

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

EFEITO DO FOTOPERÍODO NA BIOLOGIA E PARASITISMO DE *Habrobracon hebetor* (Say) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) EM LARVAS DE *Ephestia kuehniella* (Zeller) (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) E MORFOLOGIA DAS FORMAS JOVENS DO PARASITOIDE

Cleder Pezzini
Biólogo/UNISC

Dissertação apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia
Área de Concentração Sanidade vegetal

Porto Alegre (RS), Brasil
Março de 2017

CIP - Catalogação na Publicação

Pezzini, Cleder
EFEITO DO FOTOPERÍODO NA BIOLOGIA E PARASITISMO
DE *Habrobracon hebetor* (Say) (HYMENOPTERA:
BRACONIDAE) EM LARVAS DE *Epehstia kuehniella*
(Zeller) (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) E MORFOLOGIA DAS
FORMAS JOVENS DO PARASITOIDE / Cleder Pezzini. --
2017.
114 f.

Orientadora: Simone Mundstock Jahnke.
Coorientador: Andreas Köhler.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa
de Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS,
2017.

1. Controle biológico. 2. *Habrobracon hebetor*. 3.
Epehstia kuehniella. 4. Bionomia. I. Jahnke, Simone
Mundstock, orient. II. Köhler, Andreas, coorient.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

CLEDER PEZZINI
Bacharel em Ciências Biológicas - UNISC

DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRE EM FITOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 02.03.2017
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 16.05.2017
Por

SIMONE MUNDSTOCK JAHNKE
Orientadora - PPG Fitotecnia

SIMONE MUNDSTOCK JAHNKE
Coordenadora do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia

ANDREAS KÖHLER
Coorientador - UNISC/RS

JOSUÉ SANT'ANA
PPG Fitotecnia/UFRGS

LAURI LOURENÇO RADÜNZ
Faculdade de Agronomia/UFRGS

UEMERSON SILVA DA CUNHA
UFPel

CARLOS ALBERTO BISSANI
Diretor da Faculdade de
Agronomia

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por me iluminar e me dar forças para seguir em frente com os meus objetivos e não desanimar com as dificuldades.

Aos meus pais Luiz Carlos Pezzini e Lúcia Maria Schneider Pezzini, por acreditarem no meu potencial e investir nos meus estudos. Vocês são os meus maiores exemplos de vida.

À minha orientadora Prof^ª. Dr^ª. Simone Mundstock Jahnke, por ter aceitado trabalhar comigo, pelos ensinamentos, auxílio e atenção durante todo o mestrado. Muito obrigado!

Ao meu coorientador Prof. Dr. Andreas Köhler, por todo apoio e suporte, por estar presente e participante no desenvolvimento deste trabalho e pelos conhecimentos transmitidos ao longo da graduação e agora no mestrado. Muito obrigado!

À UFRGS pelo ensino e capacitação.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado e apoio financeiro vinculado ao projeto CT Agro CNPq 2013.

À empresa *Japan Tobacco International* (JTI) pelo suporte financeiro ao projeto.

Aos professores do Departamento de Fitossanidade: Josué Sant'Ana, Luiza Rodrigues Redaelli e Rafael Gomes Dionello, que foram tão importantes na minha formação acadêmica, transmitindo seus conhecimentos na área de entomologia ao longo de todas as disciplinas.

Ao professor Alexandre Rieger, pelo auxílio na interpretação e análise dos dados.

À grande amiga e colega Kássia Cristina Freire Zilch, que iniciou a graduação junto comigo, lá em 2009, muito obrigado pela amizade durante todos esses anos, por toda a ajuda e conversas infinitas durante as semanais viagens a Porto Alegre durante o mestrado.

Ao meu grande amigo que tive a honra de conhecer no Laboratório de Entomologia da UNISC Vinícius Ferreira, que esteve junto comigo durante todo o projeto, desde a implantação da criação até a realização de todos os bioensaios, inclusive em feriados e finais de semana. Muito obrigado de coração!

À amiga Emanuela Somavilla, futura engenheira ambiental mais bióloga que conheço, que também esteve junto desde o início da criação e sempre muito prestativa em ajudar. À amiga Eduarda Bender que também me ajudou muito, principalmente na correção ortográfica de toda a dissertação.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Entomologia da UNISC Marina Rauber e José Ricardo Assmann Lemes com quem convivi, aprendi e dividi inúmeras experiências e conhecimentos. Em especial aos que passaram e que continuam trabalhando na manutenção da criação dos insetos Patrícia Kumm, Sheila Puntel, Karine Erath Dores e Evelin Karoline Goncalves da Rosa, muito obrigado por toda a dedicação e empenho em manter a excelência.

Aos colegas do Laboratório de Controle Biológico da UFRGS Viviane Falkembach Pretz, Gisele de Souza da Silva e Roberta Agostini Rohr, agradeço pelas conversas e reuniões mensais, importantes na formação de um pesquisador.

Por fim, a todos aqueles que de alguma forma me auxiliaram e ajudaram para que esse trabalho tornasse realidade.

**EFEITO DO FOTOPERÍODO NA BIOLOGIA E PARASITISMO DE
Habrobracon hebetor (Say) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) EM LARVAS
DE *Ephestia kuehniella* (Zeller) (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) E
MORFOLOGIA DAS FORMAS JOVENS DO PARASITOIDE¹**

Autor: Cleder Pezzini
Orientadora: Simone Mundstock Jahnke
Coorientador: Andreas Köhler

RESUMO

Ephestia kuehniella praga que provoca danos e afeta a qualidade de vários produtos armazenados, tem como inimigo natural o ectoparasitoide *Habrobracon hebetor*. Fatores abióticos como o fotoperíodo, podem afetar os processos de interação entre parasitoide e hospedeiro. O conhecimento destes aspectos é de suma importância para a compreensão da dinâmica populacional das espécies envolvidas. Neste contexto, objetivou-se: (a) avaliar a capacidade de paralisação, parasitismo, parâmetros de esperança de vida, fertilidade e viabilidade de *H. hebetor* em larvas de *E. kuehniella*, sob o efeito do fotoperíodo e (b) descrever as formas imaturas de *H. hebetor*. Os parasitoides desenvolveram-se durante a fase pré-imaginal em três diferentes fotoperíodos (claro/escuro) 24:0, 12:12 e 0:24, sendo que os adultos oriundos de cada um dos tratamentos ficaram expostos a 0, 12 e 24 horas de fotofase, perfazendo 9 tratamentos. Um casal de parasitoides foi inserido por placa de Petri contendo 10 larvas de quinto instar de *E. kuehniella*, sendo que a cada 24 horas eram retirados e transferidos para uma nova placa com 10 larvas, até a morte da fêmea. Foram avaliados o período pré-imaginal, longevidade do casal, número diário de larvas paralisadas, parasitadas e o número de ovos, que foram mantidos nas mesmas condições para verificar a viabilidade (%) de cada fase do desenvolvimento. A descrição dos imaturos foi realizada com observações a cada 12 horas, desde a oviposição até a emergência do adulto, sendo registradas todas as fases. A duração do período pré-imaginal em escotofase foi significativamente maior que os períodos com fotofases de 12h e 24h. A longevidade das fêmeas e machos não diferiu entre os tratamentos. A quantidade de larvas paralisadas foi sempre superior à de larvas parasitadas, com pico de parasitismo entre o 2º e 4º dia de idade. A esperança de vida (ex) das fêmeas variou de 7,7 a 10,2 dias. As taxas líquidas de reprodução (Ro) dos parasitoides criados em fotofase de 12 e 24 horas foi em média de 52,7 a 63,7, enquanto que, em escotofase, foi de 22,9 a 27,9. Entre os tratamentos, a viabilidade final não foi afetada, considerando a proporção de oviposição inicial. Durante o desenvolvimento houve uma sobreposição de fases de ovo a adulto. Considerando as medidas de estruturas das larvas de *H. hebetor*, foi possível determinar quatro ínstares, semelhantes entre si diferindo, entretanto, em seu tamanho. As larvas de último instar se distanciaram do hospedeiro para formar o casulo e empupar.

¹ Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (114 f.) Março, 2017.

**EFFECT OF PHOTOPERIOD ON THE BIOLOGY AND PARASITISM OF
Habrobracon hebetor (Say) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) ON LARVAE
OF *Ephestia kuehniella* (Zeller) (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) AND
MORPHOLOGY OF EARLY PARASITOID STAGES¹**

Author: Cleder Pezzini

Advisor: Simone Mundstock Jahnke

Co-advisor: Andreas Köhler

ABSTRACT

Ephestia kuehniella a pest which causes damage and affects the quality of many stored products, has as its natural enemy the ectoparasitoid *Habrobracon hebetor*. Abiotic factors such photoperiod may affect the interaction processes between parasitoid and host. The knowledge of these aspects important for understanding the population dynamics of these species. In this context, the objectives were to: (a) evaluate the paralyzation ability, parasitism, life expectancy, fertility and viability of *H. hebetor* on *E. kuehniella* larvae under photoperiod effect and (b) describe the immature forms of *H. hebetor*. Parasitoids were developed during pre-imaginal stage in three different photoperiods (light/dark) 24:0, 12:12 and 0:24, and then adults from each treatment were exposed to 0, 12 and 24 hours of photophase, totalizing 9 treatments. One parasitoid couple was placed in a Petri dish containing 10 fifth instar larvae of *E. kuehniella*, being removed after each 24 hours and transferred to a new dish with 10 larvae, until female death. We evaluated pre-imaginal period, couple longevity, daily number of paralyzed and parasitized larvae and number of eggs, which were maintained under the same conditions to verify the viability (%) of each development stage. Immature description was performed at each 12 hours, from oviposition to adult emergence, with all stages recorded. Duration of pre-imaginal period in scotophase was significantly longer than in periods with 12h and 24h photophases. Longevity of females and males demonstrated no differences between treatments. Number of paralyzed larvae was always higher than parasitized ones, with a maximum parasitism between the 2nd and 4th day of age. Expectation of females life (ex) ranged from 7.7 to 10.2 days. Net reproductive rates (R₀) of the parasitoids reared in 12 and 24 hour photophase averaged from 52.7 to 63.7, higher than scotophase from 22.9 to 27.9. Viability was not affected considering the proportion of initial oviposition. During the development there was an overlapping of stage from egg to adult. Considering the measures of structures of *H. hebetor* larvae, four instars were determined similar to each other but differing in size. Last instar larvae the cocoon turn into pupa far from host.

¹ Master's dissertation in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (114 p.) March, 2017.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 Ambiente de armazenamento.....	4
2.2 Principais pragas de produtos armazenados.....	6
2.3 <i>Ephestia kuehniella</i>	9
2.4 Controle biológico de pragas de produtos armazenados.....	10
2.5 Vespas parasitoides.....	12
2.6 Fatores abióticos.....	16
2.6.1 Fotoperíodo.....	17
2.7 Referências.....	20
3 ARTIGO 1 - Efeito do fotoperíodo sobre esperança de vida e fertilidade de <i>Habrobracon hebetor</i> parasitando <i>Ephestia kuehniella</i>	27
Resumo.....	28
Abstract.....	28
Introdução.....	29
Material e Métodos.....	30
Resultados e Discussão.....	32
Conclusões.....	42
Agradecimentos.....	42
Literatura citada.....	42
4 ARTIGO 2 - Efeito do fotoperíodo na capacidade de paralisação, parasitismo e viabilidade de <i>Habrobracon hebetor</i> (Hymenoptera: Braconidae) em larvas de <i>Ephestia kuehniella</i> (Lepidoptera: Pyralidae).....	48
Resumo.....	49
Abstract.....	50
Introdução.....	51
Material e Métodos.....	53
Resultados e Discussão.....	56
Conclusões.....	68
Agradecimentos.....	68
Referências.....	69

	Página
5 ARTIGO 3 - Caracterização morfológica das fases imaturas de <i>Habrobracon hebetor</i> (Hymenoptera, Braconidae), ectoparasitoide de <i>Ephestia kuehniella</i> (Lepidoptera, Pyralidae).....	74
Resumo.....	76
Abstract.....	77
Introdução.....	78
Material e Métodos.....	79
Resultados.....	81
Discussão.....	87
Agradecimentos.....	89
Referências citadas.....	89
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	100
7 APÊNDICES.....	102

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
ARTIGO 1	
1. Tempo médio em dias (\pm DP) das fases de ovo, larva, pré-pupa, pupa e o ciclo total do desenvolvimento <i>Habrobracon hebetor</i> em larvas de <i>Ephestia kuehniella</i> em três fotoperíodos testados (0 h: n= 15, 12 h: n= 17 e 24 h: n= 12); (28 ± 2 °C e 50 ± 20 % UR).....	33
2. Longevidade em dias (\pm DP) da idade de <i>Habrobracon hebetor</i> em nove diferentes combinações de fotoperíodos testados (n= 15); (28 ± 2 °C e 50 ± 20 % UR).....	34
3. Parâmetros de tabela de vida de fertilidade de <i>Habrobracon hebetor</i> em larvas de <i>Ephestia kuehniella</i> em nove diferentes combinações de fotoperíodos testados (n= 15); (28 ± 2 °C e 50 ± 20 % UR).....	41
ARTIGO 2	
1. Parâmetros reprodutivos de fêmeas de <i>Habrobracon hebetor</i> (\pm DP) nos primeiros onze dias de idade, em larvas de <i>Ephestia kuehniella</i> em nove diferentes combinações de fotoperíodos testados (n= 15); (28 ± 2 °C e 50 ± 20 % UR).....	56
2. Tabela de sobrevivência de <i>Habrobracon hebetor</i> (\pm DP) em larvas de <i>Ephestia kuehniella</i> em nove diferentes combinações de fotoperíodos testados (n= 15), (Rs= razão sexual); (28 ± 2 °C e 50 ± 20 % UR).....	64
3. Porcentagem de mortalidade de <i>Habrobracon hebetor</i> em larvas de <i>Ephestia kuehniella</i> em nove diferentes combinações de fotoperíodos testados. (FPI= fase pré-imaginal). Fase adulta: T1 (0 h de fotofase), T2 (12 h de fotofase), T3 (24 h de fotofase), T4 (0 h de fotofase), T5 (12 h de fotofase), T6 (24 h de fotofase), T7(0 h de fotofase), T8 (12 h de fotofase), T9 (24 h de fotofase), (Da = mortalidade aparente, Dr = mortalidade real, Di = mortalidade indispensável), (RMS = razão mortalidade/sobrevivência), ($X \pm$ DP) (n= 15); (28 ± 2 °C e 50 ± 20 % UR).....	66
ARTIGO 3	
1. Tempo médio de desenvolvimento (\pm DP) e dimensões médias (\pm DP) nas diferentes fases de desenvolvimento de <i>Habrobracon hebetor</i> em larvas de <i>Ephestia kuehniella</i> ; (Fotofase 12 h, 28 ± 2 °C e 50 ± 20 % UR).....	94

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
1. Fêmea de <i>Habrobracon hebetor</i> . Fonte: ADERMATT (2009).....	13
ARTIGO 1	
1. Curvas de sobrevivência de fêmeas de <i>Habrobracon hebetor</i> em nove diferentes combinações de fotoperíodos testados (n= 15); (28 ± 2 °C e 50 ± 20 % UR).....	36
2. Número médio estimado de ovos/fêmea (mx) e porcentagem estimada de sobrevivência (lx) de fêmeas de <i>Habrobracon hebetor</i> em larvas de <i>Ephestia kuehniella</i> em nove diferentes combinações de fotoperíodos testados (n= 15); (28 ± 2 °C e 50 ± 20 % UR).....	39
ARTIGO 2	
1. Esquema do delineamento experimental com o número de horas de fotofase no qual <i>Habrobracon hebetor</i> foi exposto durante a fase pré-imaginal e adulta, perfazendo 9 tratamentos avaliados.....	54
2. Parasitismo diário e acumulado de <i>Habrobracon hebetor</i> em larvas de <i>Ephestia kuehniella</i> em nove diferentes combinações de fotoperíodos testados (n= 15); (28 ± 2 °C e 50 ± 20 % UR).....	59
3. Gráfico de correlação logarítmica entre o número médio total de ovos de fêmeas de <i>Habrobracon hebetor</i> em larvas de <i>Ephestia kuehniella</i> de acordo com a combinação de fotofases na fase pré-imaginal e adulta (n= 15); (28 ± 2 °C e 50 ± 20 % UR).....	62
ARTIGO 3	
1. Eletromicrografia de larva de segundo ínstar de <i>Habrobracon hebetor</i> em vista dorsal, ilustrando a terminologia utilizada para a descrição geral. (A1-A9= segmentos abdominais. CA= cápsula cefálica. SA= segmento anal. T1-T3= segmentos torácicos).....	95
2. Cápsula cefálica em vista frontal de larva de quarto ínstar de <i>Habrobracon hebetor</i> , ilustrando a quetotaxia. (NA= antena. AM= cerda antero-medial da região antenal. CS= cerdas clipeais. DLS= cerdas dorso-labral. GN= cerda genal. VAM= cerda antero-medial do vértice).....	96
3. Fases imaturas de <i>Habrobracon hebetor</i> em vista lateral: (A) ovo após a oviposição. (B) embrião em desenvolvimento. (C) primeiro ínstar larval.	

(D) segundo ínstar larval. (E) terceiro ínstar larval. (F) quarto ínstar larval. (G) casulo em formação. Escala: (A-C) 0,25 mm. (D-G) 0,5 mm.....	97
4. Fases imaturas de <i>Habrobracon hebetor</i> em vista lateral: (A) Pré-pupa. (B) primeiro estágio pupal. (C) segundo estágio pupal. (D) terceiro estágio pupal antes da emergência do adulto. Escala: 0,5 mm.....	98
5. Eletromicrografias de varredura das fases imaturas de <i>Habrobracon hebetor</i> : (A) detalhe da superfície lisa do ovo. (B) detalhe das cerdas na superfície dorsal do tórax e abdômen do terceiro e quarto ínstar larval e pré-pupa. (C) detalhe da superfície dorsal lisa do primeiro e segundo ínstar larval com os espiráculos. (D) detalhe de uma sensila tricóide. (E) pré-pupa. (F) pupa fêmea. (G) pupa macho.....	99

APÊNDICES

1. Criação da traça <i>Ephestia kuehniella</i> : A - Coleta dos adultos nos recipientes de criação, com auxílio de um aspirador de pó adaptado. B - Gaiola de oviposição para os adultos. C - Detalhe dos adultos dentro da gaiola. D - Coleta dos ovos na bandeja. E - Ovos sujos com escamas e outras partículas. F - Ovos limpos após a remoção dos resíduos. G - Ovos espalhados sobre a superfície de uma dieta nova. H - Recipientes com dieta em fases diferentes do desenvolvimento (caixa superior com 1 dia e caixa inferior com 40 dias de criação). I - Sala com estantes e recipientes de criação.....	102
2. Criação do parasitoide <i>Habrobracon hebetor</i> : A - Estufas incubadoras “Tipo B.O.D.” para a criação. B - Interior da B.O.D com os recipientes de criação. C - Recipiente com larvas de último ínstar de <i>Ephestia kuehniella</i> destinado ao parasitismo. D - Liberação dos parasitoides no recipiente. E,F - Coleta dos parasitoides emergidos nos recipientes de criação, com auxílio de um aspirador de pó adaptado.....	103

1 INTRODUÇÃO

A dependência de armazenar produtos agrícolas está se tornando cada vez maior com o aumento da população em todo o planeta, bem como a necessidade de produzir progressivamente mais alimento. Contudo, estima-se que uma porcentagem significativa de tudo o que é produzido é perdido durante o armazenamento pela ação de pragas, como insetos, patógenos e outros fatores abióticos.

Os ambientes de armazenamento como galpões, paióis e silos, são propícios para a proliferação de insetos, pois são locais com grande quantidade de alimento disponível e, de modo geral, com temperatura adequada para seu desenvolvimento, além da ausência de agentes naturais controladores. Essas condições permitem que os insetos expressem todo seu potencial biológico e proliferem rapidamente no local.

O ataque dos insetos especialmente coleópteros e traças, causam expressivas perdas no rendimento e na qualidade dos produtos armazenados. No entanto, os métodos atualmente aplicados no controle baseiam-se, principalmente, na utilização de agroquímicos, que deixam resíduos e causam graves prejuízos aos aplicadores e ao ambiente. Assim, tem havido a necessidade de buscar novas formas de controle, estendendo-se para a pós-colheita as técnicas alternativas que já vem sendo desenvolvidas para o manejo à campo. Todavia, para que sejam adotadas essas novas estratégias de manejo, deve-se conhecer bem a descrição, biologia, distribuição e os danos de cada espécie praga e de seus inimigos naturais.

O controle biológico que se caracteriza como uma das práticas que visa o controle de organismos praga na agricultura, através da utilização de inimigos naturais, baseia-se no fato de que estes são capazes de manter populações de determinados hospedeiros (pragas) em níveis baixos, evitando assim danos a produção agrícola.

Os inimigos naturais, como todos os outros seres vivos, estão sujeitos as intervenções da natureza, desse modo, fatores ambientais tais como temperatura, umidade e fotoperíodo tem influência relevante, podendo inibir ou favorecer o desenvolvimento de determinada espécie, sendo sua compreensão um fator indispensável para se obter sucesso no controle biológico com o uso de parasitoides e predadores.

Apesar de serem conhecidos inúmeros parasitoides de insetos praga de produtos armazenados, muitas vezes as informações estão restritas apenas a identificação e registro de ocorrência. Estudos do uso de inimigos naturais nesse tipo de ambiente como sistema de manejo ainda são escassos. Na cultura do tabaco isso não é diferente, visto há a identificação de inimigos naturais das principais pragas que acometem o tabaco armazenado, entretanto aspectos de sua biologia e ecologia são pouco conhecidos.

Um dos agentes de controle biológico conhecidos na cultura do tabaco, é o parasitoide *Habrobracon hebetor* (Say, 1836) (Hymenoptera: Braconidae), que parasita larvas de piralídeos.

Um dos fatores que pode atuar sobre parasitoides é a luz, pois o ambiente de armazenando usualmente é um local com pouca ou nenhuma luminosidade. Por outro lado, o fotoperíodo com luz contínua é um fator que influencia na produção e maturação de oócitos na fase pré-imaginal de *H. hebetor*, demonstrando atuar diretamente sobre a fecundidade. Portanto o conhecimento da interação do fotoperíodo sobre aspectos biológicos e de parasitismo podem fornecer informações importantes para a criação

massal desse parasitoide e na implantação de programas de controle biológico de *Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) em ambiente de armazenamento.

Estudos taxonômicos, na sua maioria das descrições morfológicas de Braconidae, são concentrados na fase adulta, enquanto a biologia e morfologia dos estágios imaturos ainda há poucas informações. Porém, para a compreensão das relações entre hospedeiro e parasitoide, o reconhecimento apurado das fases imaturas nos diferentes estágios do desenvolvimento do inimigo natural são fundamentais.

Dada a relevância da influência do fotoperíodo nos parâmetros biológicos de *H. hebetor*, objetivou-se (a) avaliar os parâmetros de esperança de vida e de fertilidade; capacidade de paralisação, parasitismo e viabilidade dos imaturos, com diferentes combinações de fotoperíodo na fase jovem e adulta; (b) descrever o desenvolvimento das formas imaturas de *H. hebetor* a partir de um detalhamento da morfologia externa, auxiliando no reconhecimento dos estágios imaturos desta espécie.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Ambiente de armazenamento

O armazenamento da produção agrícola é a forma de manter a qualidade e a quantidade de grãos ou produtos até o momento do seu consumo final, além de manter estoque para evitar a escassez durante a entressafra (Lazzari, 1997). Porém, os estímulos para aumento da produtividade agrícola podem não apresentar resultados adequados, caso não haja melhoras nas condições pós-colheita, pois, segundo Reginato *et al.* (2014) de nada vale produzir muito, com alta produtividade e qualidade, se durante o armazenamento a produção é comprometida pela adoção de procedimentos inadequados. Neste período, estima-se que a perda pode equivaler ou até superar aquela ocorrida durante o cultivo da planta no campo (Lorini, 2002). Desta forma, há a necessidade de aprimorar as técnicas de manejo destes produtos durante o seu armazenamento, principalmente para reduzir as perdas causadas por insetos e outros organismos (Pereira, 2006).

É importante que se tenha as melhores condições possíveis de armazenamento para possibilitar a manutenção da qualidade dos produtos pós-colheita pois os danos causados por insetos no campo podem ser revertidos, enquanto que as perdas durante o armazenamento são irreversíveis (Fontes *et al.*, 2003).

A manutenção da qualidade desses produtos pode ser realizada de maneira simples, como a limpeza do ambiente, eliminação de resíduos e aspiração de pisos e paredes, eliminando-se os focos de infestação (Reginato *et al.*, 2014).

O ambiente de armazenamento pode ser considerado um ecossistema constituído pela estrutura física do local (silo, armazéns, paióis, galpões), as condições ambientais (temperatura, umidade, O₂ e CO₂), condições do produto (teor de água dos grãos, quantidade de impureza, grãos quebrados) (Sinha, 1995) e com a presença de organismos vivos (grãos, insetos, ácaros, fungos, outros micro-organismos) que interagem entre si e com o ambiente (Jian & Jayas, 2012). Fatores como a grande disponibilidade de alimento, ausência de agentes controladores e temperatura ideal, são favoráveis para que insetos, ácaros e micro-organismos expressem todo seu potencial biológico (Lazzari & Lazzari, 2009).

No tabaco os cuidados após a secagem contribuem em muito para evitar prejuízos que também comprometem a qualidade e sanidade do produto. Por isso, é necessário acondicionar adequadamente o tabaco no paiol, em perfeitas condições de higiene, deixando-o livre de resíduos e materiais estranhos (Collins & Hawks, 2011).

Dentro do paiol, o tabaco é armazenado imediatamente após a secagem na estufa, fazendo filas duplas com as pontas das folhas sempre para dentro da pilha e cobertas por lona ou aniagem, para evitar o reumedecimento das folhas, ficando estocado até o momento da venda, período que pode alcançar até seis meses. Nesse período surgem os insetos que causam perdas expressivas na qualidade do produto (Guedes & Costa, 2006).

Algumas medidas preventivas devem ser tomadas pelos produtores antes de iniciar o armazenamento do tabaco no paiol para evitar a infestação de insetos, fazendo limpeza geral, forrando com lonas plásticas as paredes e o assoalho, queimando todo o tabaco que por ventura ficou remanescente de safras passadas e outros restos de culturas,

pois estes se transformam em focos de infestação (Guedes & Sulzbach, 2006). O tabaco nunca deve ser armazenado, mesmo que temporariamente, com outros produtos como grãos e rações. Também é recomendável fechar bem o paiol, impedindo a entrada de animais domésticos. Todas essas ações auxiliam a prevenir as pragas, ao mesmo tempo que colaboram para manter a qualidade desejada do tabaco (Collins & Hawks, 2011).

2.2 Principais pragas de produtos armazenados

Conforme o processo de produção agrícola podem ser distinguidos dois grupos de pragas: insetos praga associados ao cultivo, que provocam danos em diferentes estruturas da planta viva desde o plantio ou semeadura até a colheita e insetos praga associados ao armazenamento, ou seja, desde o processo da secagem do produto até sua exportação ou consumo interno, bem como posterior beneficiamento (Guedes & Costa, 2006).

Considerando que os insetos de produtos armazenados podem ser originados de diversas regiões do mundo, são facilmente transportados de uma região a outra juntamente com os produtos, tornando-se assim, a maioria deles, cosmopolitas (Lazzari & Lazzari, 2009).

Na pós-colheita a amplitude dos danos e perdas que são causados por insetos nos produtos armazenados e seus derivados são difíceis de mensurar. Portanto, é importante que se tenha as melhores condições possíveis de armazenamento para se minimizar a perda de qualidade dos produtos (Faroni, 1992).

Os danos causados pelos insetos nos produtos armazenados podem ser diretos, através da alimentação, que resultam em perdas qualitativas (nutricional) e quantitativa (peso) ou indiretos, com a contaminação com insetos vivos ou mortos e outros resíduos deixados pela presença destes no ambiente, que podem resultar em perda de qualidade e na redução do padrão comercial (Lazzari & Lazzari, 2009). Ainda, podem favorecer o

aumento das infestações por outros insetos, desenvolvimento de fungo, bem como outros micro-organismos, favorecidos pelo calor gerado e aumento da umidade, em função de atividades biológicas, causando uma rápida deterioração dos produtos armazenados (Jian & Jayas, 2012).

Apesar dos danos causados por insetos serem elevados, é difícil quantificá-los, sendo que em grandes culturas essas perdas podem variar de 2 a 12 % (Zucchi & Silveira Neto, 2012). Conforme o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) e a Food and Agriculture Organization (FAO), estima-se que aproximadamente 10 % de tudo que é produzido anualmente no Brasil é perdido, além das perdas qualitativas, que comprometem o uso dos produtos (Lorini *et al.*, 2015). Entretanto, devido à falta de dados detalhados sabe-se que, por exemplo, no setor fumageiro, aproximadamente 3 % da produção de tabaco é perdida devido à presença destes insetos na armazenagem (Carvalho *et al.*, 2003).

