



IMPACTO DO AUMENTO DA DENSIDADE DE *NASONIA VITRIPENNIS* (WALKER, 1836) (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE) SOBRE O SEU DESENVOLVIMENTO PÓS - EMBRIONÁRIO

V. M. Aguiar - Coelho¹

L. S. Barbosa^{2,3}; M. Couri²

1 - Laboratório de Estudo de Dípteros, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro-UNIRIO, Rua Frei Caneca, 94, CEP - 20211 - 040, Rio de Janeiro, RJ, Brasil 2 - Laboratório de Díptera, Departamento de Entomologia, Museu Nacional, Quinta da Boa Vista, CEP 20940 - 040 Rio de Janeiro, RJ, Brasil 3 - Autor para correspondência: Leandro Silva Barbosa, e - mail: leanbarbosa@globol.com

INTRODUÇÃO

Programas de controle biológico de pragas têm apresentado grande crescimento devido ao novo direcionamento internacional de produção agropecuária, favorecendo a conservação e o uso sustentável dos recursos biológicos, requisitos básicos da Convenção da Biodiversidade. A utilização de inimigos naturais no controle de pragas tem se mostrado uma alternativa promissora devido à eficiência e aos baixos custos relativos.

Nasonia vitripennis (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) é uma espécie de micro - vespa parasitóide gregária, pois em um único hospedeiro pode ocorrer o desenvolvimento de vários indivíduos. São polífagas, podendo parasitar uma enorme gama de espécies, Whiting (1967) apontou em sua revisão 68 espécies de hospedeiros. E atualmente vêm sendo descobertas novas espécies hospedeiras (Marchiori *et al.*, 2001). Também podem produzir larvas diapáusicas (Whiting 1967) dependendo de fatores ambientais tais como: temperatura, fotoperíodo, umidade, espécie hospedeira e idade da fêmea parasitóide (Wylie 1963, Walker & Pimentel 1966, Saunders *et al.*, 1970), podendo produzir assim, uma ação mais prolongada no local onde for aplicada. Devido a essas características, esta espécie possui vantagens para ser usada em programas de controle biológico aplicado de dípteros muscóides.

Esse parasitóide é cosmopolita (Rueda & Axtell 1985) e a sua taxa de reprodução pode ser potencializada com a utilização de pupários de maior porte. Tais observações justificam a utilização de representantes das famílias Calliphoridae e Sarcophagidae como hospedeiros preferenciais, porém, podem também atacar integrantes da família Muscidae, cujo pupário geralmente é menor (Harvey & Gols 1998, Cardoso & Milward - de - Azevedo 1995).

Cochliomyia macellaria (Fabricius, 1775) (Diptera: Calliphoridae) é vulgarmente conhecida como mosca - varejeira, é a principal espécie causadora de miíase se-

cundária no Brasil. Devido ao hábito necrófago das suas larvas, este díptero geralmente se encontra associado com outras espécies de califorídeos, sarcófagídeos e muscóides. Aliado a isto, é veiculadora mecânica de diversos agentes patogênicos, apresentando importância médica, veterinária e econômica (Baumgartner & Greenberg 1985). No Brasil, assume relevância maior em virtude de ser uma das espécies veiculadoras de ovos de *Dermatobia hominis* (Linnaeus Jr, 1781) (Diptera: Oestridae), mosca responsável pela miíase furuncular ou dermatobiose que causa muitos prejuízos à pecuária nacional (Guimarães *et al.*, 1983, Moya - Borja 2003).

OBJETIVOS

O presente trabalho tem por objetivo avaliar a duração do período pós - embrionário, produtividade de parasitóides por hospedeiro, razão sexual e taxa de parasitismo de *N. vitripennis* criadas em pupas de *C. macellaria* em diferentes densidades do parasitóide.

MATERIAL E MÉTODOS

O estabelecimento da colônia de *C. macellaria* foi realizado através de coleta em área rural, na cidade de Paracambi no Rio de Janeiro. A coleta foi realizada com auxílio de armadilha típica para coleta de lepidópteros, na qual foi adaptada uma manga para facilitar a captura dos dípteros vivos (Barbosa 2006). Como isca utilizou - se sardinha com 24 horas de exposição ao ambiente. Para a identificação dos exemplares utilizou - se a chave taxonômica de Mello (2003).

