



ARTIGO ORIGINAL

Capacidade de paralisação, parasitismo e viabilidade de *Habrobracon hebetor* sob o efeito do fotoperíodo

Paralyzation ability, parasitism and viability of Habrobracon hebetor under photoperiod effect

Cleder Pezzini^{1*}
Simone Mundstock Jahnke¹
Andreas Köhler²

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Departamento de Fitossanidade, Laboratório de Controle Biológico, Avenida Bento Gonçalves, 7712, 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil

² Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), Departamento de Biologia e Farmácia, Laboratório de Entomologia, Avenida Independência, 2293, 96815-900, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil

*Autor Correspondente:

E-mail: cleder.pezzini@hotmail.com

PALAVRAS-CHAVE

Controle biológico
Fotofase
Parasitoide
Mortalidade

KEYWORDS

Biological control
Photophase
Parasitoid
Mortality

RESUMO: Neste trabalho foram avaliados os índices de paralisação, parasitismo e sucesso reprodutivo de *Habrobracon hebetor* (= *Bracon hebetor*), parasitoide de lepidópteros praga de produtos armazenados, sob influência de 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, perfazendo nove tratamentos. Um casal de parasitoides foi inserido por placa de Petri contendo dez larvas de último instar de *Ephestia kuehniella*, sendo que, a cada 24 horas, eram retirados e transferidos para uma nova placa com dez larvas, até a morte da fêmea. Foram avaliados diariamente o número de larvas paralisadas, parasitadas e número de ovos. As larvas parasitadas foram mantidas 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 da fêmea. 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 da oviposição inicial. O fotoperíodo na fase adulta não influenciou diretamente o desempenho de *H. hebetor*.

ABSTRACT: This study evaluated the rates of paralyzation, parasitism and reproductive success of *Habrobracon hebetor* (= *Bracon hebetor*), parasitoids of lepidopteran pests of stored products, under the influence of 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 ten larvae of last instar *Ephestia kuehniella*, being removed after each 24 hours and transferred to a new dish with ten larvae, until the death of the female. Number of paralyzed and parasitized larvae and number of eggs were evaluated daily. The parasitized larvae were maintained in the same conditions of photoperiods to verify the viability (%) of each development stage. The number 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, independent of the photoperiod. The mean number of survivors at each stage of development was higher in offspring born from full photophase with an increase in the total number 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*.

Recebido em: 27/01/2019

Aceite em: 06/04/2019

1 Introdução

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) (= *Bracon hebetor*) (Hymenoptera: Braconidae) é um ectoparasitoide que comumente ataca várias espécies de larvas de piralídeos presentes em ambiente de armazenagem, entre elas, *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) (Farag et al., 2015).

O parasitoide *H. hebetor* já vem sendo comercializado por algumas biofábricas especialmente no continente europeu para o controle de traças que acometem diversos produtos armazenados (Solà et al., 2018). No Brasil, no entanto, até o momento, existem alguns trabalhos com *H. hebetor* apenas em âmbito de pesquisas de laboratório (Magro & Parra, 2002; Magro et al., 2006; Pezzini et al., 2017).

Autores como Ghimire & Phillips (2010; 2014), Chen et al. (2012) e Ashraf et al. (2017) demonstraram variações no desenvolvimento deste parasitoide em função da espécie do hospedeiro e sua densidade, dieta, tipo do recipiente de criação, bem como a interação com fatores ambientais.

A compreensão desses fatores bióticos e abióticos que governam a dinâmica populacional dos parasitoides é uma questão importante de sua ecologia (Jervis & Copland, 1996). No desenvolvimento ou reprodução, os parasitoides utilizam um ou vários fatores ambientais para avaliar e adequar-se à atual ou futura situação.

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 de insetos (Jaworski & Hilszczański, 2013). O fotoperíodo é um dos sinais que os parasitoides mais utilizam para perceber as mudanças ambientais e ajustar adequadamente o seu ciclo de vida (Košťál, 2011; Saunders, 2014).

Dias com mais horas de luz são conhecidos por diminuir a longevidade e a fecundidade de alguns parasitoides (Košťál, 2011). 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 habitualmente 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.