Inúmeras espécies de insetos podem infestar produtos armazenados e causar danos, porém, os principais são Coleoptera (besouros, gorgulhos, carunchos) e Lepidoptera (traças). Além dos insetos existem roedores e pássaros que também causam perdas, principalmente qualitativas, pela sujeira deixada no produto e ambiente de armazenamento (Lazzari & Lazzari, 2009; Lorini *et al.*, 2010).

Entre Coleoptera, os Curculionidae *Sitophilus oryzae* (L., 1763) e *S. zeamais* Motschulsky, 1855 conhecidos como gorgulho-do-arroz e gorgulho-do-milho respectivamente, são considerados pragas-chave para uma série de grãos e produtos armazenados. Outros besouros que causam danos são: *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Bostrichidae), besourinho-dos-cereais, *Acanthoscelides obtectus* Say, 1831 (Chrysomelidae), caruncho-do-feijão, *Lasioderma serricorne* Fabricius, 1792 (Anobiidae), bicho-do-fumo, *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Tenebrionidae),

besouro-castanho, entre outros (Athié & Paula, 2002; Guedes & da Costa, 2006, Lorini *et al.*, 2010).

Dentre as espécies de Lepidoptera que causam danos a diversos produtos armazenados as mais importantes são *Ephestia (Anagasta) kuehniella* (Pyralidae), conhecida popularmente como traça-da-farinha, juntamente com outras espécies da mesma família, *Ephestia elutella* Hübner, 1796, borboleta-do-fumo, *Cadra (Ephestia) cautella* Walker, 1863, traça-do-cacau e *Plodia interpunctella* (Hubner, 1813), traça-indiana-da-farinha, além da traça-dos-cereais *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) (Gelechiidae) (Athié & de Paula, 2002; Guedes & da Costa, 2006, Lorini *et al.*, 2010).

Para definir a melhor forma de controle a ser elaborada durante o estágio de armazenamento, a compreensão do hábito alimentar de cada inseto praga constitui um elemento importante na elaboração do plano de manejo (Athié & Paula, 2002). Conforme seu hábito alimentar os insetos praga de produtos armazenados podem ser classificadas em primários, que atacam grãos ou produtos inteiros e sadios, podendo ainda ser denominados internos ou externos ou, secundários, que precisam que os produtos estejam danificados ou quebrados para se alimentarem (Lorini, 2008, 2012). As pragas secundárias estão presentes principalmente em subprodutos como farinha, farelo, fubá e rações (Faroni *et al.*, 1995).

Na cultura do tabaco o conceito de praga é ainda mais rigoroso que em outras culturas, pois a maioria causa danos diretos ao produto final, que são suas folhas e, portanto, a tolerância as populações são ainda menores (Guedes & Costa, 2006). Segundo os mesmos autores, após a colheita e secagem existem dois grupos de insetos que causam danos ao tabaco armazenado que são o besouro *L. serricornis* e espécies de traças do gênero *Ephestia*.

2.3 *Ephestia kuehniella*

Ephestia kuehniella é largamente distribuída em todas as regiões do mundo, no Brasil, ocorre em todas as regiões produtoras de grãos estando presente durante o ano todo, desde que exista disponibilidade de alimento (Lorini, 2012).

Existe uma discussão taxonômica em relação ao gênero válido para a traça-da-farinha. Os europeus a denominam *E. kuehniella*, enquanto que os americanos denominam como *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Parra *et al.*, 2014), ressaltando que o nome disponível não é necessariamente um nome válido.

Há inúmeros registros desse inseto causando danos em vários produtos e grãos desde trigo, soja, milho, sorgo, aveia, arroz, cevada, tabaco, cacau, frutas secas, até produtos já processados como biscoito, bolachas, barras de cereais e chocolate (Gallo *et al.*, 2002).

As espécies de *Ephestia* são muito semelhantes entre si. Os adultos de *E. kuehniella* são mariposas de coloração parda, com 20 mm de envergadura, com asas anteriores longas e estreitas, de coloração acinzentada, com manchas transversais cinza-escuras. A fêmea oviposita de 200 a 300 ovos. O período de ovo a adulto estende-se por aproximadamente 40 dias, apresentando cerca de sete gerações ao ano (Athié & Paula, 2002; Lorini *et al.*, 2010).

São consideradas secundárias, pois as larvas se desenvolvem sobre resíduos de grãos e outros produtos armazenados deixados pela ação de outras pragas. Seu ataque prejudica a qualidade dos produtos por causa da formação de uma teia na superfície dos mesmos, que serve de refúgio para outros insetos e pode causar problemas operacionais em equipamentos durante o beneficiamento (Loeck, 2002).

Em função do elevado potencial biológico de *E. kuehniella* presente em ambientes de armazenamento e das condições ambientais favoráveis para o seu desenvolvimento,

medidas preventivas e curativas são essenciais para suprimir a população desse inseto, sendo necessário conhecer a sua biologia e seu comportamento para a melhor tomada de decisão (Lorini, 2003). A solução para essa situação de perdas exige a execução de um manejo integrado de pragas (MIP), utilizando um consórcio de táticas para suprimir esses insetos (Cruz, 2002).

2.4 Controle biológico de pragas de produtos armazenados

Atualmente os produtos químicos são os mais utilizados para o controle de insetos de produtos armazenados, devido à facilidade na aplicação, rapidez de ação e economia (Soares *et al.*, 2009; Lorini *et al.*, 2015). Entretanto, esse método apresenta uma série de desvantagens, como alta periculosidade aos aplicadores e trabalhadores, permanência de resíduos químicos ao produto, contaminação do meio ambiente (Altieri *et al.*, 2003).

Outro fator que contribui para o agravamento do problema é a pouca disponibilidade de inseticidas registrados para controle de pragas de produtos armazenados (AGROFIT, 2017), o que impede a alternância de ingredientes ativos, o que é recomendável para evitar a seleção de insetos resistentes (Lorini, 2008). Esses fatores têm contribuído para o desencadeamento do interesse de pesquisadores em buscar novas alternativas para o controle destes insetos praga em produtos armazenados.

Nesta circunstância, o controle biológico possui papel fundamental para a diminuição do uso de agrotóxicos, embora seu uso contra pragas de produtos armazenados ainda seja limitado (Zdárková *et al.*, 2003; Lorini *et al.*, 2015). O controle biológico consiste na regulação do número de plantas e animais por inimigos naturais, os quais constituem como agentes de mortalidade biótica. Todas as espécies de plantas e animais possuem inimigos naturais (Gullan & Cranston, 2012).

O controle biológico é, sem dúvida, a base de programas de MIP que visam à adoção de diferentes táticas para reduzir o impacto dos insetos e outros organismos considerados como pragas, minimizando o uso e os efeitos negativos de inseticidas químicos para seu controle (Parra, 2002). Do ponto de vista do MIP, o inimigo natural ideal é aquele que mantém a população da praga abaixo do nível de dano econômico (Cruz, 2002).

A utilização do controle biológico em produtos armazenados apresenta algumas vantagens em relação ao uso em campo, como a proteção dos inimigos naturais das condições adversas do ambiente externo, a localização e combate das pragas em espaços da unidade armazenadora de difícil acesso (Simberloff & Stiling, 1996). Seu uso pode ser viável e efetivo, principalmente, se for utilizado como uma ferramenta de prevenção de pragas nas unidades de armazenamento e no caso de remediação, sendo integrado com outras estratégias de manejo disponíveis (Soares *et al.*, 2009).

Contudo, há certa preocupação com a presença desses insetos inimigos naturais e seus fragmentos como contaminantes nos produtos e subprodutos armazenados. Para Cox & Wilkin (1996) a remoção desses fragmentos pode ser feita em procedimentos normais de limpeza ou através de peneiras que retém os mesmos.

O sucesso do controle biológico depende do conhecimento e da seleção das espécies com maior potencial para serem liberadas no ambiente de armazenamento, bem como das interações entre estas e seus hospedeiros (Cox & Wilkin, 1996). A combinação de duas espécies de parasitoides ou com predadores, por exemplo, podem resultar em um controle mais efetivo de pragas (Grieshop *et al.*, 2006).

Já se conhece uma variedade de inimigos naturais de pragas de produtos armazenados, embora muitas vezes as citações limitem-se apenas à identificação do agente (Lorini *et al.*, 2015). Vespas parasitoides pertencentes às famílias: Pteromalidae,

Bethylidae, Ichneumonidae, Braconidae e Trichogrammatidae são as mais frequentemente encontradas (Athié & Paula, 2002). No entanto, os autores ressaltam que ainda existe uma grande necessidade de pesquisas para se conhecer mais sobre a biologia dessas espécies a fim de serem utilizadas com sucesso em programas de controle biológico.

2.5 Vespas parasitoides

Várias espécies de Hymenoptera de hábito predador ou parasitoide têm sido relatados como inimigos naturais de insetos praga. Os chamados himenópteros parasitoides são um importante elemento da fauna pelo controle de populações de outros insetos que interferem de forma direta ou indireta nas cadeias tróficas de grande parte dos agroecossistemas (Perioto *et al.*, 2004). Devido a sua capacidade de regular populações de insetos considerados como pragas agrícolas, muitas espécies de himenópteros parasitoides são utilizados com sucesso em programas de controle biológico e/ou MIP (Zucchi & Silveira Neto, 2012).

Segundo Melo *et al.* (2012) são reconhecidas 15 superfamílias e 62 famílias de himenópteros parasitoides no mundo, com destaque para a Braconidae que é a segunda maior família em número de espécies descritas (18.000) (Quicke, 2015). Braconinae é uma das maiores subfamílias de Braconidae, com 2.800 espécies conhecidas em mais de 185 gêneros (Yu *et al.*, 2012).

Dentro de Braconinae muitos gêneros possuem potencial como agentes de controle biológico de larvas de Lepidoptera e Coleoptera, como *Habrobracon* Ashmead, 1895, que tem sido referido de várias maneiras por diferentes autores, alguns o consideram como subgênero de *Bracon* Fabricius (Yu *et al.*, 2012) outros, o julgam como

um gênero distinto, com base na relação entre o comprimento das veias r e 3Rsa das asas (Quicke, 1997).

Habrobracon contém mais de 30 espécies descritas, sendo a maioria da região Neártica e Paleártica (Yu *et al.*, 2012). *Habrobracon hebetor*, uma das mais conhecidas, foi introduzida em vários países em programas de controle biológico de espécies de lepidópteros ou, provavelmente, dispersa juntamente com seus hospedeiros tornando-se cosmopolita (Martínez *et al.*, 2009).

A nomenclatura da espécie ainda é bem confusa, são relatados 15 sinônimos de forma que *H. hebetor* e *Bracon hebetor* são considerados sinônimos, no entanto, a mais aceita é *H. hebetor*, que é a forma que consta no banco de dados “Home of Ichneumonoidea (Yu *et al.*, 2012).

Conforme Fischer (1968) e Martínez *et al.* (2009) *H. hebetor* (Figura 1) distingue-se das outras espécies do gênero pela seguinte combinação de características: olhos de tamanho normal, separados das mandíbulas por um espaço mais longo do que a largura basal da mandíbula; base do triângulo ocelar menor que a distância entre o ocelo e olho; tórax na maior parte liso e brilhante, sem ornamentações proeminentes. Antenas das fêmeas com 12-15 segmentos e dos machos com 18-22. Asas na parte basal esfumada e apical hialina. Coloração do corpo vai do marrom escuro ao marrom-alaranjado.



Figura 1. Fêmea de *Habrobracon hebetor*. Fonte: ADERMATT (2009).

Habrobracon hebetor é conhecido por ser um ectoparasitoide que comumente ataca muitas espécies de lagartas de lepidópteros praga de produtos armazenados. (Athié & Paula, 2002). Atualmente está presente em todos os continentes (Eliopoulos & Stathas, 2008), sendo o primeiro registro para o Brasil em 1947, parasitando larvas da traça do cacau na Bahia (Silva, 1947).

Por se tratar de um parasitoide que tem como hospedeiro insetos presentes em ambientes de armazenamento com pouca luminosidade, o processo de busca pelo hospedeiro é feito principalmente por estímulos químicos e físicos que envolvem uma sequência de passos, desde a localização do próprio ambiente até o reconhecimento do hospedeiro (Aquino, 2011). Esses estímulos modificam o padrão de movimentação das fêmeas em busca do hospedeiro, provocando uma alteração do padrão do movimento em orientação a fonte de estímulo (Vilela & Della Lucia, 2001).

O parasitoide *H. hebetor* foi considerado um potencial agente de controle biológico, mostrando melhores resultados no controle das traças em altas temperaturas, sendo atraído pelo *frass* das larvas de Pyralidae (Magro & Parra, 2001).

O ciclo deste parasitoide inicia com a paralisação do hospedeiro, ferroando-o várias vezes injetando uma espécie de veneno (Athié & Paula, 2002). Após, segundo os autores, deposita vários ovos na larva paralisada, dos quais eclodem pequenas larvas vermiformes que se alimentam da hemolinfa do hospedeiro, afastando da larva já seca para empupar. Na faixa de temperatura de 24-28 °C parasitando *C. cautela*, apresentou de 13 a 14 gerações por ano, com ciclo de vida de 8 a 10 dias (Huang, 1986).

Serra (1992) utilizando *A. kuehniella* como hospedeiro, constatou que houve relação inversa entre a duração do desenvolvimento desse braconídeo e a elevação da temperatura em todas as fases do seu ciclo, bem como na longevidade dos adultos. O limite térmico inferior de desenvolvimento para esse parasitoide foi de 13,9 °C.

A temperatura mais adequada para a criação do parasitoide ainda segundo Serra (1992) é de 32 °C, sendo constatado que *H. hebetor* promove a paralisação do hospedeiro em temperaturas superiores a 8 °C e oviposita quando a temperatura do ambiente está acima de 14 °C. No que se refere à idade do hospedeiro, o mesmo autor verificou que *H. hebetor* paralisa igualmente lagartas de quarto e quinto instares, mas o parasitismo foi significativamente maior naquelas de quinto instar.

Serra (1992), Magro *et al.* (2006) e Alam *et al.* (2014) observaram que entre 26-28°C a fase imatura é entre 10-12 dias. Quanto à capacidade de parasitismo e ritmo de postura, *H. hebetor* deposita em média 231 ovos, oscilando entre 6 e 631 ovos por fêmea. A quantidade média de ovos colocada por dia também foi variável (Serra, 1992).

Quando liberado sozinho ou em combinação com *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 ou com o predador *Xylocoris flavipes* (Reuter, 1875) *H. hebetor* mostrou-se promissor no controle de populações de *P. interpunctella* e *C. cautella* em grãos de amendoim armazenado (Keever *et al.*, 1986; Brower & Press, 1990).

Na Europa *H. hebetor* é utilizado para controle de Pyralidae, sendo vendido comercialmente pela empresa Andermatt Biocontrol, com sede na Suíça (<http://www.ndermattbiocontrol.com>). No Brasil, no entanto, até o momento existem poucos trabalhos, sendo apenas em âmbito de pesquisa de laboratório (Serra, 1992; Magro & Parra, 2001; Magro *et al.*, 2006). Deste modo, abre-se perspectivas para implementação de programas de manejo integrado utilizando este inimigo natural.

Autores como Serra (1992), Eliopoulos & Stathas (2008), Ghimire & Phillips (2010), Dabhi *et al.* (2011) e Chen *et al.* (2012) demonstraram variações no desenvolvimento do parasitoide *H. hebetor* em função da espécie do hospedeiro e sua densidade, bem como da interação com elementos ambientais.

Assim, é importante advertir que o sucesso na introdução ou desenvolvimento de programas de controle biológico depende de uma série de pesquisas em laboratório para que não haja uma descrença dessa técnica quando aplicada (Pinto & Parra, 2002), destacando o potencial de parasitismo e o impacto de fatores ambientais que podem vir influenciar no seu desempenho (Pratissoli *et al.* 2004; Farag *et al.* 2015).

2.6 Fatores abióticos

Os insetos, de modo geral, são guiados pelos ritmos circadianos que são oscilações de luz, temperatura e outros fatores ambientais, que ocorrem em aproximadamente 24 horas e nos quais se baseiam os ciclos biológicos da maioria dos seres vivos (Kerbaui, 2008). Estes são impulsionados por um mecanismo de temporização chamados relógios circadianos, que são localizados em células individuais que estão espalhadas por todo o corpo, ajudando os insetos e outros organismos a lidar com as mudanças diárias de elementos abióticos (Souza, 2012). Podem haver dois tipos de ritmos, aquele que ocorre como resposta imediata para mudanças no ambiente (ritmos exógenos) e o que persiste quando as condições no ambiente são mantidas constantes (ritmos endógenos) (Prati & Macieira, 2004).

Os ritmos circadianos podem influenciar uma variedade de funções na biologia dos insetos, tais como a eclosão, a locomoção, o forrageamento, a cópula e a oviposição (Souza, 2012). Muitos aspectos fisiológicos, como síntese e liberação de hormônios, divisão celular e ciclos metabólicos, podem estar também diretamente ligados a funções do relógio circadiano (Košťál, 2011).

A compreensão dos elementos (bióticos e abióticos) que governam a dinâmica populacional dos insetos é uma questão importante da ecologia dos mesmos (Andrewartha & Birch, 1954; Marchioro & Foersterb, 2016). No seu desenvolvimento

ou reprodução, por exemplo, os insetos utilizam um ou vários elementos combinados para avaliar e adequar-se à atual ou futura situação (Gullan & Cranston, 2012).

Além das interações biológicas, vários fatores abióticos tais como temperatura ambiental, umidade e fotoperíodo, podem interferir em diferentes aspectos da biologia dos insetos, limitando ou estimulando atividades como o metabolismo, comportamento, crescimento, forma, biologia estacional, reprodução, fecundidade, diapausa, distribuição geográfica e mesmo a atividade diária destes (Beck, 1980; Jaworski & Hilszczański, 2013).

2.6.1 Fotoperíodo

O fotoperíodo é o fator que está relacionado com a duração (em horas) de fotofase (luz) e escotofase (escuro) durante o dia e não com a intensidade da luz emitida (Gullan & Cranston, 2012). É um dos sinais que os insetos utilizam para perceber as mudanças ambientais e ajustar adequadamente o seu ciclo de vida (Tauber *et al.*, 1986).

Muitos aspectos dos parasitoides podem ser influenciados pelo fotoperíodo como citado anteriormente, em especial na reprodução, que pode ser controlada de forma qualitativa (como uma interrupção na reprodução e/ou indução da diapausa) e quantitativa (com influência na duração do período de pré-oviposição, intensidade de oviposição, fecundidade e viabilidade) (Tommasini & Van Lenteren, 2003; Fantinou *et al.*, 2004). As alterações na oviposição correspondem as mudanças na intensidade da oogênese, que podem, entre outros motivos, ser causadas pelo fotoperíodo (Reznik & Vaghina, 2007).

O fotoperíodo associado ou não à temperatura, são bem conhecidos como principais indícios ambientais para indução da diapausa em muitos insetos (Vaghina *et al.*, 2014). Um dos fatores que pode indicar a indução da diapausa reprodutiva em fêmeas de parasitoides é a ausência de oviposição, no entanto, a diapausa adulta pode terminar a

partir do momento onde as condições ambientais se tornam favoráveis (Chen *et al.*, 2012). Segundo Rossi (1997) em alguns parasitoides o fotoperíodo e temperatura não tem efeito direto na indução da diapausa, ele age principalmente na geração materna. Assim, as condições térmicas e de luz experimentadas por uma ou várias gerações ancestrais afetam a incidência da diapausa na progênie (Sorokina & Potemkina, 2015). Doult (1959) sugere que os parasitoides podem entrar em diapausa para sincronizar o seu desenvolvimento com o hospedeiro, retardando-o de modo que o hospedeiro se encontre no melhor estágio para o parasitoide.

Dias com mais horas de luz, por exemplo, são conhecidos por diminuir a longevidade e a fecundidade de alguns parasitoides (Jervis & Copland, 1996). Presumindo que os parasitoides utilizam sua energia mais efetivamente na escotofase do que na fotofase, isso garantiria uma maior longevidade. Da mesma forma a energia que poderia ser utilizada para a produção de ovos é muitas vezes, durante o período de fotofase, utilizada para atividades corporais gerais, diminuindo a fecundidade (Sahin & Ozkan, 2007). Isso pode sugerir que os parasitoides apresentam maior atividade diária, como deslocamentos, busca por hospedeiros e fuga de predadores, em condições de mais horas de luz do que em condições de maior tempo de escuro, diminuindo assim a fecundidade.

A influência do fotoperíodo pode ocorrer também no sistema endócrino dos insetos o qual envolve a secreção de hormônios definidos como substâncias químicas que atuam como sinalizadores celulares e pode ser diretamente afetado pela luz ou outros fatores externos, sendo que esse sistema é responsável por uma série de processo como metamorfose, reprodução, comportamento alimentar, digestão e diapausa (Gullan & Cranston, 2012).

Os insetos percebem a luz de modo geral através dos olhos compostos e ocelos que contém células fotorreceptoras que captam a luz e transmitem o estímulo para células neurosecretoras no protocérebro, no qual secretam neuropeptídios que irão atuar na glândula protorácica (Košťál, 2011). De acordo com Van Lenteren (1999) longos períodos de luz durante o dia favorecem a ativação dos *corpora allata* e *corpora cardiaca*, liberando importantes hormônios como o juvenil e os ecdisteroides, essenciais para o desenvolvimento e reprodução dos insetos, estimulando a oogênese e, conseqüentemente, o desenvolvimento dos ovos. Já em condições de dia com poucas horas de luz, podem levar a inativação das glândulas protorácicas, resultando em baixos teores desses hormônios e conseqüentemente preparação para entrar em diapausa (Saunders, 2014).

A complexidade de fatores que interferem no desenvolvimento e ciclo biológico dos insetos é infundável, demonstrando que ainda é preciso realizar pesquisas nessa área. Segundo Rodrigues (2004) o entendimento destes fatores auxilia na tomada de decisão de controle e mesmo na escolha de organismos potencialmente adequados para programas de controle biológico. Além de aprimorar as técnicas de criação de parasitoides, possibilitando a produção de grande número de indivíduos com alta capacidade reprodutiva (Parra & Cònsoli, 2009).

A manipulação de fatores abióticos deve estar adequada aos ambientes em que as espécies a serem utilizadas como inimigos naturais de pragas serão liberadas, de modo que a adaptação ao meio garanta o sucesso dos programas de controle biológico. Neste sentido, o estudo do desenvolvimento e dos padrões de fecundidade e sobrevivência de uma população de insetos, através de parâmetros de esperança de vida e de fertilidade, e tabelas de mortalidade são componentes importante para a compreensão da dinâmica populacional destes organismos sob o efeito do fotoperíodo (Southwood & Henderson, 2000).

2.7 REFERÊNCIAS

- ADERMATT. **Beneficials against stored product pests: a component for the integrated control of stored product pests.** 2009. Disponível em: <http://www.andermttbiocontrol.com/media/pdf/products/macroorganisms/beneficial-insects-and-insect-feed/habrobracon-hebetor/beneficial_insects_for_stored_products.pdf>. Acesso em: 15 dez. 2016.
- AGROFIT - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. [Base de dados] 2017. (Consulta de praga/doença). Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/acesso-a-informacao/cartas-de-servico/defesa-agropecuaria-agrotoxicos/agrotoxicos-registrados-no-agrofit>>. Acesso em: 20 jan. 2017.
- ALAM, M. S. et al. Biology of *Bracon Hebetor* reared on wax moth (*Galleria mellonella*) larvae. **Persian Gulf Crop Protection**, Dezful, v. 3, n. 4, p. 54-62, 2014.
- ALTIERI, M. A.; SILVA, E. N.; NICHOLLS, C. I. **O papel da biodiversidade no manejo de pragas.** Ribeirão Preto: Holos, 2003. 226 p.
- ANDREWARTHA, H. G.; BIRCH, L. C. **The distribution and abundance of animals.** Chicago: University of Chicago Press, 1954. 782 p.
- AQUINO, M. F. S. de **Estudo do comportamento de busca e seleção de hospedeiros dos parasitoides de ovos *Trissolcus basal* e *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae).** 2011. 119 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2011.
- ATHIÉ, I.; PAULA, D. C. de **Insetos de grãos armazenados: aspectos biológicos e identificação.** 2. ed. São Paulo: Varela, 2002. 244 p.
- BECK, S. D. **Insect photoperiodism.** 2nd ed. New York: Academic Press, 1980. 387 p.
- BROWER, J. H.; PRESS, J. W. Interaction of *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in suppressing stored-product moth populations in small in shell peanut storages. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 83, n. 3, p. 1096-1101, 1990.
- CARVALHO, M. O.; PEREIRA, A. P.; MEXIA, A. Adoção de proteção integrada em tabaco armazenado em Portugal. In: ENCONTRO NACIONAL DE PROTECÇÃO INTEGRADA, 6., 2003, Castelo Branco. **Anais...** Castelo Branco: ENPI, 2003. p. 297-306.
- CHEN, H. et al. Induction of reproductive diapause in *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) when reared at different photoperiods at low temperatures. **Environmental Entomology**, Oxford, v. 41, n. 3, p. 697-705, 2012.

CRUZ, I. Controle biológico em manejo integrado de pragas. In: PARRA, J. R. P. et al. (Eds.). **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 543-570.

COLLINS, W. K.; HAWKS, S. N. **Fundamentos da produção do tabaco de estufa**. Santa Cruz do Sul: Edunisc, 2011. 308 p.

COX, P. D.; WILKIN, D. R. **The potential use of biological control of pests in stored grain**. Research Review 36, London: Home-Grown Cereals Authority, 1996. 53 p.

DABHI, M. R.; KORAT, D. M.; VAISHNAV, P. R. Influence of temperature, relative humidity and photoperiod on the development of *Bracon hebetor* Say. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, Krishnanagar, v. 24, n. 4, p. 558-560, 2011.

DOUTT, R. L. The biology of parasitic hymenoptera. **Annual Review of Entomology**, California, v. 4, n. 1, p. 161-182, 1959.

ELIOPOULOS, P. A.; STATHAS, G. J. Life tables of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) parasitizing *Anagasta kuehniella* and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae): Effect of host density. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 101, n. 3, p. 982-988, 2008.

FANTINO, A. A.; PERDIKIS, D. C. H.; ZOTA, K. F. Reproductive responses to photoperiod and temperature by diapausing and nondiapausing populations of *Seasmia nonagrioides* Lef. (Lepidoptera - Noctuidae). **Physiological Entomology**, Oxford, v. 29, n. 2, p. 169-175, 2004.

FARAG, N. A. et al. Life table of *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) reared on different hosts. **International Journal of ChemTech Research**, Mumbai, v. 8, n. 9, p. 123-130, 2015.

FARONI, L. R. A. Manejo das pragas dos grãos armazenados e sua influência na qualidade do produto final. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 17, n. 1/2, p. 36-43, 1992.

FARONI, L. R. A.; SILVA, J. F.; SILVA, F. A. P. Pragas e métodos de controle. In: SILVA, J. S. (Ed.). **Pré-processamento de produtos agrícolas**. Juiz de Fora: Instituto Maria, 1995. p. 363-392.

FISCHER, M. Über gezüchtete Raupenwespen (Hymenoptera: Braconidae) aus dem Naturhistorischen Museum Wien. **Pflanzenschutz-Berichte**, Viena, v. 37, p. 97-140, 1968.

FONTES, L. S.; ALMEIDA FILHO, A. J.; ARTHUR, V. Danos causados por *Sitophilus oryzae* (Linné, 1763) e *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae) em cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 3, p. 303-307, 2003.

GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: Fealq, 2002. 920 p.

GHIMIRE, M. N.; PHILLIPS, T. W. Mass rearing of *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) on larvae of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae): Effects of host density, parasitoid density, and rearing containers. **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 46, n. 4, p. 214-220, 2010.

GRIESHOP, M. J.; FLINN, P. W.; NECHOLS, J. R. Biological control of indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) on finished stored products using egg and larval parasitoids. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 99, n. 4, p. 1080-1084, 2006.

GUEDES, J. V. C.; SULZBACH, F. **Guia de identificação e manejo integrado das pragas do fumo**. Santa Maria: Orium, 2006. 56 p.

GUEDES, J. V. C.; COSTA, I. F. D. da **Guia de identificação e manejo integrado das pragas e doenças do fumo**. Santa Maria: Orium, 2006. 88 p.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **Os Insetos: um resumo de entomologia**. 4. ed. São Paulo: Roca, 2012. 496 p.

HUANG, X. F. Use of *Habrobracon hebetor* Say in granary pest control. **Chinese Journal of Biological Control**, Pequim, v. 2, n. 2, p. 78-80, 1986.

JAWORSKI, T.; HILSZCZAŃSKI, J. The effect of temperature and humidity changes on insects development and their impact on forest ecosystems in the context of expected climate change. **Forest Research Papers**, Varsóvia, v. 74, n. 4, p. 345-355, 2013.