A colônia estoque de *C. macellaria* foi mantida de acordo com a metodologia preconizada por Cunha - e - Silva & Milward - de - Azevedo (1994) e Paes & Milward - De - Azevedo

(1998). Visando a manutenção da colônia estoque de *N. vitripennis*, pupas de *C. macellaria*, oriundas da colônia estoque, com no máximo 24 horas, foram acondicionadas em sacos plásticos em lotes de aproximadamente 150 unidades e congeladas em refrigerador. Cada lote foi identificado com a data de congelamento.

A colônia estoque de *N. vitripennis* foi estabelecida a partir de coletas realizadas no Jardim Zoológico do Rio de Janeiro (Fundação Rio - Zoo). Para captura dos parasitóides foi utilizada uma gaiola própria para criação de moscas com aproximadamente 45 cm³, cuja tela permitia a entrada dos parasitóides, porém evitava a predação das pupas por outros animais. No interior das mesmas, como iscas, foram expostas pupas de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) com aproximadamente 24 horas de idade provenientes de colônia estoque e carne bovina putrefata como fonte de apneumônio. Dois dias após a exposição no campo, as pupas foram recolhidas e acondicionadas em frascos de vidro transparentes (13 cm de diâmetro x 24 cm de altura) vedados com tecido de algodão até a emergência dos parasitóides.

A identificação dos parasitóides recém - emergidos foi realizada por meio da descrição taxonômica detalhada de Rueda & Axtell (1985) e confirmada pela especialista no grupo Dra. Maria Angélica Penteado Dias (Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da Universidade de São Carlos, São Paulo). A colônia estoque dos micróhimenópteros foi mantida em câmara climatizada regulada a 25 °C, 60 ± 10% de umidade relativa do ar e 14 horas de fotofase, de acordo com metodologia preconizada por Cardoso & Milward - de - Azevedo (1996). Os adultos foram mantidos em gaiolas confeccionadas com recipiente plástico de um litro. A alimentação foi realizada com oferta de solução de mel e água (1:1), embebida em algodão dentro de um recipiente plástico com 4 cm de diâmetro.

Pupas de *C. macellaria* previamente congeladas por no máximo dois meses, foram depositadas em papel filtro e descongeladas, com auxílio de uma luminária incidindo sobre as mesmas por 10 minutos. As pupas, distribuídas em placas de Petri teladas com filó, foram expostas aos parasitóides recém emergidos, por períodos de 48 horas. Após a exposição, foram alocadas em recipientes cilíndricos cobertos com tecido de náilon (escaline), identificado com geração, data, período de exposição e provável data de emergência, e mantidos em câmara climatizada, onde se aguardava a emergência da nova geração.

A etapa experimental foi conduzida em câmara climatizada (Quimis) regulada a 27 °C, 60 ± 10% de umidade relativa do ar e 14 horas de fotofase. A fotofase foi iniciada às 6:00 horas da manhã. Foram utilizadas fêmeas nulíparas de *N. vitripennis* pertencentes a 23ª geração, com até 24 horas de idade, medindo de 2 a 3 mm e previamente alimentadas com solução de água e mel (2:1). Como hospedeiros, utilizaram - se pupas frescas de *C. macellaria* oriundas da 19ª geração, com até 24 horas de idade e com peso corporal registrado entre 48 e 49 mg. Lotes de uma, duas, três, quatro ou cinco fêmeas parasitóides nulíparas provenientes da colônia estoque foram individualizadas em tubos de ensaio com 50 mL de capacidade e tampados com algodão hidrófobo, contendo uma pupa hospedeira. Cada tratamento foi constituído por 10 repetições. No interior de cada tubo inseriu - se uma tira

de papel de filtro embebido em solução de água e mel (2:1). Após 72 horas de exposição, as vespas foram descartadas e as pupas hospedeiras individualizadas em tubos de ensaio, distribuídos aleatoriamente em bandejas onde se aguardou a emergência dos adultos de *C. macellaria* ou *N. vitripennis*. Lotes de pupas hospedeiras não expostas ao parasitismo, apresentando o mesmo delineamento experimental, foram utilizadas como controle para verificar a taxa de mortalidade natural. As observações foram feitas diariamente, sob microscópio estereoscópico (LEICA) sempre no mesmo horário até o 35º dia após a exposição. Como parâmetros de comparação foram usados dados referentes à duração do desenvolvimento pós - embrionário, produtividade de parasitóides por hospedeiro, razão sexual e taxa de parasitismo. Considera - se a produtividade por hospedeiro o número de parasitóides emergidos por pupa hospedeira, enquanto a taxa de parasitismo o número de pupas de *C. macellaria* que originaram parasitóides.

