacephala</i> (Diptera: Calliphoridae).....	17
3.1.1 Identificação e manutenção da colônia de <i>Chrysomya megacephala</i>	17
3.2 Estabelecimento de colônia de <i>Nasonia vitripennis</i> (Hymenoptera: Pteromalidae).....	19
3.2.1 Manutenção da colônia de <i>Nasonia vitripennis</i> (Hymenoptera: Pteromalidae)..	19
3.3 Delineamento experimental.....	19
3.3.1 Etapa 1: Estudo da relação <i>Nasonia vitripennis</i> : <i>Chrysomya megacephala</i> , utilizando-se diferentes densidades do parasitóide.....	21
3.3.2 Etapa 2: Estudo da relação <i>Nasonia vitripennis</i> : <i>Chrysomya megacephala</i> , utilizando-se diferentes densidades de hospedeiro.....	21
3.3.3 Etapa 3: Estudo da influência do tempo de exposição do hospedeiro ao parasitismo.....	21
3.3.4 Etapa 4: Longevidade de fêmeas parasitóides adultas originadas de diferentes relações parasitóide: hospedeiro.....	22
3.4 Exemplos testemunhas.....	23
3.5 Análise dos dados.....	23
4 RESULTADOS	24
4.1 Estudo da relação parasitóide: hospedeiro utilizando diferentes densidades de fêmeas nuparas de <i>Nasonia vitripennis</i>	24
4.1.1 Duração do desenvolvimento pós-embrionário e ritmo de emergência de <i>Nasonia vitripennis</i>	24
4.1.2 Produtividade de parasitóides por pupa e razão sexual.....	27
4.1.3 Taxa de Parasitismo de pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> por <i>Nasonia vitripennis</i>	27
4.2 Estudo da relação parasitóide: hospedeiro utilizando diferentes densidades de	31

pupas hospedeiras.....	
4.2.1 Duração do desenvolvimento pós-embrionário e ritmo de emergência de <i>Nasonia vitripennis</i>	31
4.2.2 Produtividade de parasitóides por pupa e razão sexual.....	31
4.2.3 Taxa de Parasitismo de pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> por <i>Nasonia vitripennis</i>	36
4.3 Estudo da relação parasitóide: hospedeiro utilizando diferentes tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide.....	37
4.3.1 Duração do desenvolvimento pós-embrionário e ritmo de emergência de <i>Nasonia vitripennis</i>	37
4.3.2 Produtividade de parasitóides por pupa e razão sexual.....	37
4.3.3 Taxa de parasitismo de pupas de <i>Chrysomya megacephala</i> por <i>Nasonia vitripennis</i>	37
4.4 Longevidade média de fêmeas adultas de <i>Nasonia vitripennis</i> originadas de diferentes relações parasitóide: hospedeiro.....	42
5 DISCUSSÃO	44
5.1 Desenvolvimento pós-embrionário de <i>Nasonia vitripennis</i> utilizando diferentes relações parasitóides: hospedeiros e variados tempos de exposição do hospedeiro ao parasitismo.....	44
5.2 Produtividade de Parasitóides por hospedeiro, Razão sexual e Taxa de parasitismo.....	46
5.3 Longevidade média de fêmeas parasitóides adultas.....	49
6 CONCLUSÕES	50
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

1 INTRODUÇÃO

Os califorídeos são, em sua maioria, moscas que apresentam importância médico-veterinária por serem veiculadores de agentes etiológicos (enterovírus, bactérias entéricas, esporos de fungos, cistos de protozoários, ovos e larvas de helmintos), e também, pelas larvas de algumas espécies destes dípteros provocarem miíases em humanos e animais domésticos (GREENBERG, 1973; GUIMARÃES *et al.*, 1983; FURLANETTO *et al.*, 1984; GUIMARÃES & PAPAVERO, 1999) sendo consideradas verdadeiras pragas (AXTELL, 1986). Por outro lado, estes insetos são importantes no processo de decomposição da matéria orgânica, sendo intensamente utilizados em estudos de entomologia forense (OLIVEIRA-COSTA, 2003). A maioria das espécies é freqüentadora de centros urbanos e exploradores de substâncias e resíduos orgânicos produzidos pela atividade humana e animal, especialmente fezes e resíduos vegetais (MONTEIRO, 1995).

As moscas varejeiras constituem um problema real no ambiente rural e nas grandes cidades, onde locais com infra-estrutura inadequada de água, esgoto e acúmulo de material orgânico em decomposição tornam-se criadouros naturais destes insetos, com conseqüente transmissão de patógenos e propagação de doenças em humanos e animais, implicando em elevados prejuízos sócio-econômicos para o país (CARVALHO *et al.*, 2005). No Brasil, o controle de dípteros muscóides tem sido feito quase que exclusivamente com o uso de inseticidas, o que pode acarretar sérios danos ambientais, tanto por ser tóxicos aos seres vivos, quanto por induzirem o desenvolvimento de insetos resistentes. Dessa forma, a realização de estudos e o desenvolvimento de técnicas de controle biológico têm sido realizados no mundo todo, visando o controle eficiente e seguro para o homem e o ambiente (CARVALHO *et al.* 2005).

Entre as espécies de califorídeos consideradas de importância médico-veterinária, destaca-se *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794), uma espécie originária da África, cujo primeiro registro no Brasil data de 1977 (GUIMARÃES *et al.* 1978; GUIMARÃES *et al.* 1979). Atualmente esta espécie encontra-se dispersa por todo o território brasileiro e sugere-se que o sucesso na rápida expansão geográfica esteja relacionado à sua elevada tolerância às variações climáticas como temperatura, umidade relativa e luminosidade, e o seu comportamento reprodutivo típico de uma espécie r-estrategista (PIANKA, 1970; PARALUPPI & CASTELLÓN, 1994; MELLO, 2005). Por esta espécie possuir alto grau de sinantropia e ser atraída por uma variedade de alimentos, fezes humanas e de animais e carne em decomposição, é considerada como um dos mais importantes dípteros vetores de bactérias entéricas, protozoários e helmintos (CARVALHO *et al.*, 2004; WELLS, 1991). Além disso, as larvas desta espécie podem levar ao desenvolvimento de miíases facultativas em homens e animais (GUIMARÃES *et al.*, 1983; SUKONTASON *et al.*, 2005). Esta elevada capacidade de disseminação de doenças, somada a elevada prevalência de *C. megacephala* em ambiente urbano, torna esta espécie uma praga e um risco para a saúde pública (GUIMARÃES *et al.*, 1979).

Os parasitóides são considerados agentes responsáveis pela redução de populações de dípteros muscóides que proliferam em esterco, cadáveres e carcaças de animais (RUEDA & AXTELL, 1985). Os principais grupos de insetos controladores de moscas são Hymenoptera das famílias Braconidae, Pteromalidae, Figitidae, Diapriidae e Eucolidae (LEGNER & OLTON, 1970 e MARCHIORI & LINHARES, 1999). A utilização desses parasitóides, principalmente dos pteromalídeos, como inimigos naturais de dípteros muscóides de interesse médico-veterinário e sanitário, é considerada uma alternativa eficiente e ecológica no manejo de vetores (PICKENS & MILLER, 1978; PETERSEN & PAWSON, 1988; CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1996).

Nasonia vitripennis (Walker, 1836) (Pteromalidae) é um ectoparasitóide gregário de imaturos de moscas das famílias Calliphoridae, Sarcophagidae e Muscidae (ULLYETT, 1950; CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1996). Por apresentar esse comportamento gregário, esta espécie aponta vantagens para ser utilizado em programas de controle biológico de moscas. A taxa de reprodução deste parasitóide é potencializada com a utilização de pupários grandes como os da família Calliphoridae e Sarcophagidae (CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1995).

Para o desenvolvimento de um programa de manejo integrado (MIP) eficiente, há a necessidade da elaboração prévia de estudos relacionados a aspectos biológicos e ecológicos dos agentes biocontroladores, com a finalidade de evitar o impacto negativo que pode acarretar a introdução em campo destes agentes sobre outras populações de animais e/ou sobre o ambiente. A maior parte dos estudos realizados no Brasil sobre parasitóides de dípteros muscóides se refere a relatos da ocorrência e biologia de himenópteros parasitando moscas em regiões rurais e urbanas do país (CARVALHO *et al.*, 2003; CARVALHO *et al.*, 2004; MARCHIORI, 2004; RODRIGUES-GUIMARÃES *et al.*, 2006).

Devido a importância médica-veterinária de *C. megacephala*, facilidade de sua criação em laboratório e por serem hospedeiros naturais de *N. vitripennis* (MILWARD-DE-AZEVEDO *et al.*, 1996), este estudo teve como objetivo investigar a biologia de *N. vitripennis* e sua inter-relação com *C. megacephala* utilizando: (a) diferentes densidades de parasitóides em contato com um hospedeiro, (b) diferentes densidades de hospedeiros expostos a um parasitóide e (c) diferentes tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide. Desta forma, para testar a hipótese de que relações com elevadas densidades de fêmeas nulíparas de *N. vitripennis* disponíveis a um hospedeiro, bem como tempos de exposição acima de 72 h provocam o superparasitismo, levando a uma longevidade média menor dos parasitóides adultos e que a utilização de relações com densidades elevadas de hospedeiros expostos a uma fêmea nulípara de *N. vitripennis* causa um efeito contrário ao superparasitismo, o presente trabalho visou responder as seguintes perguntas:

1. O desenvolvimento pós-embrionário dos parasitóides é afetado pela utilização de diferentes densidades de fêmeas nulíparas parasitóides disponíveis a um hospedeiro?
2. O desenvolvimento pós-embrionário dos parasitóides é afetado pela utilização de diferentes densidades de hospedeiros expostos a uma fêmea parasitóide?
3. O desenvolvimento pós-embrionário dos parasitóides é afetado pela utilização de diferentes tempos de exposição do hospedeiro a uma fêmea nulípara parasitóide?
4. A produtividade de parasitóides é influenciada pela utilização de diferentes densidades de fêmeas nulíparas parasitóides disponíveis a um hospedeiro?
5. A produtividade de parasitóides é influenciada pela utilização de diferentes densidades de hospedeiros expostos a uma fêmea nulípara parasitóide?
6. A produtividade de parasitóides é influenciada pela utilização de diferentes tempos de exposição do hospedeiro a uma fêmea nulípara parasitóide?
7. A razão sexual da progênie é influenciada pela utilização de diferentes densidades de fêmeas nulíparas parasitóides disponíveis a um hospedeiro?
8. A razão sexual da progênie é influenciada pelas diferentes densidades de hospedeiros expostos a uma fêmea nulípara parasitóide?
9. A razão sexual da progênie é influenciada pelos diferentes tempos de exposição do hospedeiro a uma fêmea nulípara parasitóide?
10. A taxa de parasitismo aumenta com a utilização de densidades crescentes de fêmeas nulíparas parasitóides por hospedeiro ou com o aumento do tempo de exposição do hospedeiro ao parasitóide?

11. A taxa de parasitismo diminui com o aumento do número de hospedeiros expostos a uma fêmea nulípara parasitóide?
12. Existe diferença no tempo médio de vida das fêmeas parasitóides originadas a partir da utilização de diferentes densidades de fêmeas nulíparas parasitóides disponíveis a um hospedeiro?

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Características gerais dos parasitóides (Hymenoptera: Chalcidoidea)

A ordem Hymenoptera compreende um grupo muito diversificado, incluindo aproximadamente cem mil espécies com hábito de vida semelhante ao de parasitas, pois, em seu ciclo de vida, também, utilizam hospedeiros como fonte de alimento e abrigo (ASKEW, 1971). Frequentemente, utiliza-se o termo parasitóide para classificar ecologicamente estas espécies, especialmente por divergirem dos parasitas verdadeiros em alguns aspectos básicos, tais como: apresentarem vida parasitária apenas durante as fases imaturas, serem grandes em relação aos hospedeiros, parasitarem normalmente hospedeiros pertencentes à mesma ordem e matarem o hospedeiro próximo ao fim do seu desenvolvimento (DOUTT, 1959). Segundo PARRA *et al.* (2002) o uso do termo parasitoidismo para se referir a associação entre parasitóide e hospedeiro não é conveniente, já que não existe o ato de “parasitoidar” e sim o de parasitar, portanto esta associação deve ser referida como parasitismo, nomenclatura que foi adotada no presente estudo.

A superfamília Chalcidoidea é formada, em sua maioria, por insetos parasitóides, porém, algumas espécies são consideradas fitófagas. Esta superfamília está dividida em 19 famílias, com mais de 90 subfamílias conhecidas. Atualmente, a maior família é a Eulophidae, com aproximadamente 4500 espécies, seguida por Encyrtidae e Pteromalidae. A maioria das espécies possui comprimento menor que 3,0 mm, geralmente com 1,5 mm (PARRA *et al.*, 2002).

Os pteromalídeos apresentam variadas classificações definidas de acordo com: número de ovos colocados dentro do hospedeiro, localização do parasitóide no hospedeiro, comportamento do hospedeiro após o ataque do parasitóide e com base no grau de especificidade dos parasitóides. As espécies que colocam apenas um ovo no hospedeiro são consideradas parasitóides solitários, enquanto aquelas que colocam mais de um são consideradas gregárias. Todos os estágios do hospedeiro podem ser atacados, desde ovo até a pupa. Os parasitóides de ovos ou de larvas são considerados endoparasitóides, já que se desenvolvem no interior destes, enquanto os parasitóides de pupas podem ser tanto endoparasitóides quanto ectoparasitóides (BRODEUR & BOIVIN, 2004). Os parasitóides podem ainda ser classificados como: koinobiontes ou idibiontes, o primeiro termo refere-se aos insetos que ao parasitarem o hospedeiro permitem a continuação do desenvolvimento do mesmo e só o mata no final da sua maturidade; já os parasitóides idibiontes são aqueles que imediatamente após a oviposição, interrompem o ciclo de vida do hospedeiro (BRODEUR & BOIVIN, 2004). De forma geral, os ectoparasitóides adotam estratégias idiobiontes, enquanto os endoparasitóides são koinobiontes, mas esta não é uma regra absoluta (PENNACCHIO & STRAND, 2006). Considera-se que a maioria dos pteromalídeos são idibiontes (HANSON & GAULD, 1995). Por último, os parasitóides podem ser classificados segundo o grau de especificidade com o hospedeiro, podendo ser polífagos ou monófagos (ASKEW & SHAW, 1986). Os primeiros atacam uma grande variedade de espécies e o segundo são os que apresentam desenvolvimento restrito a uma única espécie de hospedeiro.

O sucesso do parasitismo é geralmente dividido em etapas hierárquicas que consistem na localização do habitat do hospedeiro, localização do hospedeiro, aceitação do hospedeiro e regulação fisiológica do hospedeiro (BRODEUR & BOIVIN, 2004). Para a maioria dos himenópteros parasitóides, o primeiro dos três passos e parte do quarto passo é responsabilidade das fêmeas e esse comportamento é determinante para o sucesso do parasitismo, estando sob forte seleção natural. Apenas as fêmeas são capazes de atacar os hospedeiros, procurando-os através de sinais bioquímicos captados por suas antenas. No

entanto, mesmo encontrando um hospedeiro, a oviposição não é imediata, pois esta pode ser influenciada por diversos fatores, tais como: qualidade do hospedeiro, nível de competição, número de ovos disponíveis e expectativa de vida das fêmeas (BRODEUR & BOIVIN, 2004).

Uma vez os hospedeiros tenham sido encontrados, avaliados e aceitos, os parasitóides imaturos devem assegurar recursos suficientes para o seu pleno desenvolvimento. Em caso de superparasitismo, isto implica em competição com outros imaturos. Para WYLIE (1963) o superparasitismo é definido como a ocorrência de um número superabundante de indivíduos parasitóides da mesma espécie se desenvolvendo dentro de um único hospedeiro. Este parasitismo pode ocorrer quando as fêmeas depositam seus ovos em um hospedeiro previamente parasitado, resultando, freqüentemente, em intensa competição entre as larvas que compartilham o mesmo hospedeiro (VAN DIJKEN & WAAGE, 1987). Embora muitas espécies de parasitóides tenham capacidade de distinguir hospedeiros não parasitados de parasitados e de rejeitá-los posteriormente caso estejam parasitados, o superparasitismo é um fenômeno comum na natureza (WEBER *et al.*, 1996). Há, ainda, outra condição de parasitismo contrária ao superparasitismo denominada de multiparasitismo, este envolve a ocorrência de duas ou mais espécies de parasitóides desenvolvendo-se dentro de um mesmo hospedeiro (WYLIE, 1963).

A maioria dos estudos sobre superparasitismo está relacionada às espécies de parasitóides solitários, sendo de fácil detecção. O resultado da ocorrência do superparasitismo em espécies solitárias é geralmente presumível: os imaturos incorporam a competição e um grande número de indivíduos é destruído física ou fisiologicamente. Por outro lado, o superparasitismo em espécies gregárias é mais dificilmente detectado, em geral, apresenta a competição restrita à exploração dos recursos e raramente leva as larvas ao combate direto. Uma das conseqüências da falta de recursos é a redução do tamanho da progênie madura. No entanto, se a falta for tênue, a redução do tamanho deve ser somente um sintoma da ocorrência de superparasitismo. Para definir a ocorrência de superparasitismo em espécies gregárias, a quantidade e qualidade do alimento fornecido pelo hospedeiro, bem como o número de parasitóides dentro do hospedeiro, é utilizado como critério de classificação (WYLIE, 1965).

BARBOSA (2006) observou que a duração do desenvolvimento pós-embrionário e a taxa de produtividade de pupas hospedeiras também podem ser influenciadas pelo superparasitismo. Um desenvolvimento mais lento de *N. vitripennis* foi observado em pupas de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1805) quando estas foram expostas à densidade de cinco parasitóides a um hospedeiro, em relação a menores densidades (1:1, 2:1, 3:1 e 4:1). Segundo este autor, provavelmente o número de parasitóides presentes se desenvolvendo em um único hospedeiro foi tão elevado, que ocasionou a competição, fazendo com que tanto o parasitóide quanto o hospedeiro não emergissem e elevando a uma taxa de inviabilidade de pupas. Por outro lado, foi sugerido por este mesmo autor que baixas densidades de parasitóides gregários dentro de cada hospedeiro também podem comprometer o desenvolvimento de parte ou de toda a progênie, e induzir a inviabilidade do hospedeiro. Este efeito seria o contrário ao do superparasitismo e foi sugerido o termo de “subparasitismo”.

Diferentes estudos têm afirmado que os parasitóides apresentam um sistema de determinação sexual do tipo haplodiplóide, com partenogênese geralmente arrenótoca, o que resulta em machos haplóides, derivados de ovos não fecundados. A maioria das fêmeas parasitóides tem capacidade de controlar o sexo da prole e esta alocação do sexo na progênie por sua vez, é influenciada por fatores intrínsecos e extrínsecos ao hospedeiro, como a presença de outras fêmeas sobre o hospedeiro, a qualidade do hospedeiro (tamanho, idade), a quantidade e a distribuição dos hospedeiros e o reconhecimento prévio de hospedeiros parasitados, já que estes diferem bioquímica, fisiológica e ecologicamente de hospedeiros não

parasitados (WYLIE, 1964; CHABORA & PIMENTEL, 1966; KING, 1987; VINSON & IWANTSCH, 1980; HARVEY & GOLS, 1998; HUSNI & HONDA, 2001).

2.2 *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836)

2.2.1 Sinonímia (WHITING, 1967, RUEDA & AXTELL, 1985)

Mormoniella vitripennis Walker, 1836

Nasonia vitripennis (Walker, 1836)

Pteromalus vitripennis Walker, 1836

Mormoniella brevicornis Ashmead, 1904

Nasonia brevicornis Ashmead, 1904

Nasonia vitripennis Graham, 1969

2.2.2 Distribuição geográfica e Habitat

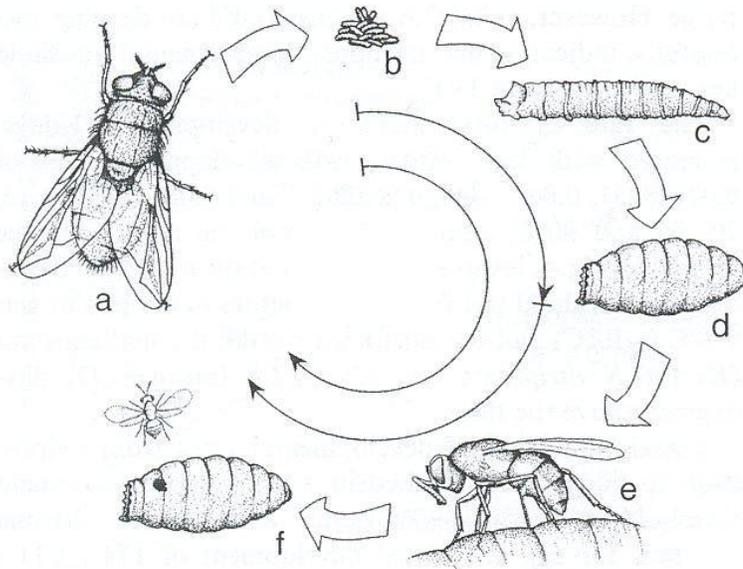
Nasonia vitripennis apresenta ampla distribuição geográfica. RUEDA & AXTELL, (1985) citam sua ocorrência na América do Norte, África, Austrália, Europa, Sul da Ásia e Ilhas do Pacífico, seus hospedeiros nesses locais foram dípteros das famílias Calliphoridae, em maior prevalência, Cuterebridae, Muscidae, Piophilidae e Tachinidae. No Brasil, o primeiro relato de ocorrência desta espécie data de 1985, parasitando pupas de *Chrysomya* sp. (MADEIRA & NEVES, 1985). DARLING & WERREN (1990) verificaram que na América do Norte, *N. vitripennis* é rotineiramente simpátrica com *Nasonia giraulti* (Darling) e *Nasonia longicornis* (Darling).