JERVIS, M. A.; COPLAND, M. J. W. The life cycle. In: JERVIS, M. A.; KIDD, N. (Ed.). **Insect natural enemies-practical approaches to their study and evaluation**. London: Chapman and Hall, 1996. p. 63-161.

JIAN, F.; JAYAS, D. S. The Ecosystem Approach to Grain Storage. **Agricultural Research**, Amsterdam, v. 1, n. 2, p. 148-156, 2012.

KEEVER, D. W. et al. Augmentation of natural enemies for suppressing two major insect pests in stored farmers stock peanuts. **Environmental Entomology**, Oxford, v. 15, n. 3, p. 767-777, 1986.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 431 p.

KOŠTÁL V. Insect photoperiodic calendar and circadian clock: independence, cooperation, or unity? **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 57, n. 5, p. 538-556, 2011.

LAZZARI, F. A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e ração**. Curitiba: Edição do autor, 1997. 134 p.

- LAZZARI, S. M. N.; LAZZARI, F. A. Insetos-praga de grãos armazenados. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Ed.). **Bioecologia e nutrição de insetos, base para o manejo integrado de pragas**. Brasília: Embrapa, 2009. p. 667-732.
- LOECK, A. E. **Praga de Produtos Armazenados**. Pelotas: Egufpel, 2002. 113 p.
- LORINI, I. Descrição, biologia e danos das principais pragas de grão armazenados. In: LORINI, I.; MILKE, L. H.; SCUSSEL, V. M. (Ed.). **Armazenagem de Grãos**. Campinas: Instituto Biogeneziz, 2002. p. 381-397.
- LORINI, I. **Manual técnico para o manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2003. 80 p.
- LORINI, I. **Manejo Integrado de Pragas de Grãos de Cereais Armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2008. 72 p.
- LORINI, I. Insetos que atacam grãos de soja armazenados. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Ed.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília: Embrapa, 2012. p. 421-444.
- LORINI, I. et al. **Principais Pragas e Métodos de Controle em Sementes durante o Armazenamento** - Série Sementes. Londrina: Embrapa Soja, 2010. 10 p.
- LORINI, I. et al. **Manejo Integrado de Pragas de Grãos e Sementes Armazenadas**. Brasília: Embrapa, 2015. 84 p.
- MAGRO, S. R. et al. Biological, nutritional, and histochemical basis for improving an artificial diet for *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 215-222, 2006.
- MAGRO, S. R.; PARRA, J. R. P. Biologia do ectoparasitóide *Bracon hebetor* Say, 1857 (Hymenoptera: Braconidae) em sete espécies de lepidópteros. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 4, p. 693-698, 2001.
- MARCHIOROA, C. A.; FOERSTER, L. A. Biotic factors are more important than abiotic factors in regulating the abundance of *Plutella xylostella* L., in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 60, n. 4, p. 328-333, 2016.
- MARTÍNEZ, J. J. et al. Nuevos registros de *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) en la Argentina. **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, Buenos Aires, v. 68, n. 3/4, p. 369-371, 2009.
- MELO, G. A. R.; AGUIAR, A. P.; GARCETE-BARRETT, B. R. Hymenoptera Linnaeus, 1758. In: RAFAEL, J. A. et al. (Ed.). **Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia**. Ribeirão Preto: Holos, 2012. p. 553-612.
- PARRA, J. R. P. Comercialização de inimigos naturais no Brasil: uma área emergente. In: PARRA, J. R. P. et al. (Eds.). **Controle Biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 343-349.

PARRA, J. R. P.; CÔNSOLI, F. L. Criação massal e controle de qualidade de parasitoides de ovos. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora UFLA, 2009. p. 169-197.

PARRA, J. R. P. et al. **Criação de *Anagasta kuehniella*, em pequena escala, para produção de *Trichogramma***. Piracicaba: Occasio, 2014. 32 p.

PEREIRA, A. M. **Processo de Ozonização: eficácia biológica, qualidade dos grãos e análise econômica**. Viçosa: Editora UFV, 2006. 7 p.

PERIOTO, N. W. et al. Himenópteros parasitoides (Insecta: Hymenoptera) coletados em cultura de café *Coffea arabica* L. (Rubiaceae) em Ribeirão Preto, SP, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 1, p. 41-44, 2004.

PINTO, A. S.; PARRA, J. R. P. Liberações de inimigos naturais. In: PARRA, J. R. P. et al. (Eds.). **Controle Biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 325-342.

PRATISSOLI, D. et al. Parasitismo de *Trichogramma pretiosum* em ovos da traça-das-crucíferas sob diferentes temperaturas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 4, p. 754-757, 2004.

PRONI, E. A.; OILTON, O. J. D. Ritmo circadiano da taxa respiratória de *Tetragonisca angustula fiebrigi* (Schwarz), *T. a. angustula* (Latreille) e *Trigona spinipes* (Fabricius) (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 21, n. 4, p. 987-993, 2004.

QUICKE, D. J. L. Subfamily Braconinae. In: WHARTON, R. A.; MARSH, P. M.; SHARKEY, M. J. (Ed.). **Manual of the New World genera of the Family Braconidae (Hymenoptera)**. Washington: Special publication of the International Society of Hymenopterists, 1997. p. 149-174.

QUICKE, D. L. J. **The Braconid and Ichneumonid parasitoid wasps: biology, systematics, evolution and ecology**. Chichester: Wiley-Blackwell, 2015. 794 p.

REGINATO, M. P. et al. Boas práticas de armazenagem de grãos. In: ENCONTRO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 8., Dourados. **Anais... Dourados: ENEPE UFGD**, 2014.

REZNIK, S. Y.; VAGHINA, N. P. Effect of photoperiod on parasitization by *Trichogramma principium* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **European Journal of Entomology**, Praga, v. 104, n. 4, p. 705-713, 2007.

RODRIGUES, W. C. Fatores que influenciam no desenvolvimento dos insetos. **Info Insetos**, Vassouras, v. 1, n. 4, p. 1-4, 2004.

ROSSI, M. M. As interrupções no desenvolvimento de *Trichogramma*. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). ***Trichogramma* e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq, 1997. p. 151-172.

- SAHIN, A. K; OZKAN, C. Effect of light on the longevity and fecundity of *Venturia canescens* (Gravenhorst) (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Zoological Society of Pakistan**, Lahore, v. 39, n. 5, p. 315-319, 2007.
- SAUNDERS, D. S. Insect photoperiodism: effects of temperature on the induction of insect diapause and diverse roles for the circadian system in the photoperiodic response. **Entomological Science**, Tóquio, v. 17, n. 1, p. 25-40, 2014.
- SERRA, H. J. P. **Bioecologia do ectoparasito *Habrobracon hebetor* (Say, 1836) (Hymenoptera: Braconidae) em *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae)**. 1992. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1992.
- SILVA, P. Controle biológico da “traça do cacau” pelo *Microbracon hebetor* (Say). **Boletim Técnico Instituto do Cacau da Bahia**, Salvador, v. 7, p. 1-39, 1947.
- SIMBERLOFF, D.; STILING, P. How risk is biological control? **Ecology**, Washington, v. 77, n. 7, p. 1965-1974, 1996.
- SINHA, R. N. The stored-grain ecosystem. In: JAYAS, D.; WHITE, N. D. G.; MUIR, W. E. (Ed.). **Stored-grain ecosystems**. New York: M. Dekker, 1995. p. 1-33.
- SOARES, M. A. et al. Controle biológico de pragas em armazenamento: uma alternativa para reduzir o uso de agrotóxicos no Brasil? **Unimontes Científica**, Montes Claros, v. 11, n. 1/2, p. 52-59, 2009.
- SOROKINA, A. P.; POTEKINA, V. I. The peculiarities of diapause induction by photoperiod and temperature in *Trichogramma evanescens* Westw. and *T. chilonis* Ishii (Hymenoptera, Trichogrammatidae) from the south of the Russian far East. **Entomological Review**, New York, v. 95, n. 3, p. 305-309, 2015.
- SOUTHWOOD T. R. E.; HENDERSON, P. A. **Ecological methods**. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science, 2000. 575 p.
- SOUZA, T. E. de. **Cartografia genômica do gene *Period* em quatro espécies de gafanhotos neotropicais (Orthoptera; Acridoidea)**. 2012. 48 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Genética, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.
- TAUBER, M. J.; TAUBER, C. A.; MASAKI, S. **Seasonal adaptations of insects**. New York: Oxford University Press, 1986. 411 p.
- TOMMASINI, M. G.; VAN LENTEREN, J. C. Occurrence of diapause in *Orius laevigatus*. **Bulletin of Insectology**, Bologna, v. 56, n. 2, p. 225-251, 2003.
- VAGHINA, N. P.; VOINOVICH, N. D.; REZNIK, S. Y. Maternal thermal and photoperiodic effects on the progeny diapause in *Trichogramma telengai* Sorokina

(Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Entomological Science**, Tóquio, v. 17, n. 2, p. 198-206, 2014.

VAN LENTEREN, J. C. Fundamental knowledge about insect reproduction: essential to develop sustainable pest management. **Invertebrate Reproduction and Development**, Rehovot, v. 36, n. 1/3, p. 1-15, 1999.

VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. **Feromônios de Insetos**: biologia, química e emprego no manejo de pragas. 2. ed. Ribeirão Preto: Holos, 2001. 206 p.

YU, D. S.; VAN ACHTERBERG, C.; HORSTMANN, K. **World Ichneumonoidea 2011**: taxonomy, biology, morphology and distribution (Braconidae). Ottawa: Taxapad (Scientific Names for Information Management) Interactive Catalogue, 2012. 1 DVD/CD-ROM.

ZDÁRKOVÁ, E.; LUKAS, J.; HORÁK, P. Compatibility of *Cheyletus eruditus* (Schrank) (Acari: Cheyletidae) and *Cephalonomia tarsalis* (Ashmead) (Hymenoptera: Bethyridae) in biological control of stored grain pests. **Plant Protection Science**, Praga, v. 39, n. 1, p. 29-34, 2003.

ZUCCHI, R. A.; SILVEIRA NETO, S. Entomologia agrícola. In: RAFAEL, J. A. et al. (Ed.). **Insetos do Brasil**: diversidade e taxonomia. Ribeirão Preto: Holos, 2012. p. 139-150.

3 ARTIGO 1

Efeito do fotoperíodo sobre os parâmetros de esperança de vida e de fertilidade de
Habrobracon hebetor (Hymenoptera: Braconidae) em larvas de *Ephestia kuehniella*
(Lepidoptera: Pyralidae)*

*Artigo configurado segundo as normas da Revista Brasileira de Ciências Agrárias

Efeito do fotoperíodo sobre esperança de vida e fertilidade de *Habrobracon hebetor*
parasitando *Ephestia kuehniella*

Resumo

O fotoperíodo pode afetar os processos de interação entre o ectoparasitoide *Habrobracon hebetor* e seu hospedeiro *Ephestia kuehniella*. Sendo assim, objetivou-se avaliar o desenvolvimento e parâmetros de esperança de vida e fertilidade de *H. hebetor*, parasitando *E. kuehniella* sob diferentes fotoperíodos. Os parasitoides desenvolveram-se durante a fase pré-imaginal em três diferentes fotoperíodos (claro/escuro) 24:0, 12:12 e 0:24, sendo que os adultos oriundos de cada um dos tratamentos ficaram expostos a 0, 12 e 24 h de fotofase. Um casal de parasitoide foi inserido por placa de Petri contendo 10 larvas de *E. kuehniella*, sendo que a cada 24 h eram retirados e transferidos para uma nova placa, até a morte da fêmea. Foram avaliados os parâmetros biológicos: período pré-imaginal, número diário de ovos por fêmea e a longevidade do casal. A duração do período pré-imaginal em escotofase foi maior que os períodos com fotofases de 12 e 24 h. A longevidade das fêmeas e machos não diferiu entre os tratamentos. As taxas líquidas de reprodução dos parasitoides criados em fotofase de 12 e 24 h foi em média de 52,7 a 63,7, maiores que em escotofase (22,9 a 27,9). O aumento populacional de *H. hebetor* em criações massais é maior em fotoperíodo acima de 12 h de luz na fase pré-imaginal.

Palavras-chaves: traça-das-farinhas; parasitoide; biologia; fatores abióticos; controle biológico

Effect of photoperiod on life expectancy and fertility of *Habrobracon hebetor*
parasitizing *Ephestia kuehniella*

Abstract

Photoperiod may affect the interaction processes between the ectoparasitoid *Habrobracon hebetor* and its host *Ephestia kuehniella*. The objective of this study was to

evaluate development, life expectancy and fertility parameters of *H. hebetor*, parasitizing *E. kuehniella* under different photoperiods. Parasitoids developed during pre-imaginal stage in three different photoperiods (light/dark) 24:0, 12:12 and 0:24, and then adults from each treatment were exposed to 0, 12 and 24 h of photophase. One parasitoid couple was placed in a Petri dish containing 10 larvae of *E. kuehniella*, being removed after each 24 h and transferred to a new dish, until female death. Biological parameters evaluated were: pre-imaginal period, daily number of eggs per female and couple longevity. Duration of pre-imaginal period in scotophase was longer than periods with 12 and 24 h photophases. Longevity of females and males demonstrated no differences between treatments. Net reproductive rates of the parasitoids reared in 12 and 24 h photophase averaged from 52.7 to 63.7, higher than scotophase (22.9 to 27.9). Population increase of *H. hebetor* in mass creations is higher in photoperiod above 12 h of light during the pre-imaginal stage.

Key words: flour moth; parasitoid; biology; abiotic factors; biological control

INTRODUÇÃO

Dentre as espécies que têm potencial como agentes de biocontrole de pragas de produtos armazenados cita-se *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) que é um ectoparasitoide larval, cosmopolita, que tem como hospedeiro larvas de Pyralidae (Athié & Paula, 2002).

As espécies de maior importância econômica de Pyralidae são *Ephestia (Anagasta) kuehniella* (Zeller) (traça-das-farinhas), *E. elutella* Hübner (traça-do-tabaco), *Cadra (Ephestia) cautella* (Walker) (traça-do-cacau) e *Plodia interpunctella* (Hübner) (traça-indiana-da-farinha) (Guedes & Costa 2006; Lorini *et al.*, 2015) que causam danos a uma série de produtos estocados, diminuindo a qualidade e o peso dos mesmos (Loeck, 2002; Lorini, 2012).

O controle biológico com o uso de *H. hebetor* apresenta-se como uma alternativa, embora seu uso ainda seja limitado (Grieshop *et al.*, 2006). Entretanto, o sucesso na introdução ou desenvolvimento de programas de controle biológico depende de pesquisas

em laboratório para que não haja descrença dessa técnica quando aplicada à campo (Pinto & Parra, 2002), destacando-se o potencial de parasitismo e o impacto de fatores ambientais que podem influenciar no seu desempenho (Pratissoli *et al.*, 2004; Farag *et al.*, 2015).

Variáveis ambientais como o fotoperíodo podem atuar de forma positiva ou negativa sobre aspectos biológicos dos parasitoides, interferindo nestes processos na fase imatura e/ou adulta (Gullan & Cranston, 2012). Conforme Beck (1980) fatores como metabolismo, comportamento, crescimento, morfologia, biologia estacional, reprodução, fecundidade, distribuição geográfica e mesmo a atividade diária de um inseto são influenciadas pelo fotoperíodo. A reprodução dos parasitoides em especial pode ser controlada de forma qualitativa (como uma interrupção na reprodução e/ou indução da diapausa) e quantitativa (com influência na duração do período de pré-oviposição, intensidade de oviposição, fecundidade e viabilidade) (Tommasini & Van Lenteren, 2003; Fantinou *et al.*, 2004).

O estudo do desenvolvimento e dos padrões de fecundidade e sobrevivência de uma população de parasitoides através de parâmetros de esperança de vida e de fertilidade, são componentes importantes para a compreensão da dinâmica populacional destes organismos sob o efeito do fotoperíodo, para definir as condições ideais da sua multiplicação em laboratório e utilização em campo (Southwood & Henderson, 2000; Pratissoli *et al.*, 2003).

A compreensão da relação existente entre as variações de fotoperíodo e os parâmetros biológicos de *H. hebetor* trará informações que poderão servir de base para o desenvolvimento de técnicas de criação massal e para o entendimento do comportamento desse parasitoide em ambientes de armazenamento, com pouco luminosidade. Assim, o objetivo deste trabalho foi estimar o tempo de desenvolvimento, parâmetros de esperança de vida e tabelas de fertilidade de *H. hebetor* relacionadas a diferentes fotoperíodos durante a fase pré-imaginal e adulta.

MATERIAL E MÉTODOS

Criações de laboratório

As criações de *H. hebetor* e de *E. kuehniella* foram mantidas em salas climatizadas com temperatura de 28 ± 2 °C, umidade relativa do ar (UR) de 50 ± 20 % e fotofase de 12 h, com intensidade de 2000 ± 200 lux, situadas no Laboratório de Entomologia da

Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC). Larvas de *E. kuehniella* foram desenvolvidas em dieta artificial, constituída de farinha de trigo (97 %) e levedura de cerveja (3 %), seguindo a metodologia proposta por Cruz *et al.* (1999).

Tempo de desenvolvimento e tabelas de vida de *H. hebetor* sob diferentes fotoperíodos

Os parasitoides utilizados neste trabalho desenvolveram-se em diferentes fotoperíodos, (fotofase: escotofase) 0:24, 12:12 e 24:0, mantidos em estufa incubadora “Tipo B.O.D.” a 28 ± 2 °C e 50 ± 20 % UR.

O experimento foi conduzido com três fotoperíodos para o desenvolvimento do parasitoide (fase pré-imaginal) (0, 12 e 24 h de fotofase) e a combinação dos mesmos três fotoperíodos durante a fase adulta, com delineamento inteiramente casualizado, com 15 repetições por tratamento, sendo cada repetição constituída por um casal.

Para avaliar o tempo de desenvolvimento das fases pré-imaginais, uma fêmea adulta do parasitoide foi individualizada com uma larva de *E. kuehniella* por placa de Petri (9 cm de diâmetro por 2 cm de altura), durante 12 h. Após, a fêmea foi retirada, permanecendo apenas um ovo sobre cada larva, o qual foi acompanhado até a emergência, sendo os demais retirados. Das 50 unidades experimentais de cada fotoperíodo somente foram contabilizadas as que chegaram à fase adulta, que foram 15, 17 e 12 indivíduos nas fotofases 0, 12 e 24 h respectivamente.

Para a construção das tabelas de vida, casulos do parasitoide provindos das diferentes condições experimentais foram individualizados em micro tubos de 1,5 mL do “tipo Eppendorf” e mantidos no mesmo fotoperíodo até a emergência. Dos insetos emergidos foram selecionados casais virgens, identificando o sexo visualmente, sem experiência de parasitismo, com no máximo 24 h de idade para os bioensaios.

Um casal de parasitoide foi depositado por placa de Petri contendo 10 larvas de quinto instar de *E. kuehniella* por 24 h. Diariamente os parasitoides eram transferidos para novas placas contendo 10 larvas, assim, sucessivamente até a morte da fêmea.

Foram realizadas observações diárias sendo avaliados os parâmetros biológicos, período pré-imaginal (ovo a adulto), número diário de ovos por fêmea e a longevidade de machos e fêmeas do parasitoide.

Elaborou-se as tabelas de vida, adotando as metodologias de Silveira Neto *et al.* (1976), Southwood & Henderson (2000) e Kakde *et al.* (2014). Foram determinados os valores de intervalo de idade em dias (x); número de sobreviventes no início da idade x

(L_x); número de indivíduos mortos durante o intervalo etário x (d_x); estrutura etária (E_x), que é o número de indivíduos vivos entre um dia e outro, obtidos pela equação: $E_x = [L_x + (L_x + 1)]/2$; número total de indivíduos em cada intervalo de idade x (T_x), que representa o número de insetos vivos além de determinada idade; esperança de vida (e_x) para os indivíduos de idade x , calculada pela equação: $e_x = T_x/L_x$ e a porcentagem de risco ($100q_x$) que é a razão de mortalidade por intervalo de idade e indica a probabilidade de ocorrência de morte dos indivíduos antes do prazo estabelecido por e_x , sendo obtida pela equação: $100q_x = (d_x/L_x) \cdot 100$.

A tabela de vida de fertilidade foi calculada através dos valores de intervalos de idade em dias (x), fertilidade específica (m_x) que é o número de ovos que originarão fêmeas (razão sexual para 0,7 fêmeas) e probabilidade de sobrevivência (l_x). Foram calculados os valores da taxa líquida de reprodução (R_0) pela equação: $R_0 = \sum (m_x \cdot l_x)$; intervalo de tempo entre gerações (T): $T = (\sum m_x \cdot l_x \cdot x) / (\sum m_x \cdot l_x)$; a taxa intrínseca de crescimento (r_m): $r_m = \log R_0 / T = \ln R_0 / T$; taxa finita de aumento (λ): ($\lambda = e^{r_m}$); tempo necessário para a população duplicar em número de indivíduos (TD): ($TD = \ln(2)/r_m$).

Análise dos dados

As médias dos dados do período pré-imaginal e longevidade dos machos foram analisadas quanto a normalidade pelo teste de D'agostino, à homocedasticidade pelo teste de Hartley. Verificou-se que os pressupostos da ANOVA não foram atendidos e dessa forma, optou-se pela utilização do teste não-paramétrico Kruskal-Wallis seguido de Dunn ($p < 0,05$). Os dados de longevidade das fêmeas foram utilizados para a construção das curvas de sobrevivência por meio do estimador de Kaplan-Meier, as quais foram comparadas entre si utilizando-se o teste de log rank. Estas análises foram realizadas com o software estatístico SPSS versão 22 (IBM Armonk NY, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tempo de desenvolvimento

No intervalo de uma geração, o tempo de desenvolvimento das larvas foi mais acelerado em plena fotofase. O estágio de pré-pupa de *H. hebetor* criado em plena escotofase foi prolongado em comparação àqueles em fotofase de 12 e 24 h, sendo que os estágios de ovo e pupa não apresentaram diferenças estatísticas em função do fotoperíodo (Tabela 1). A duração do período ovo-adulto em plena escotofase foi significativamente maior que os períodos com fotofases de 12 e 24 h (Tabela 1).

Tabela 1. Tempo médio em dias (\pm DP) das fases de ovo, larva, pré-pupa, pupa e o ciclo total do desenvolvimento *Habrobracon hebetor* em larvas de *Ephestia kuehniella* em três fotoperíodos testados (0 h: n= 15, 12 h: n= 17 e 24 h: n= 12); (28 ± 2 °C e 50 ± 20 % UR)

	Fotofase		
	0 h	12 h	24 h
Ovo	1,40 \pm 0,338 a	1,35 \pm 0,343 a	1,33 \pm 0,246 a
Larva	3,20 \pm 0,254 a	3,26 \pm 0,400 a	2,96 \pm 0,258 b
Pré-pupa	2,30 \pm 0,316 a	1,97 \pm 0,374 b	1,83 \pm 0,246 b
Pupa	4,73 \pm 0,495 a	4,47 \pm 0,413 a	4,67 \pm 0,326 a
Total	11,63 \pm 0,442 a	11,06 \pm 0,300 b	10,79 \pm 0,257 b

Letras minúsculas diferentes na linha, diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis seguido de Dunn ($p < 0,05$)

Um menor tempo de desenvolvimento total em fotoperíodos com maior quantidade de luz (16 h) já havia sido referido para *H. hebetor* por Chen *et al.* (2012), entretanto, parasitando larvas de *P. interpunctella*. Os autores constataram que em 10, 13 e 16 h de fotofase durante a fase pré-imaginal, o tempo de desenvolvimento de *H. hebetor* diminuiu à medida que o fotoperíodo com fotofase aumentou, corroborando os resultados do presente estudo.

Oliveira *et al.* (1997) avaliando o período pré-imaginal de outro parasitoide da mesma família, *Apanteles militaris* (Walsh) (Hymenoptera: Braconidae) também observaram um aumento no tempo de desenvolvimento no fotoperíodo com 8 h de luz em oposto a fotoperíodos com mais horas de fotofase.

Uma fase pré imaginal mais rápida dos insetos, com mais horas de fotofase, como observado para *H. hebetor*, pode ser explicado, de acordo com Van Lenteren (1999) porque o sistema endócrino pode receber interferência do fotoperíodo, no qual longos períodos de luz durante o dia favorecem diretamente a ativação dos *corpora allata* e *corpora cardiaca*, liberando importantes hormônios com o juvenil e os ecdisteroides, o que acelera o desenvolvimento. Condições de dia com poucas horas de luz, podem levar a inativação das glândulas protorácicas, aumentando o tempo pré-imaginal ou ainda podendo induzir a diapausa nesse estágio, o que parece não ocorrer com *H. hebetor* (Saunders, 2014).

Provavelmente *H. hebetor* entre em diapausa na fase adulta para sincronizar com o desenvolvimento do seu hospedeiro *E. kuehniella*, que passa o inverno em diapausa no último instar larval (Coelho Junior, 2011). No início da primavera as larvas de *E. kuehniella* terminam a diapausa em seguida empupam, portanto, se *H. hebetor* entrasse

em diapausa como larva ou pupa, ele não seria capaz de encontrar e parasitar seu hospedeiro logo no início da primavera.

Parâmetros de esperança de vida

A longevidade máxima das fêmeas de *H. hebetor* foi de 18 dias de idade no tratamento T8, com média entre 9,2 a 11,7 dias de idade para os tratamentos T2 e T7 respectivamente (Tabela 2). Em relação a sobrevivência dos machos, eles foram menos longevos, apresentando valores entre 3,3 a 5,1 dias de idade nos tratamentos T9 e T1, nesta ordem (Tabela 2) e vivendo no máximo por sete dias em mais de um tratamento.