Assim, este estudo pode fornecer informações importantes para aprimorar criações massais de *H. hebetor*, com o intuito de serem utilizados como agentes de controle biológico aplicado. Neste trabalho, o efeito de diferentes condições de fotoperíodo durante a fase pré-imaginal e adulta de *H. hebetor*

foram investigados em laboratório com o objetivo de avaliar a paralisação, o parasitismo e o sucesso reprodutivo deste parasitoide em larvas de *E. kuehniella*.

2 Material e Métodos

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%) (Parra et al., 2014).

Os parasitoides utilizados neste estudo desenvolveram-se em diferentes condições experimentais, com três fotoperíodos (fotofase:escotofase), 0:24, 12:12 e 24:0, mantidos em estufa incubadora BOD a $28 \pm 2^\circ\text{C}$ e $50 \pm 20\%$ UR. Na fase adulta, os parasitoides foram expostos aos mesmos fotoperíodos da fase pré-imaginal, combinando as condições, com delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3×3 (fotoperíodo fase pré-imaginal x fotoperíodo fase adulta) perfazendo nove tratamentos.

Na fase de pupa, os parasitoides provindos das diferentes condições experimentais foram individualizados e acondicionados em micro túbulos Eppendorf de 1,5 mL e mantidos no mesmo fotoperíodo até a emergência. Nos bioensaios, foram utilizados 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 dez larvas de quinto instar de *E. kuehniella*, sendo diariamente ofertadas dez novas larvas, assim sucessivamente, até a morte da fêmea, registrando-se a longevidade.

Diariamente foram avaliados o número de larvas paralisadas e parasitadas, e o número de ovos. Consideraram-se paralisadas aquelas larvas que não se moviam quando estimuladas, e parasitadas aquelas que possuíam ovos do parasitoide sobre o corpo. As unidades experimentais foram mantidas nas mesmas condições ambientais descritas anteriormente e 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.

Os dados da viabilidade foram utilizados na construção de uma tabela com índices de mortalidade, adotando a metodologia de Southwood & 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); razão mortalidade/sobrevivência (RMS) expressa como d_x da fase de desenvolvimento/ L_x da fase de desenvolvimento seguinte. A partir desses valores, foi calculada a mortalidade aparente (D_a) expressa pela equação: $D_a = (d_x \text{ da fase de desenvolvimento} / L_x \text{ da fase de desenvolvimento}) \times 100$; mortalidade real (D_r) obtida por $D_r = (d_x \text{ da fase de desenvolvimento} / L_x \text{ da fase de desenvolvimento inicial}) \times 100$; e mortalidade indispensável (D_i) calculada pela equação: $D_i = L_x \text{ final (adulto)} \times \text{RMS da fase de desenvolvimento}$. A

razão sexual (RS) da prole emergida foi calculada pela equação: $RS = n^{\circ} \text{ de fêmeas} / (n^{\circ} \text{ de fêmeas} + n^{\circ} \text{ de machos})$.

O número médio de larvas paralisadas, parasitadas, ovos, pico de parasitismo e a longevidade média em dias das fêmeas foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, e à homocedasticidade pelo teste de Hartley. Verificou-se que os pressupostos da análise de variância (Anova) não foram atendidos e, dessa forma, optou-se pela utilização do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido de Dunn ($p < 0,05$), para análise de variância. Em relação à razão sexual, as proporções médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste 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 dos 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).

3 Resultados e Discussão

A quantidade de larvas paralisadas dentro de cada tratamento foi sempre superior à de larvas parasitadas, chegando à taxa de paralisação de 81% das larvas oferecidas a cada 24 horas, no entanto, o número diário de larvas paralisadas e parasitadas nos primeiros 11 dias de idade das fêmeas não diferiu entre os fotoperíodos, variando de $6,0 \pm 1,96$ a $8,1 \pm 1,27$ para larvas paralisadas e $2,7 \pm 1,09$ a $4,3 \pm 1,57$ para parasitadas (Tabela 1).

O maior número de larvas paralisadas em relação às parasitadas mostra que existe uma propensão das fêmeas em paralisar mais hospedeiros do que o necessário para a oviposição. Ghimire & Phillips (2014) verificaram que as fêmeas de *H. hebetor*, antes de ovipositarem, procuram paralisar todos os hospedeiros que houver nas proximidades.

Segundo Hagstrum (1983), 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, entretanto,

não apresenta relação direta nesse parâmetro. A paralisação do hospedeiro é essencial para que ocorra o parasitismo, pois facilita a oviposição (Ghimire & Phillips, 2010).