Fêmeas de *N. vitripennis* são consideradas polípagas por serem capazes de parasitar uma grande variedade de hospedeiros. WHITING (1967) relatou a existência de 68 espécies de dípteros ciclorafo parasitados por *N. vitripennis* e, atualmente, novos hospedeiros tem sido relatados (MARCHIORI, 2004). A seleção de habitat do parasitóide pode ser influenciada por diversos fatores. Segundo WHITING (1967), um dos fatores que interferem para *N. vitripennis* é a profundidade de pupação dos hospedeiros. Este autor afirma que, quando as larvas dos dípteros empupam abaixo de 3,8 cm da superfície em solo fofo ou compacto, o parasitóide não é capaz de parasitá-lo. ULLYETT (1950) testando o parasitismo de *N. vitripennis* em *Lucilia sericata* (Meigen, 1826), *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) e *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819), observou que *L. sericata* foi à espécie preferida deste microhimenóptero. Entretanto, na natureza, 98% das larvas de *L. sericata* empupam abaixo da superfície do solo, conferindo-lhe certa imunidade contra o ataque de parasitóides e predadores; por outro lado, 98,7% de *C. albiceps* e 57% de *C. putoria* empupam na superfície, ficando mais expostas ao parasitismo. WYLIE (1958) acredita que a procura e a percepção de hospedeiros por *N. vitripennis* é determinada essencialmente pelo olfato. O autor acredita que a habilidade das fêmeas parasitóides em encontrarem os hospedeiros no ambiente é determinada pelo odor aderido ao pupário e este atrativo pode ser perdido se as larvas forem lavadas antes de empupar, se parte ou todo odor for removido das larvas maduras quando estas se arrastam pelo chão, ou se o odor for obscurecido quando o pupário se forma no solo.

2.2.3 Aspectos morfológicos e ciclo biológico

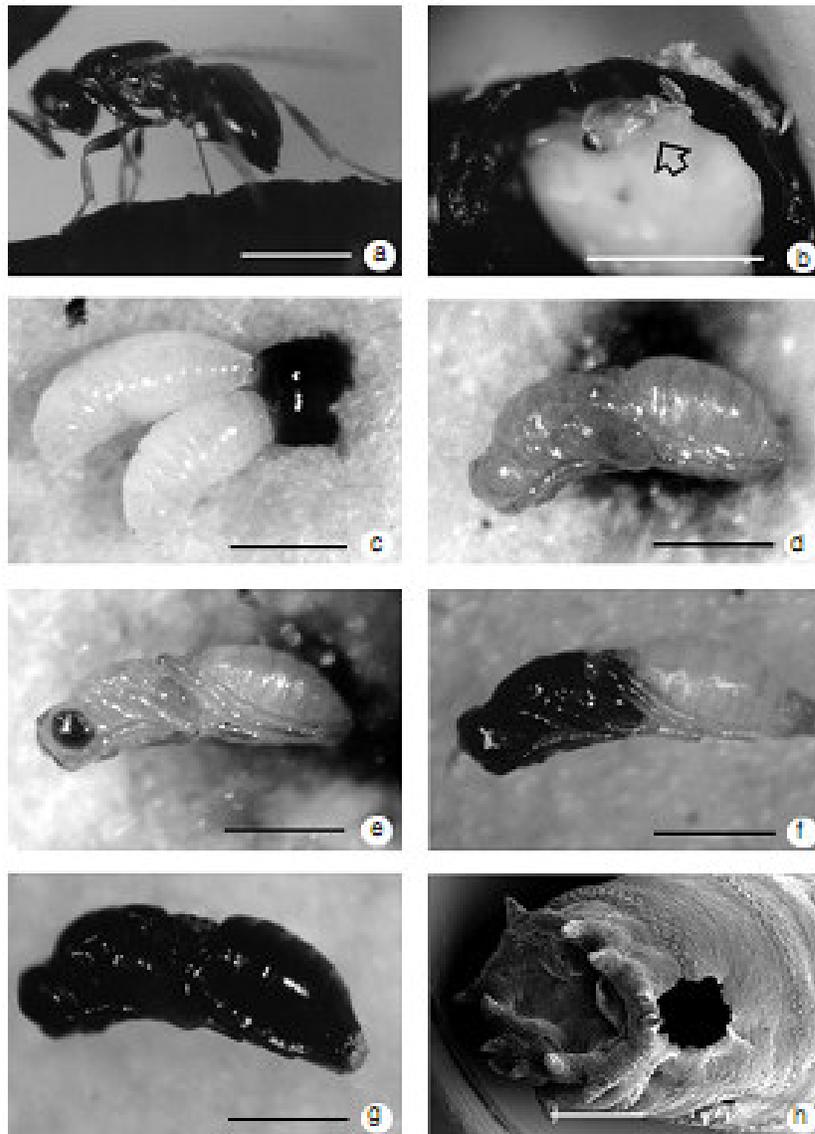
Nasonia vitripennis possui um ciclo biológico do tipo holometábolo, ou seja, apresenta quatro estágios de desenvolvimento: ovo, larva, pupa e adulto (Figura 1). Os ovos desta espécie são translúcidos esbranquiçados, medindo geralmente 0,33 mm de comprimento e 0,12 mm de diâmetro. As larvas possuem 15 segmentos e apresentam a boca localizada na

face ventral do primeiro segmento, com mandíbulas curvadas e pontiagudas e o ânus localizado no último segmento. A cabeça é muito pequena e é reforçada por um anel quitinoso. Elas apresentam quatro instares distintos nos quais ocorrem mudanças fisiológicas e morfológicas. Durante a fase ativa de desenvolvimento, as larvas alimentam-se rapidamente e mostram um aumento abrupto em seu volume corporal, devido à inabilidade de defecarem neste período. Esta característica confere coloração amarelo-escuro à larva. Ao término do período de alimentação, as larvas entram em um período de inatividade que culmina na defecação, resultante da ruptura do intestino. O período pós-defecação é seguido pela última muda larval e posterior formação de pupa. Subseqüentemente, observa-se o escurecimento gradual da bainha larval que recobre a pupa. Inicialmente a pupa é esbranquiçada-rosada e gradativamente escurece até ficar completamente enegrecida. O último estágio apresenta as características morfológicas do adulto. Os adultos apresentam tamanhos diminutos, com fêmeas medindo de 1,0 a 3,5 mm e machos medindo de 0,6 a 2,4 mm. Possuem o corpo predominantemente negro brilhante, com escapo, pedicelo e parte das pernas castanho-amarelados e fêmures negros. O dimorfismo sexual é determinado pelo tamanho das asas, sendo reduzida nos machos, e pelos flagelômeros terminais das antenas, os quais se apresentam mais intumescido e escuro nas fêmeas (WHITING, 1967; GRASSBERGER & FRANK, 2003) (Figura 2).



Fonte: GRASSBERGER & FRANK, 2003

Figura 1: Desenho ilustrativo do ciclo biológico de *Nasonia vitripennis* em associação com o hospedeiro: a, mosca adulta; b, ovos da mosca; c, larva da mosca; d, pupário da mosca (hospedeiro de *N. vitripennis*); e, *N. vitripennis* perfurando e ovipondo dentro do hospedeiro; f, pupário com o orifício de emergência dos parasitóides adultos.



Fonte: GRASSBERGER & FRANK, 2003

Figura 2: Estágios de desenvolvimento de *Nasonia vitripennis* sobre o hospedeiro: a, fêmea de *N. vitripennis* perfurando o pupário do hospedeiro com seu ovipositor; b, ovos sobre a superfície branca da pupa; c, larva defecando; d, pupa rosada; e, pupa com olhos vermelhos; f, pupa com cabeça e tórax enegrecidos; g, pupa completamente enegrecida; h, micrografia eletrônica mostrando orifício típico de emergência dos parasitóides.

2.2.4 Comportamento de corte dos machos

Alguns estudos descrevem o comportamento de corte de *N. vitripennis*. Estes estudos mostram que ao encontrar uma fêmea, o macho, imediatamente se acopla e mostra movimentos regulares das asas. O movimento das asas é acompanhado por movimentos característicos da cabeça que consiste em abaixá-la e levantá-la rapidamente, acompanhado de movimentos das peças bucais. VAN DEN ASSEM *et al.* (1980) sugeriram que esses movimentos devem servir para transferir produtos afrodisíacos dos machos para as fêmeas. Em resposta a corte dos machos, as fêmeas sinalizam sua receptividade sexual abaixando suas antenas e sincronicamente levantam o abdômen para expor a genitália, permitindo que a cópula ocorra em seguida. STEINER *et al.* (2006) sugerem que o comportamento sexual de corte dos machos é induzido por feromônios sexuais derivado de hidrocarbonetos da cutícula das fêmeas, mas os produtos químicos envolvidos ainda são poucos conhecidos.

O sistema reprodutivo de *N. vitripennis* é do tipo protândrico, ou seja, os machos atingem a maturidade mais cedo e costumam emergir primeiro que as fêmeas (STEINER *et al.*, 2006). Quando a densidade de machos é baixa dentro do pupário, os indivíduos dominantes defendem agressivamente o orifício de escape no pupário contra outros competidores, de forma a assegurar a cópula com as fêmeas que irão emergir. As fêmeas recém-emergidas copulam imediatamente com os machos e em seguida se dispersam na procura por outros hospedeiros. Um macho é capaz de inseminar várias fêmeas, enquanto, normalmente as fêmeas copulam uma única vez (VAN DEN ASSEM *et al.*, 1980; WYLIE, 1964).

2.2.5 Discriminação de hospedeiros parasitados de não parasitados pelas fêmeas parasitóides

As fêmeas de *N. vitripennis* são atraídas através de seu olfato pelos substratos de criação e oviposição dos seus hospedeiros. A discriminação entre a baixa e a alta qualidade do hospedeiro parece ocorrer somente após o contato das fêmeas com o mesmo, e geralmente é realizada pelo recolhimento, através do ovipositor, de uma pequena amostra da hemolinfa das pupas, destas as fêmeas obtêm proteínas e informações sobre as condições do hospedeiro para efetuação da postura (WYLIE, 1958, 1965; WHITING, 1967; KING & ELLISON, 2006). WYLIE (1967) observou que as fêmeas de *N. vitripennis* atacam, em média, apenas dois hospedeiros, no intervalo de 18 horas, mesmo que um número maior de pupários esteja disponível e sugeriu que o veneno injetado pelo ovipositor das fêmeas, no primeiro ataque, provoca alterações metabólicas que induzem a rejeição do hospedeiro por outras fêmeas parasitóides. As fêmeas que negligenciam a qualidade do hospedeiro e ovipõem em pupários anteriormente parasitados, envelhecidos, fisicamente destruídos ou congelados costumam apresentar uma queda na quantidade e qualidade da progênie, originando parasitóides de tamanho reduzidos e com baixa expectativa de vida (WYLIE, 1963 e 1965; KING & SKINNER, 1991; MILWARD DE AZEVEDO & CARDOSO, 1996; MESSIAS, 2006).

2.2.6 Razão Sexual

Nasonia vitripennis tem sido extensivamente utilizada como modelo de estudos relacionados à determinação e à evolução da razão sexual. Como na maioria das espécies da ordem Hymenoptera, a determinação do sexo da prole é quase que inteiramente do tipo haplodiplóide. No entanto, BEUKEBOOM *et al.* (2007) apresentaram resultados contrários à generalização da determinação sexual dada pela partenogênese dos machos. Este estudo verificou a presença de fêmeas haplóides, além da presença de fêmeas diplóides, na progênie

de *N. vitripennis*. Estas fêmeas partenogênicas, no entanto, apresentaram redução acentuada da fecundidade e fertilidade em relação às fêmeas diplóides.

A maioria dos estudos desenvolvidos com parasitóides assume que as fêmeas são as responsáveis pelo controle da razão sexual da progênie, arcando com a decisão de fertilizar ou não os óvulos. São incipientes os estudos que procuraram investigar a influência dos machos no controle da razão sexual. No entanto, SHUCKER *et al.* (2006) observaram que algumas das variações encontradas na razão sexual de *N. vitripennis* também podem ser atribuídas aos machos de forma indireta e é causada pela produção de espermatozóides inviáveis e incapazes de fertilizar os ovos, o que aumentariam a proporção de machos na prole. No entanto, a influência dos machos sobre a razão sexual é considerada relativamente pequena, sendo o controle predominantemente atribuído às fêmeas.

A resposta da razão sexual em fêmeas de *N. vitripennis* pode ser explicada por duas teorias: competição local pela cópula (*local mate competition* - LMC) e qualidade do hospedeiro (KING, 1992). O modelo LMC foi desenvolvido por HAMILTON (1967) e como o nome pressupõe, assume que a cópula ocorre no local de emergência dos parasitóides. Esta teoria baseia-se em alguns pressupostos. Quando somente uma fêmea ovipõe no hospedeiro, todos os machos da prole serão irmãos. Nesta situação, a seleção é predita em favor das fêmeas que produzirem números suficientes de machos para inseminar todas as fêmeas disponíveis no local de emergência, uma produtividade adicional de machos pode levar a competição e significaria desperdício de recursos. Ao contrário, quando múltiplas fêmeas ovipõem em um mesmo hospedeiro, nem todos os machos que emergirem serão irmãos. Nesta situação, pelo aumento na produção da proporção de machos, uma mãe pode aumentar as chances de um dos seus filhos, e não o filho da outra mãe, fertilizar as fêmeas disponíveis. WYLIE (1965) verificou que a presença de múltiplas fêmeas numa mesma área disputando por um único hospedeiro estimulou a produção de um maior percentual de machos na progênie, concordando com o modelo LMC.

O modelo da qualidade do hospedeiro prediz que as fêmeas parasitóides manipulariam a razão sexual em resposta a qualidade do hospedeiro (CHARNOV, 1979; CHARNOV *et al.*, 1981). O modelo sugere que as fêmeas produziram uma maior proporção de machos sob condições que resultassem em uma progênie reduzida. Isto pode ocorrer quando uma fêmea ovipõe em hospedeiros já parasitados, ou quando ovipõe em pupários de tamanhos reduzidos (WYLIE, 1973; WERREN, 1980; KING, 1993). Alguns estudos demonstraram que hospedeiros mais robustos privilegiaram a emergência de fêmeas e hospedeiros menores permitiram um aumento na proporção de machos na progênie (VAN DEN ASSEN *et al.*, 1984; HARVEY & GOLDS, 1998).

O controle do sexo da progênie pelas fêmeas de *N. vitripennis* pode ser, também, regulado e influenciado pela idade das fêmeas parasitóides e fatores ambientais. Dentre os fatores ambientais, podem ser citados o fotoperíodo, a temperatura e a umidade relativa do ar. Porém, na natureza os parasitóides costumam evitar alterações climáticas extremas ao selecionarem micro-habitats (VELTHUIS *et al.*, 1965; KING, 1987).

2.2.7 Diapausa, desenvolvimento ontogenético e longevidade de adultos

A diapausa é um fenômeno rotineiro em *N. vitripennis* que ocorre durante o desenvolvimento pós-embriônico dos parasitóides e caracteriza-se por uma parada prolongada no desenvolvimento ontogenético, ainda nos estágios imaturos, geralmente quando estão sob condições climáticas adversas. Entre os fatores que podem condicionar este comportamento estratégico dos parasitóides, destacam-se: variações bruscas de temperatura, fotoperíodo, pressão atmosférica, umidade relativa do ar, qualidade do hospedeiro e idade das

fêmeas parasitóides (WYLIE, 1963; WALKER & PIMENTEL, 1966; SAUNDERS *et al.* 1970).

Estudos relativos ao desenvolvimento pós-embrionário observaram que os parasitóides criados dentro de uma faixa de temperatura compreendida entre 26 e 28°C e umidade relativa do ar $60 \pm 10\%$, normalmente apresentam um tempo médio de desenvolvimento pós-embrionário variando de 12 a 15 dias (CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1995 e 1996; MOREIRA *et al.*, 1996). BARBOSA (2006) utilizando a relação um parasitóide para um hospedeiro durante 24 horas de parasitismo e sob condições controladas (T: 27°C, 60% UR e 14 horas de fotofase), verificou a emergência de 17 machos no 28º dia após o início da exposição e relacionou esta extensão média do desenvolvimento à possível ocorrência da diapausa. GRASSBERGER & FRANK (2003) estudando o desenvolvimento de *N. vitripennis* em diferentes temperaturas, observaram que a temperatura de 35°C não permitiu a continuidade do desenvolvimento ontogenético dos parasitóides, enquanto sob a temperatura de 15°C houve um retardo significativo no tempo de desenvolvimento, com duração média de 44 dias.

Outros estudos demonstraram que o tempo de desenvolvimento ontogenético dos parasitóides pode apresentar variações de acordo com a idade e qualidade do hospedeiro, considerando que a qualidade do hospedeiro pode ser alterada em função de alguns fatores fisiológicos, incluindo a presença de toxinas, competição entre parasitóides e enfermidade do organismo. Todos estes fatores devem afetar o status nutricional do hospedeiro e conseqüentemente a duração do desenvolvimento ontogenético dos parasitóides (HARVEY & GOLS, 1998; HUSNI & HONDA, 2001). WYLIE (1964) observou que o tempo de desenvolvimento ontogenético de parasitóides criados sob temperatura $24 \pm 0,5^\circ\text{C}$ e 70-75% UR, em hospedeiros mais jovens (0-48h) foi de 15,2 dias, sendo menor que aqueles criados em hospedeiros mais velhos (72-120h), que apresentaram duração de 16,4 dias, e sugeriu que essa diferença fosse inteiramente nutricional, pois o fluído da pupa decresce com a idade do hospedeiro e, além disso, o fluido de hospedeiros jovens é mais facilmente ingerido. WYLIE (1965), também, observou que *N. vitripennis* criadas sob temperatura $24 \pm 0,5^\circ\text{C}$ e 70-75% UR apresentou diferença no tempo de desenvolvimento com a utilização de diferentes densidades de fêmeas por hospedeiro, resultando em um desenvolvimento mais acelerado em hospedeiros que produziram uma maior progênie, ou seja, quando as pupas foram expostas a uma menor densidade de fêmeas parasitóides.

O estoque de ovos de um parasitóide representa o número de ovos maduros disponíveis para as oviposições durante toda a vida. Em parasitóides pró-ovigênicos, os adultos emergem com um estoque limitado de ovos para toda a vida, desta forma o número de ovos decresce em função das sucessivas oviposições, não havendo distinção entre a redução do estoque de ovos e a limitação da fecundidade. Ao contrário, as fêmeas sin-ovigênicas prosseguem com a maturidade dos ovos durante todo período de vida, sendo essa maturação proporcionada pelo suprimento protéico, obtido do fluido do hospedeiro e/ ou mel. Desta forma, ao contrário das fêmeas pró-ovigênicas, as fêmeas sinovigênicas podem sofrer limitação temporária na fecundidade, mas não necessariamente perda permanente (LANNE *et al.*, 1999). Alguns estudos relacionados à longevidade de parasitóides fornecem bases teóricas para considerar que as fêmeas de *N. vitripennis* sejam sinovigênicas, pois quando comparadas fêmeas alimentadas com fluido de hospedeiros com fêmeas não alimentadas, submetidas à condição de *starvation* (ausência de alimento), foi possível verificar um aumento significativo da quantidade de ovos nos ovários das fêmeas alimentadas (RIVERO & WEST, 2005).

As fêmeas parasitóides possuem, freqüentemente, maior longevidade que os machos e a maioria dos trabalhos atribuem este fato ao suprimento alimentar adicional atribuído à habilidade das fêmeas se alimentarem do fluido do hospedeiro, através do ovipositor. Ao contrário dos machos que somente são capazes de se alimentar de néctar na natureza e mel em

laboratório. KING & HOPKINS (1963) observaram em estudo laboratorial sob temperatura de 18-20°C, que o tempo de vida de machos foi de 5-7 dias enquanto o das fêmeas de 20-25 dias. Quando ambos os sexos ficaram sem disponibilidade de recurso alimentar, os machos continuaram a apresentar um tempo de vida menor, e o autor atribuiu isto ao fato das fêmeas terem um suprimento adicional de nutrientes pela capacidade de reabsorção dos seus ovos.

2.3 Família Calliphoridae

2.3.1 Morfologia Geral

Os dípteros pertencentes à família Calliphoridae normalmente apresentam tamanho entre 4 e 16 mm. O corpo é em sua maioria, azulado, violeta, verde ou cobre metálico. Estas moscas possuem aparelho bucal do tipo lambedor, tórax com estigma respiratório anterior branco ou cinzento e notopleura com duas cerdas. Mesonoto sem faixas pretas longitudinais, no entanto, quando presentes estão em número de três. Os califorídeos pertencem à subordem Brachycera, infraordem Muscomorpha, seção Shizophora, pois os adultos emergem do pupário por uma fenda circular e apresentam uma sutura em forma de U invertido (lúnula) envolvendo a base da antena, denominada sutura frontal ou ptilineal, que representa a cicatriz deixada pela retração do saco ptilineal após a emergência do pupário. Além disso, pertence à subseção Calypratae por apresentarem uma expansão membranosa em forma de concha na base das asas (GUIMARÃES & PAPAVERO, 1999; ZUCHI *et al.*, 1993). As larvas são vermiformes com cabeça não diferenciada do resto do corpo. Os adultos não apresentam asas com veia radial bifurcada (R4+5) e possui antena trissegmentada, com uma estrutura cerdiforme no terceiro segmento denominada arista, a qual é plumosa (GUIMARÃES & PAPAVERO, 1999).