Tabela 2. Longevidade em dias (\pm DP) da idade de *Habrobracon hebetor* em nove diferentes combinações de fotoperíodos testados (n= 15); (28 ± 2 °C e 50 ± 20 % UR)

Tratamento	Fêmeas***ns	Machos***ns
T1	10,20 \pm 2,305 a	5,13 \pm 1,126 b
T2	9,20 \pm 3,052 a	4,07 \pm 1,033 b
T3	10,93 \pm 3,035 a	3,87 \pm 0,743 b
T4	11,40 \pm 1,724 a	4,87 \pm 1,552 b
T5	10,07 \pm 2,154 a	4,13 \pm 1,060 b
T6	10,13 \pm 2,475 a	4,20 \pm 0,862 b
T7	11,73 \pm 2,187 a	5,07 \pm 1,438 b
T8	11,60 \pm 2,613 a	4,93 \pm 1,033 b
T9	10,67 \pm 2,944 a	3,33 \pm 1,234 b

(T1) desenvolvimento e fase adulta em plena escotofase; (T2) desenvolvimento em plena escotofase e fase adulta em 12 h de fotofase; (T3) desenvolvimento em plena escotofase e fase adulta em 24 h de fotofase; (T4) desenvolvimento em 12 h de fotofase e fase adulta em plena escotofase; (T5) desenvolvimento e fase adulta em 12 h de fotofase; (T6) desenvolvimento em 12 h de fotofase e fase adulta em 24 h de fotofase; (T7) desenvolvimento em 24 h de fotofase e fase adulta em plena escotofase; (T8) desenvolvimento em 24 h de fotofase e fase adulta em 12 h de fotofase; (T9) desenvolvimento e fase adulta em 24 h de fotofase

Letras minúsculas diferentes na linha, diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis seguido de Dunn ($p < 0,05$)

**ns = não se obteve diferença significativa na longevidade de fêmeas entre tratamentos pelo teste de Log Rank ($p < 0,05$)

***ns = não se obteve diferença significativa na longevidade de machos entre tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis seguido de Dunn ($p < 0,05$)

Chen *et al.* (2012) avaliando *H. hebetor* sobre larvas de *P. interpunctella* também não observaram diferenças na longevidade dos adultos quando os parasitoides foram criados e expostos na fase adulta nos fotoperíodos 10:14; 13:11; 16:8 (fotofase: escotofase). No entanto, os mesmos autores também relataram que apesar de não haver diferença na longevidade, os parasitoides expostos na fase adulta a mais horas de escotofase possuíam

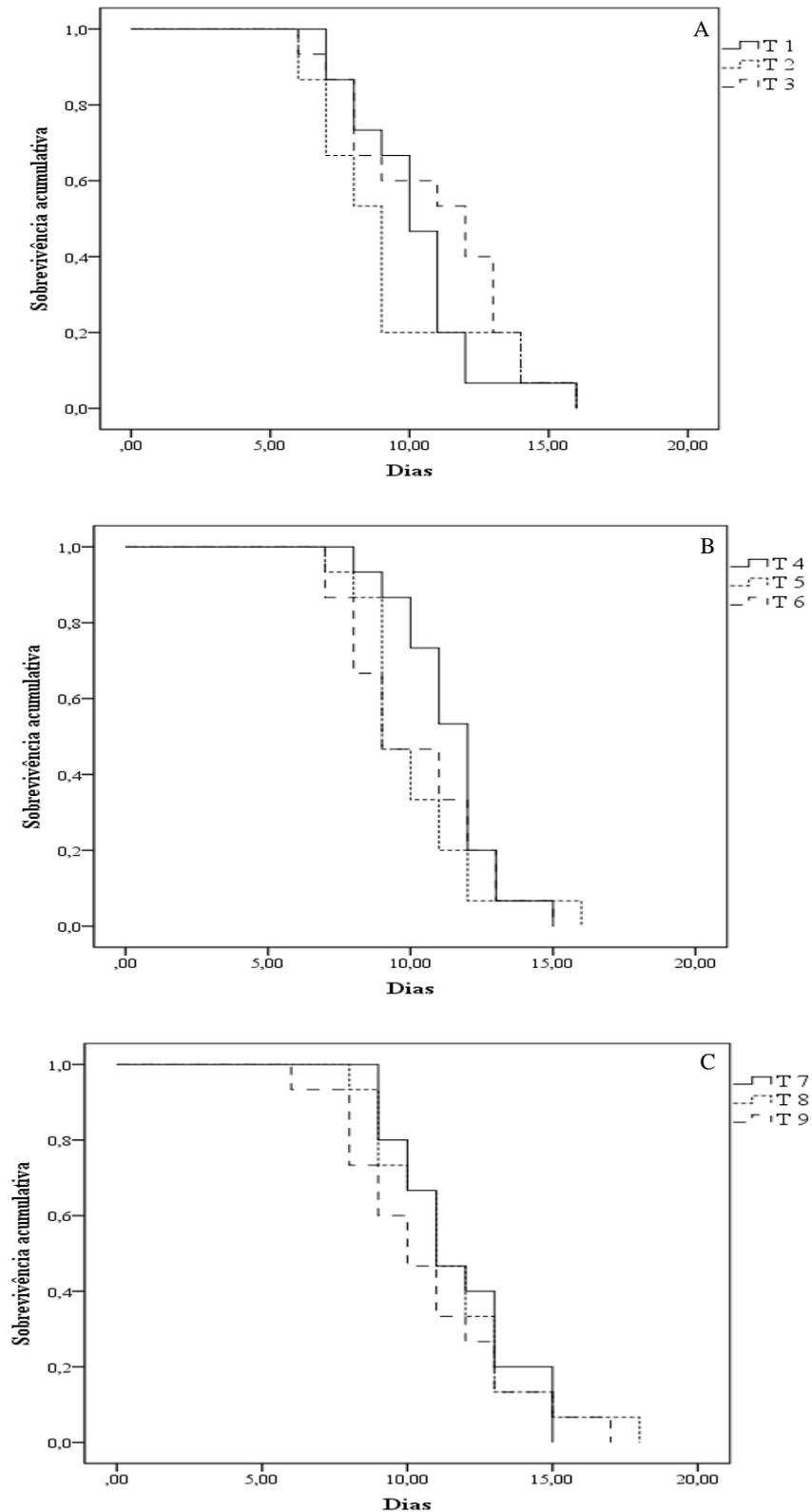
um número de indivíduos vivos no estágio inicial (E_x) por período mais prolongado do que aqueles com fotoperíodo de 16 h de fotofase.

Embora trabalhos clássicos como os de Jervis & Copland (1996) afirmem que o aumento das horas de luz durante o dia na fase adulta, é conhecido por encurtar a longevidade dos parasitoides e diminuir a sua fecundidade ao longo da vida, isso não foi registrado em nosso experimento. Autores que apoiam esta ideia, justificam a diminuição na longevidade pelo fato de que, com mais horas de luz os parasitoides apresentam maior atividade diária, como deslocamento, busca por hospedeiros e fuga de predadores do que em condições de maior tempo de escuro, diminuído assim a longevidade e fecundidade (Sahin & Ozkan, 2007). Porém como neste experimento *H. hebetor* encontrava-se em recipientes protegidos junto com os hospedeiros ele não tinha esse gasto energético, assim, ainda será preciso investigar este aspecto em condições mais próximas às de campo.

A mortalidade (d_x) das fêmeas de *H. hebetor* iniciou a partir de diferentes idades entre os fotoperíodos estudados. Fêmeas provenientes de 0, 12 e 24 h de fotofase durante o desenvolvimento e expostas a plena escotofase na fase adulta, começaram a morrer aos 6, 7 e 8 dias de idade respectivamente. Naquelas expostas a fotofase de 12 e 24 h na fase adulta, independente do fotoperíodo de origem, a d_x iniciou antes, a partir do 5º e 6º dia (Figura 1 A-C).

O resultado do teste de log-rank demonstrou que a mortalidade das fêmeas oriundas de plena escotofase e em 12 e 24 h de fotofase, e expostas na fase adulta as diferentes combinações (0, 12 e 24 h) não foram significativamente afetadas pelo fotoperíodo ($\chi^2= 1,668$; gl= 2; p= 0,434), ($\chi^2 = 1,965$; gl= 2; p= 0,374) e ($\chi^2 = 1,063$; gl= 2; p= 0,588) respectivamente.

Apesar de não haver diferença significativa entre a longevidade nos diferentes fotoperíodos testados, como proposto por Jervis & Copland (1996) como comportamento comum de muitos insetos frente a esse fator abiótico, o número de fêmeas vivas no estágio inicial (E_x) foi mais prolongado nas expostas a escotofase na fase adulta, havendo, após, probabilidade de morte ($100q_x$) mais acentuada entre o 9º e 11º dia, o mesmo já observado por Chen *et al.* (2012). Nos fotoperíodos com fotofase (12 ou 24 h) durante a fase adulta a probabilidade de morte ($100q_x$) iniciou mais cedo (entre o 5º e 6º dia) com uma mortalidade (d_x) distribuída de forma mais homogênea ao longo dos dias.



A: fase pré-imaginal em escotofase e fase adulta em fotofase de 0 h (T1), 12 h (T2) e 24 h (T3); B: fase pré-imaginal em fotofase de 12 h e fase adulta em fotofase de 0 h (T4), 12 h (T5) e 24 h (T6); C: fase pré-imaginal em fotofase de 24 h e fase adulta em fotofase de 0 h (T7), 12 h (T8) e 24 h (T9)

Figura 1. Curvas de sobrevivência de fêmeas de *Habrobracon hebetor* em nove diferentes combinações de fotoperíodos testados (n= 15); (28 ± 2 °C e 50 ± 20 % UR)

Outros parasitoides de *E. kuenhiella* apresentaram respostas diferentes ao fotoperíodo. *Venturia canescens* (Gravenhorst) (Hymenoptera: Ichneumonidae) por exemplo, é um ectoparasitoide larval, que apresenta maior longevidade em condição de plena escotofase segundo Sahin & Ozkan (2007). Os autores sugerem que nestas condições as fêmeas usem a energia mais efetivamente do que no período com luz, garantindo assim maior longevidade. No presente trabalho, entretanto, isso não ocorreu, sugerindo que os mecanismos utilizados por *H. hebetor* sejam diferentes da espécie citada acima.

Em oposto, *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitando ovos de *E. kuenhiella*, em diferentes regimes de fotofase: escotofase apresentaram tendência de crescimento quadrático na longevidade com o aumento do número de horas de luz (Calvin *et al.*, 1984; Zart *et al.*, 2012). Shirazi (2006) observou a mesma tendência no aumento da longevidade de *Trichogramma chilonis* Ishii com mais horas de luz. Desta forma, infere-se que os parasitoides de ovos de *E. kuenhiella* tendem a viver mais em ambientes com mais luminosidade, diferente de parasitoides de larvas.

Assim, considera-se que embora para algumas espécies de parasitoides a longevidade seja maior ou menor em dias com menos ou mais horas luz durante a fase adulta (Oliveira *et al.*, 1997; Zart *et al.*, 2012), existem espécies como *H. hebetor* para a qual não se verifica essa relação direta entre o fotoperíodo e a longevidade. Mesmo assim, a definição da adequada condição de fotoperíodo é imprescindível em criações massais de parasitoides, para que eles expressem ao máximo a capacidade reprodutiva, porém, que estejam em condições próximas ao natural, com equilíbrio de horas de luz e escuro.

O fotoperíodo, no entanto, pode influenciar em outros parâmetros relacionados ao comportamento dos parasitoides, não apenas na longevidade diretamente. Em relação ao comportamento de voo por exemplo, Ozkan (2007) observou que em plena escotofase *V. canescens* tinha baixa atividade de voo. Scott & Barlow (1984) já haviam verificado que esta espécie não exibia atividades normais durante a escotofase, movendo-se lentamente e raramente voando. Este aspecto não foi avaliado em nosso trabalho, mas pode ter uma influência indireta sobre a longevidade.

Reznik & Vaghina (2006, 2007) já haviam relatado para *Trichogramma principium* Sugonyaev & Sorokina (Hymenoptera: Trichogrammatidae) que o fotoperíodo possui efeito direto na disposição de ovipositar e indireto na fecundidade e sobrevivência, sugerindo que a retenção de ovos influencie na longevidade.

A esperança de vida estimada (e_x) de fêmeas de *H. hebetor* no decorrer dos dias decaiu com o aumento da idade dos parasitoides. No início da fase adulta a e_x das fêmeas com

plena escotofase durante o desenvolvimento e após na fase adulta com 0, 12 e 24 h de fotofase foi de 8,7; 7,7; 9,4 dias respectivamente. Aquelas oriundas de 12 h de fotofase e exposta em 0, 12 e 24 h de fotofase na fase adulta foi de 9,9; 8,5; 8,6 dias, nesta ordem. Por fim, as expostas a plena fotofase durante o período pré-imaginal, foi de 10,2 dias em plena escotofase na fase adulta, 10,1 e 9,2 dias em 12 e 24 h de fotofase respectivamente.

Desta forma, pode-se observar que as diferentes combinações de fotoperíodo tanto na fase imatura como na adulta não apresentam grande interferência na (e_x) de *H. hebetor*. A tendência da contínua diminuição da sobrevivência (L_x) e da (e_x) com o aumento gradual da frequência de risco de mortalidade dentro de cada faixa etária de *H. hebetor*, pode ser considerada natural e possivelmente relacionada à idade e ao final do ciclo vital, o que é comum para a maioria dos insetos (Southwood & Henderson, 2000).

Registrou-se que para estes parâmetros avaliados, *H. hebetor* é capaz de se desenvolver adequadamente independente do fotoperíodo estabelecido.

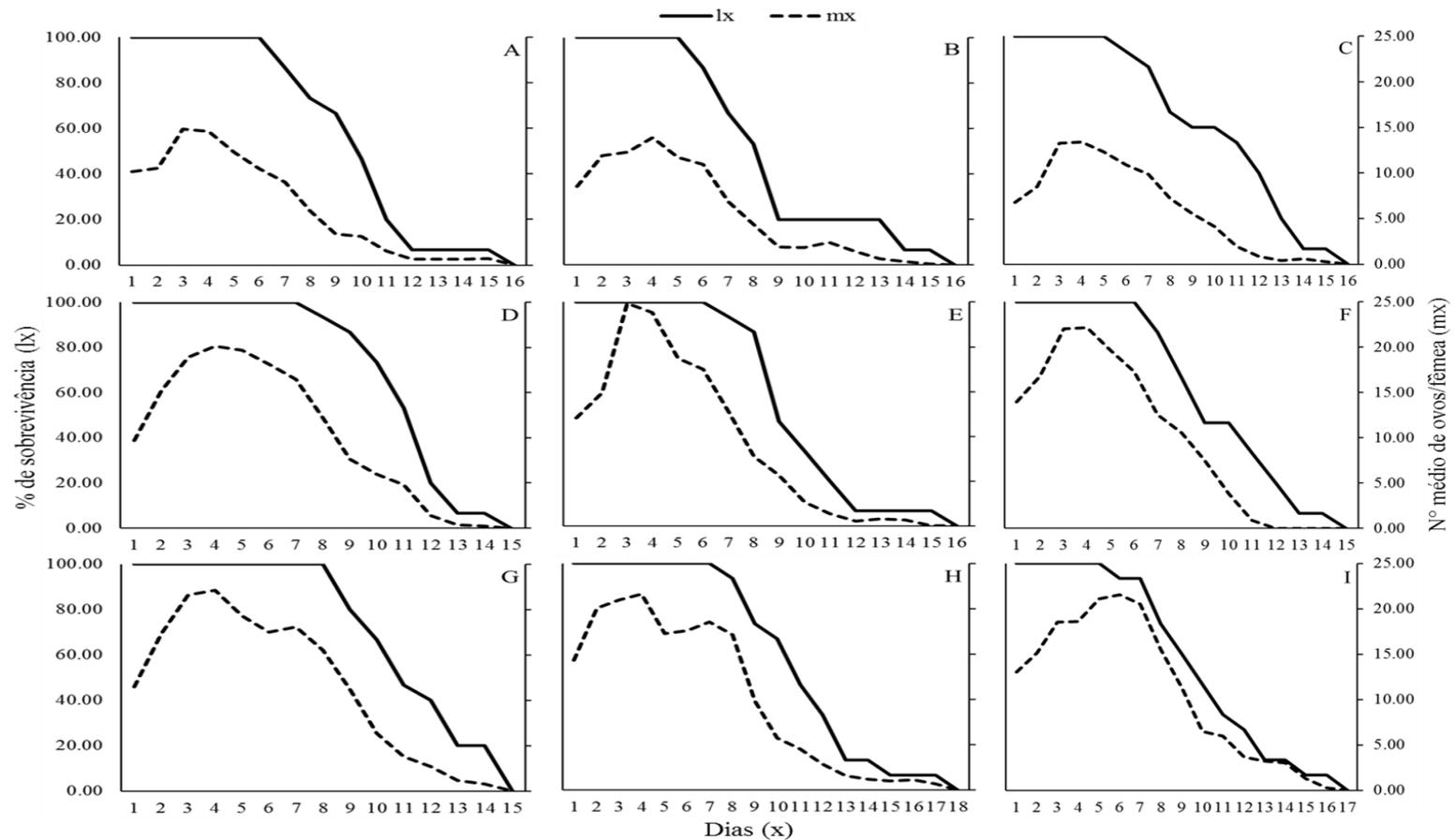
Tabela de fertilidade

Fêmeas de *H. hebetor* iniciam a cópula no mesmo dia em que ocorreu a sua emergência, possuindo assim, um período pré-reprodutivo inferior a 24 h (Figura 2), sem haver diferença em relação ao fotoperíodo, o que corrobora os dados de Chen *et al.* (2012) que registraram oviposição desta mesma espécie em *P. interpunctella* nas primeiras 24 h de observação após a emergência.

Parasitoides de ovos de *E. kuehniella*, entretanto, podem apresentar respostas diferenciadas nos parâmetros reprodutivos em relação ao fotoperíodo, como ficou evidenciado no trabalho de Reznik & Vaghina (2007) que observaram que em fotofase de 3 h aumentava o período de pré-oviposição de *T. principium* enquanto que, sob fotoperíodo com mais luz este diminuía e, conseqüentemente a porcentagem acumulativa de oviposição de fêmeas aumentava.

Em outro trabalho, Reznik *et al.* (2003) atribuem isto a um processo de retenção de ovos que pode manifestar-se como um atraso na oviposição ou como uma recusa em ovipositar em função da ausência de luz, comportamento não observado em *H. hebetor*.

A ausência de oviposição é um dos fatores que pode indicar a indução da diapausa reprodutiva em fêmeas de parasitoides, podendo, esta ser influenciada pelo fotoperíodo (Saunders, 2014). A diapausa reprodutiva adulta pode ocorrer em condições de dias curtos e baixas temperaturas e pode terminar a partir do momento onde as condições ambientais se tornam favoráveis (Košťál, 2011).



A (T1) desenvolvimento e fase adulta em plena escotofase; B (T2) desenvolvimento em plena escotofase e fase adulta em 12 h de fotofase; C (T3) desenvolvimento em plena escotofase e fase adulta em 24 h de fotofase; D (T4) desenvolvimento em 12 h de fotofase e fase adulta em plena escotofase; E (T5) desenvolvimento e fase adulta em 12 h de fotofase; F (T6) desenvolvimento em 12 h de fotofase e fase adulta em 24 h de fotofase; G (T7) desenvolvimento em 24 h de fotofase e fase adulta em plena escotofase; H (T8) desenvolvimento em 24 h de fotofase e fase adulta em 12 h de fotofase; I (T9) desenvolvimento e fase adulta em 24 h de fotofase

Figura 2. Número médio estimado de ovos/fêmea (mx) e porcentagem estimada de sobrevivência (lx) de fêmeas de *Habrobracon hebetor* em larvas de *Ephestia kuehniella* em nove diferentes combinações de fotoperíodos testados (n= 15); (28 ± 2 °C e 50 ± 20 % UR)

A maior taxa de fecundidade média específica (m_x) ocorreu entre o 3° e 4° dia de idade, exceto no tratamento T9 que foi no 6° dia (Figura 2). A m_x estimada para o pico de oviposição ficou entre $13,4 \pm 5,33$ e $24,9 \pm 6,22$ (ovos/fêmea/dia) para as diferentes combinações de fotoperíodo avaliados (Figura 2).

As m_x estimadas indicam maior fertilidade para aqueles indivíduos desenvolvidos em 12 ou 24 h de fotofase (superior a 20 ovos/fêmea/dia), já que o número médio da m_x daqueles com origem de 0h de fotofase foram inferiores a 15 (ovos/fêmea/dia). Para Park *et al.* (1999) esta redução do número de ovos pode ser explicada pelo aumento do período de pré-oviposição das vespas criadas em poucas horas de luz, o que não foi o caso de *H. hebetor*, que não teve uma interrupção na oviposição, apenas uma redução.

Conforme Chen *et al.* (2012) fêmeas de *H. hebetor* criadas em dias curtos com 10 h de fotofase levaram mais tempo para colocar seus ovos em larvas de *P. interpunctella* e ovipositaram 50% dos ovos em comparação com aquelas criadas em 16 h de fotofase, mesma tendência observada no presente estudo. Assim, fêmeas criadas durante o estágio imaturo com dias mais curtos parecerem entrar em diapausa reprodutiva na fase adulta.

Diferente da espécie testada neste trabalho, *Trichogramma dendrolimi* Matsumura (Hymenoptera: Trichogrammatidae), parasitando ovos de *Antheraea pernyi* (Lepidoptera: Saturniidae) teve o pico de oviposição no primeiro dia de contato com o hospedeiro (Park *et al.*, 1999), talvez por ter longevidade menor que *H. hebetor*. Entretanto, os autores também registraram fecundidade menor nas fêmeas providas de escotofases mais longas (16 h) em relação as que eram expostas a maior período de luz.

Ao comparar os valores da taxa líquida de reprodução (R_0), ou seja, a capacidade da população aumentar em número a cada geração, os valores foram maiores nos fotoperíodos com fotofase em relação com períodos em plena escotofase durante o desenvolvimento (Tabela 3). Os valores da R_0 chegaram a dobrar nos fotoperíodos com fotofase, podendo o período com mais luz ser considerado o mais adequado para o desenvolvimento populacional de *H. hebetor*. Isso era esperado tendo em vista que em outro estudo realizado com esta espécie, Lum & Flaherty (1973) indicaram a possibilidade do fotoperíodo com luz contínua poder influenciar na produção e maturação dos oócitos que são controlados por hormônios já citados anteriormente por influenciarem também no desenvolvimento do parasitoide. Por outro lado, sabe-se que a R_0 é calculada a partir da quantidade e viabilidade de ovos, estando relacionada com a produção de oócitos e esta depende da ingestão de nutrientes (proteínas), que são normalmente obtidos a partir do hospedeiro (Quicke, 2015).

Tabela 3. Parâmetros de tabela de vida de fertilidade de *Habrobracon hebetor* em larvas de *Ephestia kuehniella* em nove diferentes combinações de fotoperíodos testados (n= 15); (28 ± 2 °C e 50 ± 20 % UR)

Tratamentos	R ₀	T	r _m	TD	λ
T1	27,86	14,35	0,23	2,99	1,26
T2	22,90	14,06	0,22	3,11	1,25
T3	25,52	14,82	0,22	3,17	1,24
T4	57,40	15,06	0,27	2,58	1,31
T5	56,39	14,35	0,28	2,47	1,32
T6	52,71	14,35	0,28	2,51	1,32
T7	63,73	15,10	0,28	2,52	1,32
T8	61,24	14,96	0,28	2,52	1,32
T9	58,83	15,06	0,27	2,56	1,31

(T1) desenvolvimento e fase adulta em plena escotofase; (T2) desenvolvimento em plena escotofase e fase adulta em 12 h de fotofase; (T3) desenvolvimento em plena escotofase e fase adulta em 24 h de fotofase; (T4) desenvolvimento em 12 h de fotofase e fase adulta em plena escotofase; (T5) desenvolvimento e fase adulta em 12 h de fotofase; (T6) desenvolvimento em 12 h de fotofase e fase adulta em 24 h de fotofase; (T7) desenvolvimento em 24 h de fotofase e fase adulta em plena escotofase; (T8) desenvolvimento em 24 h de fotofase e fase adulta em 12 h de fotofase; (T9) desenvolvimento e fase adulta em 24 h de fotofase

R₀: Taxa líquida de reprodução, T: tempo entre gerações, r_m: taxa intrínseca de crescimento, TD: tempo de duplicação, λ: taxa finita de aumento

Embora o número de oócitos de fêmeas de *H. hebetor* não tenha sido avaliado, esse aspecto pode ter influência direta sobre a oviposição. Chen *et al.* (2012) já haviam observado essa associação quando verificaram que o número de oócitos presentes nos ovários de *H. hebetor* criadas com 10 h de fotofase era menor quando comparados com criadas em 16 h de fotofase. Essa mesma relação foi confirmada na oviposição, em que fêmeas de *H. hebetor* criadas com maior fotofase parasitando larvas *P. interpunctella* colocaram mais ovos do que aquelas criadas com menor fotofase, independente do fotoperíodo da fase adulta, o que confirma a ligação do fotoperíodo na fase de desenvolvimento deste parasitoide com a produção dos ovos e a oviposição.

Levando em conta a fase adulta, houve tendência de maior R₀ em plena escotofase, o que já havia sido observado para outro parasitoide de *E. kuehniella*, *V. canescens* que, apesar de ser um parasitoide diurno, apresentou um aumento na quantidade de ovos em plena escotofase (Ozkan, 2007). Sahin & Ozkan (2007) trabalhando com a mesma espécie anteriormente citada, indicaram que a intensidade da luz também pode afetar o número de ovos colocados, sendo que de 2000 para 5000 lux de intensidade o número de ovos diminuiu. A intensidade, entretanto, não foi medida em nosso estudo.

Quanto à duração média em dias de uma geração (T), houve pequenas alterações nos fotoperíodos, estando entre 14,1 e 15,9 dias (Tabela 3). A taxa intrínseca de crescimento (r_m) apresentou valores positivos em todos os fotoperíodos, evidenciando aumentos populacionais diferenciados para as populações avaliadas em todos os tratamentos com uma tendência maior das fêmeas oriundas de 12 e 24 h de fotofase. O tempo de duplicação (TD) também variou entre os fotoperíodos avaliados (Tabela 3).

Pode-se observar uma amplificação na razão finita de aumento (λ) e/ou taxa de crescimento diário da população naquelas provenientes da fase imatura com fotofase de 12 ou 24 h, quando comparadas a parasitoides provenientes de escotofase (Tabela 3).

Considerando-se que a r_m e a λ são variáveis ligadas a fecundidade e fertilidade, os seus aumentos nos tratamentos com fotofase na fase pré-imaginal condizem com o aumento da R_0 . Isso confirma também a influência do fotoperíodo na fase de desenvolvimento das fêmeas com o aumento da geração seguinte pois já se conhecia que as condições de luz na fase pré-imaginal de *H. hebetor* em larvas de *P. interpunctella* eram responsáveis pela produção e maturação dos oócitos (Lum & Flaherty, 1973).

CONCLUSÕES

Habrobracon hebetor mantido durante a fase pré-imaginal com 12 e 24 h de luz, no intervalo de uma geração, se desenvolveu mais rápido do que na plena escotofase, no entanto, o fotoperíodo não interferiu na longevidade de machos e fêmeas.

O aumento populacional de *H. hebetor* maior é potencializado quando os insetos são mantidos em regimes de fotoperíodo durante a fase pré-imaginal acima de 12 h de luz, independente das condições de luz na fase adulta, incrementando a fecundidade.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida ao primeiro autor e pelo auxílio financeiro com verba do projeto MCTI/CT-Agronegócio/CNPq nº 38/2013. A *Japan Tobacco International* (JTI) pelo apoio financeiro.

LITERATURA CITADA

Athié, I.; Paula, D. C. de Insetos de grãos armazenados: aspectos biológicos e identificação, 2ª ed. São Paulo: Varela, 2002. 244p.

- Beck, S. D. Insect photoperiodism, 2nd ed. New York: Academic Press, 1980. 387p.
- Calvin, D. D.; Knapp, M. C.; Welch, S. M. Impact of environmental factors on *Trichogramma pretiosum* reared on southwestern corn borer eggs. *Environmental Entomology*, v.13, n.3, p.774-780, 1984. <https://doi.org/10.1093/ee/13.3.774>.
- Chen, H.; Zhang, H.; Zhu, K. Y.; Throne, J. E. Induction of reproductive diapause in *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) when reared at different photoperiods at low temperatures. *Environmental Entomology*, v.41, n.3, p.697-705, 2012. <https://doi.org/10.1603/EN11311>.
- Coelho Filho, A. Otimização da criação de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), hospedeiro alternativo de *Trichogramma* spp., baseando-se na temperatura, densidade larval e concentração de dióxido de carbono. Piracicaba: Universidade de São Paulo; Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2011. 81p. Dissertação de Mestrado.
- Cruz, I.; Figueiredo, M. L. C.; Matoso, M. J. Controle Biológico de *Spodoptera frugiperda* utilizando o parasitoide de ovos *Trichogramma*. Sete Lagoas: Embrapa, 1999. 40p.
- Fantinou, A. A.; Perdikis, D. C. H.; Zota, K. F. Reproductive responses to photoperiod and temperature by diapausing and nondiapausing populations of *Seasmia nonagrioides* Lef. (Lepidoptera - Noctuidae). *Physiological Entomology*, v.29, n.2, p.169-175, 2004. http://www.aua.gr/fantinou/papdf/2004_12.pdf. 20 Jan. 2017.
- Farag, N. A.; Ismail, I. A.; Elbehery, H. H. A.; Abdel-Rahman, R. S.; Abdel-Raheem, M. A. Life table of *Bracon hebetor* Say. (Hymenoptera: Braconidae) reared on different hosts. *International Journal of ChemTech Research*, v.8, n.9, p.123-130, 2015. [http://sphinxsai.com/2015/ch_vol8_no9/1/\(123-130\)V8N9CT.pdf](http://sphinxsai.com/2015/ch_vol8_no9/1/(123-130)V8N9CT.pdf). 16 Dez. 2016.
- Grieshop, M. J.; Flinn, P. W.; Nechols, J. R. Biological control of indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) on finished stored products using egg and larval parasitoids. *Journal of Economic Entomology*, v.99, n.4, p.1080-1084, 2006. <http://dx.doi.org/10.1603/0022-0493-99.4.1080>.
- Guedes, J. V. C.; Costa, I. F. D. da Guia de identificação e manejo integrado das pragas e doenças do fumo. Santa Maria: Orium, 2006. 88p.

Gullan, P. J.; Cranston, P. S. Os Insetos: um resumo de entomologia, 4ª ed. São Paulo: Roca, 2012. 496p.

Ibm Corporation Released IBM SPSS Statistics for windows, version 22.0. New York: Armonk, 2013. <http://www.ibm.com/contact/us/en/>. 25 Out. 2016.

Jervis, M. A.; Copland, M. J. W. The life cycle. In: Jervis, M. A.; Kidd, N. (Eds.). Insect natural enemies - Practical approaches to their study and evaluation. London: Chapman & Hall, 1996. p. 63-161.

Kakde, A. M.; Patel, K. G.; Tayade, S. Role of life table in insect pest management - A review. Journal of Agriculture and Veterinary Science, v.7, n.1, p.40-43, 2014. <http://www.iosrjournals.org/iosr-javs/papers/vol7-issue1/Version-1/G07114043.pdf>. 11 Set. 2016.

Košťál, V. Insect photoperiodic calendar and circadian clock: independence, cooperation, or unity? Journal of Insect Physiology, v.57, n.5, p.538-556, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2010.10.006>.

Loeck, A. E. Praga de Produtos Armazenados. Pelotas: Egufpel, 2002. 113p.

Lorini, I. Insetos que atacam grãos de soja armazenados. In: Hoffmann-Campo, C. B.; Corrêa-Ferreira, B. S.; Moscardi, F. (Eds.). Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Brasília: Embrapa, 2012. p. 421-444.