Todas as larvas paralisadas neste experimento morreram, corroborando o estudo de Ghimire & Phillips (2010) que comentam 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 pode ocorrer de duas formas: pela paralisação e pelo parasitismo. Ressalta-se, entretanto, que, em ambiente natural, o comportamento de *H. hebetor* pode ser diferente do observado em laboratório com relação à capacidade de paralisar muito mais hospedeiros do que parasitar, devido à densidade de larvas presentes.

Com relação à fecundidade, o número médio de ovos por dia de fêmeas com idade entre 1 e 11 dias foi afetado pelo fotoperíodo de origem, sendo significativamente menor em plena escotofase (T1-T3), em comparação com 24 horas de fotofase no período pré-imaginal (T7-T9) (Tabela 1). O maior número de ovos de fêmeas oriundas de plena fotofase corrobora outro estudo realizado com *H. hebetor*, no qual Lum & Flaherty (1973) indicaram que o fotoperíodo com luz contínua pode influenciar na produção e maturação dos oócitos, podendo o período com mais luz na fase imatura ser considerado o mais adequado para incrementar a oviposição de *H. hebetor* na fase adulta. Isso pode estar relacionado ao fato sugerido por Košťál (2011) que afirma que durante o desenvolvimento dos insetos, o sistema endócrino pode receber interferência do fotoperíodo, e 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, acelerando o desenvolvimento, além de estimular a oogênese e, conseqüentemente, o desenvolvimento dos ovos. Em condições de dia com poucas horas de luz, por outro lado, pode haver a inativação das glândulas protorácicas, resultando em baixos teores desses hormônios e, conseqüentemente, preparação para entrar em diapausa, reduzindo a fecundidade (Saunders, 2014).

Tabela 1. Parâmetros reprodutivos de fêmeas de *Habrobracon hebetor* (\pm DP) nos primeiros 11 dias de idade, em larvas de *Ephestia kuehniella* em nove diferentes combinações de fotoperíodos ($n = 15$) ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $50 \pm 20\%$ UR)

Table 1. Reproductive parameters of females of *Habrobracon hebetor* (\pm SD) in the first 11 days of age in *Ephestia kuehniella* larvae in nine different combinations of photoperiods ($n = 15$) ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ and $50 \pm 20\%$ RH)

Tratamentos	Fotofase		Parâmetros avaliados		
	Fase pré-imaginal	Fase adulta	Nº médio de larvas paralisadas/fêmea/dia	Nº médio de larvas parasitadas/fêmea/dia	Nº médio de ovos/fêmea/dia
T1		0 h	$6,0 \pm 1,96$ aA	$3,2 \pm 1,47$ aB	$13,1 \pm 3,57$ bc
T2	0 h	12 h	$6,6 \pm 1,81$ aA	$2,7 \pm 1,09$ aB	$13,4 \pm 3,80$ bc
T3		24 h	$8,1 \pm 1,27$ aA	$3,6 \pm 1,21$ aB	$13,0 \pm 3,39$ bc
T4		0 h	$7,1 \pm 2,16$ aA	$4,0 \pm 1,92$ aB	$19,3 \pm 4,41$ ab
T5	12 h	12 h	$7,0 \pm 2,83$ aA	$3,7 \pm 2,24$ aB	$18,9 \pm 5,02$ ab
T6		24 h	$7,7 \pm 2,16$ aA	$3,9 \pm 1,89$ aB	$20,6 \pm 4,13$ ab
T7		0 h	$7,2 \pm 2,10$ aA	$4,1 \pm 1,98$ aB	$21,3 \pm 3,62$ a
T8	24 h	12 h	$7,8 \pm 2,00$ aA	$4,3 \pm 1,57$ aB	$22,2 \pm 2,90$ a
T9		24 h	$7,6 \pm 1,42$ aA	$3,7 \pm 1,15$ aB	$22,4 \pm 2,30$ a

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

A maior concentração de parasitismo foi nos primeiros dias de idade, sendo que o maior número de larvas parasitadas em 24 horas foi obtido entre o 2º e 4º dia de idade nos diferentes tratamentos, com média de $4,2 \pm 2,36$ no tratamento T2 e $7,0 \pm 1,51$ no tratamento T5 (Figura 1). No entanto, diferente desse estudo, Tunçbilek & Ayvaz (2003), avaliando *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae), mostraram que existia tendência de parasitismo mais forte no primeiro dia do que nos dias seguintes. 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 tratamentos (Figura 1), 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).