2.4 *Chrysomya megacephala*

2.4.1 Distribuição, denominações e alguns caracteres morfológicos

Entre os califorídeos de importância médico-veterinária destaca-se *C. megacephala*, espécie originária da África e com ampla distribuição geográfica, podendo ser encontrada na Australásia, nas regiões Paleárticas e Orientais até o sul da África e ilhas Afrotropicais (ZUMPT, 1965; BAUMGARTNER & GREENBERG, 1985). A partir de 1975, passou a ser encontrada na América do Sul sendo registrada no Brasil em 1977 por GUIMARÃES *et al.* (1978) e, atualmente, encontra-se largamente distribuída pela América latina (WELLS, 1991).

É conhecida por várias denominações em função dos nichos tróficos que ocupam as larvas e adultos e/ou devido às cores metálicas de seu exoesqueleto (BARBOSA *et al.*, 2004). É chamado de “peste do peixe seco” no sudeste Asiático, devido à capacidade de suas larvas alimentarem-se de carne de peixe salgado (ESSER, 1990), uma das principais fontes de proteína animal das populações humanas locais; de “moscas das latrinas” pela frequência constante em locais com dejetos humanos desguarnecidos de proteção adequada; de “moscas varejeiras” e “Indian Bazaar Bluebottle” (PRINS, 1979), em relação a sua ocorrência em mercados de varejo e feiras livres; de “Greenbottle fly” ou “Bluebottle fly”, devido à semelhança do reflexo emitido pelo seu exoesqueleto com os reflexos emitidos pelos vidros das garrafas (WIJESUNDARA, 1957) e de “Debulliaes” e “Taesidebull”, nomes palauenses dados a esta espécie que se traduzem como “mosca do cemitério” (OLSEN & SIDEBOTTON, 1990).

Esta espécie é facilmente distinguida das outras do mesmo gênero, pois possuem espiráculo respiratório anterior acinzentado e pelo tamanho da cabeça, grande em relação ao

corpo (GUIMARÃES *et al.*, 1978). A distinção sexual, assim como ocorre no restante das espécies de califorídeos, é em função da disposição dos olhos, os machos apresentam olhos próximos denominados holópticos e fêmeas apresentam olhos separados denominados dicópticos (Figura 3). Estas espécies apresentam reprodução anfogênica, já que a proporção entre machos e fêmeas originadas na prole é similar (VON ZUBEN, 1991).

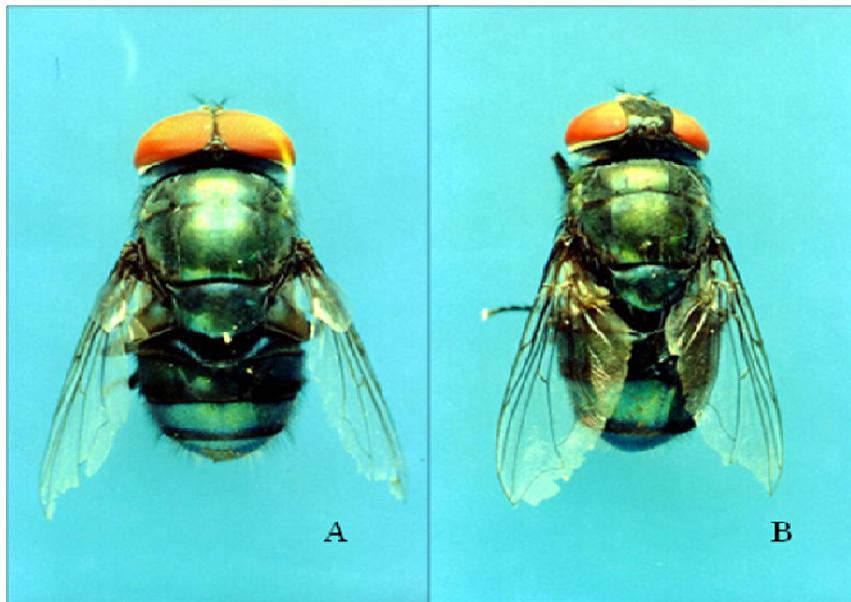


Figura 3: Figura ilustrativa de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae): A, macho e B, fêmea.

2.4.2 Importância Médica-sanitária

a) Veiculadores de agente patogênicos

Chrysomya megacephala é uma espécie boa colonizadora que ocupa vários habitats, desde carcaças de animais, fezes de galinha, depósitos de lixo a aterros sanitários (GUIMARÃES *et al.*, 1979). NORRIS (1965) relatou que as fezes humanas é um dos principais substratos de criação desta espécie. Além de ocuparem estes habitats, *C. megacephala* possui o corpo recoberto por muitas cerdas, o que contribui de forma significativa para que sejam consideradas boas veiculadoras de agentes patogênicos como fungos, ovos de helmintos, cistos de protozoários e enterovírus (MIHÁLYI, 1967; GREENBERG, 1973; FURLANETTO *et al.*, 1984). GREENBERG (1971, 1973) relatou que esta espécie é entre os dípteros, os vetores mais perigosos de patógenos entéricos.

Na Malásia, SULAIMAN *et al.* (1989) encontraram ovos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e *Necator americanus* aderidos à superfície corporal de *C. megacephala*. PARALUPPI *et al.* (1996) isolou dos califorídeos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus* sp., *Providencia* sp., *Citrobacter* sp. e *Klebsiella* sp. Além disso, *C. megacephala* foi incriminada na transmissão de *Toxoplasma gondii* e assim como *C. putoria*, participam da veiculação de *Entamoeba histolytica*, *Coxsackie vírus*, *Salmonella* sp., *Shigella* e ovos de vários tipos de cestódeos (GREENBERG, 1971, 1973; FURLANETTO *et al.*, 1984). De acordo com OLIVEIRA *et al.* (2002), dentre os califorídeos capturados, *C. megacephala* foi a espécie que apresentou maior quantidade de ovos de helmintos aderidos às cerdas do seu corpo e no conteúdo intestinal, foram, também encontrados ovos de *Ascaris* sp., *Toxascaris* sp., *Toxocara* sp., oxiurídeos, tricostrongilídeos, *Trichuris* sp e *Capillaria* sp., tanto na superfície corporal quanto no conteúdo intestinal. Esta espécie pode ainda, veicular polivírus dos tipos I, II, III (GREENBERG, 1971, 1973).

b) Causadores de miíases e estimativa das perdas econômicas

Entende-se por miíases, popularmente conhecida por bicheiras, uma condição de debilitação causada pela infestação de vertebrados vivos por larvas de moscas, as quais ovipõem em tecido vivo ou morto do hospedeiro (HALL & WALL, 1995). Segundo LESSA & LESSA (1999), os efeitos patogênicos das larvas desses dípteros estão associados com a liquefação do tecido infestado, através de enzimas proteolíticas liberadas pelo parasito. As lesões formadas são extremamente dolorosas e se expandem rapidamente, exalando odores fétidos que atraem outras fêmeas para oviposturas (EMMENS & MURRAY apud BRITO *et al.*, 2001). As miíases podem ser classificadas de acordo com a biologia da mosca em: (NEVES, 2000):

- Obrigatórias (miíases primárias): São causadas por larvas de dípteros que naturalmente se desenvolvem sobre ou dentro de vertebrados vivos, exemplo: larvas de *Cochliomyia hominivorax* (Cocquerel, 1858).
- Facultativas (miíases secundárias): São causadas por larvas de dípteros que se desenvolvem em substâncias orgânicas em decomposição, mas ocasionalmente podem atingir tecidos necrosados de hospedeiros vivos. Podemos incluir neste grupo: *C. macellaria*, *C. megacephala*, *C. albiceps*, entre outras.
- Pseudomiíases: É a presença com ou sem manifestação patológica, de larvas de dípteros no trato digestivo de homens ou animais.

Os prejuízos econômicos em decorrência das miíases provocadas em bovinos, ovinos, eqüinos, caprinos e caninos parasito são inegáveis (MOYA-BORJA, 2003). O custo das perdas causadas pela convivência com *C. hominivorax*, por exemplo, foi estimado em 120

milhões de dólares nos EUA em 1960 (BAUMHOVER, 1966) e de 156 milhões de dólares no México em 1982 (SNOW *et al.*, 1985). O custo das medidas preventivas e de controle na América Central e Panamá atinge 43 milhões de dólares por ano (SNOW *et al.*, 1985). No Brasil as perdas provocadas por estas pragas têm sido calculadas em 150 milhões de dólares por ano (GRISI *et al.*, 2002).

2.4.3 Importância Ecológica dos Dípteros muscóides

a) Entomologia Forense

Entomologia médico-legal ou forense é a aplicação do estudo de insetos e outros artrópodes associados com um cadáver humano em decomposição, em eventos envolvendo suspeita de crime, com o propósito de fornecer informações úteis para uma posterior investigação (KEH, 1985; SMITH, 1986; GREENBERG, 1991; VON ZUBEN *et al.*, 1996; VANLAERHOVEN & ANDERSON, 1999).

Os insetos encontrados em carcaças de animais são classificados em diversas categorias ecológicas: necrófagos, parasitas, predadores, omnívoros e acidentais (SMITH, 1986; CATTS & GOFF, 1992). Os dípteros compreendem cerca de 60% do total da fauna de um cadáver, destacando-se entre eles os califorídeos, os sarcófagídeos e os muscóides (PAYNE, 1965; GREENBERG, 1991). Os califorídeos costumam ser os primeiros insetos a visitarem a carcaça em decomposição no processo de sucessão da artropofauna, portanto são os indicadores forenses mais exatos do tempo de morte de um cadáver (NUOERTEVA, 1977). No Velho Mundo, as moscas do gênero *Calliphora*, *Lucilia* e *Chrysomya* são consideradas as espécies mais importantes e freqüentes em cadáveres. No Sul da África *C. albiceps*, *C. megacephla* e *Chrysomya marginalis* (Wiedemann, 1830) têm sido consideradas espécies determinantes para o processo de decomposição de carcaça (SMITH, 1986; ZUMPT, 1965; OLIVEIRA-COSTA, 2003).

O conhecimento das espécies que utilizam carne em decomposição como substrato de criação, bem como a sucessão de diferentes espécies de insetos no cadáver, são de grande importância para entomologia forense, pois providenciam informações relevantes sobre a causa e circunstâncias da morte (SOUZA & LINHARES, 1997). Além disso, o conhecimento do tempo ocupado por cada estágio de desenvolvimento do inseto, associado aos valores de temperatura e outros fatores ambientais tornam possível uma estimativa do tempo de morte ou intervalo pós-morte (IPM) (OLIVEIRA-COSTA, 2003).

b) Polinização

As moscas são, entre os insetos, o segundo grupo de polinizadores mais importantes em termos de eficiência (LLOYD & WELLS, apud ENDRESS, 1994). As flores com a síndrome para a miofilia são aquelas que apresentam características associadas especificamente aos dípteros, podendo ser subdivididas em sapromiofílicas, que imitam material em decomposição, ou micofílicas que são as flores que imitam fungos. Entre as flores miofílicas mais comuns destacam-se as do gênero *Aristolochia*, algumas Araceae, Orchidaceae e Sterculiaceae (ENDRESS, 1994), sendo as principais famílias de moscas visitantes as Calliphoridae, Sarcophagidae, Muscidae e Drosophilidae. Esses dípteros são atraídos por diferentes tipos de recursos ofertados pelas plantas e são recompensados com alimento e abrigo para a prole, já que em alguns casos as fêmeas podem depositar ovos no interior das flores (LACHAISE & TSACAS, 1982).

Para as moscas saprófitas os fatores de atração são as características semelhantes das flores com seu substrato de alimentação e oviposição. Polinizadores são essenciais para

manter as cadeias alimentares, em ambientes naturais e agrícolas. Existem em regiões tropicais cerca de 40 famílias de dípteros polinizadores e 30 delas (70%) são dípteros muscóides (SILVA *et al.*, 2001). Estes apresentam corpos robustos o que facilita o contato com os grãos de pólen e, além disso, apresentam superfície corporal pilosa o que permite a aderência dos grãos de pólen no mesmo.

c) Terapia Larval

A bioterapia ou terapia larval é um processo relacionado à cura de ferimentos necrosados e infectados utilizando larvas vivas de moscas varejeiras, para o tratamento de feridas de difícil cicatrização (TORRES, 2005). As larvas atuam através da remoção mecânica de bactérias acelerando a proliferação de tecido de granulação e atuam na liquefação do tecido necrosado. Este método foi utilizado com frequência em populações aborígenes na Austrália, América Central e Birmânia, e teve seu auge nas décadas de 1930 e 1940. Com o descobrimento dos antibióticos, esse método de limpeza e tratamento de feridas foi abandonado. Entretanto, com o aparecimento de resistência generalizada de bactérias a antibióticos, larvas de califorídeos têm sido novamente, utilizadas em tratamentos de afecções em alguns países (NEVES *et al.*, 2005). No Brasil, existem espécies que apresentam potencial para este fim, tendo em vista as características necrobiontófagas de suas larvas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Estabelecimento da colônia de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae).

As coletas dos dípteros foram realizadas no Jardim Zoológico do Rio de Janeiro (Fundação Rio-Zoo), que abrange uma área de 138.000 m², localizada dentro do parque da Quinta da Boa Vista, São Cristóvão, RJ. A Fundação Rio-Zoo é um parque com área arborizada inserida numa região com elevada urbanização a aproximadamente 3 km do Centro do Rio de Janeiro, com registro regular de espécies de califorídeos consideradas sinantrópicas (OLIVEIRA *et al.*, 1999; d'ALMEIDA & LOPES, 1983).

A captura dos insetos foi realizada numa área de acesso restrito aos funcionários do Rio-Zoo, destinada à coleta de lixo proveniente dos restaurantes, lanchonetes e jaulas dos animais. Foram utilizadas três armadilhas seguindo o modelo de FERREIRA (1978), contendo sardinha como isca e expostas por aproximadamente 5 horas, na parte da manhã. Após a coleta dos adultos e das larvas de dípteros muscóides, os insetos foram levados para o Laboratório de Estudo de Dípteros (LED) do Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto Biomédico, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), onde foi feita a triagem e a identificação taxonômica dos mesmos.

3.1.1 Identificação e manutenção da colônia de *Chrysomya megacephala*

Os espécimens adultos foram identificados de acordo com MELLO (2003). Machos e fêmeas de *C. megacephala* na proporção de 1:1 foram alocados em gaiolas teladas de 45 cm³ (Figura 4), sendo alimentados com solução de mel e água a 50 %, enquanto água e fígado de frango foi utilizado para a maturação dos ovários e como substrato de oviposição. As larvas coletadas foram acondicionadas em um recipiente plástico contendo fígado de ave na proporção de uma larva/grama de dieta. Este recipiente foi inserido em outro, no qual continha serragem que serviu como substrato de pupação dos dípteros. Após a emergência dos adultos, os dípteros foram identificados e transferidos para as gaiolas de criação. Entre o primeiro e o quinto dia após a emergência dos dípteros adultos foi fornecido fígado de ave para maturação dos ovários e a partir do 10º dia, esta mesma dieta, foi reintroduzida para estímulo de postura e manutenção da colônia estoque.



Figura 4: Figuras ilustrativas do procedimento de criação de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae), A: gaiola de criação dos dípteros, B; gaiola de criação com os recipientes contendo água e mel a 50% para alimentação C, D: procedimento de retirada de postura.

3.2 Estabelecimento de colônia de *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae)

A colônia estoque de *N. vitripennis* foi estabelecida a partir de coletas de indivíduos nativos no Jardim Zoológico do Rio de Janeiro (Fundação Rio-Zoo). A escolha do local de captura foi feita baseada no conhecimento prévio da presença dessas espécies nesta localidade (CARVALHO *et al.*, 2003).

A captura dos parasitóides foi realizada numa área de acesso restrito aos funcionários, próxima ao centro de quarentena. Para coleta foi utilizada uma gaiola telada (15 x 20 cm) semelhante às gaiolas de criação das moscas, no interior da mesma foram expostas 100 pupas de *C. megacephala* de 0-24 horas de idade, provenientes da colônia estoque do laboratório e em outro recipiente foi colocado carne bovina putrefata como fonte de caíromônio (CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1996). A tela da gaiola permitiu a entrada dos parasitóides e evitou a predação das pupas por animais maiores.

Após 72 horas de exposição das gaiolas em campo, as pupas potencialmente parasitadas foram recolhidas, individualizadas em tubos de ensaios de 50 mL, vedados com algodão hidrófobo e mantidos em câmara climatizada regulada com temperatura 27°C dia/25°C noite, 60 ± 10% de umidade relativa e 14 h de fotofase, onde se aguardou a emergência de adultos de dípteros e/ou parasitóides. Este procedimento foi repetido até a obtenção de adultos de *N. vitripennis*. A identificação dos mesmos foi realizada com auxílio da descrição taxonômica detalhada de RUEDA & AXTELL (1985) e foi ratificada pela Dra. Maria Angélica Penteadó Dias, do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da Universidade de São Carlos, SP.

3.2.1 Manutenção da colônia de *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae).

A criação dos parasitóides foi feita de acordo com a metodologia descrita por CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO (1996). Os adultos de *N. vitripennis* recém emergidos foram transferidos para gaiolas de vidro com capacidade de um 1 L, a qual foi vedada com tecido escaline em forma de manga de camisa, de forma a facilitar o manuseio e evitar a fuga dos insetos (Figura 5). A colônia de microhimenópteros foi mantida em câmara climatizada regulada a 27°C dia/25°C noite, 60 ± 10% de umidade relativa do ar e 14 h de fotofase. A alimentação dos parasitóides foi feita com mel puro, pincelado em disco de papel filtro e água em algodão. O papel filtro com mel e o algodão embebido em água foram alocados em recipiente plástico de 4 cm de diâmetro (Figura 5). Cada gaiola foi identificada com a geração e data da emergência dos parasitóides. Periodicamente, foram fornecidas pupas frescas para os parasitóides, ficando estas expostas por aproximadamente 48 h e, posteriormente estas pupas foram transferidas para novas gaiolas e observadas até a emergência dos parasitóides.

3.3 Delineamento experimental

A etapa experimental foi conduzida no LED/ UNIRIO em câmara climatizada com temperatura 27°C dia/ 25°C noite, 60 ± 10% de umidade relativa do ar e 14 horas de fotofase, iniciada às 06h00min da manhã. Foram utilizadas fêmeas de *N. vitripennis* medindo de 2 a 2,5 mm com até 24 horas de idade. Estas foram previamente confinadas com machos e alimentadas com mel para aumentar o suprimento de ovários maturados (WYLIE, 1965). Utilizaram-se como hospedeiras pupas frescas de *C. megacephala*, com até 24 horas de idade. As pupas de *C. megacephala* foram previamente pesadas em lotes de dez.



Figura 5: Figuras ilustrativas do procedimento de criação de *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae), A: fêmea de *Nasonia vitripennis*, B: *Nasonia vitripennis* eclodindo do pupário, C: pupários de *Chrysomya megacephala* individualizados em tubos de ensaio, aguardando a emergência da mosca ou do parasitóide, D: Câmara climatizada regulada 27°C dia/ 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase, E: potes com papel de filtro pincelado com mel, chumaço de algodão com água e oferecimento de pupas para os parasitóides, F: gaiola de criação dos parasitóides vedada com tecido escaline em forma de manga de camisa.

3.3.1 Etapa 1: Estudo da relação *Nasonia vitripennis*: *Chrysomya megacephala*, utilizando-se diferentes densidades do parasitóide.

Uma pupa hospedeira de *C. megacephala* foi individualizada em tubo de ensaio com capacidade de 50 mL e expostas por 48 horas com uma, três, cinco, sete, nove e 11 fêmeas nulíparas de *N. vitripennis*. No interior de cada tubo foram colocados uma gota de mel e água e os tubos foram vedados com algodão hidrófobo. Cada tratamento consistiu de 20 repetições. Após 48 horas de exposição do hospedeiro ao parasitismo, as fêmeas parasitóides foram descartadas e as pupas hospedeiras foram mantidas individualizadas nos tubos de ensaio e aleatoriamente em bandejas, onde se aguardou a emergência de adultos de *C. megacephala* e/ou *N. vitripennis*. As fêmeas parasitóides e as pupas hospedeiras utilizadas nestes tratamentos foram referentes às 2^o, 3^o e 4^o gerações da colônia estoque.

Paralelamente, lotes de pupas hospedeiras não expostas ao parasitismo apresentando o mesmo delineamento experimental foram utilizados como controle, objetivando-se verificar a taxa de mortalidade natural dos dípteros muscóides.

As observações foram diárias e realizadas pela manhã, acompanhadas até o 30^o dia, após a emergência do primeiro adulto parasitóide. Foram verificadas a data de emergência dos parasitóides, número e sexo dos parasitóides emergidos, com a finalidade de avaliar a duração média do desenvolvimento pós-embriônico, produtividade de parasitóides por hospedeiro, taxa de parasitismo e a razão sexual.

3.3.2 Etapa 2: Estudo da relação *Nasonia vitripennis*: *Chrysomya megacephala*, utilizando-se diferentes densidades de hospedeiro.