Lorini, I.; Krzyzanowski, F. C.; França-Neto, J. de B.; Henning, A. A.; Henning, F. A. Manejo Integrado de Pragas de Grãos e Sementes Armazenadas. Brasília: Embrapa, 2015. 84p.

Lum, P. T. M.; Flaherty, B. R. Influence of continuous light on oöcyte maturation in *Bracon hebetor*. Annals of the Entomological Society of America, v.66, n.2, p.355-357, 1973. <https://doi.org/10.1093/aesa/66.2.355>.

Oliveira, L.; Melo, R.; Tavares, J. Influence of photoperiod on biology of *Apanteles militaris* (Hymenoptera: Braconidae). Boletín de la Asociación Española de Entomología, v.21, n.1, p.47-52, 1997. <http://www.entomologica.es/cont/publis/boletines/1167.pdf>. 22 Dez. 2016.

Ozkan, C. Effect of food, light and host instar on the egg load of the synovigenic endoparasitoid *Venturia canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Journal of Pest Science*, v.80, n.2, p.79-83, 2007. <https://doi.org/10.1007/s10340-006-0155-4>.

Park, Y. K.; Lee, H. P.; Lee, K. S.; Han, M. W.; Lee, J. O. Effect of photoperiod on oviposition and emergence of egg parasitoid, *Trichogramma dendrolimi* Matsumura (Hymenoptera, Trichogrammatidae). *Korean Journal of Applied Entomology*, v.38, n.2, p.93-99, 1999. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5967.2008.00143.x>

Pinto, A. S.; Parra, J. R. P. Liberações de inimigos naturais. In: Parra, J. R. P.; Botelho, P. S. M.; Corrêa-Ferreira, B. S.; Bento, J. M. S. (Eds.). *Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores*. São Paulo: Manole, 2002. p. 325-342.

Pratissoli, D.; Fornazier, M. J.; Holtz, A. M.; Gonçalves, J. R.; Chioramital, A. B.; Zago, H. B. Ocorrência de *Trichogramma pretiosum* em áreas comerciais de tomate, no Espírito Santo, em regiões de diferentes altitudes. *Horticultura Brasileira*, v.21, n.1, p.73-76, 2003. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362003000100015>.

Pratissoli, D.; Pereira, F. F.; Barros, R.; Parra, J. R. P.; Pereira, C. L. T. Parasitismo de *Trichogramma pretiosum* em ovos da traça-das-crucíferas sob diferentes temperaturas. *Horticultura Brasileira*, v.22, n.4, p.754-757, 2004. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362004000400017>.

Quicke, D. L. J. *The Braconid and Ichneumonid Parasitoid Wasps: Biology, Systematics, Evolution and Ecology*. Chichester: Wiley-Blackwell, 2015. 794p.

Reznik, S. Y.; Umarova, T. Y.; Voinovich, N. D. Egg retention in *Trichogramma* (Hymenoptera: Chalcidoidea: Trichogrammatidae): Learning or diapause? *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae*, v.67, n.1, p.25-33, 2003. [http://www.mzp.cz/ris/ekodisknew.nsf/3c715bb7027b1c65c1256bb3007b7af2/02113695765e400ec125708e00332128/\\$FILE/str.%2025-33.pdf](http://www.mzp.cz/ris/ekodisknew.nsf/3c715bb7027b1c65c1256bb3007b7af2/02113695765e400ec125708e00332128/$FILE/str.%2025-33.pdf). 3 Jan. 2017.

Reznik, S. Y.; Vaghina, N. P. Temperature effects on induction of parasitization by females of *Trichogramma principium* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). *Entomological Review*, v.86, n.1, p.133-138, 2006. <http://dx.doi.org/10.1134/S0013873806020023>.

Reznik, S. Y.; Vaghina, N. P. Effect of photoperiod on parasitization by *Trichogramma principium* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *European Journal of Entomology*, v.104, n.4, p.705-713, 2007. <http://dx.doi.org/10.14411/eje.2007.089>.

Rossi, M. M. As interrupções no desenvolvimento de *Trichogramma*. In: Parra, J. R. P.; Zucchi, R. A. (Eds.). *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba: Fealq, 1997. p. 151-172.

Sahin, A. K.; Ozkan, C. Effect of light on the longevity and fecundity of *Venturia canescens* (Gravenhorst) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Pakistan Journal of Zoology*, v.39, n.5, p.315-319, 2007. [http://zsp.com.pk/pdf3/315-319%20\(7\).pdf](http://zsp.com.pk/pdf3/315-319%20(7).pdf). 30 Dez. 2016.

Saunders, D. S. Insect photoperiodism: effects of temperature on the induction of insect diapause and diverse roles for the circadian system in the photoperiodic response. *Entomological Science*, v.17, n.1, p.25-40, 2014. <http://dx.doi.org/10.1111/ens.12059>.

Scott, S. M.; Barlow, C. A. Effect of prey availability during development on reproductive output of *Metasyrphus corollae* (Diptera: Syrphidae). *Environmental Entomology*, v.13, n.3, p.669-674, 1984. <https://doi.org/10.1093/ee/13.3.669>.

Shirazi, J. Effect of temperature and photoperiod on the biological characters of *Trichogramma chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, v.9, n.5, p.820-824, 2006. <http://dx.doi.org/10.3923/pjbs.2006.820.824>.

Silveira Neto, S.; Nakano, O.; Bardin, D.; Villa Nova, N. A. *Manual de ecologia dos insetos*. São Paulo: Agronômica Ceres, 1976. 419p.

Southwood, T. R. E.; Henderson, P. A. *Ecological Methods*, 3^a edition. Oxford: Blackwell Science, 2000. 575p.

Tommasini, M. G.; Van Lenteren, J. C. Occurrence of diapause in *Orius laevigatus*. *Bulletin of Insectology*, v.56, n.2, p.225-251, 2003. <http://www.bulletinofinsectology.org/pdfarticles/vol56-2003-225-251tommasini.pdf>. 10 Mar. 2017.

Van Lenteren, J. C. Fundamental knowledge about insect reproduction: essential to develop sustainable pest management. *Invertebrate Reproduction and Development*, v.36, n.1/3, p.1-15, 1999. <http://dx.doi.org/10.1080/07924259.1999.9652672>.

Zart, M.; Bernardi, O.; Nunes, A. M.; Andersson, F. da S.; Manfredi-Coimbra, S.; Busato, G. R.; Garcia, M. S. Influência do fotoperíodo e da densidade de ovos de *Anagasta kuenhiella* (Zeller) sobre aspectos biológicos e parasitismo de ovos por *Trichogramma pretiosum* Riley. *EntomoBrasilis*, v.5, n.2, p.115-119, 2012. <http://dx.doi.org/10.12741/ebrasilis.v5i2.197>.

4 ARTIGO 2

Efeito do fotoperíodo na capacidade de paralisação, parasitismo e viabilidade de
Habrobracon hebetor (Hymenoptera: Braconidae) em larvas de *Ephestia kuehniella*
(Lepidoptera: Pyralidae)*

*Artigo configurado segundo as normas da Revista Ciência e Agrotecnologia

**EFEITO DO FOTOPERÍODO NA CAPACIDADE DE PARALISAÇÃO,
PARASITISMO E VIABILIDADE DE *Habrobracon hebetor* (HYMENOPTERA:
BRACONIDAE) EM LARVAS DE *Ephestia kuehniella* (LEPIDOPTERA:
PYRALIDAE)**

**EFFECT OF PHOTOPERIOD ON PARALYZATION ABILITY, PARASITISM
AND VIABILITY OF *Habrobracon hebetor* (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)
ON LARVAE OF *Ephestia kuehniella* (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)**

Cleder Pezzini^{1*}

Simone Mundstock Jahnke²

Andreas Köhler³

Emanuela Somavilla³

RESUMO

Fatores abióticos tais como temperatura, umidade e fotoperíodo, podem interferir em diferentes aspectos da biologia dos parasitoides. Objetivou-se nessa pesquisa avaliar a paralisação, o parasitismo e o sucesso reprodutivo de *Habrobracon hebetor* expostos a diferentes fotoperíodos. Os parasitoides desenvolveram-se durante a fase pré-imaginal em três diferentes fotoperíodos (claro/escuro) 24:0, 12:12 e 0:24, sendo que os adultos oriundos de cada um dos tratamentos ficaram expostos a 0, 12 e 24 horas de fotofase,

¹Biólogo Mestrando em Fitotecnia (Sanidade Vegetal), Universidade Federal do Rio Grande do Sul/UFRGS. Rua Bento Gonçalves, 7712 Agronomia, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

²Universidade Federal do Rio Grande do Sul/UFRGS, Departamento de Fitossanidade, Porto Alegre, RS, Brasil.

³Universidade de Santa Cruz do Sul/UNISC, Departamento de Biologia e Farmácia, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil.

* Autor correspondente: cleder.pezzini@hotmail.com

perfazendo 9 tratamentos. Um casal de parasitoide foi inserido por placa de Petri contendo 10 larvas de quinto instar de *Ephestia kuehniella*, sendo que a cada 24 horas eram retirados e transferidos para uma nova placa com 10 larvas, até a morte da fêmea. Foram avaliados diariamente o número de larvas paralisadas, parasitadas e o número ovos, sendo mantidos nas mesmas condições de fotoperíodos para verificar a viabilidade (%) de cada fase do desenvolvimento. A quantidade de larvas paralisadas foi sempre superior à de parasitadas com máximo de parasitismo entre o 2º e 4º dia de idade. O parasitismo acumulado atingiu 80%, entre o 6º e 8º dia de idade, independente do fotoperíodo. O número médio de sobreviventes em cada fase do desenvolvimento foi maior na prole das fêmeas oriundas de plena fotofase sendo que houve um acréscimo no número médio total de ovos produzidos por estas. Entretanto, entre os tratamentos, a viabilidade final não foi afetada considerando a proporção de oviposição inicial. O fotoperíodo na fase adulta não influenciou diretamente o desempenho de *H. hebetor*.

Termos para indexação: Controle biológico; fotofase; parasitoide; mortalidade.

ABSTRACT

Abiotic factors such as temperature, humidity and photoperiod may interfere in different aspects of parasitoid biology. The objective of this study was to evaluate the paralyzation, parasitism and reproductive success of *Habrobracon hebetor* exposed to different photoperiods. Parasitoids developed during pre-imaginal stage in three different photoperiods (light/dark) 24:0, 12:12 and 0:24, and then adults from each treatment were exposed to 0, 12 and 24 hours of photophase, totalizing 9 treatments. One parasitoid couple was placed in a Petri dish containing 10 fifth instar larvae of *Ephestia kuehniella*, being removed after each 24 hours and then transferred to a new dish with 10 larvae, until female death. It was evaluated daily the number of paralyzed, parasitized larvae and eggs, maintained in the same conditions of photoperiods, to verify the viability (%) of each

development stage. The amount of paralyzed larvae was always higher than parasitized, with a maximum parasitism between the 2nd and 4th day of age. Accumulated parasitism reached 80% between the 6th and 8th day of age, regardless of photoperiod. Medium number of survivors at each development stage was higher in the progeny of females kept in complete photophase, with an increase of eggs produced by them. However, between treatments, the final viability was not affected considering the proportion of initial oviposition. The photoperiod in adult stage did not influence the performance of *H. hebetor*.

Index terms: Biological control; photophase; parasitoid; mortality.

INTRODUÇÃO

A extensão dos danos e perdas na pós-colheita causadas por insetos, como lepidópteros pertencentes a Pyralidae, nos produtos armazenados e seus derivados são difíceis de quantificar (Faroni, 1992). Esses podem ser considerados de variadas formas, como perda de peso, diminuição da qualidade nutricional, da viabilidade de sementes e outras (Loeck, 2002; Lorini et al., 2010).

As estratégias de controle desses pirálídeos dependem basicamente de produtos químicos. Porém, existem algumas limitações do uso destas substâncias como a presença de resíduos (Benhalima et al., 2004; Lorini et al., 2015). Estas condições levaram a demanda por estratégias de manejo alternativas particularmente aquelas baseadas no controle biológico (Lorini, 2008).

Existe uma variedade de parasitoides que são conhecidos como inimigos naturais de pragas de produtos armazenados embora, muitas vezes as citações limitem-se apenas à identificação do agente (Lorini et al., 2015). *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) é um ectoparasitoide, que comumente ataca várias espécies de lagartas de

Pyralidae presentes em ambiente de armazenagem (Athié; Paula, 2002; Dabhi; Korat; Vaishnav, 2013).

Na Europa *H. hebetor* já vem sendo comercializado pela empresa Andermatt Biocontrol, com sede na Suíça (<http://www.anderstattbiocontrol.com>). No Brasil, no entanto, até o momento existem alguns trabalhos, apenas em âmbito de pesquisas de laboratório (Magro; Parra, 2001; Magro et al., 2006; Serra, 1992). Deste modo, abre-se perspectivas para implementação de programas de manejo integrado utilizando este inimigo natural.

Autores como Chen et al. (2012); Dabhi et al. (2011); Eliopoulos e Stathas (2008); Ghimire e Phillips (2010 a b) e Serra (1992) demonstraram variações no desenvolvimento deste parasitoide em função da espécie do hospedeiro e sua densidade, o tipo do recipiente de criação, bem como da interação com fatores ambientais.

A compreensão dos fatores bióticos e abióticos que governam a dinâmica populacional dos parasitoides é uma questão importante da ecologia dos mesmos (Andrewartha; Birch, 1954; Marchioroa; Foersterb, 2016). No seu desenvolvimento ou reprodução os insetos utilizam um ou vários fatores ambientais para avaliar e adequar-se à atual ou futura situação (Gullan; Cranston, 2012).

Fatores abióticos tais como a temperatura ambiental, umidade e fotoperíodo, podem limitar ou estimular atividades como o metabolismo, comportamento, crescimento, forma, biologia estacional, reprodução, fecundidade, distribuição geográfica e mesmo a atividade diária dos insetos (Beck, 1980; Jaworski; Hilszczański, 2013). O fotoperíodo é um dos sinais que os parasitoides utilizam para perceber as mudanças ambientais e ajustar adequadamente o seu ciclo de vida (Tauber; Tauber; Masaki, 1986).

Dias com mais horas de luz são conhecidos por diminuir a longevidade e a fecundidade de alguns parasitoides (Jervis; Copland, 1996). Presumindo que os

parasitoides utilizam sua energia mais efetivamente na escotofase do que na fotofase, isso garantiria uma maior longevidade. Da mesma forma a energia que poderia ser utilizada para a produção de ovos é muitas vezes, durante o período de fotofase, utilizada para atividades corporais gerais, diminuindo a fecundidade (Sahin; Ozkan, 2007).

Parasitoides apontam ter maior atividade diária, como deslocamentos, busca por hospedeiros e fuga de predadores, em condições de mais horas de luz do que em condições de mais horas de escuro (Ozkan, 2007). Portanto, a compreensão das melhores condições de fotoperíodo pode aprimorar as técnicas de criação de parasitoides, possibilitando a produção de grande número de indivíduos com alta capacidade reprodutiva (Parra; Cónsoli, 2009). Portanto, nessa pesquisa, o efeito de diferentes condições de fotoperíodo durante a fase imatura e adulta de *H. hebetor* foi investigado em laboratório com o objetivo de avaliar a paralisação, o parasitismo e o sucesso reprodutivo de *H. hebetor* em larvas de *E. kuehniella*.

MATERIAL E MÉTODOS

Criações de laboratório

As criações estoque do parasitoide *H. hebetor* e de seu hospedeiro *E. kuehniella* foram mantidas em salas climatizadas com temperatura de $28 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar (UR) de $50 \pm 20\%$ e fotofase de 12 horas, com intensidade de 2000 ± 200 lux, situadas no Laboratório de Entomologia da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC). *Ephestia kuehniella* foi mantida em dieta artificial, constituída de farinha de trigo (97%) e levedura de cerveja (3%), seguindo a metodologia proposta por Cruz, Figueiredo e Matoso (1999).

Capacidade de parasitismo e viabilidade de *H. hebetor* em diferentes fotoperíodos

Os parasitoides utilizados neste estudo desenvolveram-se em diferentes condições experimentais, com três fotoperíodos (fotofase: escotofase) 24:0, 0:24 e 12:12, mantidos em estufa incubadora “Tipo B.O.D.” a $28 \pm 2^\circ\text{C}$ e $50 \pm 20\%$ UR.

Na fase de pupa os parasitoides providas das diferentes condições experimentais foram individualizados e acondicionados em micro túbulos de 1,5 mL do “tipo Eppendorf” e mantidos no mesmo fotoperíodo até a emergência. Foram utilizados nos bioensaios casais virgens, sem experiência de parasitismo, com no máximo 24 horas de idade. Cada tratamento contou com 15 repetições, sendo cada uma constituída por um casal de parasitoides (unidade experimental). Cada casal foi acondicionado em placa de Petri (9 cm de diâmetro por 2 cm de altura) contendo 10 larvas de quinto instar de *E. kuehniella*, sendo diariamente ofertadas 10 novas larvas, assim sucessivamente, até a morte da fêmea.

Na fase adulta os parasitoides foram expostos aos mesmos fotoperíodos da fase pré-imaginal combinando as condições perfazendo 9 tratamentos (Figura 1), com delineamento inteiramente casualizado.

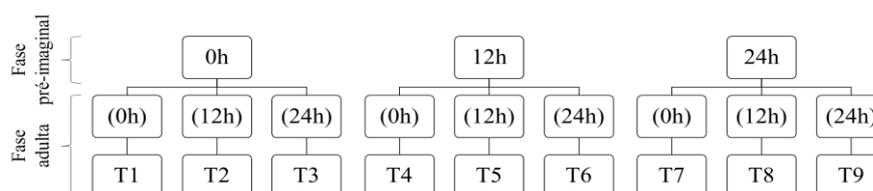


Figura 1: Esquema do delineamento experimental com o número de horas de fotofase no qual *Habrobracon hebetor* foi exposto durante a fase pré-imaginal e adulta, perfazendo 9 tratamentos avaliados.

Após 24 horas de exposição foram avaliados o número de larvas paralisadas e parasitadas, e o número de ovos. Considerou-se paralisadas aquelas larvas que não se moviam quando estimuladas, e parasitadas, aquelas que possuíam ovos do parasitoide sobre o corpo. Sendo que estas 15 repetições foram mantidas nas mesmas condições ambientais descritas anteriormente e então avaliadas após três dias (para contagem de larvas de último instar), nove dias (para contagem do número de pupas) e 12 dias (para contagem do número de adultos), a fim de registrar a viabilidade (%) de cada fase do desenvolvimento, além da longevidade das fêmeas.

Os dados da viabilidade foram utilizados na construção de uma tabela com índices de mortalidade, adotando as metodologias de Silveira Neto et al. (1976) e Southwood e Henderson (2000) determinando-se os valores: fases de desenvolvimento (x); número de sobreviventes no início da idade x (L_x); número de indivíduos mortos durante o intervalo etário x (d_x); Mortalidade aparente (D_a) expressa pela equação: $D_a = (d_x \text{ da fase de desenvolvimento} / L_x \text{ da fase de desenvolvimento}) \cdot 100$; Mortalidade real (D_r) obtida por $D_r = (d_x \text{ da fase de desenvolvimento} / L_x \text{ da fase de desenvolvimento inicial}) \cdot 100$ e Mortalidade indispensável (D_i) calculada pela equação: $D_i = L_x \text{ final (adulto)} \cdot \text{RMS da fase de desenvolvimento}$. A razão mortalidade/sobrevivência (RMS) foi expressa como $\text{RMS} = d_x \text{ da fase de desenvolvimento} / L_x \text{ da fase de desenvolvimento seguinte}$. A razão sexual (RS) da prole emergida foi calculado pela equação: $\text{RS} = n^\circ \text{ de fêmeas} / (n^\circ \text{ de fêmeas} + n^\circ \text{ de machos})$.

Análise dos dados

As médias dos dados de larvas paralisadas, parasitadas, número de ovos e longevidade das fêmeas foram analisadas quanto a normalidade pelo teste de D'agostino, à homocedasticidade pelo teste de Hartley e a independência dos resíduos por análise gráfica.

Verificou-se que os pressupostos da ANOVA não foram atendidos e dessa forma, optou-se pela utilização do teste não-paramétrico Kruskal-Wallis seguido de Dunn ($p < 0,05$). Em relação a razão sexual, as proporções médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste do χ^2 de heterogeneidade ($p < 0,05$). Para o número médio total de ovos de *H. hebetor* ajustou-se uma curva de regressão logarítmica com a combinação do fotoperíodos na fase pré-imaginal e adulta, uma vez que a interação foi significativa ($p < 0,05$). Para as análises utilizou-se o software estatístico Bioestat 5.0 (Ayres et al., 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Capacidade de paralisação e parasitismo

A quantidade de larvas paralisadas dentro de cada tratamento foi sempre superior à de larvas parasitadas, chegando a taxa de paralisação de 81% das larvas oferecidas a cada 24h. O número diário de larvas paralisadas e parasitadas nos primeiros onze dias de idade das fêmeas, não diferiu entre os fotoperíodos, sendo que o maior número de larvas de *E. kuehniella* paralisadas e parasitadas diariamente foi $8,10 \pm 1,270$ e $4,28 \pm 1,577$ respectivamente (Tabela1).

Tabela 1: Parâmetros reprodutivos de fêmeas de *Habrobracon hebetor* (\pm DP) nos primeiros onze dias de idade, em larvas de *Ephestia kuehniella* em nove diferentes combinações de fotoperíodos testados (n= 15); ($28 \pm 2^\circ\text{C}$ e $50 \pm 20\%$ UR).

Tratamentos	Parâmetros avaliados		
	Nº médio de larvas paralisadas/fêmea/dia	Nº médio de larvas parasitadas/fêmea/dia	Nº médio de ovos/fêmea/dia
T1	$6,04 \pm 1,966a$	$3,19 \pm 1,474a$	$13,06 \pm 3,578b$
T2	$6,64 \pm 1,816a$	$2,76 \pm 1,090a$	$13,44 \pm 3,798b$
T3	$8,10 \pm 1,270a$	$3,65 \pm 1,210a$	$13,03 \pm 3,395b$
T4	$7,12 \pm 2,164a$	$4,02 \pm 1,919a$	$19,35 \pm 4,409ab$
T5	$7,06 \pm 2,829a$	$3,76 \pm 2,240a$	$18,95 \pm 5,022ab$
T6	$7,70 \pm 2,164a$	$3,99 \pm 1,895a$	$20,57 \pm 4,134ab$
T7	$7,19 \pm 2,098a$	$4,11 \pm 1,981a$	$21,35 \pm 3,624a$
T8	$7,83 \pm 2,004a$	$4,28 \pm 1,577a$	$22,23 \pm 2,905a$
T9	$7,62 \pm 1,421a$	$3,96 \pm 1,152a$	$22,42 \pm 2,297a$

(T1) desenvolvimento e fase adulta em plena escotofase; (T2) desenvolvimento em plena escotofase e fase adulta em 12h de fotofase; (T3) desenvolvimento em plena escotofase e fase adulta em 24h de fotofase; (T4) desenvolvimento em 12h de fotofase e fase adulta em plena escotofase; (T5) desenvolvimento e fase adulta em 12h de fotofase; (T6) desenvolvimento em 12h de fotofase e fase adulta em 24h de fotofase; (T7) desenvolvimento em 24h de fotofase e fase adulta em plena escotofase; (T8) desenvolvimento em 24h de fotofase e fase adulta em 12h de fotofase; (T9) desenvolvimento e fase adulta em 24h de fotofase.

*Letras minúsculas diferentes na coluna, diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis seguido de Dunn ($p < 0,05$).

O maior número de larvas paralisadas em relação as parasitadas, mostra que existe uma propensão das fêmeas para paralisar muito mais hospedeiros do que o necessário para a oviposição. Ullyett (1945) verificou que as fêmeas de *H. hebetor* antes de

ovipositar procuram paralisar todos os hospedeiros que houver nas proximidades, o mesmo comportamento observado por Ghimire e Phillips (2014).

Avaliando o desempenho de uma espécie de *Bracon* aparentemente próxima de *H. hebetor*, Doult (1959) verificou comportamento distinto, com fêmeas paralisando e ovipositando sobre uma única larva antes de abandoná-la e procurar um próximo hospedeiro, não possuindo diferença entre o número de larvas paralisadas e parasitadas como para *H. hebetor*.

Segundo Hagstrum (1983) e Soliman (1940) o número de larvas que uma fêmea de *H. hebetor* consegue paralisar em 24 horas difere principalmente em função da idade e da densidade de hospedeiros presentes no ambiente, salientando que o fotoperíodo não apresenta relação direta nesse parâmetro. A paralisação do hospedeiro é importante pois facilita a oviposição, que inicia somente no momento da total paralisação deste (Ghimire; Phillips, 2010 a).

As larvas paralisadas, conforme mencionado por outros trabalhos, são utilizadas como fonte de alimento tanto para fêmeas adultas que se alimentam da hemolinfa que surge no corpo do hospedeiro no ponto onde foi introduzido o ovipositor no momento da paralisação, bem como para o desenvolvimento do parasitoide na fase imatura (Hagstrum; Smittle, 1978; Serra, 1992).

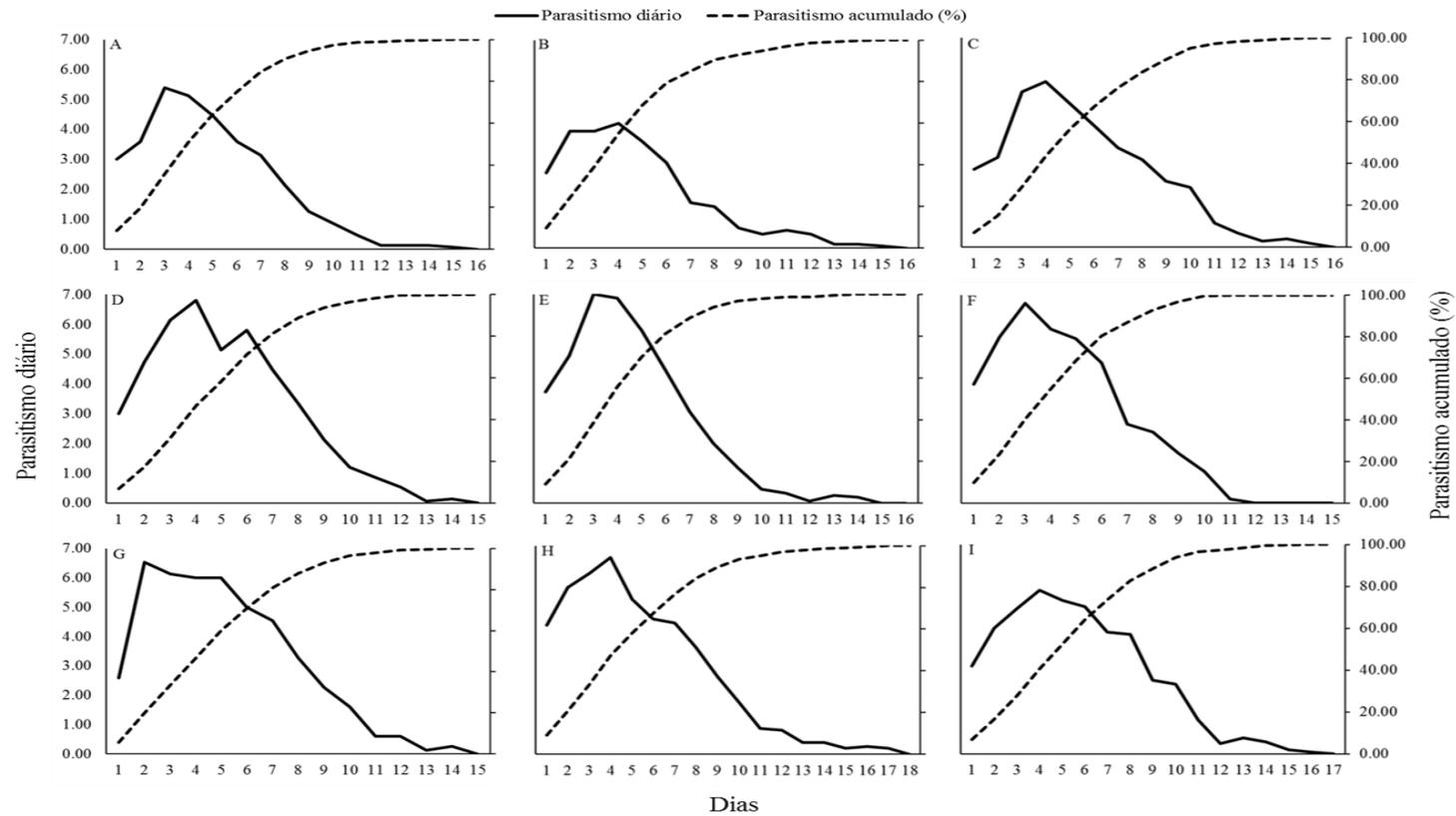
Todas as larvas paralisadas neste experimento morreram, corroborando o estudo de (Ghimire; Phillips, 2010 b) que comenta que a paralisia é sempre fatal, embora o hospedeiro possa continuar vivo por algum período se não for parasitado, mas não chega a completar seu desenvolvimento. Com isso, a supressão da população do hospedeiro em campo pode ocorrer de duas formas, pela paralisação e pelo parasitismo, porém em ambiente natural o comportamento de *H. hebetor* pode ser diferente do observado em

laboratório com relação a capacidade de paralisar muito mais hospedeiros do que parasitar.