Para a análise bruta dos dados e elaboração dos gráficos utilizou - se o programa Microsoft® Excel 2002. Para avaliar o significado estatístico dos resultados foram utilizados a Análise de Variância e o Teste t - Student através do programa GraphPad Prism 4.03 (Magalhães & Lima 2001).

RESULTADOS

A duração média do desenvolvimento pós - embrionário de machos e fêmeas de *N. vitripennis* criadas em diferentes densidades variou significativamente pela análise de variância ($P < 0,0001$ e $F = 12,47$). O período pós - embrionário mais curto foi observado na densidade 2:1 (13,73 dias), diferindo significativamente pelo teste T das demais relações. O mais longo foi na relação 5:1, diferindo significativamente das relações menos elevadas, com exceção da 1:1. Com relação ao sexo masculino observou - se um aumento significativo na duração do período pós - embrionário na relação 5:1 comparando - se com as demais densidades. As fêmeas não apresentaram a mesma tendência.

O ritmo de emergência de *N. vitripennis* teve pico no 14º dia após a exposição do parasitóide ao hospedeiro para todas as relações, com exceção da relação 4:1, cujo pico foi no 13º dia. A produtividade de *N. vitripennis* criadas em pupas de *C. macellaria* utilizando - se diferentes densidades de parasitóide: hospedeiro (1:1, 2:1, 3:1, 4:1 e 5:1) não variou significativamente pela ANOVA ($F = 0,47$ e $P = 0,75$). O gráfico de tendência exponencial mostrou uma queda na emergência de fêmeas com o aumento das densidades.

Observou - se uma taxa de parasitismo de *N. vitripennis* em *C. macellaria* de 100% em todas as relações só decrescendo na densidade 5:1, onde em 10% das pupas não emergiram parasitóides nem dípteros. Os controles relativos às densidades de 1:1, 2:1 e 3:1 apresentaram a taxa de emergência de dípteros de 100%. Já as relações de 4:1 e 5:1 apresentaram taxa de emergência de dípteros de 98%.

Os resultados apresentados mostraram uma tendência à extensão da duração do desenvolvimento pós - embrionário em função do aumento do número de parasitóides por hospedeiro. Cardoso & Milward - de - Azevedo (1995), analisaram a influência do aumento da densidade de *C. megacephala* sobre o desenvolvimento de *N. vitripennis*, obser-

varam que o aumento do número de hospedeiros, também propiciou a extensão da duração do desenvolvimento pós - embrionário, apesar de não referida pelos autores. Barbosa (2006) verificou o mesmo efeito estudando a exposição de crescentes números de hospedeiros *C. macellaria* sob o parasitóide *N. vitripennis*. Esses resultados, apesar de semelhantes, procedem de mensurações antagonistas, logo se sugere que o desenvolvimento desse parasitóide é influenciado pela sua densidade, onde existe uma amplitude ótima. Densidades além desta faixa, tanto para cima como para baixo, podem alongar o período pós - embrionário.

Segundo Slansky & Scriber (1985), o melhor desempenho de insetos gregários é obtido em uma faixa de densidade particular, ocorrendo declínio acima ou abaixo deste intervalo, devido à indução de condições micro - ambientais não favoráveis ao desenvolvimento destes insetos. O desenvolvimento mais lento de *N. vitripennis* na densidade 5 parasitóides:1 hospedeiro em relação as menores densidades (1:1, 2:1, 3:1 e 4:1), provavelmente ocorreu devido ao superparasitismo, em que o número de parasitóides presentes em um único hospedeiro provavelmente foi tão elevado, favorecendo a competição, que nem o parasitóide e nem o hospedeiro emergiram, induzindo a uma taxa de inviabilidade de pupas. Devido à ausência de terminologia para categorizar o mesmo efeito de retardamento decorrente de baixas densidades, propõe - se o termo subparasitismo que abrangerá os efeitos deletérios causados ao desenvolvimento de parasitóides gregários.