Uma fêmea nulípara pertencente a 7^o geração da colônia estoque foi individualizada em tubo de ensaio (50 mL) contendo diferentes densidades de pupas hospedeiras (um, duas, três, quatro, cinco), também pertencentes a 7^a geração. Cada tratamento consistiu de 20 repetições. No interior de cada tubo foram colocados uma gota de mel e água e os tubos foram vedados com algodão hidrófobo. Após 48 horas de exposição do hospedeiro ao parasitóide, as fêmeas parasitóides foram descartadas e as pupas hospedeiras foram individualizadas nos tubos de ensaio e alocadas aleatoriamente em bandejas, onde se aguardou a emergência de adultos de *C. megacephala* e/ou *N. vitripennis*, paralelamente, lotes de pupas hospedeiras não expostas ao parasitismo apresentando o mesmo delineamento experimental foram utilizados como controle, objetivando-se verificar a taxa de mortalidade natural dos dípteros muscóides. As observações foram diárias e realizadas pela manhã, acompanhadas até o trigésimo dia após a emergência do primeiro adulto parasitóide. Foram verificadas a data de emergência dos parasitóides, número e sexo dos parasitóides emergidos, com a finalidade de avaliar a duração média do desenvolvimento pós-embriônico produtividade de parasitóides por hospedeiro, taxa de parasitismo e a razão sexual.

3.3.3 Etapa 3: Estudo da influência do tempo de exposição do hospedeiro ao parasitismo.

Neste estudo foram realizados quatro tratamentos com diferentes tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide (24, 48, 72 e 96 horas). Foi utilizada a relação um parasitóide: um hospedeiro, estes foram individualizados em tubos de ensaio (50 mL) vedados com algodão hidrófobo e alimentados com mel e água. Cada tratamento consistiu de 20 repetições. Após a exposição dos hospedeiros aos parasitóides, às fêmeas nulíparas foram descartadas e as pupas hospedeiras foram mantidas individualizadas nos tubos de ensaio e alocadas aleatoriamente em bandejas, onde se aguardou até a emergência de adultos de *C.*

megacephala e/ou *N. vitripennis*. Foram utilizadas fêmeas parasitóides pertencentes a 8º geração e pupas hospedeiras pertencentes a 9º geração da colônia estoque.

Paralelamente, lotes de pupas hospedeiras não expostas ao parasitismo apresentando o mesmo delineamento experimental foram utilizados como controle, objetivando-se verificar a taxa de mortalidade natural dos dípteros muscóides.

As observações foram diárias e realizadas pela manhã, acompanhadas até o 30º dia, após a emergência do primeiro adulto parasitóide. Foram verificadas a data de emergência dos parasitóides, número e sexo dos parasitóides emergidos, com a finalidade de avaliar a duração média do desenvolvimento pós-embrionário, produtividade de parasitóides por hospedeiro, taxa de parasitismo e a razão sexual.

3.3.4 Etapa 4: Longevidade de fêmeas parasitóides adultas originadas de diferentes relações parasitóide: hospedeiro.

Para verificar a longevidade de fêmeas parasitóides 20 fêmeas nulíparas recém emergidas originadas das diferentes relações parasitóide: hospedeiro (1:1; 3:1; 5:1; 7:1) foram mantidas em gaiolas transparentes com 300 mL de capacidade. Cada tratamento consistiu de cinco repetições (Figura 6). As fêmeas parasitóides foram alimentadas diariamente com mel e água e não foram fornecidas pupas para o parasitismo. Os tratamentos foram realizados em câmara climatizada regulada a 27°C dia/ 25°C noite, 60 ± 10% e de umidade relativa do ar e 14 horas de fotofase. As observações foram diárias, verificando-se as datas de mortalidade dos parasitóides.



Figura 6: Gaiola de criação de *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae) para observação da longevidade das fêmeas.

3.4 Exemplos testemunhas

Exemplares testemunhas, tanto dos dípteros quanto dos parasitóides, foram depositados para coleções científicas no LED/ UNIRIO. As formas adultas de *N. vitripennis* foram fixadas em álcool 95% e as formas imaturas em álcool 70%. As formas adultas de *C. megacephala* foram sacrificadas com éter e montadas em alfinetes entomológicos.

3.5 Análise dos dados

Foram analisados os dados referentes à duração do desenvolvimento pós-embrionário, produtividade de parasitóides por hospedeiro, razão sexual, taxa de parasitismo e longevidade média das fêmeas parasitóides.

A razão sexual foi definida, segundo SILVEIRA NETO *et al.* (1976), pela proporção entre o número de fêmeas sobre o número total de insetos parasitóides utilizados, dimensionada através da fórmula:

$$Rs = \frac{\text{N}^\circ \text{ de fêmeas}}{\text{N}^\circ \text{ de fêmeas} + \text{N}^\circ \text{ de machos}}$$

A taxa de parasitismo foi definida pela proporção entre o número de pupas parasitoidadas com emergência de parasitóides sobre o total de pupas hospedeiras utilizadas:

$$Tp = \frac{\text{N}^\circ \text{ de pupários com parasitóides emergidos}}{(\text{N}^\circ \text{ total de pupários expostos ao parasitismo}) \times 100}$$

A análise de variância (ANOVA), seguida de pós-teste Tukey com nível de significância 5%, foi utilizada para verificar se o desenvolvimento pós-embrionário e a produtividade de parasitóides variaram entre os distintos tratamentos (MAGALHÃES & LIMA, 2001). Foi, também, utilizado este teste estatístico para verificar a significância dos resultados da longevidade das fêmeas parasitóides originadas das diferentes relações parasitóide: hospedeiro. Para análise bruta dos resultados foi utilizado o programa Statistica versão 1999 e para confecção dos gráficos foi utilizado o programa Microsoft Excel 2007.

4 RESULTADOS

4.1 Estudo da relação parasitóide: hospedeiro utilizando diferentes densidades de fêmeas nulíparas de *Nasonia vitripennis*.

4.1.1 Duração do desenvolvimento pós-embrionário e ritmo de emergência de *Nasonia vitripennis*.

A duração do desenvolvimento pós-embrionário de machos e fêmeas de *N. vitripennis* criadas em diferentes densidades de fêmeas nulíparas parasitóide: hospedeiro (1:1, 3:1, 5:1, 7:1, 9:1, 11:1) variou significativamente pela ANOVA ($F = 978$ e $p < 0,001$). As menores durações médias de desenvolvimento foram observadas nas relações 1:1 (14,23 dias) e 3:1 (14,26 dias) variando significativamente das relações mais elevadas. Já, a maior duração média de desenvolvimento foi observada na relação 11:1 (19,04 dias) diferindo significativamente das demais relações (Tabela 1).

Para o sexo masculino, também, foi observado um prolongamento no desenvolvimento pós-embrionário com o aumento da densidade de fêmeas nulíparas, apresentando menores durações médias nas densidades 1:1 (14,42 dias), 3:1 (14,24 dias) e 5:1 não diferindo entre si, mas diferindo significativamente das demais relações. A maior duração média foi observada na relação 11:1 (18,73) diferindo significativamente das outras relações (Tabela 1). De forma similar, a duração do desenvolvimento pós-embrionário das fêmeas, também apresentou um prolongamento com o aumento das densidades, ou seja, as menores durações médias foram observadas nas relações 1:1 (14,22 dias) e 3:1 (14,26 dias), não diferindo significativamente entre si. Enquanto, a maior duração média foi observada na relação 11:1 (19,09 dias) diferindo significativamente de todas as outras relações (Tabela 1).

Os parasitóides adultos iniciaram a emergência no 14º dia após exposição do hospedeiro ao parasitismo em todos os tratamentos, com exceção da relação 11:1 que teve um retardo no desenvolvimento apresentando início de emergência no 18º dia. Os picos de emergência foram alcançados no 14º dia para as relações 1:1, 3:1, 5:1 e 9:1. A relação 7:1 teve picos de emergência nos 15º e 16º dias. Já a relação 11:1 teve pico de emergência no 19º dia (Figura 7).

Tabela 1: Duração média do desenvolvimento pós-embrionário (em dias) de *Nasonia vitripennis* criadas em pupas de *Chrysomya megacephala* expostas ao parasitismo por 48 horas, utilizando diferentes relações parasitóide¹: hospedeiro² (T: 27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase). Letras diferentes indicam diferenças significativas obtidas através do teste de Tukey.

Relação Parasitóide: Hospedeiro	Duração do desenvolvimento pós-embrionário (dias)								
	Fêmeas			Machos			Machos e Fêmeas		
	Média	± sd	IV	Média	± sd	IV	Média	± sd	IV
1:1	14,22 _a	0,55	14 - 16	14,42 _a	0,77	14 - 16	14,23 _a	0,57	14 - 16
3:1	14,26 _{ab}	0,44	14 - 15	14,25 _a	0,44	14 - 15	14,26 _a	0,44	14 - 15
5:1	14,44 _b	0,54	14 - 16	14,43 _a	0,55	14 - 16	14,45 _b	0,54	14 - 16
7:1	15,20 _c	0,75	14 - 16	14,95 _b	0,73	14 - 16	15,14 _c	0,75	14 - 16
9:1	14,84 _d	0,93	14 - 16	14,99 _b	0,85	14 - 16	14,89 _d	0,90	14 - 16
11:1	19,09 _e	0,84	18 - 22	18,73 _c	0,46	18 - 21	19,04 _e	0,81	18 - 22

sd= desvio padrão, IV= intervalo de variação.

¹ Fêmeas nulíparas individualizadas com até 24h de emergência, 20 repetições/tratamento.

² Pupas com até 24 horas de idade.

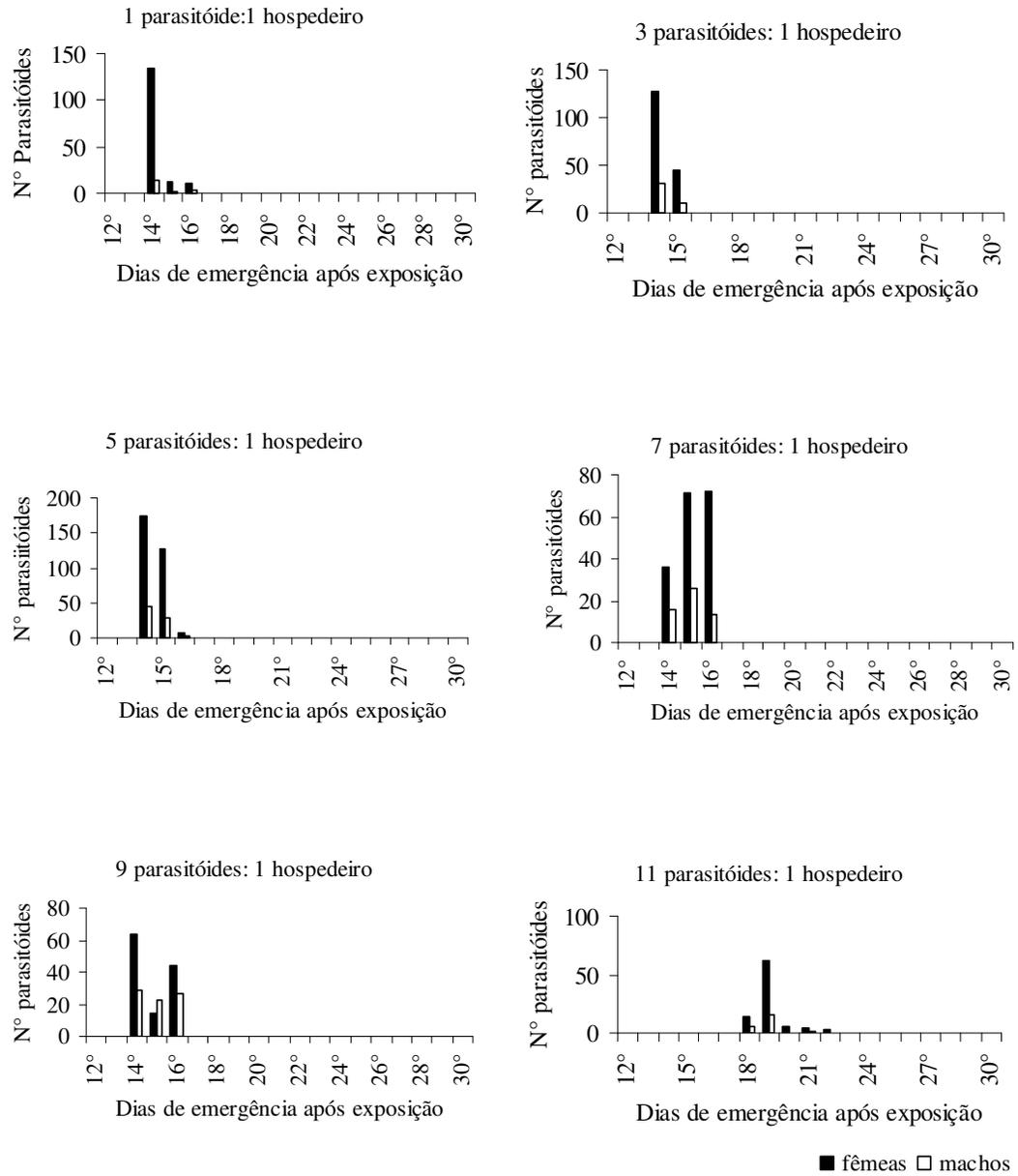


Figura 7: Ritmo de emergência de fêmeas e machos de *Nasonia vitripennis* criadas em pupas de *Chrysomya megacephala* expostas por 48 horas ao parasitismo, utilizando diferentes relações parasitóides: hospedeiro (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase).

4.1.2 Produtividade de parasitóides por pupa e razão sexual.

O número médio de machos e fêmeas parasitóides originadas das diferentes relações parasitóides: hospedeiro (1:1, 3:1, 5:1, 7:1, 9:1, 11:1) variou significativamente pela ANOVA ($F = 9,68$ e $p < 0,00001$). A maior produtividade de parasitóides foi obtida na relação 5:1 (34,73) diferindo significativamente de todas as relações, com exceção da relação 7:1 (26,00), esta última apresentou diferença significativa somente da relação 11:1 (12,22) (Tabela 2).

Para as fêmeas houve uma tendência exponencial à diminuição do número médio de parasitóides emergidos com o aumento da densidade de fêmeas nulíparas expostas ao hospedeiro, no entanto, o maior número médio, foi alcançado na relação 5:1 (28,00), que diferiu significativamente das demais, com exceção da 7:1 (19,89) (Tabela 2; Figura 8). Para os machos, foi observada uma tendência exponencial ao aumento do número médio com o aumento das densidades de parasitóides até a relação 9:1, na densidade mais elevada (11:1) verificou-se, no entanto, um declínio significativo no número de machos emergidos em relação às densidades 5:1, 7:1 e 9:1 (Tabela 2; Figura 9).

Foi observada diferença significativa entre o nascimento de machos e fêmeas nas diferentes relações parasitóide: hospedeiro ($p < 0,001$), com exceção da relação 9:1 ($p = 0,07$). Em todas as outras relações o número de fêmeas foi significativamente superior ao número de machos. Dessa forma, houve um desvio da razão sexual para fêmeas com tendência a diminuição da taxa de fêmeas com o aumento da densidade de parasitóides por hospedeiro (Tabela 2; Figura 10).

4.1.3 Taxa de Parasitismo de pupas de *Chrysomya megacephala* por *Nasonia vitripennis*

A maior taxa de parasitismo foi alcançada na relação 3:1 (60%), seguida da relação 5:1 (55%). As outras relações apresentaram 45% das pupas parasitadas. Em todas as relações foram verificadas pupas inviáveis havendo um aumento nesta taxa conforme o aumento das densidades de fêmeas nulíparas por hospedeiro. Os tratamentos controles apresentaram taxa de emergência de dípteros acima de 80% (Figura 11).

Tabela 2: Razão sexual, peso médio da pupa hospedeira e número de parasitóides adultos de *Nasonia vitripennis* criados em pupas de *Chrysomya megacephala* expostas ao parasitismo por 48 horas, utilizando-se diferentes relações parasitóide¹: hospedeiro² (T: 27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase). Letras diferentes indicam diferenças significativas obtidas através do teste de Tukey.

Parasitóide: Hospedeiro	Relação Sexual	Peso Médio das pupas (mg)	N ° de Parasitóides adultos					
			Fêmeas		Machos		Machos e Fêmeas	
			Média	IV	Média	IV	Média	IV
1: 1	0,89	55	17,56 _{ac}	7 - 29	2,38 _a	1 - 5	19,67 _{ac}	8 - 29
3:1	0,81	57	14,42 _{ac}	6 - 21	3,42 _{ab}	2 - 7	17,83 _{ac}	10-27
5: 1	0,81	54	28,00 _b	19 -34	6,73 _{bc}	3 - 13	34,73 _b	22-47
7:1	0,76	53	19,89 _{ab}	5 - 43	6,88 _{bc}	3 - 13	26,00 _{ab}	5 - 54
9: 1	0,61	51	13,56 _{ac}	5 - 21	8,78 _c	1 - 17	20,56 _{ac}	6 - 30
11:1	0,80	51	9,78 _c	5 - 22	2,44 _a	1 - 4	12,22 _c	6 - 26

Razão sexual= fêmea/(macho+fêmea), média, IV= intervalo de variação.

¹ Fêmeas nulíparas individualizadas com até 24h de emergência, 20 repetições/tratamento.

² Pupas com até 24 horas de idade.

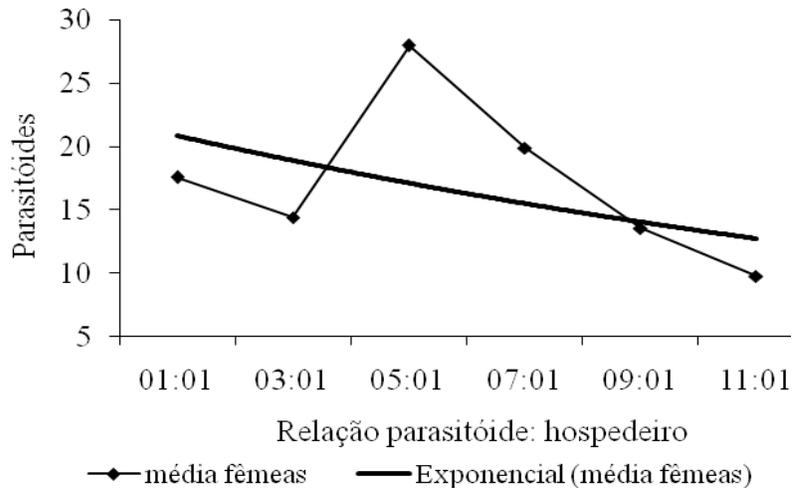


Figura 8: Tendência exponencial do número médio de fêmeas de *Nasonia vitripennis* originadas de pupas de *Chrysomya megacephala* expostas por 48 horas ao parasitismo, utilizando diferentes relações parasitóide: hospedeiro (T=27°C dia, 25°C noite, 60±10% UR e 14 horas de fotofase).

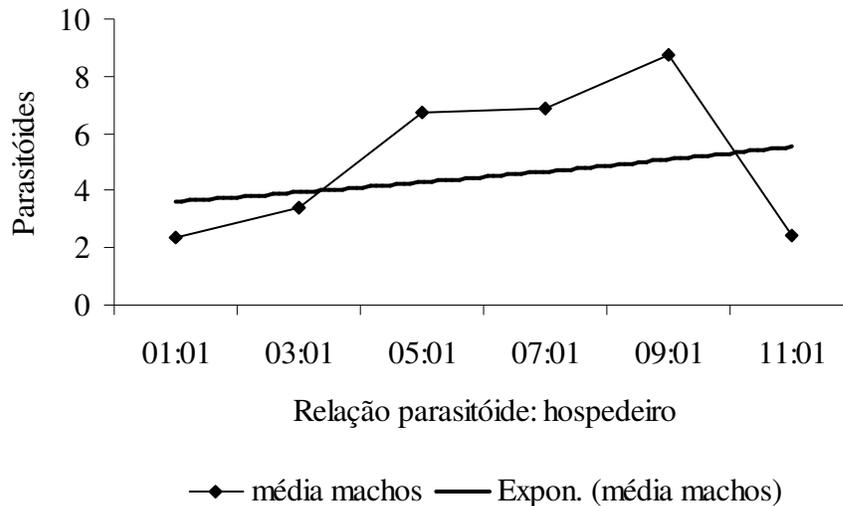


Figura 9: Tendência exponencial do número médio de machos de *Nasonia vitripennis* originadas de pupas de *Chrysomya megacephala* expostas por 48 horas ao parasitismo, utilizando diferentes relações parasitóide: hospedeiro (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10% UR e 14 horas de fotofase).

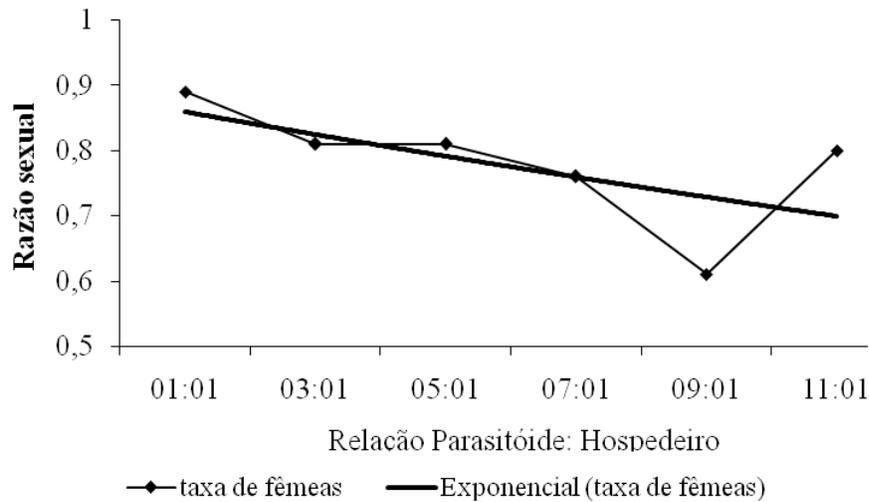


Figura 10: Tendência exponencial da razão sexual de *Nasonia vitripennis* originadas de pupas de *Chrysomya megacephala* expostas por 48 horas ao parasitismo, utilizando diferentes relações fêmeas parasitóide: hospedeiro (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase).