Com relação a fecundidade, o número médio de ovos por dia de fêmeas com idade entre um e onze dias foi afetado pelo fotoperíodo de origem, sendo significativamente menor em plena escotofase em comparação com 24h de fotofase no período pré-imaginal (Tabela 1). O maior número de ovos de fêmeas oriundas de plena fotofase está de acordo, com outro estudo realizado com *H. hebetor*, por Lum e Flaherty (1973) no qual os autores indicaram que o fotoperíodo com luz contínua pode influenciar na produção e maturação dos oócitos. Neste caso podendo o período com mais luz na fase imatura ser considerado o mais adequado para a oviposição de *H. hebetor* na fase adulta

A maior fecundidade observada pode ser explicada de acordo com Košťál (2011) e Van Lenteren (1999) que indicam que o sistema endócrino pode receber interferência do fotoperíodo, no qual longos períodos de luz durante o dia favorecem diretamente a ativação dos *corpora allata* e *corpora cardiaca*, liberando importantes hormônios como o juvenil e os ecdisteroides, o que acelera tanto o desenvolvimento, além de estimular a oogênese e conseqüentemente o desenvolvimento dos ovos. Já em condições de dia com poucas horas de luz, pode levar a inativação das glândulas protorácicas resultando em baixos teores desses hormônios e conseqüentemente preparação para entrar em diapausa, reduzindo a fecundidade (Saunders, 2014).

A maior concentração de parasitismo foi nos primeiros dias de idade, sendo que o maior número de larvas parasitadas em 24h, foi obtido entre o 2º e 4º dia de idade nos diferentes tratamentos, com média de $4,2 \pm 2,37$ no tratamento T2 e $7,0 \pm 1,51$ no tratamento T5 (Figura 2).



A (T1) desenvolvimento e fase adulta em plena escotofase; B (T2) desenvolvimento em plena escotofase e fase adulta em 12h de fotofase; C (T3) desenvolvimento em plena escotofase e fase adulta em 24h de fotofase; D (T4) desenvolvimento em 12h de fotofase e fase adulta em plena escotofase; E (T5) desenvolvimento e fase adulta em 12h de fotofase; F (T6) desenvolvimento em 12h de fotofase e fase adulta em 24h de fotofase; G (T7) desenvolvimento em 24h de fotofase e fase adulta em plena escotofase; H (T8) desenvolvimento em 24h de fotofase e fase adulta em 12h de fotofase; I (T9) desenvolvimento e fase adulta em 24h de fotofase

Figura 2: Parasitismo diário e acumulado de *Habrobracon hebetor* em larvas de *Ephestia kuehniella* em nove diferentes combinações de fotoperíodos testados (n= 15); ($28 \pm 2^\circ\text{C}$ e $50 \pm 20\%$ UR).

Diferente desse estudo, Tunçbilek e Ayvaz (2003) avaliando *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), mostraram que existia tendência de parasitismo mais forte no primeiro dia do que nos seguintes, diferentes de *H. hebetor* que teve seu pico entre o 2º e 4º dia de idade nos diferentes fotoperíodos. Essas diferenças, entretanto, são previstas, já que trata de um parasitoide de ovos e de outra família, com comportamento distinto e ciclo de vida mais curto.

O número de larvas parasitadas diariamente por fêmeas de *H. hebetor* diminuiu em função da idade em todos os fotoperíodos testados (Figura 2), indicando que *H. hebetor* não mostra uma preferência para parasitar na presença ou ausência de luz. A tendência de contínua diminuição da capacidade de paralisação de *H. hebetor*, pode ser considerada natural e possivelmente relacionada à idade e ao final do ciclo vital, o que é comum para a maioria dos insetos (Southwood; Henderson, 2000).

Mesmo não havendo diferenças significativas para o pico de parasitismo entre os tratamentos, possivelmente pela grande variação nos dados, os resultados indicam maiores valores naqueles desenvolvidos em 12 ou 24h de fotofase em contraste com aqueles com origem em plena escotofase (Figura 2).

Diferente de *H. hebetor*, outros parasitoides de *E. kuehniella* podem sofrer influência do fotoperíodo no parasitismo, como fica evidenciado no estudo de Pinto et al. (2010) no qual verificaram que este afetou significativamente o parasitismo de *T. pretiosum* sobre ovos da traça, relatando que a média do número total de ovos parasitados durante 48 horas foram maiores quando em 12 ou 24h de fotofase em comparação a plena escotofase, constatando que a luz é um estímulo para esta espécie.

Metwally et al. (2013) e Tunçbilek e Ayvaz (2003) averiguaram que adultos de *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitando também ovos de *E. kuehniella* expostos a diferentes regimes de luz, apresentaram

tendência decrescente de parasitismo com um período crescente de escotofase, evidenciando seu hábito diurno e a sua semelhança a outras espécies do gênero *Trichogramma*. Podendo inferir que espécies desse gênero expressem sua máxima capacidade de parasitismo durante a fotofase.

Analisando o efeito do fotoperíodo em outra espécie próxima taxonomicamente de *H. hebetor*, o parasitoide *Bracon vulgaris* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) parasitando larvas de *Anthonomus grandis* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae), Alves et al. (2015) verificaram que o aumento das horas de exposição prévia à luz diminuiu o tempo que o parasitoide levou para localizar o hospedeiro, parâmetro não avaliado neste trabalho. Em contrapartida, os mesmos autores não observaram diferença no parasitismo, ou seja, após a localização do hospedeiro, o tempo gasto pelo parasitoide para ovipositar permaneceu inalterado, independentemente do regime de exposição à luz anterior. Assim, os autores propõem que o fotoperíodo pode exercer uma função maior na procura e localização do hospedeiro através de pistas visuais do que no próprio parasitismo.

O parasitismo acumulado por *H. hebetor* em larvas de *E. kuehniella* atingiu 80% do total de larvas parasitadas para cada tratamento, entre o 6º e 8º dias de idade (Figura 2). Zart et al. (2012) observaram a mesma tendência com o parasitoide *T. pretiosum* parasitando ovos de *E. kuehniella* para o qual, independente do fotoperíodo avaliado, até o oitavo dia de vida das fêmeas 80% dos ovos haviam sido parasitados.

Com relação a fecundidade total das fêmeas de *H. hebetor* ao longo de toda a vida, verificou-se correlação logarítmica positiva entre o aumento do número médio total de ovos ao longo da vida da fêmea em relação ao aumento do período de luz no qual as fêmeas foram criadas (Figura 3).

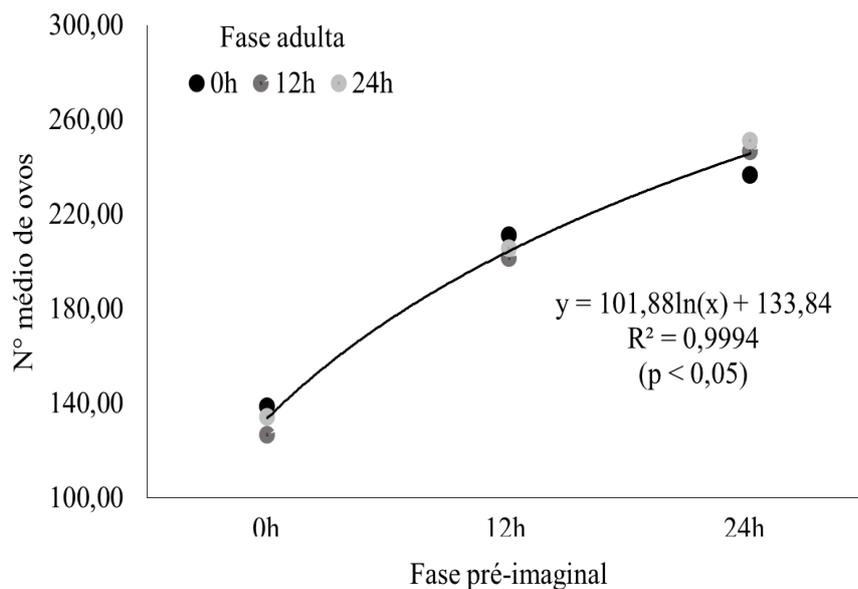


Figura 3: Gráfico de correlação logarítmica entre o número médio total de ovos de fêmeas de *Habrobracon hebetor* em larvas de *Ephestia kuehniella* de acordo com a combinação de fotofases na fase pré-imaginal e adulta (n= 15); ($28 \pm 2^\circ\text{C}$ e $50 \pm 20\%$ UR).

Diferente da espécie avaliada no presente trabalho, Park et al. (1999) registraram o mesmo comportamento para *Trichogramma dendrolimi* Matsumura (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitando ovos de *Antheraea pernyi* (Lepidoptera: Saturniidae), no qual fêmeas provindas de escotofases mais longas (16h) tiveram menor fecundidade em comparação as que eram expostas a mais horas de luz. Comportamento esse relacionado com a maturação dos oócitos, que é controlado por hormônios afetados pela luz ou escuro, já citado anteriormente.

A longevidade das fêmeas não foi significativamente afetada pelo fotoperíodo, sendo a média geral de $10,65 \pm 2,583$ dias de idade ($H= 15,033$; $gl= 8$; $p> 0,05$).

Chen et al. (2012) analisando *H. hebetor* sobre larvas de *P. interpunctella*, no qual os parasitoides eram criados e expostos na fase adulta nas mesmas condições de luz, com fotoperíodos de 10:14, 13:11 e 16:8 (fotofase: escotofase), também não observaram diferenças na longevidade dos adultos.

Diferente do observado para *H. hebetor*, Jervis e Copland (1996) comentam que a intensidade e as horas de luz tendem a ter uma influência importante na biologia e no comportamento de muitos insetos. Conforme os mesmos autores o aumento das horas de luz na fase adulta é conhecido por diminuir a longevidade e a fecundidade dos parasitoides ao longo da vida.

Embora trabalhos clássicos como o de Jervis e Copland (1996) afirmem que o aumento das horas de luz durante o dia na fase adulta é conhecido por encurtar a longevidade dos parasitoides e diminuir a sua fecundidade ao longo da vida, isso não foi registrado em nosso experimento. Autores que apoiam esta ideia, justificam a diminuição na longevidade pelo fato de que, com mais horas de luz os parasitoides apresentam maior atividade diária, como deslocamento, busca por hospedeiros e fuga de predadores do que em condições de maior tempo de escuro (Sahin e Ozkan, 2007). Porém como neste experimento *H. hebetor* encontrava-se em recipientes protegidos junto com os hospedeiros ele não tinha esse gasto energético, assim, ainda será preciso investigar este aspecto em condições mais próximas às de campo.

Viabilidade

Em cada fase do desenvolvimento nas diferentes condições de fotoperíodo, o número médio de sobreviventes (L_x) diferiu entre os parasitoides oriundos de total escofase daqueles de plena fotofase em função da fecundidade ter sido maior nos tratamentos com 12 e 24 horas de luz na fase pré-imaginal (Tabela 2).

O número de adultos emergidos de *H. hebetor* da mesma forma sofreu interferência do fotoperíodo no qual o parasitoide foi desenvolvido por consequência do maior número de ovos nos tratamentos com luz na fase imatura. Porém, durante o parasitismo (fase adulta) a luz não teve influência, o mesmo foi evidenciado por Santana et al. (2013) que concluiu que as horas de luz na fase adulta de *T. galloi* parasitando ovos de *E. kuehniella*

não atuaram no número médio de adultos emergidos e na razão sexual (0,8). Assim, como comentado anteriormente, conjectura-se que o período com mais horas de luz na fase imatura estimula a oogênese, resultando em maior fecundidade de *H. hebetor*.

Tabela 2: Tabela de sobrevivência de *Habrobracon hebetor* (\pm DP) em larvas de *Ephestia kuehniella* em nove diferentes combinações de fotoperíodos testados (n= 15), (Rs= razão sexual); ($28 \pm 2^\circ\text{C}$ e $50 \pm 20\%$ UR).

Tratamento	Nº médio de indivíduos vivos (L_x)				RS adultos ^{ns}
	Ovo*	Larva*	Pupa*	Adulto*	
T1	138,86 \pm 62,293bde	56,47 \pm 31,306b	48,67 \pm 28,177bd	42,66 \pm 25,798bcd	0,67
T2	126,67 \pm 62,193bc	48,87 \pm 32,863bc	41,53 \pm 29,238bc	37,40 \pm 27,103bc	0,65
T3	134,20 \pm 52,921bc	52,81 \pm 21,736bd	43,18 \pm 17,640bc	39,70 \pm 17,626bc	0,65
T4	211,20 \pm 57,537ae	101,53 \pm 30,007ad	92,27 \pm 30,084a	84,67 \pm 29,420a	0,70
T5	201,27 \pm 62,515acd	97,47 \pm 41,115acd	90,40 \pm 38,930ad	85,20 \pm 38,156ad	0,73
T6	205,73 \pm 81,758acd	88,41 \pm 48,228acd	83,40 \pm 46,562acd	79,54 \pm 46,989ac	0,69
T7	236,47 \pm 55,885a	109,00 \pm 34,128a	102,53 \pm 35,799a	94,60 \pm 34,533a	0,73
T8	246,67 \pm 94,671a	103,27 \pm 58,652acd	96,47 \pm 56,223ad	92,94 \pm 55,161a	0,69
T9	251,13 \pm 65,501a	119,20 \pm 35,283a	105,53 \pm 33,095a	97,58 \pm 31,000a	0,68

(T1) desenvolvimento e fase adulta em plena escotofase; (T2) desenvolvimento em plena escotofase e fase adulta em 12h de fotofase; (T3) desenvolvimento em plena escotofase e fase adulta em 24h de fotofase; (T4) desenvolvimento em 12h de fotofase e fase adulta em plena escotofase; (T5) desenvolvimento e fase adulta em 12h de fotofase; (T6) desenvolvimento em 12h de fotofase e fase adulta em 24h de fotofase; (T7) desenvolvimento em 24h de fotofase e fase adulta em plena escotofase; (T8) desenvolvimento em 24h de fotofase e fase adulta em 12h de fotofase; (T9) desenvolvimento e fase adulta em 24h de fotofase

*Letras minúsculas diferentes na coluna, diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis seguido de Dunn ($p < 0,05$).

^{ns} Sem diferença significativa na coluna da razão sexual pelo teste de χ^2 heterogeneidade ($p < 0,05$).

A razão sexual da progênie, no entanto, não foi significativamente afetada pelo fotoperíodo e foi distinta para fêmeas, sendo, em média 0,69% de fêmeas ($\chi^2 = 0,368$; gl = 8, $p < 0,05$) (Tabela 2). Considerando a média de todos os tratamentos a razão sexual e *H. hebetor* foi próxima a encontrada por Serra (1992) que foi de 0,7 quando avaliou o efeito da temperatura em aspectos reprodutivos do mesmo parasitoide evidenciando, que a temperatura e o fotoperíodo não atuam diretamente sobre a razão sexual dessa espécie. Este aspecto é importante pois um indicativo para se considerar uma boa condição de

criação é a manutenção de um grande número de fêmeas do parasitoide, com uma razão sexual superior a 0,5 (Navarro, 1998).

A maior porcentagem de mortalidade foi observada na fase de eclosão do ovo até o desenvolvimento do último ínstar larval, independente do fotoperíodo testado, diminuindo nos estágios posteriores, sendo somente nesse período que a razão mortalidade/sobrevivência (RMS) foi superior a um (Tabela 3). A mortalidade nos parasitoides criados em escotofase (T1, T2 e T3) foi numericamente maior em todas as fases do desenvolvimento comparados com os períodos com fotofase (Tabela 3).

Uma menor viabilidade na fase de ovo já havia sido referida para *H. hebetor* por Magro e Parra (2002), entretanto, avaliando o efeito de dietas artificiais e o hospedeiro natural *E. kuehniella*, constataram baixa mortalidade na fase de larva e pupa o que corrobora o presente estudo.

Urbaneja et al. (2001) estudando a sobrevivência do parasitoide *Cirrospilus lyncus* Walker (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae), sob diferente fotoperíodos 16:8, 12:12 e 8:16 (fotofase: escotofase), constataram que a fase larval era a mais sensível, enquanto que os ovos e as pupas foram mais resistentes, o oposto de *H. hebetor* que teve maior mortalidade na fase de ovo. Isso reforça a ideia de que cada espécie pode possuir estágios diferentes em que ocorra maior mortalidade durante o seu desenvolvimento.

A mortalidade aparente (D_a) indica que no tratamento T2 somente 38,58% dos ovos desenvolveram-se até o último ínstar larval, enquanto que, a maior viabilidade foi 48,43%, no tratamento T5. Na fase de larva e pupa a viabilidade foi maior, com sobrevivência entre 81,77% (T3) e 94,34% (T6) para larvas e 87,66% (T1) e 96,34% (T8) para pupas (Tabela 3).

Tabela 3: Porcentagem de mortalidade de *Habrobracon hebetor* em larvas de *Ephestia kuehniella* em nove diferentes combinações de fotoperíodos testados. (FPI=fase pré-imaginal). Fase adulta: T1 (0h de fotofase), T2 (12h de fotofase), T3 (24h de fotofase), T4 (0h de fotofase), T5 (12h de fotofase), T6 (24h de fotofase), T7(0h de fotofase), T8 (12h de fotofase), T9 (24h de fotofase). (Da = mortalidade aparente, Dr = mortalidade real, Di = mortalidade indispensável). (RMS = razão mortalidade/sobrevivência). ($X \pm DP$ = média \pm desvio padrão) (n= 15); ($28 \pm 2^\circ\text{C}$ e $50 \pm 20\%$ UR).

FPI 0h												
Fase	% média de mortalidade									RMS ($X \pm DP$)		
	Da			Dr			Di			T1	T2	T3
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3			
Ovo/4° Larva	59,33	61,42	60,65	59,33	61,42	60,65	6,22	5,95	6,12	$1,46 \pm 0,907$	$1,59 \pm 1,148$	$1,54 \pm 0,708$
4° Larva/Pupa	13,82	15,01	18,23	5,62	5,79	7,17	0,68	0,66	0,89	$0,16 \pm 0,067$	$0,18 \pm 0,731$	$0,22 \pm 0,085$
Pupa/Adulto	12,34	9,95	8,06	4,32	3,26	2,59	0,60	0,41	0,35	$0,14 \pm 0,107$	$0,11 \pm 0,241$	$0,09 \pm 0,057$

FPI 12h												
Fase	% média de mortalidade									RMS ($X \pm DP$)		
	Da			Dr			Di			T4	T5	T6
	T4	T5	T6	T4	T5	T6	T4	T5	T6			
Ovo/4° Larva	51,93	51,57	57,03	51,93	51,57	57,03	9,14	9,07	10,56	$1,08 \pm 0,344$	$1,07 \pm 0,465$	$1,33 \pm 0,700$
4° Larva/Pupa	9,13	7,25	5,66	4,39	3,51	2,43	0,85	0,67	0,48	$0,10 \pm 0,050$	$0,08 \pm 0,042$	$0,06 \pm 0,065$
Pupa/Adulto	8,24	5,75	4,63	3,60	2,58	1,88	0,76	0,52	0,39	$0,09 \pm 0,040$	$0,06 \pm 0,027$	$0,05 \pm 0,044$

FPI 24h												
Fase	% média de mortalidade									RMS ($X \pm DP$)		
	Da			Dr			Di			T7	T8	T9
	T7	T8	T9	T7	T8	T9	T7	T8	T9			
Ovo/4° Larva	53,90	58,14	52,53	53,90	58,14	52,53	11,06	12,91	10,80	$1,17 \pm 0,653$	$1,39 \pm 1,403$	$1,11 \pm 0,254$
4° Larva/Pupa	5,93	6,58	11,47	2,73	2,76	5,44	0,60	0,65	1,26	$0,06 \pm 0,031$	$0,07 \pm 0,100$	$0,13 \pm 0,058$
Pupa/Adulto	7,74	3,66	7,53	3,35	1,43	3,17	0,79	0,35	0,80	$0,08 \pm 0,046$	$0,04 \pm 0,039$	$0,08 \pm 0,071$

A mortalidade real (D_r) ou viabilidade total que leva em conta o número de indivíduos da fase inicial, na fase de ovo à larva de último ínstar é a mesma da D_a . Ao se comparar a D_r na fase larval, a viabilidade manteve-se entre 32,18% (T3) e 44,92% (T5). Já a viabilidade de pupa ficou na faixa entre 29,53% (T2) e 42,34% (T5) (Tabela 3).

A mortalidade indispensável (D_i), que consiste na porção da mortalidade total da geração que poderia não ocorrer se um dado fator de mortalidade fosse eliminado. Neste caso foi estimado que a viabilidade aumentaria de 87,09% no T8 a 94,05% no T2, na fase de ovo. Nas fases de larva e pupa os valores seriam acima de 98% (Tabela 3).

A RMS que é a estimativa do aumento da população caso a mortalidade em questão não tivesse ocorrido, na fase de ovo, manteve-se acima de um, e nas fases de larva e pupa a razão foi inferior a 0,22 (Tabela 3), não havendo variação acentuada entre os tratamentos (Tabela3).

Da mesma forma que o observado para *H. hebetor* neste estudo, Santana et al. (2013) também não observaram diferenças significativas na viabilidade total entre os fotoperíodos com ou sem luz na fase adulta de *T. pretiosum* sobre ovos de *E. kuehniella* obtendo valores de 67,5% em total fotofase e de 55,4% em total escotofase, demonstrando que uma vez parasitados, o fotoperíodo não afeta a emergência.

Al-Maliky, Al-Izzi e Jabbo (1988) avaliando a viabilidade de outro parasitoide da mesma família *Apanteles ultor* Reinhard (Hymenoptera: Braconidae) parasitando *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae), no qual as condições de luz avaliadas foram 0, 8, 12, 16 e 24 de fotofase, também não observaram interferência no desenvolvimento da progênie do parasitoide em relação ao regime de luz. O mesmo que Urbaneja et al. (2001) estudando a sobrevivência do parasitoide *C. lyncus* parasitando *P. citrella* sob diferentes condições de fotoperíodo, do mesmo modo não observaram efeito do fotoperíodo sobre a viabilidade em nenhuma das fases do desenvolvimento. Para *H.*

hebetor e outras espécies de parasitoides o fotoperíodo não é considerado um fator que possua influência direta na viabilidade das formas imaturas, podendo haver outros elementos que possam exercer interferências concretas na viabilidade.

CONCLUSÕES

O fotoperíodo pode ter efeito indireto no parasitismo de *H. hebetor* devido alterações na fecundidade das fêmeas, que produzem maior número de ovos e conseqüentemente parasitam maior número de larvas quando se desenvolvem em maior período de luz, sendo o número de larvas paralisadas sempre maior que as parasitadas.

Uma vez feita a oviposição o fotoperíodo não afeta a viabilidade da prole do parasitoide bem como razão sexual da progênie de *H. hebetor*.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida ao primeiro autor e pelo auxílio financeiro com verba do projeto MCTI/CT-Agronegócio/CNPq nº 38/2013. A *Japan Tobacco International* (JTI) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- AL-MALIKY, S. K.; AL-IZZl, M. A. J.; JABBO, N. F. Effects of temperature and photoperiod on the development and oviposition of *Apanteles* sp. Group *ultor* [Hym.: Braconidae], a larval parasite of the carob moth *Ectomyelois ceratoniae* [Lep.: Pyralidae]. **Entomophaga**, 33(2):193-200, 1988.
- ALVES, T. J. S. et al. Behavioral studies of the parasitoid *Bracon vulgaris* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae). **Journal of Insect Behavior**, 28 (5):604-617, 2015.
- ANDREWARTHA, H. G.; BIRCH, L. C. **The distribution and abundance of animals**. Chicago: University of Chicago Press, 1954. 782p.
- ATHIÉ, I.; de PAULA, D. C. **Insetos de grãos armazenados: aspectos biológicos e identificação**. 2.ed. São Paulo: Varela, 2002. 244p.
- AYRES, M. et al. **BioEstat 5.0 aplicações estatísticas na área da ciências biológicas e médicas**. Belém: Sociedade Civil Mamirauá/CNPq, 2007. 324 p.
- BECK, S. D. **Insect photoperiodism** 2.ed. New York: Academic Press, 1980. 387p.
- BENHALIMA, H. et al. Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities in Marocco. **Journal of Stored Products Research**, 40 (3):241-249, 2004.
- CHEN, H. et al. Induction of reproductive diapause in *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) when reared at different photoperiods at low temperatures. **Environmental Entomology**, 41(3):697-705, 2012.
- CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. L. C.; MATOSO, M. J. Controle Biológico de *Spodoptera frugiperda* utilizando o parasitoide de ovos *Trichogramma*. Sete Lagoas: Embrapa, 1999. 40p.
- DABHI, M. R. et al. Influence of temperature, relative humidity and photoperiod on the development of *Bracon hebetor* Say. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, 24(4):558-560, 2011.
- DABHI, M. R; KORAT, D. M; VAISHNAV, P. R Reproductive parameters of *Bracon hebetor* Say on seven different hosts. **African Journal of Agricultural Research**, 8(25):3251-3254, 2013.

DOUTT, R. L. The biology of parasitic hymenoptera. **Annual Review of Entomology**, 4(1):161-182, 1959.

ELIOPOULOS, P. A.; STATHAS, G. J. Life tables of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) parasitizing *Anagasta kuehniella* and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae): effect of host density. **Journal of Economic Entomology**, 101(3):982-988, 2008.

FARONI, L. R. A. Manejo das pragas dos grãos armazenados e sua influência na qualidade do produto final. **Revista Brasileira de Armazenamento**, 17(1/2):36-43, 1992.

GHIMIRE, M. N.; PHILLIPS, T. W. Mass rearing of *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) on larvae of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae): effects of host density, parasitoid density, and rearing containers. **Journal of Stored Products Research**, 46(4):214-220, 2010a.

GHIMIRE, M. N.; PHILLIPS, T. W. Suitability of different Lepidopteran host species for development of *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). **Environmental Entomology**, 39(2):449-458, 2010b.

GHIMIRE, M. N.; PHILLIPS, T. W. Oviposition and reproductive performance of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) on six different pyralid host species. **Annals of the Entomological Society of America**, 107(4):809-817, 2014.

GULLAN, P.J.; CRANSTON, P.S. **Os Insetos**: um resumo de entomologia 4.ed. São Paulo: Roca, 2012. 496p.

HAGSTRUM, D. W. Self-provisioning with paralyzed hosts and age, density, and concealment of hosts as factors influencing parasitization of *Ephestia cautella* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae) by *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae). **Environmental College Park**, 12(6):1727-1732, 1983.

HAGSTRUM, D. W.; SMITTLE, B. J. Host utilization by *Bracon hebetor*. **Environmental Entomology**, 7(4):596-600, 1978.

JAWORSKI, T.; HILSZCZAŃSKI, J. The effect of temperature and humidity changes on insects development and their impact on forest ecosystems in the context of expected climate change. **Forest Research Papers**, 74(4):345-355, 2013.

JERVIS, M. A.; COPLAND, M. J. W. The life cycle. In: JERVIS, M.; KIDD, N. (Eds.). **Insect natural enemies** - Practical approaches to their study and evaluation. London: Chapman & Hall, 1996. p.63-161.

KOŠTÁL, V. Insect photoperiodic calendar and circadian clock: independence, cooperation, or unity? **Journal of Insect Physiology**, 57(5):538-556, 2011.

LOECK, A. E. **Praga de Produtos Armazenados**. Pelotas: Egufpel, 2002. 113p.

LORINI, I. **Manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2008. 72p.

LORINI, I. et al. **Principais pragas e Métodos de Controle em Sementes durante o Armazenamento** - Série Sementes. Londrina: Embrapa, 2010. 10p.

LORINI, I. et al. **Manejo Integrado de pragas de Grãos e Sementes Armazenadas**. Brasília: Embrapa, 2015. 84p.

LUM, P. T. M.; FLAHERTY, B. R. Influence of continuous light on oöcyte maturation in *Bracon hebetor*. **Annals of the Entomological Society of America**, 66(2):355-357, 1973.

MAGRO, S. R. et al. Biological, nutritional, and histochemical basis for improving an artificial diet for *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae). **Neotropical Entomology**, 35(2):215-222, 2006.

MAGRO, S. R.; PARRA, J. R. P. Biologia do ectoparasitóide *Bracon hebetor* SAY, 1857 (Hymenoptera: Braconidae) em sete espécies de lepidópteros. **Scientia Agricola**, 58(4):693-698, 2001.

MAGRO, S. R.; PARRA, J. R. P. Criação in vitro de *Bracon hebetor*. In PARRA, J. R. P.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BOTELHO, P. S. M.; BENTO, J. M. S. (Eds.). **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p.277-293.