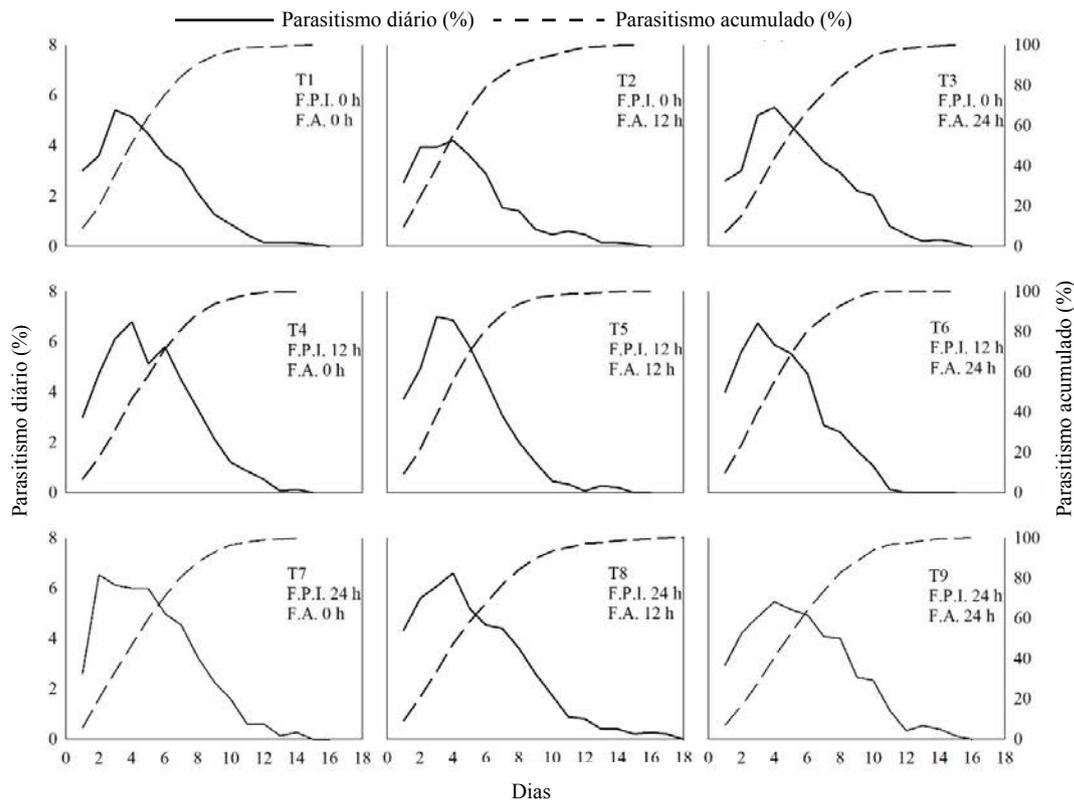
Não houve diferenças significativas para os valores médios do pico de parasitismo entre os tratamentos ($H = 21,075$; $gl = 8$; $p > 0,05$). Entretanto, ocorreu uma grande variação nos dados, e os maiores valores totais foram registrados naqueles indivíduos desenvolvidos em 12 ou 24 horas de fotofase (T4-T9) em contraste com aqueles com origem em plena escotofase

(T1-T3) (Figura 1), possivelmente devido à maior maturação de oócitos na fase pré-imaginal.

Diferente de *H. hebetor*, outros parasitoides de *E. kuehniella* podem sofrer influência do fotoperíodo no parasitismo, como fica evidenciado no estudo de Zart et al. (2012) no qual verificaram que o fotoperíodo afetou significativamente o parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) sobre ovos da traça, relatando que a média do número total de ovos parasitados durante 48 horas foi maior em 12 ou 24 horas de fotofase em comparação à plena escotofase, constatando que a luz é um estímulo para o parasitismo desta espécie.

Tunçbilek & Ayvaz (2003) e Metwally et al. (2013) averiguaram que adultos de *T. evanescens*, 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.

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 1). 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 8º dia de vida das fêmeas, 80% dos ovos também haviam sido parasitados.