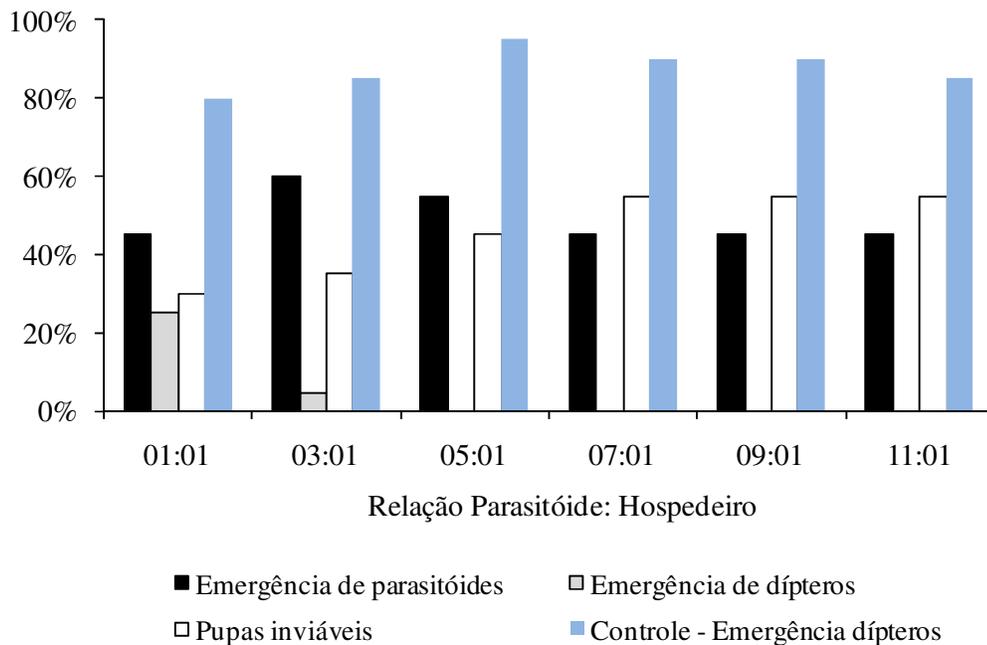


Figura 11: Percentual de pupas parasitadas (com emergência de parasitóides), pupas com emergência de *Chrysomya megacephala* e pupas inviáveis (não originaram dípteros e nem parasitóides) após a exposição por 48 horas ao parasitismo, utilizando diferentes relações parasitóide¹: hospedeiro² (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10% UR e 14 horas de fotofase).

4.2 Estudo da relação parasitóide: hospedeiro utilizando diferentes densidades de pupas hospedeiras.

4.2.1 Duração do desenvolvimento pós-embrionário e ritmo de emergência de *Nasonia vitripennis*.

A duração média do desenvolvimento pós-embrionário de machos e fêmeas de *N. vitripennis* emergidos de pupas de *C. megacephala* nas diferentes relações parasitóide: hospedeiros (1:1, 1:2, 1:3, 1:4 e 1:5) variaram significativamente pela ANOVA ($F= 203,75$; $p < 0,0001$). As maiores durações médias do desenvolvimento foram verificadas na relação 1:3 (16,79 dias) e 1:5 (16,61 dias), não diferindo significativamente entre si. A menor duração de desenvolvimento foi verificada na relação 1:1 (14,23 dias) diferindo significativamente das demais (Tabela 3).

A duração do desenvolvimento pós-embrionário de fêmeas parasitóides, também variou significativamente com a utilização de diferentes densidades de hospedeiros. A menor duração média de desenvolvimento pós-embrionário foi verificada na relação 1:1 (14,22 dias), diferindo significativamente das demais relações. Enquanto, a maior duração média foi verificada na relação 1:3 (16,91 dias), também diferindo significativamente das demais relações. Os machos apresentaram menores durações do desenvolvimento pós-embrionário nas relações 1:1 (14,42 dias), 1:2 (15,56 dias) e 1:4 (14,46 dias) não diferindo significativamente entre si (Tabela 3).

Observou-se uma tendência ao prolongamento do desenvolvimento pós-embrionário com o aumento da densidade do hospedeiro, evidenciando-se início e picos de emergência de parasitóides posteriores com o aumento da densidade do hospedeiro. No entanto, este padrão não se manteve na relação 1:4, que teve início de emergência mais precoce, no 13º dia, e manteve uma distribuição regular de nascimento de parasitóides até o 17º dia (Figura 12).

4.2.2 Produtividade de parasitóides por pupa e razão sexual.

O número médio de machos e fêmeas parasitóides originados das diferentes relações parasitóide: hospedeiro (1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5) não variou significativamente pela ANOVA ($F = 0,61$ e $p = 0,66$) (Tabela 4). Da mesma forma, o número médio de machos, também, não variou significativamente entre os tratamentos ($F = 0,61$ e $p = 0,66$). Já em relação ao número médio de fêmeas originadas das diferentes densidades de hospedeiros apresentou diferença significativa nos distintos tratamentos pela ANOVA ($F = 3,52$ e $p = 0,02$). O menor número médio de fêmeas originadas foi verificado na relação 1:2 (6,00) e 1:3 (7,6), não apresentando diferença significativa entre si. Já, a relação que apresentou o maior número médio de fêmeas foi à relação 1:1 (17,56), apresentando diferença significativa somente da relação 1:3 (7,6) (Tabela 4).

Com relação ao sexo dos parasitóides emergidos em cada um dos tratamentos não houve diferença significativa entre o número de machos e fêmeas nas relações 1:2 ($p = 0,47$), 1:3 ($p = 0,08$) e 1:4 ($p = 0,05$), entretanto, as outras relações apresentaram diferença significativa, com maior produção de fêmeas. Houve um desvio da razão sexual para fêmeas, mesmo nos tratamentos que não apresentaram diferenças significativas entre o número de machos e fêmeas (Tabela 4). A taxa de fêmeas originadas nas diferentes relações parasitóide: hospedeiro foi similar como mostra o gráfico de tendência exponencial (Figura 13).

Tabela 3: Duração média do desenvolvimento pós-embrionário (em dias) de *Nasonia vitripennis* criadas em pupas de *Chrysomya megacephala* expostas ao parasitismo por 48 horas, utilizando diferentes relações parasitóide¹: hospedeiro² (T: 27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase). Letras diferentes indicam diferenças significativas obtidas através do teste de Tukey.

Relação Parasitóide: Hospedeiro	Duração do desenvolvimento pós-Embrionário (dias)								
	Fêmeas			Machos			Machos e Fêmeas		
	Média	± sd	IV	Média	± sd	IV	Média	± sd	IV
1:1	14,22 _a	0,55	14 - 16	14,42 _a	0,77	14 - 16	14,23 _a	0,57	14 - 16
1:2	16,22 _b	1,35	15 - 18	15,56 _{ab}	0,88	15 - 17	16,00 _b	1,24	15 - 18
1:3	16,91 _c	0,59	15 - 18	16,55 _b	1,31	14 - 17	16,79 _c	0,91	14 - 18
1:4	14,77 _d	1,34	13 - 17	14,46 _a	1,33	13 - 17	14,72 _d	1,33	13 - 17
1:5	16,56 _b	0,50	16 - 17	16,80 _b	0,41	16 - 17	16,61 _c	0,49	16 - 17

sd= desvio padrão, IV= intervalo de variação.

¹ Fêmeas nulíparas individualizadas com até 24h de emergência, 20 repetições/tratamento.

² Pupas com até 24 horas de idade.

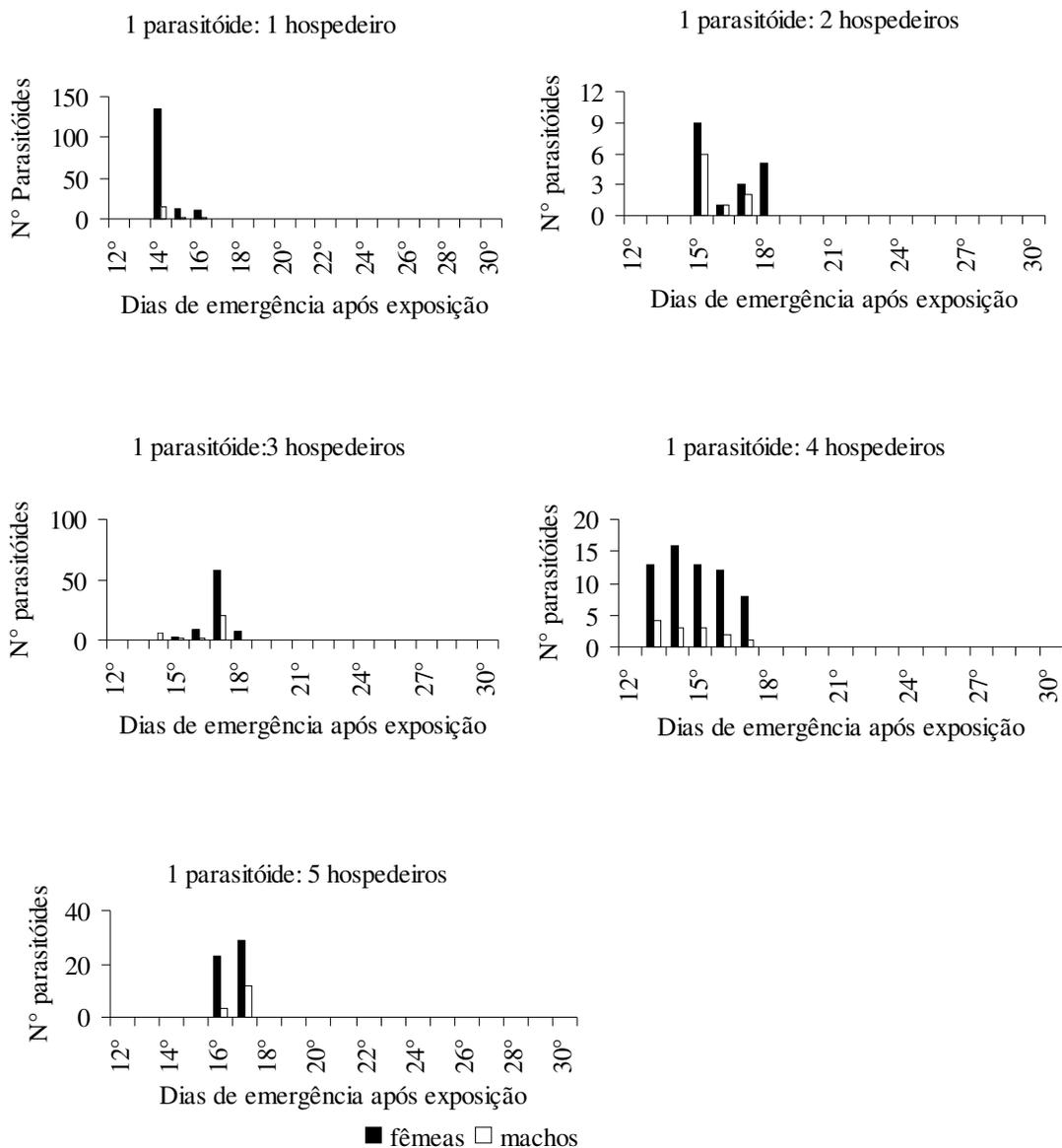


Figura 12: Ritmo de emergência de fêmeas e machos de *Nasonia vitripennis* criadas em pupas de *Chrysomya megacephala* expostas por 48 horas ao parasitismo, utilizando diferentes relações parasitóide: hospedeiro (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10% UR e 14 horas de fotofase).

Tabela 4: Razão sexual, peso médio da pupa hospedeira e número de parasitóides adultos de *Nasonia vitripennis* criados em pupas de *Chrysomya megacephala* expostas ao parasitismo por 48 horas, utilizando-se diferentes relações parasitóide¹: hospedeiro² (T: 27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase). Letras diferentes indicam diferenças significativas obtidas através do teste de Tukey.

Relação Parasitóide: Hospedeiro	Razão Sexual	Peso Médio das pupas (mg)	N ° de Parasitóides adultos					
			Fêmeas		Machos		Machos e Fêmeas	
			Média	IV	Média	IV	Média	IV
1: 1	0,89	55	17,56 _a	7 - 29	2,11 _a	1 - 5	19,67 _a	8 - 29
1: 2	0,67	50	6,00 _{ab}	1 - 20	2,25 _a	1 - 9	8,25 _a	2 - 26
1: 3	0,71	53	7,60 _b	2 - 20	3,44 _a	1 - 9	9,73 _a	2 - 28
1: 4	0,83	58	12,40 _{ab}	3 - 20	3,25 _a	2 - 5	15,00 _a	3 - 25
1: 5	0,78	51	13,00 _{ab}	10 - 16	3,75 _a	1 - 8	16,75 _a	11-23

Razão sexual= fêmeas/(fêmeas +machos), IV= intervalo de variação.

¹ Fêmeas nulíparas individualizadas com até 24h de emergência, 20 repetições/tratamento.

² Pupas com até 24 horas de idade.

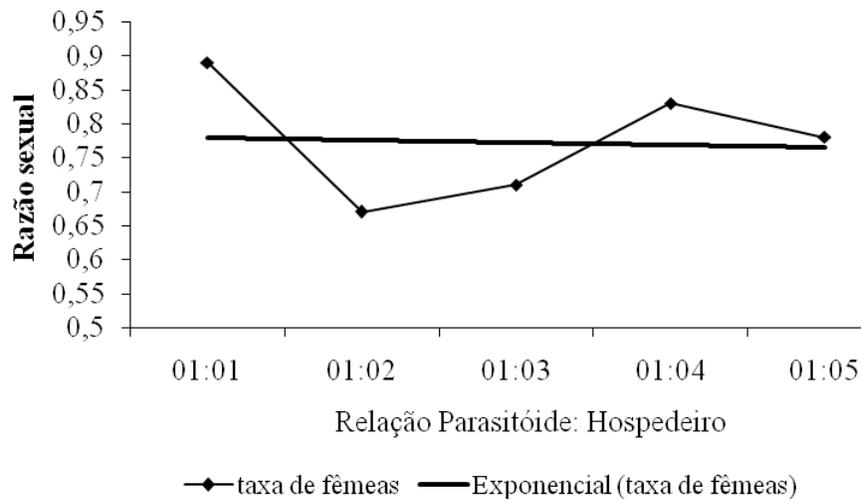


Figura 13: Tendência exponencial da razão sexual de *Nasonia vitripennis* originadas de pupas de *Chrysomya megacephala* expostas por 48 horas ao parasitismo, utilizando diferentes relações parasitóide: hospedeiro (T=27°C dia , 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase).

4.2.3 Taxa de Parasitismo de pupas de *Chrysomya megacephala* por *Nasonia vitripennis*.

As menores taxas de parasitismo foram verificadas nas relações 1:2 e 1:5 (20%), seguida da relação 1:4 (25%), nestas, também foram verificadas as maiores taxas de pupas com emergência de dípteros entre 40% e 66%. Todas as relações apresentaram pupas inviáveis, observando-se maiores taxas nas relações 1:1 (30%) e 1:2 (40%). Os tratamentos controles apresentaram emergência de dípteros superior a 67% (Figura 14).

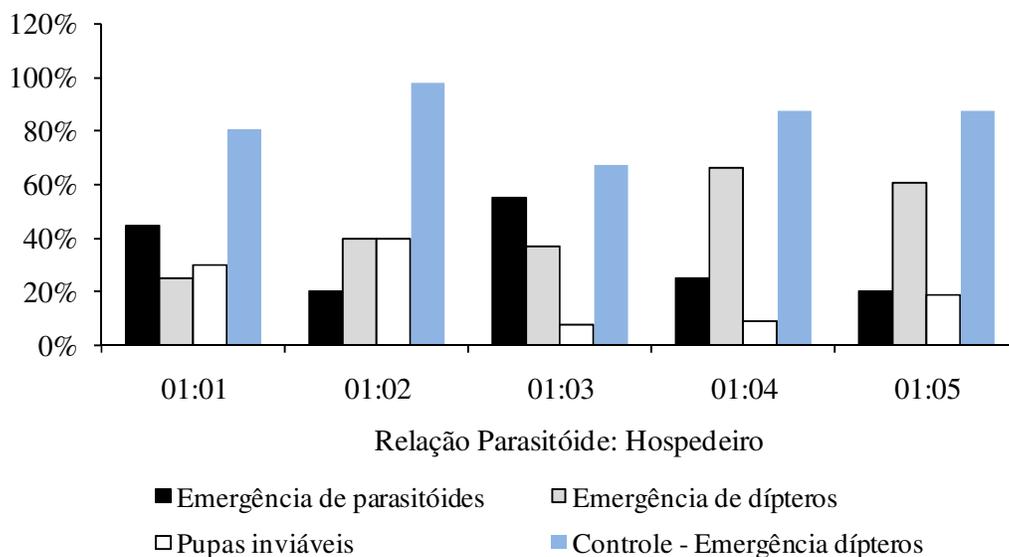


Figura 14: Percentual de pupas parasitadas (com emergência de parasitóides), pupas com emergência de *Chrysomya megacephala* e pupas inviáveis (não originaram dípteros e nem parasitóides), após a exposição por 48 horas ao parasitismo, utilizando diferentes relações parasitóide¹: hospedeiro² (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase).

4.3 Estudo da relação parasitóide: hospedeiro utilizando diferentes tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide.

4.3.1 Duração do desenvolvimento pós-embrionário e ritmo de emergência de *Nasonia vitripennis*.

A duração do desenvolvimento pós-embrionário de machos e fêmeas expostos a diferentes tempos de parasitismo variou significativamente pela ANOVA ($F = 12,28$ e $p < 0,0001$). A maior duração média de machos e fêmeas de *N. vitripennis* foi observada na exposição de 72 horas do hospedeiro ao parasitóide (14,23 dias) diferindo significativamente de todos os outros tempos de exposição (Tabela 5). No entanto, para os demais tratamentos as durações médias do desenvolvimento não diferiram entre si.

Para as fêmeas, também foi observada diferença significativa nas durações dos desenvolvimentos pós-embrionários entre os tratamentos ($F = 8,68$ e $p < 0,0001$). As menores durações médias de desenvolvimento foram observadas nos tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide por 24h (14,03 dias) e 48h (14,13 dias), não diferindo significativamente entre si. Os tratamentos com tempo de exposição por 48h, 72h e 96h não apresentaram diferença significativa entre si. Já, para os machos não houve diferença significativa na duração média do desenvolvimento pós-embrionário entre os diferentes tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide ($F = 2,23$ e $p = 0,1$) (Tabela 5). Os parasitóides adultos originados dos diferentes tempos de exposição do hospedeiro a fêmeas nulíparas tiveram início e pico de emergência no 14° dia após a exposição do hospedeiro ao parasitóide. A emergência dos parasitóides se estendeu até o 17° dia nos tratamentos com tempo de exposição por 72h e 96h, já tratamentos de 24h e 48h tiveram emergência de parasitóides estendida até 15° e 16° dia, respectivamente (Figura 15).

4.3.2 Produtividade de parasitóides por pupa e razão sexual.

O número médio de machos e fêmeas parasitóides originados dos tratamentos com diferentes tempos de exposição (24h, 48h, 72h e 96h) do hospedeiro ao parasitóide não variou significativamente pela ANOVA ($F = 0,26$ e $p = 0,85$) (Tabela 6). Considerando somente o número de fêmeas emergidas em cada tratamento, também, não foi verificada diferença significativa entre os tratamentos ($F = 0,42$; $p = 0,74$). Da mesma maneira, o número médio de machos emergidos, também, não variou significativamente entre os tratamentos ($F = 1,78$; $p = 0,16$) (Tabela 6). Foi observado um reduzido e significativo nascimento de machos em relação ao nascimento de fêmeas em todos os diferentes tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide ($p < 0,0001$), havendo, portanto, um desvio da razão sexual com maior nascimento de fêmeas. O gráfico de tendência exponencial verificou que a taxa de fêmeas originadas foi similar nos diferentes tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide (Figura 16).

4.3.3 Taxa de parasitismo de pupas de *Chrysomya megacephala* por *Nasonia vitripennis*.

Observaram-se as maiores taxas de parasitismo quando os hospedeiros foram expostos ao parasitóide por 24 h e 96 h (84%), seguidos de 48 h (83,3%) e 72 h (78%). Foram verificadas pupas inviáveis em todos os tempos de exposição, havendo também a emergência de dípteros em 5% das pupas na exposição do hospedeiro ao parasitóide por 24h. No tratamento controle houve 80% de emergência de dípteros, com 20% de pupas inviáveis (Figura 17).

Tabela 5: Duração média do desenvolvimento pós-embrionário (em dias) de *Nasonia vitripennis* criadas em pupas de *Chrysomya megacephala* expostas por diferentes períodos de parasitismo, utilizando a relação um parasitóide¹: um hospedeiro² (T: 27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase). Letras diferentes indicam diferenças significativas obtidas através do teste de Tukey.