MARCHIOROA, C. A.; FOERSTER, L. A. Biotic factors are more important than abiotic factors in regulating the abundance of *Plutella xylostella* L., in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, 60(4):328-333, 2016.

METWALLY, M. M. et al. Effect of temperature, photoperiod, biological and chemical factors of three host species on the performance of the egg parasitoid *Trichogramma evanescens* West. **Journal of plant protection and pathology**, 4(9):781-793, 2013.

NAVARRO, M. A. *Trichogramma spp.*: producción, uso y manejo en Colombia. Guadalajara de Buga: Impretec Ltda, 1998.176p.

OZKAN, C. Effect of food, light and host instar on the egg load of the synovigenic endoparasitoid *Venturia canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Journal of Pest Science**, 80(2):79-83, 2007.

PARK Y. K. et al. Effect of photoperiod on oviposition and emergence of egg parasitoid, *Trichogramma dendrolimi* Matsumura (Hymenoptera, Trichogrammatidae). **Korean Journal of Applied Entomology**, 38(2):93-99, 1999.

PARRA, J. R. P.; CÔNSOLI, F. L. Criação massal e controle de qualidade de parasitoides de ovos. In BUENO, V. H. P. (Ed). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora UFLA, 2009. p.169-197.

PINTO, A. de S. et al. Fotoperíodo Influenciando o Parasitismo de *Trichogramma pretiosum* em Laboratório. In XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2010, Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo. **Anais...** Goiânia, 2010, p.424- 428.

SAHIN, A. K; OZKAN, C. Effect of light on the longevity and fecundity of *Venturia canescens* (Gravenhorst) (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Zoological Society of Pakistan**, 39(5):315-319, 2007.

SANTANA, D. R. S. et al. Influência do fotoperíodo no parasitismo de *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae). **EntomoBrasilis**, 6(2):165-167, 2013.

SAUNDERS, D. S. Insect photoperiodism: effects of temperature on the induction of insect diapause and diverse roles for the circadian system in the photoperiodic response. **Entomological Science**, 17(1):25-40, 2014.

SERRA, H.J.P. **Bioecologia do ectoparasito *Habrobracon hebetor* (Say, 1836) (Hymenoptera: Braconidae) em *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae)**. 1992. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em

Entomologia, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1992.

SILVEIRA NETO, S. et al. **Manual de ecologia dos insetos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1976. 419p.

SOLIMAN, H. S. Studies in the biology of *Microbracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae). **Bulletin de la Société Fouad ler d'Entomologie**, 24:215-247, 1940.

SOUTHWOOD T. R. E.; HENDERSON, P. A. **Ecological Methods** 3.ed. Oxford: Blackwell Science, 2000. 575p.

TAUBER, M. J.; TAUBER, C. A.; MASAKI, S. **Seasonal adaptations of insects**. New York: Oxford University Press, 1986. 411p.

TUNÇBILEK, A, S.; AYVAZ, A. Influences of host age, sex ratio, population density, and photoperiod on parasitism by *Trichogramma evanescens* Westw. (Hym., Trichogrammatidae). **Journal of Pest Science**, 76(6):176-180, 2003.

ULLYETT, G. C. Distribution of progeny by *Microbracon hebetor* Say. **Journal of the Entomological society of Southern Africa**, 8:123-31, 1945.

URBANEJA, A. et al. Effect of variable photoperiod on development and survival of *Cirrospilus* sp. nr. *Lyncus* (Hymenoptera: Eulophidae), an ectoparasitoid of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **The Florida Entomologist**, 84(2):305-307, 2001.

VAN LENTEREN, J. C. Fundamental knowledge about insect reproduction: essential to develop sustainable pest management. **Invertebrate Reproduction and Development**, 36(1/3):1-15, 1999.

ZART, M. et al. Influência do fotoperíodo e da densidade de ovos de *Anagasta kuenhiella* (Zeller) sobre aspectos biológicos e parasitismo de ovos por *Trichogramma pretiosum* Riley. **EntomoBrasilis**, 5(2):115-119, 2012.

5 ARTIGO 3

Caracterização morfológica das fases imaturas de *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera, Braconidae), ectoparasitoide de *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera, Pyralidae)*

*Artigo configurado segundo as normas da Revista Annals of the Entomological Society of America

1 C. Pezzini
2 UFRGS
3 Universidade Federal do Rio Grande do Sul
4 Faculdade de Agronomia
5 Rua Bento Gonçalves, 7712, Agronomia
6 CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil
7 Phone: 0055 51 995020897
8 E-mail: cleder.pezzini@hotmail.com

9 **Caracterização morfológica das fases imaturas de *Habrobracon hebetor***
10 **(Hymenoptera, Braconidae), ectoparasitoide de *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera,**
11 **Pyralidae)**

12 **Morphological characterization of immature stages of *Habrobracon hebetor***
13 **(Hymenoptera, Braconidae), ectoparasitoid of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera,**
14 **Pyralidae)**

15 C. Pezzini,¹ S. M. Jahnke¹ and A. Köhler²

16 ¹UFRGS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Fitossanidade,
17 Rua Bento Gonçalves, 7712, Agronomia, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil

18 ²UNISC, Universidade de Santa Cruz do Sul, Departamento de Biologia e Farmácia,
19 Avenida Independência, 2293, Universitário, CEP 96816-501, Santa Cruz do Sul, RS,
20 Brasil

21 **Resumo**

22 *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera, Braconidae) (Say) é um braconídeo idiobionte,
23 cosmopolita, que parasita larvas de Pyralidae pragas de produtos armazenados, como a
24 traça-da-farinha *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera, Pyralidae) (Zeller). Objetivou-se
25 nesse trabalho descrever a morfologia das formas imaturas de *H. hebetor* e as mudanças
26 morfológicas ao longo do desenvolvimento. Fêmeas acasaladas de *H. hebetor* foram
27 individualizadas em placas de Petri, contendo larvas de *E. kuehniella*, para realização do
28 parasitismo, durante seis horas. Após, as fêmeas foram removidas, permanecendo apenas
29 os ovos colocados sobre o hospedeiro. O desenvolvimento foi avaliado a cada 12 h,
30 registrando-se todas as fase e mudanças até a emergência dos adultos. Em microscópio
31 estereoscópico ótico e eletrônico de varredura foram efetuadas as fotografias dos
32 imaturos. Os resultados mostraram que o parasitoide completa seu desenvolvimento entre
33 10-12 dias. Os ovos são himenopteriformes, com superfície lisa. Conforme as medidas
34 da cápsula cefálica e do comprimento das larvas de *H. hebetor*, foi possível determinar
35 quatro ínstares. De forma geral, os ínstares são semelhantes entre si, diferindo, entretanto,
36 em seu tamanho e forma dos segmentos. As larvas apresentam gradual perda de
37 transparência, tornando-se mais opacas a cada ínstar sucessivo. As de último ínstar se
38 distanciaram do hospedeiro para formar o casulo e empupar. Pupa do tipo exarata. Este
39 estudo foi relevante para que se tenha maior compreensão das interações fisiológicas entre
40 *E. kuehniella* e *H. hebetor*.

41 **Palavras-chave:** Bionomia, período pré-imaginal, biologia, parasitoide,
42 eletromicrografias

43 **Abstract**

44 *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera, Braconidae) (Say) is an idiobiont braconid,
45 cosmopolitan, which parasites larvae of Pyralidae pests of stored products such as the
46 flour moth *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera, Pyralidae) (Zeller). The work aimed to
47 describe the morphology of *H. hebetor* immature stages and the morphological changes
48 throughout its development. Mated females of *H. hebetor* were individualized in Petri
49 dishes, containing *E. kuehniella* larvae, to perform parasitism, for six hours. After,
50 females were removed, remaining only the eggs placed on the host. The development was
51 evaluated every 12 h, recording all stages and modifications until adult emergence.
52 Immature were photographed by optical stereomicroscope and scanning electron
53 microscope. Parasitoid complete its development between 10-12 days. Eggs are
54 hymenopteriform, with smooth surface. Considering measures of cephalic capsule and
55 length of *H. hebetor* larvae, four instars were determined. In general, the instars were
56 similar to each other, however differing in size and segments dimensions. The larvae
57 presented a gradual loss of transparency, becoming more opaque in each successive
58 instar. The last instar larvae the cocoon turn into pupa far from host. The pupa is a typical
59 exarate form. This study is relevant to a better understanding of physiological interactions
60 between *E. kuehniella* and *H. hebetor*.

61 **Key words:** Bionomy, pre-imaginal period, biology, parasitoid, electromicrographs

62 Dentro de Hymenoptera, segundo Melo et al. (2012) são reconhecidas 15 superfamílias e
63 62 famílias de himenópteros parasitoides para o mundo, sendo Braconidae a segunda em
64 número de espécies descritas (18.000) (Quicke 2015), com 34 subfamílias, entre elas
65 Braconinae que é uma das maiores subfamílias, com 2.800 espécies descritas válidas em
66 mais de 185 gêneros (Yu et al. 2012). Várias espécies de Braconinae possuem potencial
67 como agentes de controle biológico de larvas de Lepidoptera e Coleoptera (Quicke 1997).

68 *Habrobacon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) é ectoparasitoide
69 idiobionte, de distribuição cosmopolita (Fagundes et al. 2005, Eliopoulos e Stathas 2008).
70 Tem como hospedeiros, principalmente larvas de lepidópteros pertencentes a Pyralidae,
71 entre elas *Ephestia kuehniella* (Zeller), considerada uma praga secundária de produtos
72 armazenados, pois alimenta-se de resíduos deixados pela ação de outros insetos, além de
73 produtos processados (Magro e Parra 2001, Athié e Paula 2002, Lorini et al. 2015).

74 *Habrobacon hebetor* possui metamorfose completa, passando pelas fases de ovo,
75 larva, pré-pupa, pupa e adulto (Quicke 2015). O número de ínstaes, tempo de
76 desenvolvimento e consumo de alimento foi avaliado por Magro et al. (2006) para o
77 aprimoramento de uma dieta artificial, porém, sem detalhes morfológicos. Segundo
78 Forouzan et al. (2008) e Chen et al. (2012) o tempo de desenvolvimento dos estágios
79 imaturos de *H. hebetor*, diminui à medida que aumenta a temperatura.

80 As características morfológicas dos estágios imaturos apresentam papel importante
81 no reconhecimento, taxonomia e classificação de vespas parasitoides (Zhao et al. 2014),
82 de forma que, para a compreensão das relações entre hospedeiro e parasitoide, é requerido
83 o reconhecimento de suas fases imaturas nos diferentes estágios do desenvolvimento.

84 Em estudos taxonômicos a maioria das descrições morfológicas de Braconidae são
85 concentradas para a fase adulta, enquanto a biologia e morfologia dos estágios imaturos
86 ainda possuem poucas informações. Mesmo que existam descrições da morfologia

87 externa de imaturos de algumas espécies de braconídeos (Yu et al. 2008, Carabajal-
88 Paladino et al. 2010, Pinheiro et al. 2010, Qureshi et al. 2016), para *H. hebetor* não há
89 descrição morfológica detalhada dos imaturos ao longo do seu desenvolvimento.

90 Embora tenham sido estudados alguns aspectos da biologia nas fases imaturas de
91 *H. hebetor*, as pesquisas estão voltadas principalmente às interações entre parasitoide,
92 hospedeiro e fatores ambientais. As caracterizações morfológicas dos estágios imaturos
93 que auxiliam na taxonômica, no entanto, ainda não são bem elucidadas. Com isso,
94 objetivou-se descrever o desenvolvimento das formas imaturas de *H. hebetor* a partir de
95 um detalhamento da morfologia externa, auxiliando no reconhecimento dos estágios
96 imaturos desta espécie.

97 **Material e Métodos**

98 **Criações de laboratório**

99 As criações estoque do parasitoide *H. hebetor* e de seu hospedeiro *E. kuehniella* foram
100 mantidas em salas climatizadas com temperatura de 28 ± 2 °C, umidade relativa do ar
101 (UR) de 50 ± 20 % e fotofase de 12 h, situado no Laboratório de Entomologia da
102 Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC). *Ephestia kuehniella* foi mantida em dieta
103 artificial, constituída de farinha de trigo (97 %) e levedura de cerveja (3 %), seguindo a
104 metodologia proposta por Cruz et al. (1999).

105 **Caracterização morfológica das fases imaturas e tempo de desenvolvimento**

106 Fêmeas acasaladas de *H. hebetor* foram individualizadas em placas de Petri, contendo
107 cinco larvas de *E. kuehniella*, durante seis horas para realização do parasitismo.

108 Após esse período, as fêmeas foram removidas permanecendo apenas os ovos
109 depositados sobre o hospedeiro. O tempo de desenvolvimento foi avaliado a cada 12 h,
110 registrando-se todas as mudanças de fase até a emergência dos adultos.

111 Para a determinação do número de ínstaes larvais foi utilizando o modelo de
112 regressão segmentado conforme Ambrosano et al. (1997), com ($r^2= 99 \%$). Foram
113 avaliados 20 indivíduos de cada fase (ovo, larva, pré-pupa e pupa) sendo realizadas
114 medidas da maior largura e comprimento, em vista dorsal além, da largura da cápsula
115 cefálica, utilizando-se uma lente micrométrica ao microscópio estereoscópico (Motic
116 Quimis Q764ZT). A maior largura foi tomada a partir da porção mais larga dos ovos e
117 dos segmentos do corpo das larvas, pré-pupa e pupa. Todos as fases foram fotografadas
118 no mesmo microscópio estereoscópico citado anteriormente, com uma câmera digital
119 (Canon EOS Rebel T3).

120 Uma amostra de cada estágio foi fixada em solução de glutaraldeído 25% num
121 tampão fosfato 0,2 M e água destilada durante 14 dias. As amostras então foram lavadas
122 três vezes (30 min/lavagem) em fosfato 0,2 M e água destilada (proporção de 1:1),
123 desidratadas numa série graduada de acetona (30, 50, 70, 90 e 100 %), secas em ponto
124 crítico (Balzers CPD030) e metalizadas (Balzers SCD050), para depois ser feita análise
125 em microscópio eletrônico de varredura (Jeol JSM 6060), onde foram efetuadas
126 eletromicrografias das diferentes fases imaturas.

127 Quanto à descrição de cada fase utilizou-se um indivíduo com idade média dentro
128 de cada estágio, sendo adicionado após as diagnoses, comentários sobre mudanças
129 morfológicas que podem ocorrer ao longo de cada estágio. Para a quetotaxia da cápsula
130 cefálica se utilizou como modelo larvas de último ínstar, visto que a distribuição das
131 cerdas é igual em todos os ínstaes larvais e pré-pupa. As terminologias morfológicas
132 (Fig. 1) seguem Gómez et al. (2008, 2011).

133 Abreviações:

134 A: segmento abdominal

135 SA: segmento anal

136 T: segmento torácico

137 Fig. 1

138 O material examinado foi tombado na Coleção Entomológica de Santa Cruz do Sul
139 (CESC), sob Lotes 79.495 (Ovo), 79.496 (Larva 1° ínstar), 79.497 (Larva 2° ínstar),
140 79.498 (Larva 3° ínstar), 79.499 (Larva 4° ínstar), 79.500 (Pré-pupa), 79.501 (Pupa
141 fêmea) e 79.502 (Pupa macho).

142 **Resultados**

143 Foi verificada a sobreposição de fases (entre as repetições) durante o desenvolvimento de
144 ovo a adulto de *H. hebetor*, indicando variações no tempo de desenvolvimento. A
145 amplitude de cada fase imatura foi pequena, principalmente nos primeiros ínstaes.
146 Assim, ao completar quatro dias após a oviposição, as larvas já se encontravam no quarto
147 e último ínstar, iniciando a formação do casulo para empupar. A fase pupal foi a mais
148 longa de todos os estágios de desenvolvimento, com mais de quatro dias de duração
149 (Tabela 1).

150 Tabela 1

151 A seguir, é apresentada a diagnose de todo o desenvolvimento de *H. hebetor*, com
152 fotografias e eletromicrografias de alguns detalhes de cada estágio, distribuição e
153 nomenclatura das cerdas presentes na cápsula cefálica, além, de comentários das
154 mudanças morfológicas em cada fase:

155 Ovo

156 Diagnose: ovo opaco, de cor branca, com a superfície lisa (Fig. 5A), tipicamente
157 himenopteriforme, alongado, mais ou menos elíptico, aproximadamente quatro vezes
158 mais longo que largo, extremidade anterior (onde forma-se a cápsula cefálica do embrião)
159 arredondada e extremidade oposta levemente pontiaguda (Fig. 3A e B).

160 Medidas: comprimento total: 0,52 mm; largura máxima: 0,12 mm.

161 Comentários: aproximadamente 12 h após a oviposição é possível observar o
162 embrião em formação e seu desenvolvimento (Fig. 3B) e posterior eclosão.

163 Larva

164 Conforme as medidas da cápsula cefálica e do comprimento das fases larvais de *H.*
165 *hebetor*, foi possível determinar quatro ínstares (Tabela 1), utilizando o modelo de
166 regressão segmentado ($r^2= 99 \%$).

167 De forma geral, os ínstares das larvas são semelhantes entre si, diferindo
168 principalmente, no tamanho e forma dos segmentos. As larvas apresentam gradual perda
169 de transparência, tornando-se mais opacas a cada ínstar sucessivo, com o aumento do
170 tamanho do intestino. Cada ínstar teve tempo diferente de desenvolvimento (Tabela 1).

171 Primeiro ínstar

172 Diagnose: cápsula cefálica esférica, com a largura igual ao comprimento dos três
173 segmentos do tórax juntos, antenas curtas visíveis abaixo da região do vértice, com cerdas
174 esparsas na região frontal da cápsula cefálica (Fig. 2), corpo com 13 segmentos
175 poscefálicos: três segmentos torácicos (T1-T3) e dez segmentos abdominais, incluindo
176 um segmento anal (A1-A9, SA). A1-A5 com comprimento e largura quase iguais, A6-A9
177 com largura diminuindo gradativamente até o SA (Fig. 3C), um par de espiráculos por
178 segmento T e A (Fig. 5C), SA com largura igual a um terço da largura da cápsula cefálica,
179 superfície do corpo liso, sem cerdas (Fig. 5C).

180 Medidas: comprimento total: 0,42 mm; cápsula cefálica: 0,10 mm; largura máxima:
181 0,10 mm.

182 Comentários: na fase inicial, a larva é translúcida e a cápsula cefálica é tão larga
183 quanto os segmentos seguintes. À medida que a larva se desenvolve, seu corpo cresce
184 rapidamente e a segmentação torna-se mais perceptível. No decorrer do primeiro ínstar,
185 os segmentos torácicos ultrapassaram a largura da cápsula cefálica.

186 Segundo ínstar

187 Diagnose: cápsula cefálica esférica, quase duas vezes mais larga que a do primeiro ínstar,
188 antenas curtas visíveis, com cerdas esparsas na região frontal da cápsula cefálica (Fig. 2),
189 T2 e T3 duas vezes mais largos que a cápsula cefálica, segmentos A1-A5 quase com a
190 mesmo comprimento e largura do T2-T3, A6-A9 com largura diminuindo gradativamente
191 até o AS (Fig. 3D), um par de espiráculos por segmento T e A (Fig. 5C), SA com a metade
192 da largura da cápsula cefálica, superfície do corpo liso, sem cerdas (Fig. 5C).

193 Medidas: comprimento total: 0,92 mm; cápsula cefálica: 0,18 mm; largura máxima:
194 0,36 mm.

195 Comentários: a largura da cápsula cefálica aumenta, porém menos que a largura dos
196 segmentos do corpo. Com o aumento do tamanho do corpo das larvas, o intestino ocupa
197 um volume cada vez maior, chegando até um terço de ocupação do corpo neste estágio
198 de desenvolvimento.

199 Terceiro ínstar

200 Diagnose: cápsula cefálica esférica 2,5 vezes mais larga que a do primeiro ínstar, antenas
201 curtas visíveis, com cerdas esparsas na região frontal da cápsula cefálica (Fig. 2), parte
202 posterior da cápsula cefálica encoberta pelo T1, T2 e T3 duas vezes mais largos que a
203 cápsula cefálica, segmentos A1-A6 1,5 vezes mais largos que T2-T3, A7-A9 com largura
204 diminuindo gradativamente até o AS (Fig. 3E), um par de espiráculos por segmento T e
205 A, largura do SA igual a dois terços da largura da cápsula cefálica, superfície dorsal do
206 tórax e abdômen lisos, com cerdas curtas e densas em toda superfície (Fig. 5B), junto com
207 sensilas tricóides esparsas, três vezes mais longas que as cerdas (Fig. 5D), lado ventral
208 liso sem cerdas.

209 Medidas: comprimento total: 1,52 mm, cápsula cefálica: 0,24 mm e largura
210 máxima: 0,62 mm.

211 Comentários: à medida que os segmentos corporais aumentam de tamanho, a
212 cápsula cefálica começa a ser encoberta na parte posterior pelo T1, chegando até um terço
213 da cápsula cefálica. Ao contrário do primeiro e segundo ínstar, a superfície possui
214 cerdas curtas e densas, facilmente visíveis, espalhadas pelo tórax e abdômen. As sensilas
215 tricóides são desenvolvidas, com base e forma de cone, chegando a duas vezes o tamanho
216 das cerdas. A larva torna-se mais opaca com o intestino ocupando dois terços do corpo
217 neste ínstar.

218 Quarto ínstar

219 Diagnose: cápsula cefálica esférica, três vezes mais larga que a do primeiro ínstar, antenas
220 curtas visíveis, com cerdas esparsas na região frontal da cápsula cefálica (Fig. 2), cápsula
221 cefálica encoberta dorsalmente pelo T1, com aproximadamente a mesma largura, T2 duas
222 vezes mais largo que T1, T2 e T3 duas vezes mais compridos que a cápsula cefálica, A1-
223 A8 com mesmo comprimento entre eles e quase quatro vezes mais largos que a cápsula
224 cefálica (Fig. 3F), um par de espiráculos por segmento T e A, SA com a mesma largura
225 da cápsula cefálica, superfície dorsal do tórax e abdômen lisos, com cerdas curtas e densas
226 em toda superfície (Fig. 5B), junto com sensilas tricóides esparsas, três vezes mais longas
227 que as cerdas (Fig. 5D), lado ventral liso sem cerdas.

228 Medidas: comprimento total: 2,64 mm; cápsula cefálica: 0,29 mm; largura máxima:
229 0,95 mm.

230 Comentários: à medida que cresce, os segmentos corporais aumentam o tamanho,
231 tornando a cápsula cefálica proporcionalmente a menor parte da larva, além de ser quase
232 totalmente envolvida dorsalmente pelo primeiro segmento torácico. Muitos glóbulos
233 brancos aparecem como pequenas manchas brancas espalhadas sob a cutícula dos
234 segmentos abdominais. Aproximadamente 84 h após o parasitismo, as larvas do quarto
235 ínstar já consumiram quase todos os tecidos do hospedeiro e se distanciaram do mesmo

236 para iniciar a formação do casulo, que é tecido com seda produzida pelas glândulas
237 labiais, formando uma espessa camada de fios, sobre seu corpo (Fig. 3G).

238 Pré-pupa

239 Diagnose: cápsula cefálica distintamente separada do restante do corpo, com uma
240 expansão do lobo posterior (Fig. 4A), antenas curtas visíveis, com cerdas esparsas na
241 região frontal da cápsula cefálica (Fig. 2), T1 quase tão comprido quanto o T2 e T3 juntos,
242 T2 e T3 quatro vezes mais largos que compridos, segmentos torácicos separam-se dos
243 abdominais por uma leve constrição, A1-A6 com comprimento e largura quase iguais o
244 T3, A7-A9 com largura diminuindo gradativamente até o AS (Fig. 5E), um par de
245 espiráculos por segmento T e A, largura do SA igual a um terço da largura da cápsula
246 cefálica, superfície dorsal do tórax e abdômen lisos, com cerdas curtas e densas em toda
247 superfície (Fig. 5B), junto com sensilas tricóides esparsas, três vezes mais longas que as
248 cerdas (Fig. 5D), lado ventral liso sem cerdas.

249 Medidas: comprimento total: 2,90 mm; cápsula cefálica: 0,38 mm; largura máxima:
250 0,84 mm.

251 Comentários: ao final do quarto ínstar, já com o casulo completamente formado, de
252 formato oval e branco, ocorre a transformação em pré-pupa, com coloração mais clara e
253 ausência de movimentos. Com a ligação do intestino médio ao intestino posterior ocorre
254 a eliminação do mecônio, que fica aderido ao casulo, deixando o intestino translucido.
255 Ocorre uma diferenciação na cápsula cefálica com a expansão do lobo posterior, onde no
256 final dessa fase, os olhos compostos e os três ocelos dorsais tornam-se visíveis, com
257 coloração marrom-avermelhado.

258 Pupa

259 Diagnose fêmea: características da cabeça como no adulto, olhos e ocelos pigmentados,
260 antenas completamente formadas, curvadas para baixo do tórax, terminando na inserção

286 Fig. 4

287 Fig. 5

288 **Discussão**

289 O tempo de desenvolvimento desde a oviposição até a emergência do adulto foi
290 semelhante ao que havia sido referido para *H. hebetor* por Serra (1992), Magro et al.
291 (2006) e Alam et al. (2014), que entre 26-28 °C a fase imatura é entre 10-12 dias, em
292 larvas *E. kuehniella* ou em outros hospedeiros. Os mesmos autores concluíram que o
293 tempo de desenvolvimento desse parasitoide é diretamente dependente da temperatura,
294 podendo ser mais rápido em temperatura elevadas.

295 As diagnoses detalhadas de todos os estágios imaturos é um complemento ao estudo
296 realizado por Alam et al. (2014) que fizeram sucintos comentários referentes ao tempo de
297 desenvolvimento e características morfológicas básicas das fases de *H. hebetor*
298 parasitando *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) entretanto sem, associar
299 imagens e diagnoses detalhadas de cada período. A constatação das características
300 morfológicas antes da emergência é importante para se reconhecer a espécie também no
301 estágio imaturo, enquanto está sobre seu hospedeiro.

302 Os ovos de formato himenopteriforme alongado eram esperados, pois como haviam
303 comentado Ide et al. (2006), grande parte dos ovos de Hymenoptera possuem esse
304 formato. Porém, conforme o mesmo autor, o cório pode ser liso ou rugoso e com presença
305 de ganchos, sendo que, no caso de *H. hebetor*, este é liso, sem outras estruturas.

306 Foi observada a existência de quatro ínstares larvais de *H. hebetor*, através das
307 medidas do comprimento total e largura da cápsula cefálica, diferindo da avaliação
308 anteriormente realizada por Magro et al. (2006) que baseados no tamanho das mandíbulas
309 registraram a existência de apenas três ínstares larvais para esse parasitoide, utilizando o
310 mesmo hospedeiro. Conforme Costa e Ide (2006) a definição do número de ínstares pode

311 ser variável conforme a metodologia utilizada para a determinação e até mesmo pode ser
312 diferente entre indivíduos da mesma espécie. Desta forma, afiançamos nosso resultado,
313 considerando que as diferenças morfológicas apontadas são suficientes para definir os
314 quatro instares larvais.

315 Larvas com redução nas estruturas e sucessivas alterações de pigmentação na cor
316 do corpo, haviam sido relatadas para outras espécies de parasitoides. Thomazini et al.
317 (2000), Bittencourt e Berti Filho (2004), Yu et al. (2008), Zhao et al. (2014) descrevem
318 que o corpo dos parasitoides fica mais opaco e menos translúcido ao longo do
319 desenvolvimento.

320 O surgimento de grânulos brancos ao longo do abdômen no último ínstar larval,
321 também foi relatado para um parasitoide da mesma superfamília *Diadromus collaris*
322 (Gravenhorst) (Hymenoptera: Ichneumonidae) (Zhao et al. 2014). Segundo Parra (2009)
323 esses glóbulos são corpos de gordura que armazenam lipídios e fornecem ao adulto
324 reserva de energia de longo prazo. Conforme Istvan et al. (2011) que avaliaram a
325 quantidade de proteínas e lipídios de *H. hebetor* em temperaturas constantes e alternadas,
326 os lipídios acumulados no estágio larval proporcionam aos adultos energia por
327 aproximadamente 10 dias.

328 Quatro dias após a oviposição o parasitoide já no último ínstar larval, se afasta do
329 hospedeiro. Esse comportamento justifica-se, pois, conforme relata Quicke (1997) para
330 ectoparasitoides existe um potencial risco de putrefação do tecido do hospedeiro não
331 consumido. Por consequência, o parasitoide tende a desenvolver-se rapidamente na fase
332 larval. Isto reduz os efeitos de qualquer declínio na qualidade do hospedeiro que irá
333 ocorrer naturalmente ou como resultado da infecção por micro-organismos (Quicke
334 2015).