Os picos de emergência para machos e para fêmeas, no presente trabalho, obedeceram à mesma tendência entre si, diferindo apenas na relação 1:1, na qual foi observado um pico de emergência de machos precedendo ao de fêmeas. Durações de desenvolvimento similares entre machos e fêmeas foram constatados por Cardoso & Milward - de - Azevedo (1995).

A produtividade média dos parasitóides por pupa variou entre 21,50 (3:1) a 24,44 (5:1). Não foi observada diferença significativa na produtividade de parasitóides com o aumento do número de *N. vitripennis* expostas a uma pupa hospedeira, possivelmente em virtude das amplitudes trabalhadas. Porém, os machos foram mais influenciados do que as fêmeas, pelas diferentes densidades, pois apresentaram um aumento significativo da duração do desenvolvimento pós - embrionário com o aumento do número de parasitóide. Sugere - se que os machos são mais sensíveis às mudanças ambientais do microhabitat hospedeiro. Acredita - se que essa diferença entre os sexos se deva principalmente ao menor tamanho do macho, que influi tanto no calor metabólico como nas suas necessidades nutricionais. O desenvolvimento do parasitóide está intimamente associado ao tamanho e qualidade do hospedeiro (Cardoso & Milward - de - Azevedo 1996, Harvey & Gols 1998), bem como na densidade de parasitóides e tempo de exposição do hospedeiro, já que esse influi no tamanho da prole deixada (Cardoso & Milward - de - Azevedo 1995).

O gráfico de tendência exponencial mostrou que a taxa de fêmeas na prole caiu devido ao aumento do número de parasitóides por hospedeiro. Essa mesma tendência foi observada por Cardoso & Milward - de - Azevedo (1995) em função do aumento de hospedeiros. Muitas teorias vêm

sendo apresentadas sobre a razão sexual em parasitóides. Wylie (1966) sugere que o superparasitismo é um dos fatores diretamente responsáveis pelo aumento da porcentagem de machos na prole, corroborando o presente estudo.

Harvey & Gols (1998) observaram uma variação da razão sexual de *Muscidifurax raptorellus* Kogan & Legner (Hymenoptera: Pteromalidae) em função do tamanho e da espécie do hospedeiro. Estes autores verificaram que proles oriundas de pupas pequenas de *Musca domestica* Linnaeus (Diptera: Muscidae) originaram um número maior de fêmeas, enquanto as pupas pequenas de *Calliphora vomitoria* Linnaeus (Diptera: Calliphoridae) apresentaram uma maior quantidade de machos. Os resultados obtidos para os pupários grandes foram o inverso dos resultados obtidos para os pequenos, sugerindo assim, que além do tamanho há uma possível influência da diferença nutricional interest específica dos hospedeiros sobre a razão sexual dos parasitóides.

Shuker *et al.*, (2005) testaram uma hipótese chamada "Asymmetrical Local mate competition", que é a extensão da teoria de Hamilton (1967), "Local mate competition", que sustenta a tendência ao aumento da taxa de fêmeas na prole de espécies onde apenas as fêmeas abandonam o pupário dispersando - se. Porém, Shuker *et al.*, (2005) tratam de casos nos quais as fêmeas depositam seus ovos em diversos lugares, em tempos distintos, gerando emergências em tempo diferentes e encontros de machos competidores de ciclos diferentes. Neste teste, verificaram que as fêmeas de *N. vitripennis* possuem uma tendência a reduzir sua taxa de fêmeas na prole caso estejam utilizando um hospedeiro já parasitado ou caso haja um outro hospedeiro parasitado no mesmo local.

CONCLUSÃO

Com base no presente trabalho pode - se concluir que a densidade populacional de *N. vitripennis* afetou a duração do período pós - embrionário, a razão sexual da prole e a eficiência de parasitismo. Porém, não foi observada influência sobre a produtividade dentro da amplitude trabalhada.

À Msc Ana Clara Gonçalves (Museu Nacional/UFRJ) pelo auxílio nas coletas; à Dra. Maria Angélica Penteado Dias (Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da Universidade de São Carlos) pela confirmação na identificação dos parasitóides e a Fundação Rio - Zoo por ter permitido a realização de coletas, em especial ao Biólogo Anderson e ao Sr Quirino.