Diferentes Tempos de Exposição	Duração do desenvolvimento pós-embrionário (dias)								
	Fêmeas			Machos			Machos e Fêmeas		
	Média	± sd	IV	Média	± sd	IV	Média	± sd	IV
1:1 – 24h	14,03 _a	0,21	14 - 16	14,23 _a	0,48	14 - 16	14,06 _a	0,27	14 - 16
1:1 – 48h	14,13 _{ab}	0,44	14 - 17	14,17 _a	0,38	14 - 15	14,14 _a	0,43	14 - 17
1:1 – 72h	14,24 _b	0,65	14 - 17	14,20 _a	0,49	14 - 16	14,23 _b	0,63	14 - 17
1:1 – 96h	14,19 _b	0,60	14 - 17	14,06 _a	0,24	14 - 15	14,06 _a	0,23	14 - 17

sd= desvio padrão, IV= intervalo de variação.

¹ Fêmeas nulíparas individualizadas com até 24h de emergência, 20 repetições/tratamento.

² Pupas com até 24 horas de idade.

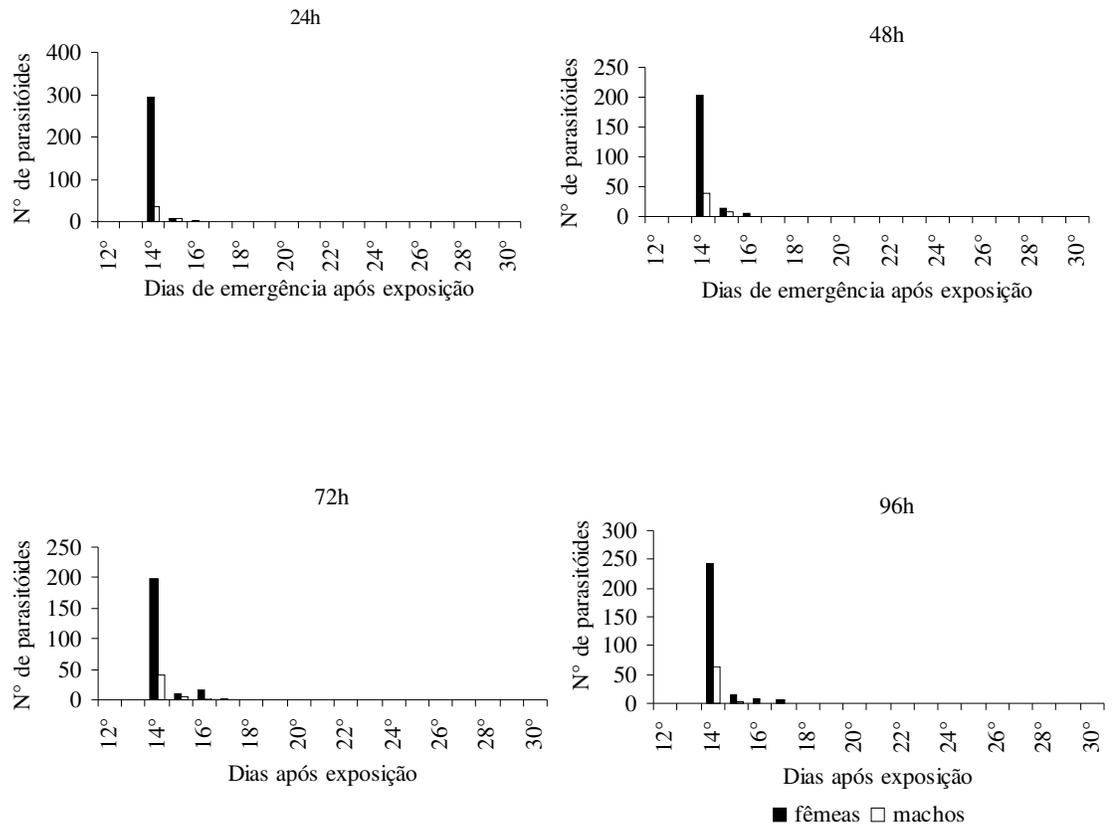


Figura 15: Ritmo de emergência de fêmeas e machos de *Nasonia vitripennis* criadas em pupas de *Chrysomya megacephala* por diferentes tempos de exposição ao parasitismo, utilizando um parasitóide: um hospedeiro (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase).

Tabela 6: Razão sexual, peso médio da pupa hospedeira e número de parasitóides adultos de *Nasonia vitripennis* criados em pupas de *Chrysomya megacephala* expostas por diferentes períodos ao parasitismo, utilizando-se diferentes relações parasitóide¹: hospedeiro² (T: 27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase). Letras diferentes indicam diferenças significativas obtidas através do teste de Tukey.

Parasitóide: Hospedeiro	Relação Sexual	Peso Médio das pupas (mg)	N ° de Parasitóides adultos					
			Fêmeas		Machos		Machos e Fêmeas	
			Média	IV	Média	IV	Média	IV
1: 1 – 24h	0,86	58	17,7 _a	3 - 28	2,76 _a	1 - 6	20,47 _a	4 - 32
1: 1 – 48h	0,83	55	14,93 _a	2 - 27	4,27 _a	1 - 7	18,07 _a	2 - 31
1: 1 – 72h	0,82	57	16,43 _a	9 - 27	3,85 _a	1 - 7	20,00 _a	10-28
1: 1 – 96h	0,80	57	16,88 _a	6 - 26	4,47 _a	1 - 14	19,82 _a	6 - 30

Razão sexual= fêmea/(macho+fêmea), média, IV= intervalo de variação.

¹ Fêmeas nulíparas individualizadas com até 24h de emergência, 20 repetições/tratamento.

² Pupas com até 24 horas de idade.

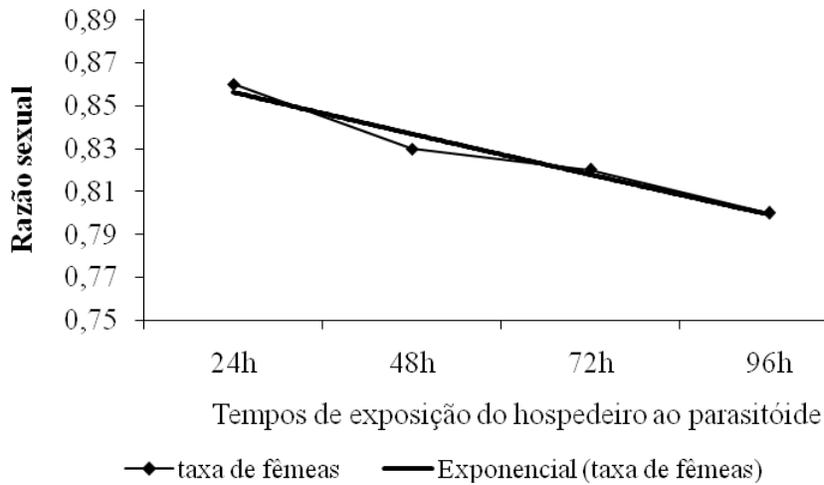


Figura 16: Tendência exponencial da razão sexual de *Nasonia vitripennis* originadas de pupas de *Chrysomya megacephala* utilizando um parasitóide: um hospedeiro em diferentes tempos de exposição (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase).

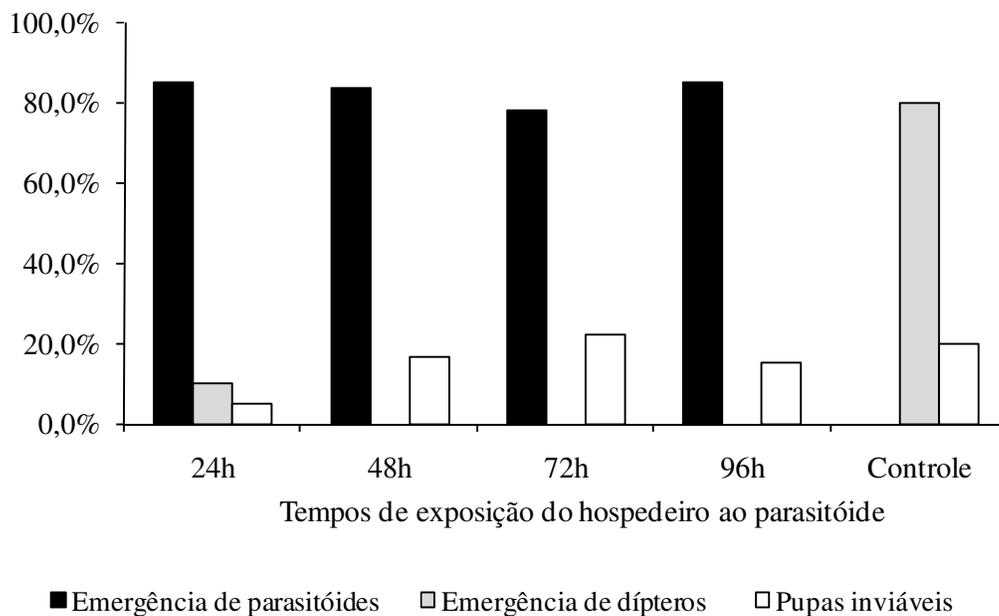


Figura 17: Percentual de pupas parasitadas (com emergência de parasitóides), pupas com emergência de *Chrysomya megacephala* e pupas inviáveis (não originaram dípteros e nem parasitóides) utilizando um parasitóide¹: um hospedeiro² expostos por diferentes tempos de parasitismo (T=27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % UR e 14 horas de fotofase).

4.4 Longevidade média de fêmeas adultas de *Nasonia vitripennis* originadas de diferentes relações parasitóide: hospedeiro.

Considera-se longevidade o tempo médio de sobrevivência do parasitóide desde sua emergência do hospedeiro. O tempo médio de sobrevivência das fêmeas originadas de diferentes relações parasitóide: hospedeiro (1:1, 3:1, 5:1 e 7:1) variou pela ANOVA ($F = 2,85$; $p = 0,04$). O tratamento referente às fêmeas originadas da relação 7:1 apresentou a maior longevidade média (22,2 dias) diferenciando significativamente do tratamento com fêmeas originadas da relação 1:1 que apresentou a menor longevidade média (16,7 dias) (Tabela 7).

O tratamento com fêmeas originadas da relação 1:1 apresentou aumento de mortalidade no 5º dia e 26º dia após emergência dos parasitóides, já para os demais tratamentos foi verificado aumento da mortalidade entre o 22º e 29º dias após a emergência das fêmeas parasitóides (Figura 18).

Tabela 7: Tempo médio da longevidade de fêmeas parasitóides adultas originadas de diferentes relações parasitóide¹: hospedeiro², mantidas sob condições controladas (T: 27°C dia, 25°C noite, 60 ± 10 % U R e 14 horas de fotofase). Letras diferentes indicam diferenças significativas obtidas através do teste de Tukey.

Tratamentos	Longevidade Fêmeas parasitóides		
	Média	IV	n
1:1	16,70 _a	1 - 39	44
3:1	21,42 _{ab}	4 - 39	62
5:1	20,37 _{ab}	1 - 29	27
7:1	22,20 _b	2 - 47	64

IV= intervalo de variação, n= número de fêmeas.

¹ Fêmeas nulíparas individualizadas com até 24h de emergência, 20 repetições/tratamento.

² Pupas com até 24 horas de idade.

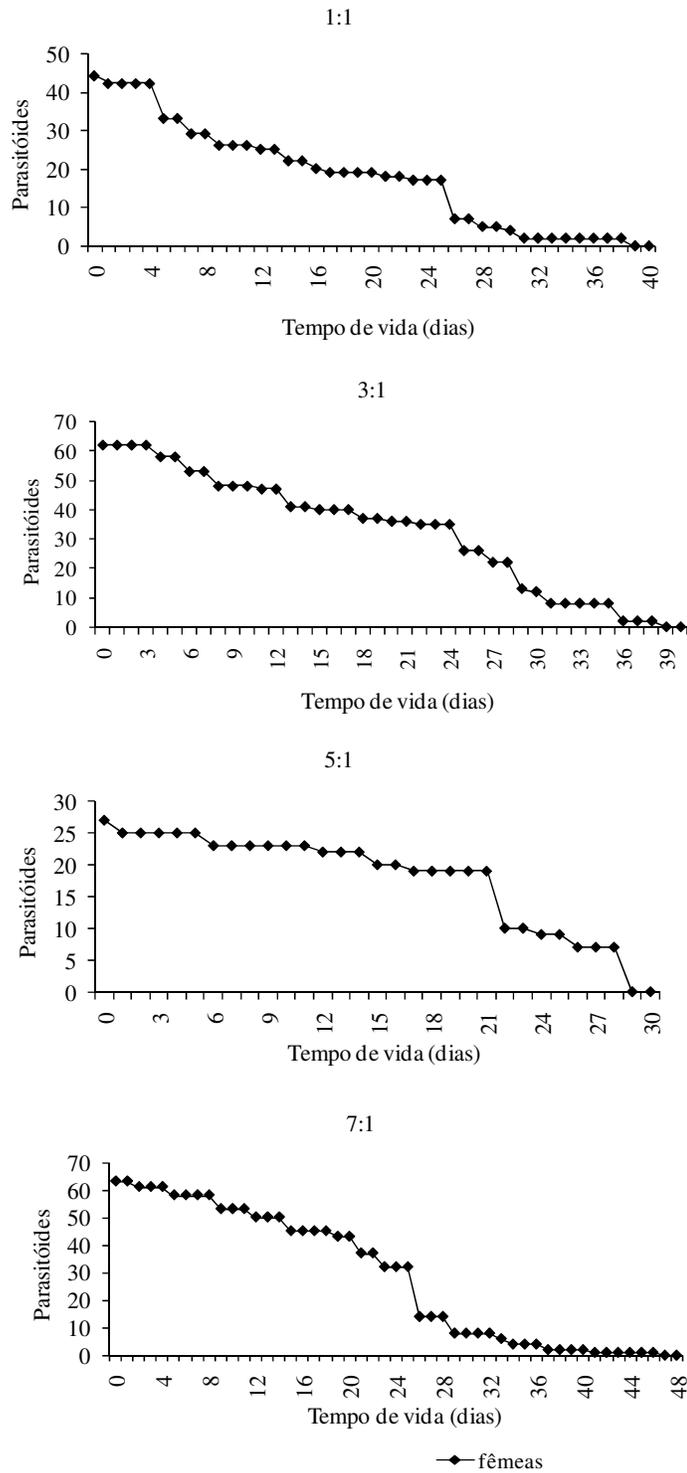


Figura 18: Longevidade média de fêmeas adultas parasitoides originadas de diferentes relações parasitóide: hospedeiro, exposto por 48h ao parasitismo ($T=27^{\circ}\text{C}$ dia, 25°C noite, $60 \pm 10\%$ UR e 14 horas de fotofase).

5 DISCUSSÃO

5.1 Desenvolvimento pós-embrionário de *Nasonia vitripennis* utilizando diferentes relações parasitóides:hospedeiros e variados tempos de exposição do hospedeiro ao parasitismo.

A duração média do desenvolvimento pós-embrionário dos parasitóides originados da exposição de um hospedeiro a diferentes densidades de *N. vitripennis* (etapa um), da exposição de diferentes densidades de pupas de *C. megacephala* a um parasitóide (etapa dois) e de variados tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide (etapa três), variou significativamente tanto para as fêmeas quanto para os machos emergidos. Porém, o desenvolvimento ontogenético dos machos originados de diferentes tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide, não variou significativamente entre os tratamentos, oscilando entre 14,06 e 14,23 dias.

A duração do desenvolvimento pós-embrionário de um inseto parasitóide é diretamente influenciada pelas condições ambientais, pela idade e tamanho do hospedeiro, bem como pela ocorrência ou não de superparasitismo (WYLIE, 1964, 1965, CHABORA & PIMENTAL, 1966; CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1996; HARVEY & GOLS, 1998). Observou-se neste estudo, utilizando temperatura de 27°C dia/25°C noite, 60 ± 10% umidade relativa, que a duração média de desenvolvimento ontogenético dos parasitóides variou entre 14,23 e 19,04 dias (etapa um), 14,22 e 16,79 dias (etapa dois) e 14,06 e 14,23 dias (etapa três). LEGNER & GERLIN (1967) observaram que a emergência de adultos de *N. vitripennis* teve início entre o 13° e 15° dia após a exposição do hospedeiro ao parasitóide, em parcelas mantidas a 26 °C de temperatura e 55% de umidade relativa. MOREIRA *et al.* (1996) estudando populações de *N. vitripennis* pertencentes a duas gerações distintas verificou que ambas tiveram início de emergência após o 12° dia de exposição ao parasitismo. Da mesma forma, CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO (1995, 1996) verificaram o mesmo intervalo de desenvolvimento, sob condições ambientais similares (temperatura variando entre 26 e 30°C). SCHIMIT (1986) observou a 27°C uma duração média de desenvolvimento ontogenético de 13 dias em *N. vitripennis*, utilizando como hospedeiro *Chrysomya rufifacies* (Macquart, 1842). Sendo assim, os resultados do presente estudo estão de acordo com estudos prévios, porém, neste estudo se observou uma tendência ao alongamento do desenvolvimento pós-embrionário com o acréscimo de parasitóides por pupa (etapa um) e com a adição de hospedeiros nos tratamentos (etapa dois).

Na etapa um, foi verificado um retardo significativo do desenvolvimento das fêmeas parasitóides originadas a partir da utilização de cinco parasitóides por hospedeiro e dos machos a partir da utilização de sete parasitóides por hospedeiro. A relação 11 parasitóides por hospedeiro foi a que apresentou início de emergência mais tardio (18 dias após exposição do hospedeiro ao parasitóide), com pico de emergência no 19° dia, enquanto as relações com densidades inferiores de parasitóides iniciaram a emergência a partir do 14° dia com picos entre os 14° e 16° dias após exposição do hospedeiro ao parasitóide. Os picos de emergência de machos e fêmeas obedeceram à mesma tendência entre si. WYLIE (1963) evidenciou que os parasitóides emergem mais cedo de hospedeiros que produzem maior número de progênie madura, que aqueles que produzem progênies menores. Desta forma, os dados do presente estudo corroboram os encontrados por WYLIE (1963), já que hospedeiros expostos a densidades menores de fêmeas parasitóides originaram progênies maiores e tiveram desenvolvimento pós-embrionário mais acelerado. Este autor, também evidenciou que parasitóides maiores costumam ter início de emergência anterior aos parasitóides menores. A causa para a diferença no tempo de desenvolvimento dos parasitóides entre os tratamentos da

etapa um pode ser em função do aspecto nutricional das formas imaturas, já que em hospedeiros superparasitados o recurso é um fator limitante para o desenvolvimento, ocasionando a redução do tamanho dos parasitóides e o prolongamento do desenvolvimento pós-embrionário.

De forma similar, na etapa dois, a duração média do desenvolvimento pós-embrionário apresentou tendência a um alongamento com o acréscimo de hospedeiros. CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO (1995) observaram que a duração média do desenvolvimento ontogenético de progênes oriundas de fêmeas nulíparas de *N. vitripennis* criadas em diferentes densidades de *C. megacephala* foram similares, embora houvesse também, uma discreta extensão do tempo de desenvolvimento utilizando densidades superiores de hospedeiros. No presente estudo, os picos de emergência dos parasitóides tenderam a ser posteriores com o acréscimo de hospedeiros expostos ao parasitóide, as relações 1:3 e 1:5 apresentaram pico de emergência no 17º dia, enquanto as outras relações obtiveram picos no 14º e 15º dia após exposição do hospedeiro ao parasitóide. GULIAS-GOMES *et al.* (2003) trabalhando com *C. megacephala* com a proporção de um parasitóide para dois hospedeiros, a 27°C e umidade relativa de 65%, observaram picos de emergência concentrados entre o 14º e 15º dias após o início da exposição ao parasitismo.

BARBOSA (2006) sugeriu que o prolongamento no tempo de desenvolvimento ontogenético de *N. vitripennis* ao expor números crescentes de *C. macellaria* como hospedeiro se deva as baixas densidades de parasitóides se desenvolvendo dentro de cada pupário. De forma similar, isto foi verificado no presente estudo, principalmente utilizando a relação 1 parasitóide: 3 hospedeiros. Este acontecimento induziria condições microambientais no interior do pupário não favoráveis ao desenvolvimento do parasitóide, que em parasitóides gregários deve ser obtido em densidades específicas (SLANKY & SCRIBER, 1985). AGUIAR-COELHO & MILWARD-DE-AZEVEDO (1996) estudando o efeito de larvas de dípteros gregários, necrófagos e necrobiontófagos, observaram que, tanto as altas quanto às baixas densidades de larvas de *C. megacephala* mostraram-se deletérias para o desenvolvimento pós-embrionário dos dípteros, indicado pela extensão da duração do desenvolvimento e da viabilidade dos estágios pós-embrionários. Portanto, sugere-se que este mesmo comportamento verificado nos dípteros esteja presente em parasitóides gregários.

Na etapa três, onde foram utilizados diferentes tempos de exposição do hospedeiro ao parasitismo, os parasitóides adultos tiveram início e pico de emergência no 14º dia em todos os tempos de exposição analisados. No entanto, as fêmeas originadas apresentaram um ciclo de desenvolvimento mais longo com o aumento do tempo de exposição. Este acréscimo do tempo poderia levar ao superparasitismo, o que contribuiria para o aumento do tempo total de desenvolvimento ontogenético. BARBOSA (2006) observou que o tempo de desenvolvimento dos parasitóides originados de *C. macellaria* expostos por diferentes tempos de parasitismo variou entre 14,94 e 15,85 dias e apresentou um discreto prolongamento do ciclo de desenvolvimento com o aumento do tempo de exposição, assim como foi visto no presente estudo.