335 Após se afastar do hospedeiro o parasitoide inicia a construção do casulo para
336 empupar. A formação do casulo com uma espessa camada de seda conforme Tagawa e
337 Kitano (1981) indicam a sua importância na sobrevivência de ectoparasitoides, pois, é
338 uma proteção contra danos físicos, predadores, hiperparasitoides e a dessecação. A pupa
339 é do tipo exarata com apêndices separados do corpo, como na maioria dos Hymenoptera
340 (Ide et al. 2006).

341 O desenvolvimento de *H. hebetor* é, em muitos aspectos semelhante a outros
342 braconídeos. No entanto, no presente estudo foi documentado todo o desenvolvimento de
343 *H. hebetor* com alterações morfológicas fornecendo, assim, uma base detalhada da
344 caracterização morfológica das fases imaturas e desenvolvimento do mesmo.

345 **Agradecimentos**

346 Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa
347 concedida ao primeiro autor. A *Japan Tobacco International* (JTI) pelo apoio financeiro.
348 Ao Centro de Microscopia Eletrônica da UFRGS pelo suporte técnico para efetuar as
349 eletromicrografias. Ao Dr. Alexandre Somavilla, do INPA pela revisão do trabalho.

350 **Referências citadas**

351 **Alam, M. S., M. Z. Alam, S. N. Alam, M. R. U. Miah, M. I. H. Mian, e M. M. Hossain.**
352 **2014.** Biology of *Bracon Hebetor* reared on wax moth (*Galleria mellonella*) larvae.
353 Persian Gulf Crop Protection. 3: 54-62.

354 **Ambrosano, G. M. B., T. Igue, e A. L. Lourenção. 1997.** Determinação do número de
355 ínstar de insetos utilizando modelo de regressão segmentado. Anais da Sociedade
356 Entomológica do Brasil. 26: 371-374.

357 **Athié, I., e D. C. de Paula. 2002.** Insetos de grãos armazenados: aspectos biológicos e
358 identificação, 2º ed. Varela, São Paulo, Brasil.

- 359 **Bittencourt, M. A. L., e E. Berti Filho. 2004.** Desenvolvimento dos estágios imaturos
360 de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera, Eulophidae) em pupas de
361 Lepidoptera. Revista Brasileira de Entomologia. 48: 65-68.
- 362 **Carabajal-Paladino, L.Z., Papeschi, A. G. e J. L. Cladera. 2010.** Immature stages of
363 development in the parasitoid wasp, *Diachasmimorpha longicaudata*. J. Insect Sci. 10: 1-
364 13.
- 365 **Chen, H., H. Zhang, K. Y. Zhu, e J. E. Throne. 2012.** Induction of reproductive
366 diapause in *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) when reared at different
367 photoperiods at low temperatures. Environ. Entomol. 41: 697-705.
- 368 **Costa, C., e S. Ide. 2006.** Fases do desenvolvimento, pp. 19-30. In C. Costa, S. Ide, e C.
369 E. Simonka (eds.), Insetos imaturos, metamorfose e identificação. Holos, Ribeirão Preto,
370 Brasil.
- 371 **Cruz, I., Figueiredo, M. L. C. e M. J. Matoso. 1999.** Controle Biológico de *Spodoptera*
372 *frugiperda* utilizando o parasitoide de ovos *Trichogramma*. Embrapa, Sete Lagoas,
373 Brasil.
- 374 **Eliopoulos, P. A., e G. J. Stathas. 2008.** Life tables of *Habrobracon hebetor*
375 (Hymenoptera: Braconidae) parasitizing *Anagasta kuehniella* and *Plodia interpunctella*
376 (Lepidoptera: Pyralidae): Effect of host density. J. Econ. Entomol. 101: 982-988.
- 377 **Fagundes, G. G., H. Mohamed, e D. R. Solis. 2005.** Biological responses of *Anagasta*
378 *kuehniella* and its parasitoid, *Bracon hebetor*, to microwaves radiation (2450 MHz).
379 Revista de Agricultura Piracicaba. 80: 12-34.

- 380 **Forouzan, M., M. Amirmaafi, e A. Sahragard. 2008.** Temperature-dependent
381 development of *Habrobracon hebetor* (Hym.: Braconidae) reared on larvae of *Galleria*
382 *mellonella* (Lep.: Pyralidae). Journal of Entomological Society of Iran. 28: 67-78.
- 383 **Gómez, J. F., J. L. Nieves-Aldrey, e M. H. Nieves. 2008.** Comparative morphology,
384 biology and phylogeny of terminal-instar larvae of the European species of Toryminae
385 (Hym., Chalcidoidea, Torymidae) parasitoids of gall wasps (Hym. Cynipidae). Zool J
386 Linnean Soc. 154: 676-721.
- 387 **Gómez, J. F., J. L. Nieves-Aldrey, M. H. Nieves, e G. N. Stone. 2011.** Comparative
388 morphology and biology of terminal-instar larvae of some *Eurytoma* (Hymenoptera,
389 Eurytomidae) species parasitoids of gall wasps (Hymenoptera, Cynipidae) in western
390 Europe. Zoosystema. 33: 287-323.
- 391 **Ide, S., C. Costa, e C. E. Simonka. 2006.** Hymenoptera, pp. 205-216. In C. Costa, S.
392 Ide, e C. E. Simonka (eds.), Insetos imaturos, metamorfose e identificação. Holos,
393 Ribeirão Preto, Brasil.
- 394 **Istvan, Ö. V., N. E. A. Gündüz, e A. Gülel. 2011.** Protein and lipid amounts of the
395 parasitoid *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) at constant and alternating
396 temperatures. Turkish Journal of Zoology. 35: 747-753.
- 397 **Lorini, I., F. C. Krzyzanowski, J. de B. França-Neto, A. A. Henning, e F. A. Henning.**
398 **2015.** Manejo Integrado de Pragas de Grãos e Sementes Armazenadas. Embrapa, Brasília,
399 Brasil.
- 400 **Magro, S. R., A. B. Dias, W. R. Terra, e J. R. P. Parra. 2006.** Biological, nutritional,
401 and histochemical basis for improving an artificial diet for *Bracon hebetor* Say
402 (Hymenoptera: Braconidae). Neotropical Entomology. 35: 215-222.

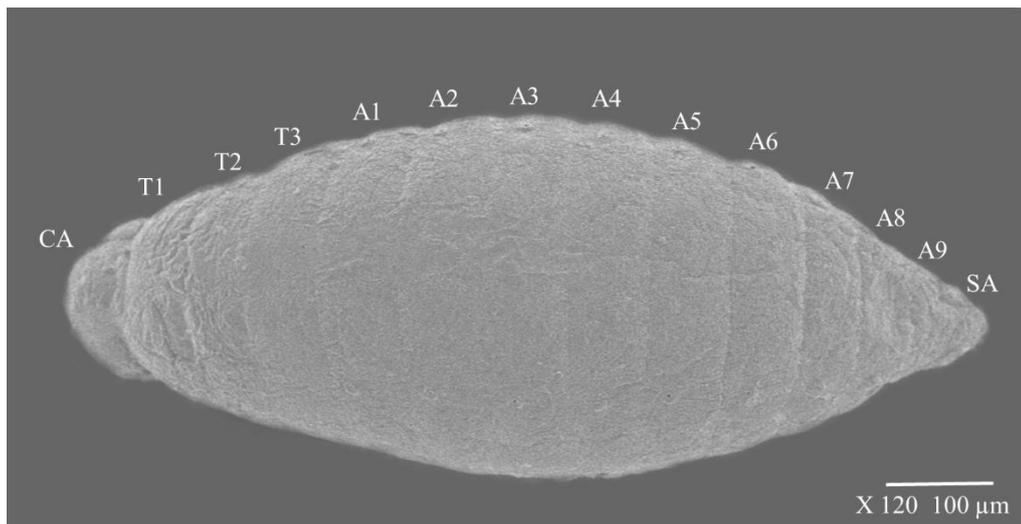
- 403 **Magro, S. R., e J. R. P. Parra. 2001.** Biologia do ectoparasitóide *Bracon hebetor*
404 SAY,1857 (Hymenoptera: Braconidae) em sete espécies de lepidópteros. Scientia
405 Agricola. 58: 693-698.
- 406 **Melo, G. A. R., A. P. Aguiar, e B. R. Garcete-Barrett. 2012.** Hymenoptera Linnaeus,
407 1758, pp. 553-612. In: J. A. Rafael, G. A. R. Melo, C. J. B. de Carvalho, S. A. Casari, e
408 R. Constantino (eds.), Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia. Holos, Ribeirão Preto,
409 Brasil.
- 410 **Parra, J. R. P. 2009.** A evolução das dietas artificiais e suas interações em ciência e
411 tecnologia, pp. 91-174. In Panizzi, A. R., e J. R. P. Parra (eds.), Bioecologia e nutrição de
412 insetos, base para o manejo integrado de pragas. Embrapa, Brasília, Brasil.
- 413 **Pinheiro, D. O., Rossi, G. D. e F. L. Cônsoli. 2010.** External morphology of *Cotesia*
414 *flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) during larval development. Zoologia. 27: 986-992.
- 415 **Quicke, L. J. D. 1997.** Parasitic wasps. Chapman&Hall, London, United Kingdom.
- 416 **Quicke, D. L. J. 2015.** The Braconid and Ichneumonid Parasitoid Wasps: Biology,
417 Systematics, Evolution and Ecology. Wiley-Blackwell, Chichester, United Kingdom.
- 418 **Qureshi, S. R., Quan, W. L., Zhou, R. Q. e X. P. Wang. 2015.** Morphology and
419 development of immature stages of *Chelonus murakatae* (Hymenoptera: Braconidae), an
420 endoparasitoid of *Chilo suppressalis*. Entomol. News. 125: 252-259.
- 421 **Serra, H. J. P. 1992.** Bioecologia do ectoparasito *Habrobracon hebetor* (Say, 1836)
422 (Hymenoptera: Braconidae) em *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera:
423 Pyralidae). Dissertação de Mestrado, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz",
424 Universidade de São Paulo, Piracicaba.

- 425 **Tagawa, J., e H. Kitano. 1981.** Mating behaviour of the braconid wasp, *Apanteles*
426 *glomeratus* L. (Hymenoptera, Braconidae) in the field. Appl. Entomol. Zool. 16: 345-
427 350.
- 428 **Thomazini, M. J., J. Lino Neto, V. A. Costa, e E. Berti Filho. 2000.** Caracterização
429 morfológica das fases imaturas e tempo de desenvolvimento de *Muscidifurax uniraptor*
430 Kogan & Legner (Hymenoptera: Pteromalidae). Anais da Sociedade Entomológica do
431 Brasil. 29: 691-696.
- 432 **Yu, D. S., C. van Achterberg, e K. Horstmann. 2012.** World Ichneumonoidea 2011.
433 Taxonomy, biology, morphology and distribution (Braconidae). Ottawa: Taxapad
434 (Scientific names for information management) Interactive Catalogue. DVD/CD-ROM.
- 435 **Yu, R. X., M. Shi, F. Huang, e X. X. Chen. 2008.** Immature development of *Cotesia*
436 *vestalis* (Hymenoptera: Braconidae), an endoparasitoid of *Plutella xylostella*
437 (Lepidoptera: Plutellidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 101: 189-196.
- 438 **Yu, R. X., Shi, M., Huang, F. e X. X. Chen. 2008.** Immature Development of *Cotesia*
439 *vestalis* (Hymenoptera: Braconidae), an Endoparasitoid of *Plutella xylostella*
440 (Lepidoptera: Plutellidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 101: 189-196.
- 441 **Zhao, W., S. Dong, M. Shi, e X. X. Chen. 2014.** Morphology and development of
442 immature stage of *Diadromus collaris* (Hymenoptera: Ichneumonidae), an important
443 endoparasitoid of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Ann. Entomol. Soc. Am.
444 107: 234-241.

445 **Tabela 1.** Tempo médio de desenvolvimento (\pm DP) e dimensões médias (\pm DP) nas
 446 diferentes fases de desenvolvimento de *Habrobracon hebetor* em larvas de *Ephestia*
 447 *kuehniella*; (Fotofase 12 h, 28 ± 2 °C e 50 ± 20 % UR).

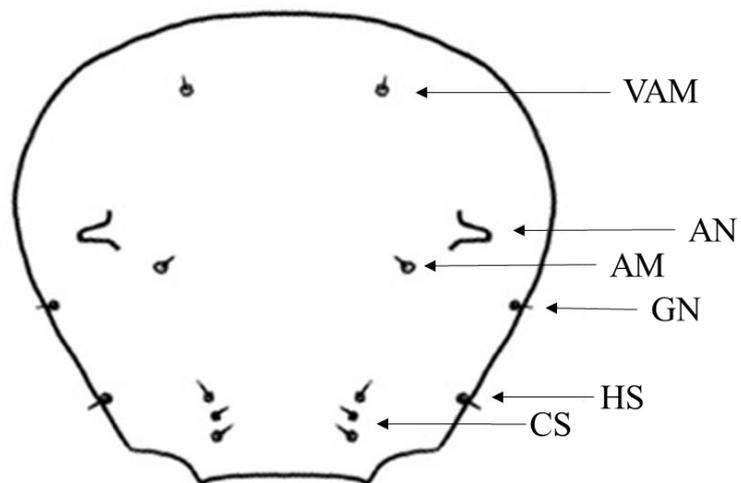
Fase	Tempo (dias)	Comprimento do corpo (mm)	Largura máxima do corpo (mm)	Largura cápsula cefálica (mm)
Ovo	$1,35 \pm 0,343$	$0,52 \pm 0,056$	$0,12 \pm 0,011$	-
Larva 1	$0,73 \pm 0,089$	$0,44 \pm 0,073$	$0,10 \pm 0,019$	$0,10 \pm 0,014$
Larva 2	$0,41 \pm 0,050$	$0,89 \pm 0,142$	$0,36 \pm 0,022$	$0,18 \pm 0,019$
Larva 3	$0,90 \pm 0,110$	$1,87 \pm 0,283$	$0,60 \pm 0,086$	$0,24 \pm 0,019$
Larva 4	$1,22 \pm 0,150$	$2,67 \pm 0,139$	$0,90 \pm 0,079$	$0,30 \pm 0,026$
Pré-pupa	$1,97 \pm 0,374$	$2,90 \pm 0,182$	$0,84 \pm 0,035$	$0,38 \pm 0,022$
Pupa fêmea		$2,46 \pm 0,113$	$0,91 \pm 0,037$	$0,56 \pm 0,011$
Pupa macho	$4,47 \pm 0,413$	$2,50 \pm 0,164$	$0,78 \pm 0,027$	$0,56 \pm 0,013$

448



449

450 **Fig 1.** Eletromicrografia de larva de segundo ínstar de *Habrobracon hebetor* em vista
451 dorsal, ilustrando a terminologia utilizada para a descrição geral. (A1-A9= segmentos
452 abdominais. CA= cápsula cefálica. SA= segmento anal. T1-T3= segmentos torácicos).



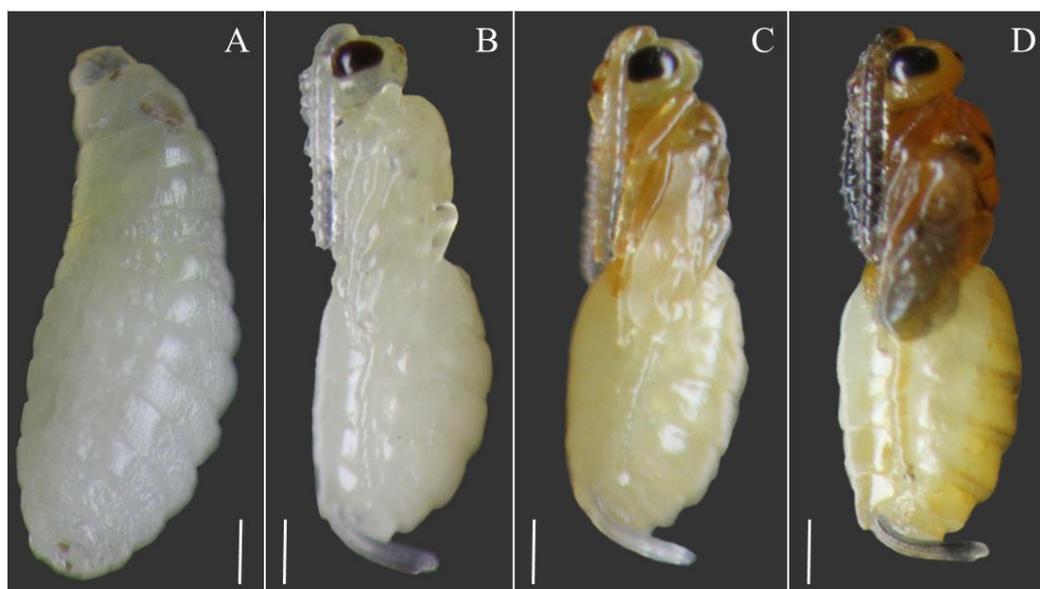
453

454 **Fig. 2.** Cápsula cefálica em vista frontal de larva de quarto ínstar de *Habrobracon*
 455 *hebetor*, ilustrando a quetotaxia. (NA= antena. AM= cerda antero-medial da região
 456 antenal. CS= cerdas clipeais. DLS= cerdas dorso-labral. GN= cerda genal. VAM= cerda
 457 antero-medial do vértice).



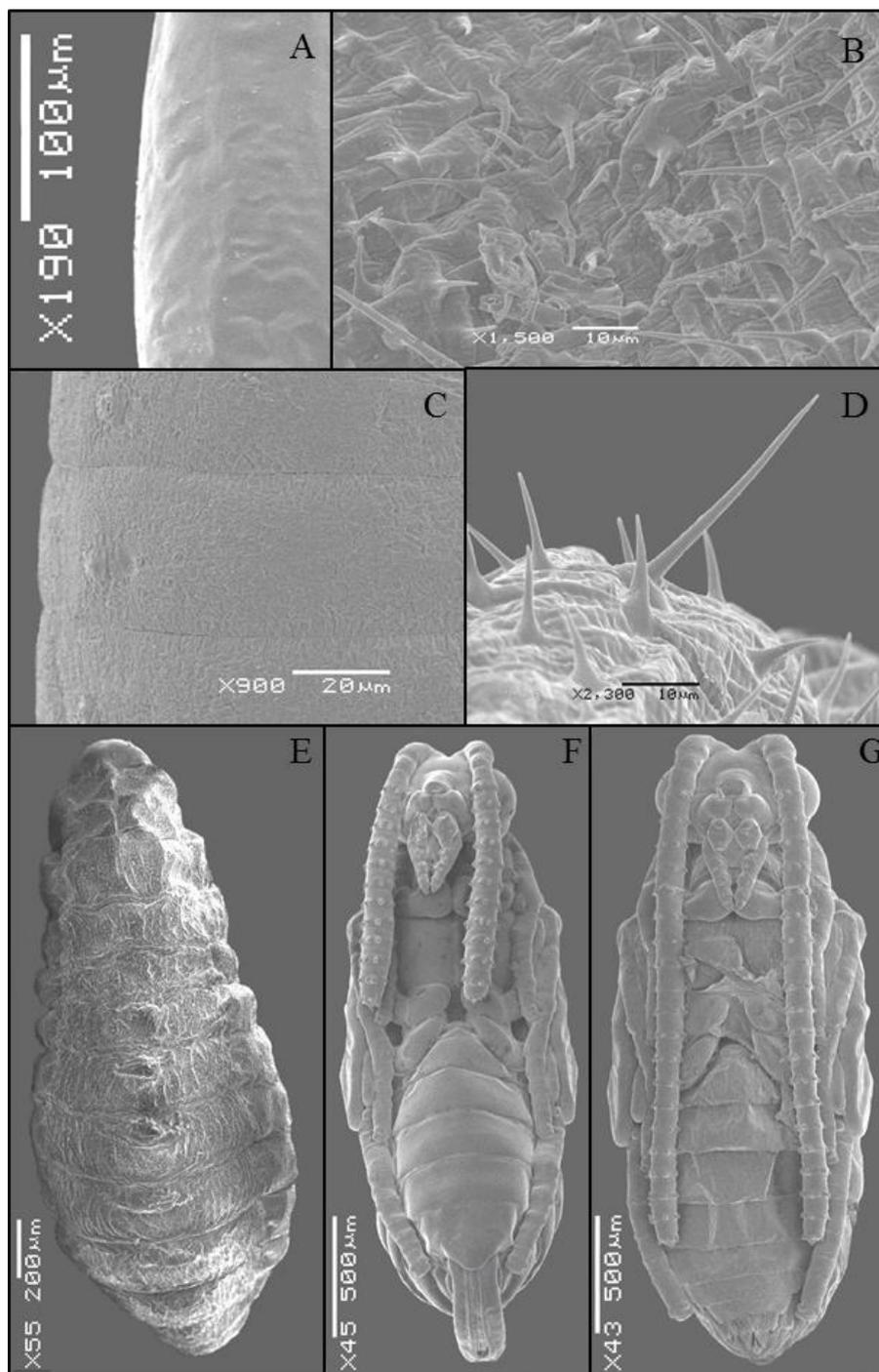
458

459 **Fig 3.** Fases imaturas de *Habrobracon hebetor* em vista lateral: (A) ovo após a
 460 oviposição. (B) embrião em desenvolvimento. (C) primeiro ínstar larval. (D) segundo
 461 ínstar larval. (E) terceiro ínstar larval. (F) quarto ínstar larval. (G) casulo em formação.
 462 Escala: (A-C) 0,25 mm. (D-G) 0,5 mm.



463

464 **Fig 4.** Fases imaturas de *Habrobracon hebetor* em vista lateral: (A) Pré-pupa. (B)
465 primeiro estágio pupal. (C) segundo estágio pupal. (D) terceiro estágio pupal antes da
466 emergência do adulto. Escala: 0,5 mm.



467

468 **Fig 5.** Eletromicrografias de varredura das fases imaturas de *Habrobracon hebetor*: (A)
 469 detalhe da superfície lisa do ovo. (B) detalhe das cerdas na superfície dorsal do tórax e
 470 abdômen do terceiro e quarto ínstar larval e pré-pupa. (C) detalhe da superfície dorsal lisa
 471 do primeiro e segundo ínstar larval com os espiráculos. (D) detalhe de uma sensila
 472 tricóide. (E) pré-pupa. (F) pupa fêmea. (G) pupa macho.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando os resultados obtidos, foi possível observar que *H. hebetor* mantido durante a fase pré-imaginal com 12 e 24 h de luz acelera o seu desenvolvimento em comparação com plena escotofase, no entanto, na fase adulta, o fotoperíodo não influencia na longevidade de machos e fêmeas.

Com relação aos parâmetros reprodutivos, o aumento populacional de *H. hebetor* demonstra que há um potencial de crescimento maior quando os insetos são mantidos em regimes de fotoperíodo acima de 12 h de luz durante a fase pré imaginal.

A partir desse resultado, é possível propor um efeito indireto do fotoperíodo no parasitismo de *H. hebetor* devido alterações na fecundidade das fêmeas, que produzem maior número de ovos e conseqüentemente parasitam um maior número de larvas quando são expostas a um período acima de 12 h de luz durante o seu desenvolvimento, sendo o número de larvas paralisadas sempre maior que as parasitadas em condições de confinamento.

A quantidade de horas de luz durante a fase imatura das fêmeas sinalizou uma interferência apenas na fecundidade, demonstrando que uma vez realizado o parasitismo, o fotoperíodo não afeta a viabilidade da prole do parasitoide e a razão sexual de *H. hebetor*.

Para criações em laboratório indica-se que o ideal é que a fase imatura seja desenvolvida em fotoperíodos com mais de 12 h de luz. Para a fase adulta, entretanto, aparentemente não há influência do fotoperíodo no desempenho dos parasitoides.

Este resultado é importante tendo em vista que este parasitoide poderá ser utilizado como agente de controle em ambientes de armazenamento, como pouca luminosidade, como é o caso do uso em tabaco armazenado.

Os conhecimentos da relação do fotoperíodo com o tempo de desenvolvimento, longevidade, fecundidade e fertilidade de *H. hebetor* gerados neste estudo, poderão auxiliar na otimização da criação massal deste parasitoide. No entanto, são necessários mais estudos que avaliem em campo, em ambientes de armazenamento, com baixa luminosidade, o comportamento do parasitoide, na procura do hospedeiro.

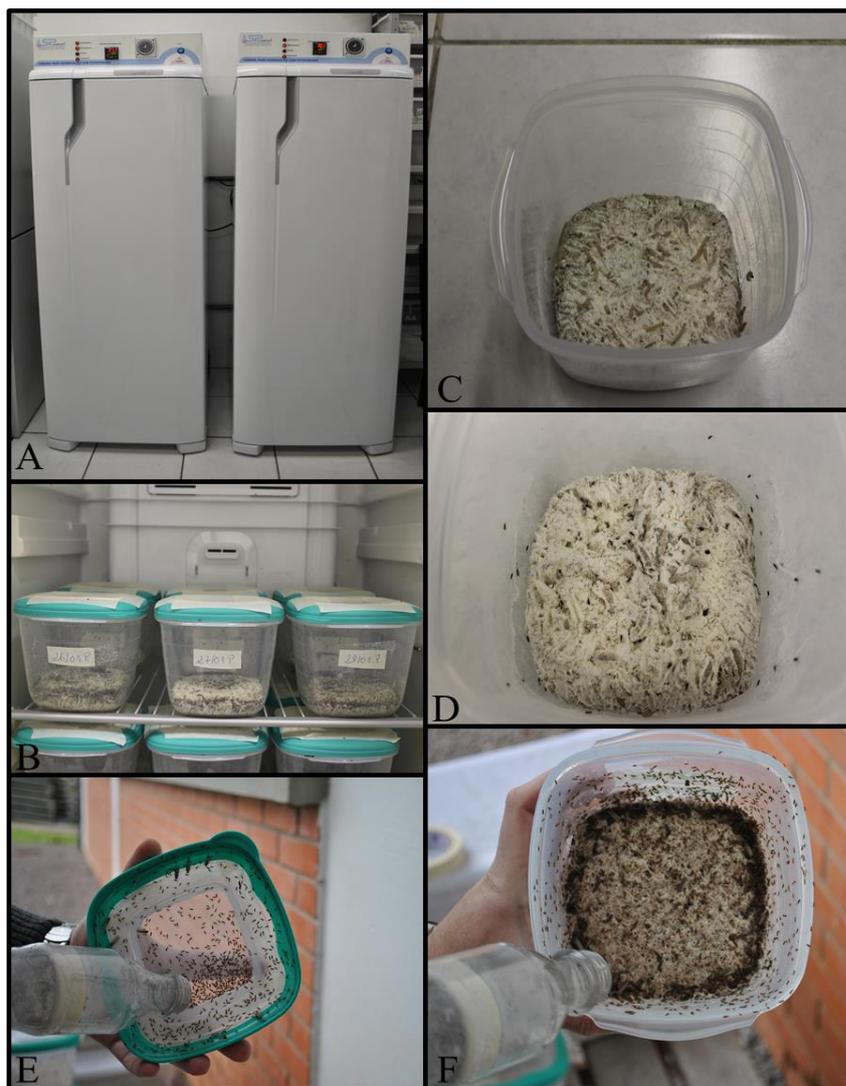
Com base no registro da fase imatura do parasitoide, foi possível observar que o desenvolvimento de *H. hebetor* é, em muitos aspectos, semelhante a outros braconídeos. No entanto, no presente estudo foi documentado todo o desenvolvimento de *H. hebetor* com alterações morfológicas fornecendo, assim, uma base detalhada da caracterização morfológica das fases imaturas e desenvolvimento do mesmo.

O maior conhecimento das interações do parasitoide com fatores ambientais poderá auxiliar em programas de controle biológico, criando parasitoides com alta capacidade reprodutiva, visando aumentar a eficácia da utilização de *H. hebetor* no controle das traças presentes no armazenamento do tabaco e de outros produtos.

7 APÊNDICES



APÊNDICE 1. Criação da traça *Ephestia kuehniella*: A - Coleta dos adultos nos recipientes de criação, com auxílio de um aspirador de pó adaptado. B - Gaiola de oviposição para os adultos. C - Detalhe dos adultos dentro da gaiola. D - Coleta dos ovos na bandeja. E - Ovos sujos com escamas e outras partículas. F - Ovos limpos após a remoção dos resíduos. G - Ovos espalhados sobre a superfície de uma dieta nova. H - Recipientes com dieta em fases diferentes do desenvolvimento (caixa superior com 1 dia e caixa inferior com 40 dias de criação). I - Sala com estantes e recipientes de criação.



APÊNDICE 2. Criação do parasitoide *Habrobracon hebetor*: A - Estufas incubadoras “Tipo B.O.D.” para a criação. B - Interior da B.O.D com os recipientes de criação. C - Recipiente com larvas de último ínstar de *Ephestia kuehniella* destinado ao parasitismo. D - Liberação dos parasitoides no recipiente. E,F - Coleta dos parasitoides emergidos nos recipientes de criação, com auxílio de um aspirador de pó adaptado.