REFERÊNCIAS

- Barbosa, L.S. 2006.** Relações quantitativas e temporárias na exposição do hospedeiro *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (Diptera: Calliphoridae) ao parasitóide *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae), em laboratório. Dissertação de mestrado, Museu Nacional/UFRJ, Rio de Janeiro.
- Baumgartner, D.L. & Greenberg, B. 1985.** Distribution and medical ecology of the blow flies (Diptera: Cal-

- liphoridae) of Peru. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **78** (5):565 - 587.
- Cardoso, D. & Milward - de - Azevedo, E.M.V. 1995.** Influência da densidade de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) sobre a capacidade reprodutiva de fêmeas nulíparas de *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Rev. Bras. Entomol.* **39**(4):779 - 786.
- Cardoso, D. & Milward - de - Azevedo, E.M.V. 1996.** Aspectos da biologia de *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) e *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae), sob condições de laboratório. *Rev. Bras. Entomol.* **40** (2):143 - 146.
- Cunha - e - Silva, S.L. & Milward - De - Azevedo, E.M.V. 1994.** Estudo comparado do desenvolvimento pós - embrionário de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae) em duas dietas à base de carne, em laboratório. *Rev. Bras. Zool.* **11** (4):659 - 668.
- Guimarães, J.H., Papavero, N. & Prado, A.P. 1983.** As míases na região neotropical. *Rev. Bras. Zool.* **1**(4):239 - 416.
- Hamilton, W.D. 1967.** Extraordinary sex ratios. *Science* **156**:477 - 488.
- Harvey, J.A. & Gols, G.J.Z. 1998.** The influence of host quality on progeny and sex allocation in the pupal ectoparasitoid, *Muscidifurax raptorellus* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Bull. Entomol. Res.* **88**:299 - 304.
- Magalhães, M.N. & Lima, A.C.P. 2001.** *Noções de Probabilidade e Estatística*. IME - USP. 3 ed. São Paulo.
- Marchiori, C.H., Silvia, C.G., Caldas, E.R., Almeida, K.G.S. & Carvalho, S.A. 2001.** Primeira ocorrência do parasitóide *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas de *Peckia chrysostoma* (Wiedemann) (Diptera: Sarcophagidae). *Arq. Inst. Biol.* **68** (1):107 - 109.
- Mello, R.P. 2003.** Chave para identificação das formas adultas das espécies da família Calliphoridae (Diptera, Brachycera, Cyclorrhapha) encontradas no Brasil. *Entomol. Vect.* **10** (2):255 - 268.
- Moya - Borja, G.E. 2003.** Erradicação ou manejo integrado das míases neotropicais das Américas. *Pesq. Vet. Bras.* **23**:131 - 138.
- Paes, M.J. & Milward - de - Azevedo E.M.V. 1998.** Desenvolvimento pós - embrionário de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) criada em dietas naturais processadas em condições controladas. *Parasitol. al Dia* **22**:90 - 96.
- Rueda, L.M. & Axtell, R.C. 1985.** Guide to common species of pupal parasites (Hymenoptera: Pteromalidae) of the house fly and other muscoid flies associated with poultry and livestock manure. N. C. *Agric. Res. Serv. Tech. Bull.* 278p.
- Saunders, D.S., Sutton, D. & Jarvis, R.A. 1970.** The effect of host species on diapause induction in *Nasonia vitripennis*. *J. Insect. Physiol.* **16**:405 - 416.
- Shuker, D.M., Pen, I., Duncan, A.B., Reece, S.E. & West, A.S. 2005.** Sex Ratios under Asymmetrical Local Mate Competition: Theory and a Test with Parasitoid Wasps. *Amer. Naturalist.* **166**(3):301 - 316.
- Slansky, J.R.F. & Scriber, M. 1985.** Food consumption and utilization. In. *Comprehensive Inss Physiol, Biochem Pharm.* Oxford, Pergamon, 162p.
- Walker, I. & Pimentel, D. 1966.** Correlation between maternal longevity and incidence of diapause in *Nasonia vitripennis* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae). *Gerontol.* **12**:89 - 98.
- Whiting, A.R. 1967.** The biology of the parasitic wasp *Mormoniella vitripennis* (= *Nasonia vitripennis*) (Walker). *Quart. Rev. Biol.* **42**:333 - 406.
- Wylie, H.G., 1963.** Some effects of host age on parasitism by *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Canad. Entomol.* **95**:881 - 886.
- Wylie, H.G. 1966.** Survival and reproduction of *Nasonia vitripennis* (Walker) on different host population densities. *Canad. Entomol.* **98**: 273 - 286.