5.2 Produtividade de Parasitóides por hospedeiro, Razão sexual e Taxa de parasitismo.

Os dados indicaram que houve diferença significativa na produção de parasitóides adultos, tanto utilizando diferentes densidades de fêmeas nulíparas por hospedeiro (etapa um), quanto utilizando diferentes densidades de pupas de *C. megacephala* para uma fêmea parasitóide (etapa dois). No entanto, no teste em que utilizou a relação um parasitóide para um 1 hospedeiro por diferentes tempos de exposição (etapa três), não foi verificada diferença significativa na produtividade de parasitóides adultos entre os tratamentos.

A maior produtividade de parasitóides adultos na etapa um foi alcançada na relação 5 parasitóides: 1 hospedeiro, tendendo a uma diminuição em relações posteriores. BARBOSA (2006) não observou diferença significativa na produtividade utilizando densidades de um a cinco parasitóides (*N. vitripennis*) por hospedeiro (*C. macellaria*), embora tenha observado um discreto aumento no número médio de parasitóides emergidos. WYLIE (1965) testando o efeito da densidade de parasitóides imaturos sobre a progênie de *N. vitripennis*, verificou o efeito do superparasitismo na sobrevivência dos parasitóides adultos. Em seus testes foi observada uma sobrevivência progressivamente menor dos parasitóides adultos, e uma maior densidade de ovos depositados conforme o aumento de fêmeas parasitóides em contato com o hospedeiro. No presente estudo não foi possível verificar a quantidade de ovos depositados, já que as pupas utilizadas não foram dissecadas. No entanto, pelos resultados obtidos, foi possível verificar uma provável ocorrência do superparasitismo, sendo esta causada possivelmente pelo ataque sucessivo de uma ou mais fêmeas de *N. vitripennis* sobre as pupas de *C. megacephala*. Quando a probabilidade da fêmea parasitóide encontrar outro hospedeiro é menor que a probabilidade de ganhar uma competição com o primeiro ocupante do hospedeiro, é sempre mais vantajoso aceitar o primeiro hospedeiro encontrado (BRODEUR & BOIVIN, 2004) e, conseqüentemente, aumenta a probabilidade da ocorrência do superparasitismo. Isto possivelmente ocorreu neste estudo, em que foram utilizadas diferentes densidades de parasitóides por hospedeiro.

Como previamente comentado, a utilização de cinco parasitóides para hospedeiro foi a que proporcionou o maior número médio de parasitóides adultos, portanto para efeitos de criação em larga escala destes insetos controladores de dípteros muscóides, a utilização desta relação parece ser a ideal. Sugere-se que densidade de até sete fêmeas parasitóides em contato com um hospedeiro determina produtividade e desenvolvimento da progênie satisfatório. No entanto, com o aumento posterior da densidade de fêmeas nulíparas parasitóides, é perceptível um decréscimo significativo na produtividade da progênie, principalmente de fêmeas, o que se mostra bastante evidente quando se utiliza a relação 11 parasitóides: 1 hospedeiro, que teve no presente estudo uma redução na produtividade de parasitóides cerca de três vezes em relação à 5:1 (Tabela 2).

Segundo WYLIE (1965) nenhuma ou poucas larvas morrem no 1º instar, e a maioria chega ao último instar. No entanto, quando ocorre o superparasitismo, poucos parasitóides eclodem devido à falta de recursos fornecidos pelo hospedeiro e, quando eclodem, apresentam tamanhos reduzidos. Neste estudo, apesar de não se ter medido o tamanho médio dos parasitóides, foi observado uma aparente redução no tamanho destes a partir da relação 7:1, principalmente das fêmeas.

Foi verificado ainda na etapa um, um desvio da razão sexual para as fêmeas em todas as densidades de parasitóides trabalhadas, porém, conforme o aumento das densidades de fêmeas nulíparas em contato com um hospedeiro houve um aumento na proporção de machos, apresentando tendência a diminuição das fêmeas na progênie (Figura 10). Este fato pode ser explicado pela capacidade das fêmeas parasitóides controlarem a razão sexual quando submetidas a determinadas condições, como na presença de múltiplas fêmeas disputando por um único hospedeiro. Nesta situação, a estratégia delas é investir em uma maior quantidade

de machos na progênie, de forma a garantir a cópula de um dos seus filhos com outras fêmeas no local de emergência, o que é conhecido por competição local pela cópula (HAMILTON, 1967) e garantir a perpetuação dos seus genes. Da mesma forma, WYLIE (1965, 1966) sugeriu que a porcentagem de machos tende a aumentar em hospedeiros superparasitados, fato este que sustenta a ocorrência do superparasitismo no presente estudo, especialmente quando utilizadas densidades mais elevadas de fêmeas núlparas por hospedeiro.

Foi verificada, também, uma taxa de parasitismo similar, em torno de 45 a 60%, nas diferentes densidades de fêmeas parasitóides por hospedeiro, sendo as maiores porcentagens verificadas nas relações 3:1 e 5:1. Adicionalmente, foi verificada maior taxa de pupas inviáveis em hospedeiros submetidos a maiores densidades de parasitóides. Alguns estudos sugerem que as menores taxas de parasitismo e as maiores taxas de pupas inviáveis são causadas pelo superparasitismo e/ou efeito deletério provocado pela ruptura do pupário pelas fêmeas parasitóides (CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1995).

Na etapa dois, onde foram testadas diferentes densidades de hospedeiro submetidas a um parasitóide, não foi observada diferença significativa na produtividade de parasitóides adultos (macho + fêmeas e machos) nas progênies originadas. Só houve diferença significativa no número médio de fêmeas emergidas entre os diferentes tratamentos. BARBOSA (2006) observou uma queda na produtividade de parasitóides em função do acréscimo de hospedeiros nas relações utilizadas, sendo a máxima produtividade observada na relação 1:1 e a mínima na relação 1:5. No presente estudo, este mesmo padrão de comportamento foi somente observado até a relação 1:3, ou seja, a máxima produtividade de fêmeas foi observada na relação 1:1 e a mínima na 1:3, já as relações com densidades de hospedeiro superiores (1:4 e 1:5) não apresentou diferença significativa na produtividade de parasitóides das demais relações. BARBOSA (2006) sugere que esse comportamento reprodutivo esteja relacionado a uma maior heterogeneidade na distribuição de posturas entre as pupas disponibilizadas, estratégia possivelmente utilizada para evitar o superparasitismo. Tal comportamento pode determinar baixas densidades de parasitóides se desenvolvendo em um único hospedeiro, ocasionando um fenômeno oposto ao superparasitismo, proposto e nomeado por BARBOSA (2006) como “subparasitismo”.

Foi, também, observada na etapa dois, maior taxa de emergência de dípteros nas relações com maiores densidades de hospedeiros. Sugere-se que isto ocorra pela provável incapacidade das fêmeas núlparas parasitarem elevados números de pupas hospedeiras dentro de um intervalo de 48 horas. WYLIE (1966) já destacara que, se a procura por espaço é negligenciável (como ocorre em pequenos recipientes, em bioensaios de laboratório), as fêmeas expostas a dois ou mais pupários atacam apenas cerca de dois no intervalo de 18 horas. Isso parece explicar o porquê das maiores taxas de parasitismo terem ocorrido nas relações 1:1 e 1:3, padrão que não foi observado na relação 1:2, pois esta apresentou uma elevada taxa de pupas inviáveis (Figura 8).

Com relação à razão sexual, houve um desvio para o nascimento de fêmeas em todas as relações utilizadas na etapa dois. No entanto, o número médio de machos e fêmeas não diferenciou significativamente nas relações 1:2, 1:3 e 1:4. Isto parece correr quando existem poucos parasitóides se desenvolvendo dentro do pupário, não havendo a necessidade do controle do sexo da progênie pelas fêmeas, ao contrário do que ocorre quando há o superparasitismo, onde há necessidade de um acréscimo na porcentagem de nascimento de machos. Para confirmar tal aspecto biológico seriam necessários outros estudos envolvendo relações parasitóides: hospedeiros.

Os diferentes tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide não influenciaram no número médio de parasitóides emergidos. Era esperado que utilizando a relação 1:1 haveria uma tendência à diminuição da produtividade de parasitóides com o aumento do intervalo de exposição, devido à possível ocorrência do superparasitismo. CARDOSO & MILWARD-DE-

AZEVEDO (1995) verificaram que o intervalo de exposição de 24 e 48 horas pouco influenciou o número total de parasitóides emergidos utilizando a relação 1:1, corroborando o presente resultado. Já, BARBOSA (2006) verificou um acréscimo no número médio de parasitóides emergidos por pupa até 72 h de exposição do hospedeiro ao parasitóide, apresentando uma queda na produtividade quando exposto por 96 h, utilizando a proporção de 1:5. Porém, MILWARD-DE-AZEVEDO *et al.* (2004) trabalhando com desempenho reprodutivo de *N. vitripennis* em pupas crioconservadas observou um número reduzido de parasitóides originados da relação 1:1 exposto por 72 horas e sugeriu que isto pode ter sido provocado pela exploração intensiva do hospedeiro, que acarretou em um superparasitismo e conseqüentemente contribuiu para uma elevada taxa de mortalidade das formas imaturas.

Neste estudo houve emergência de dípteros em 5% das pupas de *C. megacephala* expostas ao parasitóide por 24 horas. Os outros intervalos de exposição não apresentaram emergência de dípteros. CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO (1995) verificaram que o tempo de exposição do hospedeiro ao parasitismo influenciou a taxa de eficiência parasitária. Estes autores compararam dois intervalos de exposição 24 e 48 horas, e verificaram que a interação entre as fêmeas de *N. vitripennis* e as pupas hospedeiras durante apenas 24 horas permitiu a emergência de um acentuado percentual de adultos de *C. megacephala*, por outro lado, esta interação mantida por 48 horas impossibilitou a emergência de dípteros. No presente estudo, com o aumento do tempo de exposição houve tendência ao aumento do número de pupas inviáveis. De acordo com CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO (1995), estes fatos sustentariam a hipótese da possível ocorrência de superparasitismo e/ou um acréscimo da atividade exploratório e alimentar das fêmeas parasitóides com o aumento de tempo de exposição.

Quanto à taxa de parasitismo, todos os intervalos de exposição apresentaram-se elevados e semelhantes, o que estaria de acordo com WYLIE (1965) que afirmou que o superparasitismo não afeta a habilidade dos parasitóides abandonarem o pupário, conseqüentemente não afetaria a taxa de parasitismo, no entanto vai de encontro ao que CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO (1995) propôs. Apesar de estes fatos colaborarem com a possível ocorrência de superparasitismo em elevados tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide, neste estudo, não foi verificada redução significativa no número médio de parasitóides (machos + fêmeas, machos e fêmeas) entre os diferentes tratamentos e paralelamente não foi observada redução na taxa de emergência de fêmeas conforme o aumento dos intervalos de exposição. Portanto, não é pertinente garantir que tempos de exposição maiores para a relação 1:1 deva ocasionar o superparasitismo.

Existem estudos que afirmam que as fêmeas parasitóides são capazes de detectarem pupários já parasitados (WHITING, 1967; BRODEUR & BOVIN, 2004) e, assim, evitam oviposições sucessivas em um mesmo hospedeiro e o conseqüente superparasitismo. As espécies parasitóides também são capazes de escolher seus hospedeiros baseando-se no tamanho e estágio de desenvolvimento do hospedeiro (WYLIE, 1964, CHABORA & PIMENTAL, 1966; CARDOSO & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1995; HARVEY & GOLS, 1998; HUSNI & HONDA, 2001). A discriminação dos hospedeiros parasitados de não parasitados confere uma vantagem para as fêmeas parasitóides, pois aqueles que estão parasitados apresentam baixo valor qualitativo e quantitativo em termo de eficiência no suprimento de recursos para os estágios imaturos (BRODEUR & BOVIN, 2004). É razoável aceitar que esta detecção da qualidade do pupário tenha ocorrido pelas fêmeas no presente estudo.

5.3 Longevidade média de fêmeas parasitóides adultas

A longevidade média de fêmeas adultas de *N. vitripennis* originadas de diferentes relações parasitóides: hospedeiro alimentadas à base de mel puro sem o oferecimento de pupas hospedeiras apresentou-se similar entre os tratamentos testados, com uma média em torno de 20,48 dias de sobrevivência. No entanto, as fêmeas originadas da relação 1:1 apresentaram uma redução significativa no tempo médio de vida em relação às fêmeas originadas da relação 7:1 (tabela 7). Sugere-se que esta diferença esteja relacionada com o tempo em que as formas imaturas ficaram expostas aos fluidos do hospedeiro, visto que na maior densidade há aumento significativo na duração do desenvolvimento ontogenético e uma longevidade superior em relação à densidade 1:1 (tabela 1). Esta extensão no tempo médio de desenvolvimento possivelmente contribuiu para o estado nutricional das fêmeas parasitóides maduras. Para verificar a influência do superparasitismo sobre a longevidade média de fêmeas parasitóides maduras haveria a necessidade da inclusão de densidades superiores de parasitóides por hospedeiro no estudo, visto que a redução da produtividade de fêmeas se iniciou somente a partir da relação 9:1, onde foi evidenciado o efeito do superparasitismo. Com isso poderíamos testar se a competição por alimento dentro do pupário pelas formas imaturas induz a uma menor longevidade média das fêmeas parasitóides maduras.

Poucos são os estudos relacionados à longevidade média dos parasitóides adultos. KING & HOPKINS (1963) testaram o tempo de vida de machos e fêmeas adultas fertilizadas e não fertilizadas de *N. vitripennis* sem o fornecimento de alimento ao longo dos dias. Estes autores verificaram que o tempo de vida de machos e fêmeas não fertilizadas não apresentou diferença significativa entre si, mas identificaram um prolongamento significativo na sobrevivência das fêmeas fertilizadas, o que foi explicado pela possível reabsorção dos ovócitos pelas fêmeas quando estão em situação adversa, de forma a contribuir com o fornecimento protéico delas. CHABORA (1970) observou que fêmeas parasitóides emergidas de linhas evolutivas de *Phaenicia sericata* (Meigen, 1826) originárias de Kirkland e Flórida apresentaram longevidade média em torno de 15 dias, enquanto as fêmeas parasitóides emergidas de *P. sericata* originária de Nova York apresentaram longevidade média de 19 dias, valor próximo do encontrado no presente estudo.

6 CONCLUSÕES

Com base nos objetivos propostos, na metodologia aplicada e nos resultados alcançados, podemos concluir que:

1- A duração do desenvolvimento pós- embrionário de *N. vitripennis* foi influenciada pela utilização de diferentes densidades de parasitóide e de hospedeiro, tendendo a um desenvolvimento mais lento em função do aumento dessas variáveis. Já a utilização de diferentes tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide somente influenciou o desenvolvimento das fêmeas, que apresentaram o maior tempo de desenvolvimento ontogenético quando o hospedeiro foi submetido a 72 horas de parasitismo.

2- A produtividade de parasitóides por pupa foi influenciada pela utilização de diferentes densidades de parasitóides e hospedeiros. A relação 5 parasitóides:1 hospedeiro possibilitou a maior produtividade de parasitóides, havendo uma queda gradual nas relações com densidades superiores de fêmeas parasitóides. O mesmo aconteceu com as diferentes densidades de hospedeiros, no entanto, houve uma queda até a relação 1 parasitóide:3 hospedeiros e as relações posteriores não apresentaram diferença quantitativa das demais. Já a utilização de diferentes tempos de exposição do hospedeiro ao parasitóide não influenciou a produtividade dos parasitóides.

3- A razão sexual tendeu a um desvio para o nascimento de fêmeas em todos os tratamentos, no entanto, ao expor a pupa hospedeira a diferentes densidades de parasitóides foi observada uma tendência ao aumento da proporção de machos em função do acréscimo de parasitóides por pupa.

4- A taxa de parasitismo apresentou um ligeiro decréscimo quando o hospedeiro foi isolado com mais de cinco parasitóides e concomitantemente houve um acréscimo de pupas inviáveis. A maior taxa de parasitismo, quando utilizou diferentes densidades de hospedeiro, foi verificada na relação 1:3, enquanto nas outras relações a taxa foi inferior, havendo um aumento da taxa de pupas com emergência de dípteros com o aumento dos hospedeiros. As taxas de parasitismo utilizando diferentes tempos de exposição do parasitóide ao hospedeiro foram altas e próximas umas das outras.

A hipótese da ocorrência de superparasitismo em relações com densidades elevadas de parasitóides por hospedeiro, especialmente 9:1 e 11:1, bem como a do efeito contrário ao superparasitismo em densidades elevadas de hospedeiros expostos a uma fêmea nulípara parasitóide, foi aceita com base nos resultados dos aspectos reprodutivos obtidos. Já a hipótese da ocorrência do superparasitismo utilizando a relação 1:1 em exposição do hospedeiro ao parasitóide acima de 72h não é garantida, em função da produtividade dos parasitóides não ter variado, embora o desenvolvimento pós-embrionário tenha sido prolongado em exposições acima de 72h.

5- A maior longevidade média foi observada para as fêmeas parasitóides originadas da relação 7:1, possivelmente pelo fato das formas imaturas apresentarem um maior tempo de duração do desenvolvimento ontogenético e melhor aproveitamento do recurso disponível.

Desta forma a hipótese de que a longevidade das fêmeas parasitóides originadas de relações com densidades mais elevadas de fêmeas nulíparas por hospedeiro tenha seu tempo de vida reduzido foi refutada. Haveria a necessidade da inclusão de densidades acima de fêmeas nulíparas parasitóides por hospedeiro neste tratamento para verificar a influência do superparasitismo na expectativa de vida da progênie, pois somente nas relações 9 parasitóides para um hospedeiro e onze parasitóides para um hospedeiro foi verificado tal fenômeno.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR-COELHO, V. M. & MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. Associação entre larvas de *Chrysomya megacephala* (Fabricius), *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) e *Cochliomya macellaria* (Fabricius) (Calliphoridae, Diptera) sob condições de laboratório. *Rev. Bras. Zool.*, v. 12, n. 4, p. 991-1000, 1996.
- ASKEW, R. R. Parasitic insects. Heinemann Educational books, London, 316pp. In: WAAGE, J.; GREATHEAD, D. (Eds.) *Insect parasitoids*. London: Academic Press, p. 97-135, 1971.
- ASKEW, R. R. & SHAW, M. R. Parasitoids communities: Their size, structure and development. In: WAAGE, J. & GREATHEAD, D. (Eds.) *Insect parasitoids*. London: Academic Press, p. 225-264, 1986.
- AXTELL, R.C. Fly management in poultry production cultural, biological and chemical. *Poultry Sci.*, v. 65, p. 657-667, 1986.
- BARBOSA, L. S. *Relações quantitativas e temporárias na exposição do hospedeiro Cochliomya macellaria (Fabricius, 1775) (Diptera: Calliphoridae) ao parasitóide Nasonia vitripennis (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae), em laboratório*. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Museu Nacional. Rio de Janeiro, RJ: Universidade Federal do Rio de Janeiro, p.1- 62, 2006.
- BARBOSA, L. S.; JESUS, D. M. L.; AGUIAR- COELHO, V. M. Longevidade e capacidade reprodutiva de casais agrupados de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) criadas em dieta natural e oligídica. *Rev. Bras. Zoociências*, v. 6, n. 2, p. 207-217, 2004.
- BAUMGARTHER, D. L. & GREENBERG, B. Distribution and medical ecology of blowflies (Diptera- Calliphoridae) of Peru. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, v. 78, n. 5, p. 565-587, 1985.
- BAUMHOVER, A. H. Erradication of the screwworm fly an agent of myiasis. *J. Am. Med. Assoc.*, v. 196, n. 3, p. 240-248, 1966.
- BEUKEBOOM, L. W.; KAMPING A.; LOUTER M., PIJNACKER L. P., KATJU V.; FERREE, P. M.; WERREN, J. H. Haploid Females in the Parasitic Wasp *Nasonia vitripennis*. *Science*, v. 315, p. 206, 2007.
- BRITO, L. G.; LIMA, M. A. M.; SANTOS, M. J. P.; MOYA-BORJA, G. E. Estudo comparativo de patogenia de *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) e *Lucilia cuprina* (Wiedeman, 1830) em caprinos artificialmente infestados. *Rev. Med. Vet.*, v. 23, n. 5, p. 203-206, 2001.
- BRODEUR, J. & BOIVIN, G. Functional ecology of immature parasitoids. *Annu. Rev. Entomol.*, v. 49, p. 27-49, 2004.
- CARDOSO, D. & MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. Influência de densidade de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) sobre a capacidade reprodutiva de fêmeas nulíparas de *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera, Pteromalidae). *Revta. Bras. Ent.*, v. 39, n. 4, 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 *C. albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae), sob condições de laboratório. *Revta Bras Ent.*, v. 40, n. 2, p. 143-146, 1996.
- CARVALHO, A. R.; MELLO, R. P.; d'ALMEIDA, J. M. Microhimenópteros parasitóides de *Chrysomya megacephala*. *Rev. Saúde Pública*, v. 37, n. 6, p. 810-812, 2003.

- CARVALHO, A. R.; d' ALMEIDA, J. M.; MELLO, R. P. Mortalidade de larvas de *Chrysomya megacephala* (fabricius) (Diptera: Calliphoridae) e seu parasitismo por microhimenópteros na cidade do Rio de Janeiro RJ. *Neotrop. Entomol.*, v. 33, n. 4, p. 505-509, 2004.
- 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. *Revta. Bras. Ent.*, v. 49, n. 1, p. 118-122, 2005.
- CATTS, E. P. & GOFF, M. L. Forensic entomology in criminal investigations. *Annu. Rev. Entomol.*, v. 37, p. 253-272, 1992.
- CHABORA, C.; PIMENTEL, D. Effects of host *Musca domestica* (Linnaeus) age on the Pteromalid parasite *Nasonia vitripennis* (Walker). *Canad. Ent.*, v. 98, p. 1226-1231, 1966.
- CHARNOV, E. L. The genetical evolution of patterns of sexuality: Darwinian fitness. *Am. Nat.*, v. 113, p. 465-480, 1979.
- CHARNOV, E. L., LOS-DEN HARTOGH, R. L.; JONES, W. T.; VAN DEN ASSEM, J. Sex ratio evolution in a variable environment. *Nature*, v. 289, p. 27-33, 1981.
- d' ALMEIDA, J. M. & LOPES, H. S. Sinantropia de dipterous caliptrados (Calliphoridae) no Estado do Rio de Janeiro. *Arq. Univ. Fed. R. Rio Janeiro*, v. 6, p. 39-48, 1983.
- DARLING, D. C. & WERREN, J. H. Biosystematics of *Nasonia* (Hymenoptera: Pteromalidae): two new reared from bird's nests in North America. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, v. 83, p. 352-369, 1990.
- DOUTT, R. L. The biology of parasitic Hymenoptera. *Annu. Rev. Entomol.*, v. 4, p. 1961-1982, 1959.
- ENDRESS, P. K. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. *Cambridge Tropical Biology Series*, 1994.
- ESSER, J. R. Factors influencing oviposition, larval growth and mortality in *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae), a pest of salted dried fish in south-east Asia. *Bull. Ent. Res.*, v. 80, p. 369-376, 1990.
- FERREIRA, M. J. M. Sinantropia de dípteros muscóides de Curitiba, Paraná. I. Calliphoridae. *Rev. brasil. Biol.*, v.38, n. 2, p. 445-454, 1978.
- FURLANETTO, S. M. P.; CAMPOS, M. L. C. & HÁRSI, C. M. Microorganismos enteropatogênicos em moscas africanas pertencentes ao gênero *Chrysomya* (Diptera, Calliphoridae) no Brasil. *Rev. Microbiol.*, v. 15 n. 3, p. 170-174, 1984.
- GRASSBERGER, M. & FRANK, C. Temperature-related development of the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis* as forensic indicator. *Med. Vet. Entomol.*, v. 17, p. 257-262, 2003.
- GREENBERG, B. Ecology, classification and biotic associations , vol I. In: *Flies and Disease*. N. I.: Princeton Univ. Press, 865p., 1971.
- GREENBERG, B. Biology and disease transmission, vol II. In: *Flies and Disease*. N. J.: Princeton Univ. Press, 740p., 1973.
- GREENBERG, B. Flies as forensic indicators. *J. Med. Entomol.*, v. 28, p. 565-577, 1991.
- GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA-BORJA, G. E.; PEREIRA J. B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *Hora Vet.*, v. 21, n. 125, 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, 35 p., 1999.
- GUIMARÃES, J. H.; PAPAVERO, N.; PRADO, A. P. As miíases na região Neotropical: identificação, biologia e bibliografia. *Rev. Bras. Zool.*, v. 1, p. 239-416, 1983.
- GUIMARÃES, J. H.; PRADO, A. P.; BURALLI, G. M. Dispersal and distribution (Diptera, Calliphoridae). *Revta Bras. Entomol.*, v. 23, p. 245-55, 1979.
- GUIMARÃES, J. H.; PRADO, A. P.; LINHARES, A. X. Three newly introduced species in Southern Brazil (Diptera: Calliphoridae). *Revta Bras. Ent.*, v. 22, n. 1, p. 53-60, 1978.

- GULIAS-GOMES, C. C., SOARES, C. O.; MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. Pupas de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) crioconceradas em soluções de glicerol e dimetil sulfóxido como substrato de criação de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Rev. Bras. Zoocien.*, v. 5, n. 1, p. 101-120, 2003.
- HALL, M. J. R. & WALL, R. Myiasis of humans and domestic animals. *Adv. Parasit.*, v. 35, p. 257-334, 1995.
- HAMILTON, W. D. Extraordinary sex ratios. *Science*, v. 156, p. 477-488, 1967.
- HANSON, P. E. & GAULD, I. D. *The Hymenoptera of Costa Rica*. Grã-Bretanha: Oxford University Press, The Natural History Museum, 893p., 1995.
- 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). *Bull. Ent. Res.*, v. 88, p. 299-304, 1998.
- HUSNI, Y. K. & HONDA, H. Effects of host pupal age on host preferenc and host suitability in *Brachymeria lasus* (Walker) (Hymenoptera: Chalcidoidae). *Appl. Entomol. Zool.*, v. 36, n. 1, p. 97- 102, 2001.
- KEH, B. Scope anapplications forensic entomology. *Annu. Revta. Entomol.*, v. 30, p. 137-154, 1985.
- KING, B. H. Offspring sex ratios in parasitoid wasps. *Q. Rev. Biol.*, v. 62, n. 4, p. 362-396, 1987.
- KING, B. H. & SKINNER, S. W. Proximal mechanisms of the sex ratio and clutch size responses of the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis* to parasitized hosts. *Anim. Behav.*, v. 42, p. 23-32, 1991.
- KING, B. H. Sex-ratios of the wasp *Nasonia vitripennis* from self- versus conspecifically-parasitized hosts: local mate competition versus host quality models. *J. Evol. Biol.*, v. 5, p. 445-455, 1992.
- KING, B. H. Sequence of offspring sex production in the parasitoid wasp, *Nasonia vitripennis*, in response to unparasitized versus parasitized hosts. *Anim. Behav.*, v. 45, p. 1236-1238, 1993.
- KING, B. H. & ELLISON, J.H. Resource quality affects restlessness in the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis*. *Entomol. Exp. Appl.*, v. 118, p. 71-76, 2006.
- KING, P. E.; HOPKINS, C. R. Length of life of the sexes in *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera, Pteromalidae) under conditions of starvation. *J. Exp. Biol.*, v. 40, p. 751-761, 1963.
- LACHAISE, D. L. & TSACAS, G. C. The Drosophilidae associated with tropical African figs. *Evolution*, v. 36, p. 141-151. 1982.
- LANNE, S. D.; MILLS, N. J.; GETTS, W. M. The effect of parasitoid fecundity and host taxon on the biological control of insects pest: The relationship between theory and data. *Eco. Entomol.*, v. 24, p. 181-190, 1999.
- LEGNER, E. F. & GERLIN, D. Host-feeding and oviposition on *Musca domestica* by *Spalangia cameroni*, *Nasonia vitripennis*, and *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera: Pteromalidae) influences their longevity and fecundity. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, vol.60, p. 678-690, 1967.
- LEGNER, E. F. & G. S. OLTON. Worlwide survey and comparasion of adult predator end scavenger insect populations associated with domestic animal manure where livestock is artificially congregated. *Hilgardia*, v. 9, p. 225-266, 1970.
- LESSA, C. S. S. & LESSA, D. A. B. Efeito preventivo de Ivermectina (liberação lenta) em miíases decorrentes de castração em bovinos. *Rev. Bras. Med. Vet.*, v. 2, n. 4, p. 147-148, 1999.

- MADEIRA, N. G.; NEVES, D. P. Congresso Brasileiro de Zoologia, 12, Campinas, SP. *Encontro de microhimenópteros Spalangia endius e Nasonia vitripennis (Pteromalidae) em pupas de Calliphoridae (Diptera) em Belo Horizonte (MG)*. Campinas, SP, p. 388-339, 1985.
- MAGALHÃES, M. N. & LIMA, A. C. P. *Noções de Probabilidade e Estatística*. 3. ed, São Paulo, SP: IME-USP, 392p., 2001.
- MARCHIORI, C. H. Parasitóides de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) coletados em Itumbiara, Goiás. *Rev. Saúde Pública*, v. 38, n. 2, p. 323-325, 2004.
- 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. *An. Soc. Entomol. Bras.*, v. 28, p. 375-387, 1999.
- MELLO, R. P. Chave para identificação das forma adultas da espécie da família Calliphoridae (Diptera: Brachycera, Cyclorrhapha) encontradas no Brasil. *Entomol. Vect.*, v. 10, n. 2, p. 255-268, 2003.
- MELLO, R. S. *Estudos ecológicos e de atratividade de califorídeos (Diptera: Calliphoridae) por diferentes cores de armadilhas, na Reserva Biológica do Tinguá, RJ*. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas). Rio de Janeiro, RJ: Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), 2005.
- MESSIAS, L. C. F. *Desempenho reprodutivo de Nasonia vitripennis (Walker, 1836) (Hymenoptera: pteromalidae) sob o efeito da dieta larval e do congelamento de pupas de Chrysomya megacephala (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae)*. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas). Rio de Janeiro, RJ: Universidade Federal do Estado do Rio Janeiro (UNIRIO), 2006.
- MIHÁLYI, F. Rearing flies from faeces and meat infected under natural condition. *Acta Zool Hung.*, v. 11, p. 153-63, 1967.
- MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. & CARDOSO, D. Criação de *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas congeladas de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae): testes preliminares. *Arq. Biol. Tecnol.*, v. 39, n. 1, p. 89-98, 1996.
- 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 criopreservadas de *Chrysomya megacephala* Fabricius (Diptera: Calliphoridae); avaliação preliminar. *Ciência Rural*, v. 34, n.1, p. 207-211, 2004.
- MONTEIRO, R.M. *Microhimenópteros (Insecta: Hymenoptera) parasitóides e insetos predadores de moscas sinantrópicas (Insecta: Diptera) na Granja Capuavinha, Monte-Mor, SP*. Dissertação. Campinas, SP: UNICAMP, 1995.
- 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. *Arq. Biol. Tecnol.*, v.39, n.3, p. 491-195, 1996.
- MOYA-BORJA, G. E. Erradicação ou manejo integrado das miíases neotropicais das Américas? *Pesq. Vet. Bras.*, v. 23, n.3, p. 131-137, 2003.
- NEVES, D. P. Diptera. In NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O. & LINARDI, P. M. *Parasitologia Humana*. 10. ed. São Paulo, SP: Atheneu, 2000.
- NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, M. P. *Parasitologia Humana*. 11. ed. Rio de Janeiro, RJ: Atheneu, 2005.
- NORRIS, K. R. The bionomics of blowflies. *Ann Rev Entomol*, v. 10, p. 47-68, 1965.
- NUOERTEVA, P. Sarcosaprophagus insects as forensic indicators, vol. II. In: *Forensic Medicine: A study of trauma and environmental hazards*. Saunders, Philadelphia: By C. G. Tedeschi, W. G. Eckert and L. G. Tedeschi, 1072- 1095 pp., 1977.

- OLIVEIRA, V. C.; d'ALMEIDA, J. M.; SANTOS, M. J. P.; SANAVRIA, A. Dinâmica populacional de dípteros Calliphoridae na Fundação Rio-Zoo, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. *Entomol. Vect.*, v. 6, n. 3, p. 264-276, 1999.
- OLIVEIRA, V. C.; MELLO, R. P., d'ALMEIDA, J. M. Dípteros muscóides como vetores mecânicos de ovos de helmintos em Jardim Zoológico, Brasil. *Rev. Saúde pública*, v. 36, n. 5, 2002.
- OLIVEIRA-COSTA, J. *Entomologia Forense: Quando insetos são vestígios*. Rio de Janeiro, RJ: Millenium, 2003.
- OLSEN, A. R. & SIDEBOTTON, T. H. Biological observations on *Chrysomya megacephala* (Fabr.) (Diptera: Calliphoridae) in Los Angeles and the Palu Islands. *Pan-Pac. Entomol.*, v. 66, p. 126-133, 1990.
- PARALUPPI, N. D. & CASTELLÓN, E. G. Calliphoridae (Diptera) em Manaus, Amazonas. II Padrão de atividade de vôo em cinco espécies. *Rev. Bras. Zool.*, v. 10, p. 665-672, 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.
- PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S.; CORRÊA-FERREIRA; BENTO, J. M. S. *Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores*. São Paulo, SP: Manole, 2002.
- PAYNE, J. A. A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa* Linnaeus. *Ecology*, v. 46, p. 592-602, 1965.
- PENNACCHIO F. & STRAND M. R. Evolution of developmental strategies in Hymenoptera parasitic. *Annu. Rev. Entomol.*, v.51, p. 233-58, 2006.
- PETERSEN, J. J. & PAWSON, B. M. Early season dispersal of *Muscidifurax zaraptor* (Hymenoptera: Pteromalidae) utilizing freeze-killed housefly pupae as hosts. *Med. Vet. Entomol.*, v. 2, p.137-140, 1988.
- PIANKA, E. R. On r and k selection. *Am. Nat.*, v. 104, p. 592-597, 1970.
- PICKENS, L. G. & MILLER, R. W. Using frozen host pupae to increase in efficiency of parasite-release program. *Fla Entomol*, v. 61, n.3, p. 153-158, 1978.
- PRINS, A. J. Discovery of the oriental latrine fly *Chrysomya megacephala* (Fabricius) along the south-western coast of South Africa. *Annals of South African Museum*, v. 78, n. 5, p. 39-47, 1979.
- RIVERO, A. & WEST, S. A. 2005. The cost and benefits of host feeding in parasitoids. *Anim. Behav.*, v. 69, p. 1293-1301, 1979.
- RODRIGUES-GUIMARÃES, R.; GUIMARÃES, R. R.; CARVALHO, R. W.; MAYHÉ-NUNES, A. J.; MOYA-BORJA, G. E. Registro de *Aphaereta laeviuscula* (Spinola) (Hymenoptera: Braconidae) e *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) como parasitóide de *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) (Diptera: Calliphoridae), no Estado do Rio de Janeiro. *Neotrop. Ent.*, v. 35, n. 3, p. 402-407, 2006.
- 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. *Tech. Bull. N. C. Agric. Res. Serv.*, p. 88, 1985.
- SAUNDERS, D. S.; SUTTON, D.; JARVIS, R. A. The effect of host species on diapause induction in *Nasonia vitripennis*. *J. Insect Physiol.*, v. 16, p. 405-416, 1970.
- SCHIMIDT, C. D. *Nasonia vitripennis* (Walker) a parasitoid contaminant in fly-rearing facilities. *Southwest. Entomol.*, v. 11, n. 2, p. 113-118. 1986.
- SHUKER, D. M.; SYKES, E. M.; BROWNING, L. E.; BEUKEBOOM, L. W.; WEST S. A. Male influence on sexual location in the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis*. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, v. 59, p. 829-835, 2006.

- SILVA, M. S.; FONTENELLE, J. C. R.; MARTINS, R. P. Por que moscas visitam flores? *Rev. Ciência Hoje*, v. 30, n. 175, p. 68-71, 2001.
- SILVEIRA-NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA NOVA, N. A. *Manual de Ecologia dos Insetos*. São Paulo, SP: Ceres, 419p., 1976.
- SLANKY, J. R. F. & SCRIBER, M. *Food consumption and utilization*. In *Comprehensive insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Oxford: Pergamon, 162p., 1985.
- SMITH, K. G.V. *A manual of forensic entomology*. Ithaca: Cornell University Press, 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. *J. Med. Entomol.*, v. 22, n. 4, p. 353-360, 1985.
- SOUZA, A. M. & LINHARES, A. X. Diptera and coleoptera of potencial forensic importance in Southeastern Brazil: relative abundance and seasonality. *Med. Vet. Entomol.*, v. 11, p. 8-12, 1997.
- STEINER, S; HERMANN, N; RUTHER, J. Characterization of a Female-Produced Courtship Pheromone in the Parasitoid *Nasonia vitripennis* *J. Chem. Ecol.*, v. 32, p. 1687-1702, 2006.
- SUKONTASON, K. L.; P. NARONGCHAI; D. SRIPAKDEE; N. BOONCHU; T. CHAIWONG; R. NGERN-KLUN; S. PIANGJAI & K. SUKONTASON.. First Report of Human Myiasis Caused by *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae) in Thailand, and Its Implication in Forensic Entomology. *J. Med. Ent.*, v. 42, n. 4, p. 702-704, 2005.
- SULAIMAN, S.; SOHADI, A. R.; JEFFERY, J. Human helminth parasite burdens on Cyclorrhaphan flies (Diptera) trapped at an aboriginal settlement in Malaysia. *Bull. Entomol. Res.*, v. 79, p. 625-629, 1989.
- TORRES, M. L. M. *Efeito de quatro antitibióticos sobre larvas de Chrysomya putoria (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) utilizadas em bioterapia*. Dissertação (Mestrado em Parasitologia). Campinas, SP: UNICAMP, 2005.
- ULLYETT, G. C. Pupation habits of sheep blow flies in relation to parasitism by *Mormoniella vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Bull. Ent. Res.*, v. 40, p. 533-537. 1950.
- VALAERHOVEN, S. L. & ANDERSON, G. S. Insect succession on buried carrion in two biogeoclimatic zones of British Columbia. *J. Forensic. Sci.*, v. 44, p. 32-43, 1999.
- VAN DEN ASSEM, J.; JACHMANN, F.; SIMBOLLOTTI, P. Courtship behavior of *Nasonia vitripennis* (Hym. Pteromalidae): Some qualitative, experimental evidence for the role of pheromones. *Behav.*, v. 75, p. 301-307, 1980.
- VAN DEN ASSEM, J.; PUTTERS, F.A.; PRINS, T.C. Host quality effects on sex ratio of the parasitic wasp *Anisopteromalus calandrae* (Chalcidoidea: Pteromalidae). *Neth. J. Zool.*, v. 34, p. 33-62, 1984.
- VAN DIJKEN, M. J. & WAAGE, J. K. Self and conspecific superparasitism by the egg parasitoid *Trichogramma evanescens*. *Entomol. Exp. Appl.*, v. 43, p. 183-192, 1987.
- VELTHIUS, H. H.; VELTHIUS-KLUPPELL, F. M.; BOSSINK, G. A. Some aspects of the biology and population dynamics of *Nasonia vitripennis* Walker. *Entomol. Exp. Appl.*, v. 8, p. 205-227, 1965.
- VINSON, S. B. & IWANTSCH, G. F. Host regulation by insects parasitoids. *Q. Rev. Biol.*, v. 55, 1980.
- VON-ZUBEN, C. J. *Dinâmica larval e efeitos sobre aptidão do adulto em Chrysomya megacephala (Diptera: Calliphoridae)*. Dissertação (Mestrado). São Paulo, SP: Universidade Estadual de Campinas.

- VON-ZUBEN, C. J.; BASSANEZI, R. C.; REIS, S. F.; GODOY, W. A. C.; ZUBEN, F. J. V. Theoretical approaches to forensic entomology: I. Mathematical model of postfeeding larval dispersal. *J. Appl. Ent.*, v. 120, n. 3, p. 379-382, 1996.
- WALKER, I. & PIMENTEL, D. Correlation between maternal longevity and incidence of diapause in *Nasonia vitripennis* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae). *Gerontologia*, v. 12, p. 89-98, 1966.
- WELLS, J. D. *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) has reached the continental United States: review of its biology, pest status, and spread around the world. *Entomol. Soc. Am.*, v. 28, n. 3, p. 471- 473, 1991.
- WERREN, J. H. Sex ratio adaptations to local mate competition in a parasitic wasp. *Science*, v. 208, p. 1157-1159, 1980.
- WHITING, A. R. The biology of the parasitic wasp *Mormoniella vitripennis* (*Nasonia vitripennis*) (Walker). *Q. Rev. Biol.*, v. 42, p. 333-406, 1967.
- WIJESUNDARA, D. P., 1957. The life-history and bionomics of *Chrysomya megacephala* (Fabric.). *Ceylon Journal os Science (B)*, v. 25, n. 3, p. 169-184, 1957.
- WYLIE, H. G. Factors that affect host finding by *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Can. Entomol.* v. 90, p. 597-608, 1958.
- WYLIE, H. G. Some effects of age on parasitism by *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hymenoptera, Pteromalidae). *Canad. Entomol.*, v. 95, p. 881-886., 1963.
- WYLIE, H. G. Effect of host age on rate of development of *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hymenoptera, Pteromalidae). *Canad. Entomol.*, v. 96, p. 1023-1027, 1964.
- WYLIE, H.G. Effects of superparasitism on *Nasonia vitripennis*(Walk.) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Can. Entomol.*, v. 97, p. 326-331, 1965.
- WYLIE, H.G. Some effects of female parasite size on reproduction of *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hymenoptera:Pteromalidae). *Can. Entomol.*, v. 98, p. 196-198. 1966.
- WYLIE, H.G. Some effects of host size on *Nasonia vitripennis* and *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera, Pteromalidae). *Can. Entomol.*, v. 99, p. 742-748. 1967.
- WYLIE, H. G. Control of egg fertilization by *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae) when laying on parasitized house fly pupae. *Can. Entomol.*, v. 105, p. 709-718, 1973.
- ZUCCHI, R. A.; SILVEIRA-NETO, S.; NAKANO, O. *Guia de identificação de pragas agrícolas*. Piracicaba, SP: FEALQ, 139p., 1993.
- ZUMPT, F. **Myiasis in man and animals in the Old World**. Butterworths, London, 1965.