T: Tratamento; F.P.I.: Fotofase na fase pré-imaginal; F.A.: Fotofase na fase adulta

Figura 1. Parasitismo diário e acumulado de *Habrobracon hebetor* em larvas de *Ephestia kuehniella* em nove diferentes combinações de fotoperíodos ($n = 15$) ($28 \pm 2^\circ\text{C}$ e $50 \pm 20\%$ UR)

Figure 1. Daily and cumulative parasitism of *Habrobracon hebetor* in *Ephestia kuehniella* larvae in nine different combinations of photoperiods ($n = 15$) ($28 \pm 2^\circ\text{C}$ and $50 \pm 20\%$ RH)

Com relação à 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 2). 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. Além deste aspecto, em ambientes de armazenamento as condições de fotoperíodo, temperatura e umidade muitas vezes são diferenciadas (Jian & Jayas, 2012), por isso, as informações a respeito da capacidade de parasitoides atuarem e se estabelecerem nestas diferentes condições são fundamentais para o sucesso do manejo das pragas de produtos armazenados.

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 *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae), 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.

Embora trabalhos clássicos, como o de Jarvis & 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 sua fecundidade ao longo da vida, isso não foi registrado nesta pesquisa. 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 & Ozkan, 2007). Porém, como neste experimento *H. hebetor* encontrava-se em recipientes protegidos junto com os hospedeiros, ele não teve gasto energético, sendo necessárias novas pesquisas para investigar este aspecto em condições mais próximas às de campo.

Em cada fase do desenvolvimento nas diferentes condições de fotoperíodo, o número médio de sobreviventes (L_x) diferiu entre os parasitoides oriundos de total escotofase (T1-T3) daqueles de plena fotofase (T7-T9) em função da fecundidade ter sido maior nos tratamentos com 12 e 24 horas de luz na fase pré-imaginal (T4-T9) (Tabela 2).

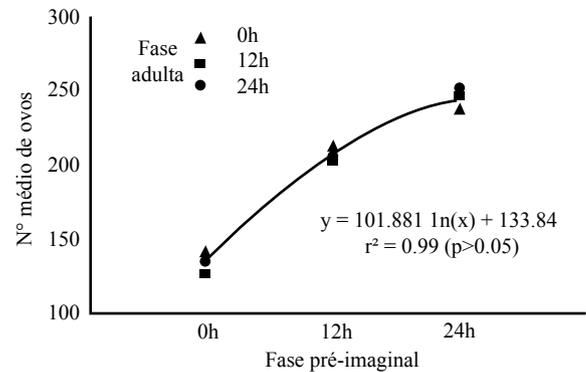


Figura 2. Correlação logarítmica entre o número médio total de ovos de fêmeas de *Habrobracon hebetor* em larvas de *Ephestia kuehniella* de acordo com a combinação de fotofases na fase pré-imaginal e adulta ($n = 15$) ($28 \pm 2^\circ\text{C}$ e $50 \pm 20\%$ UR)

Figure 2. Logarithmic correlation between the total mean number of eggs of *Habrobracon hebetor* females in *Ephestia kuehniella* larvae according to the combination of photophases in the immature stage and adult ($n = 15$) ($28 \pm 2^\circ\text{C}$ and $50 \pm 20\%$ RH)

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

Table 2. Survival table of *Habrobracon hebetor* (\pm SD) in *Ephestia kuehniella* larvae in nine different combinations of photoperiods ($n = 15$) ($28 \pm 2^\circ\text{C}$ and $50 \pm 20\%$ RH)

Tratamento	Fotofase		Nº médio de indivíduos vivos (L_x)				Razão sexual adultos ^{ns}
	Fase pré-imaginal	Fase adulta	Ovo	Larva	Pupa	Adulto	
T1		0 h	138,9 \pm 62,29bc	56,5 \pm 31,31bc	48,7 \pm 28,17bc	42,6 \pm 25,79bc	0,67
T2	0 h	12 h	126,6 \pm 62,19c	48,9 \pm 32,86c	41,5 \pm 29,24c	37,4 \pm 27,10c	0,65
T3		24 h	134,2 \pm 52,92bc	52,8 \pm 21,73c	43,9 \pm 17,64c	39,7 \pm 17,62bc	0,65
T4		0 h	211,2 \pm 57,53ab	101,5 \pm 30,01a	92,3 \pm 30,08a	84,7 \pm 29,42a	0,70
T5	12 h	12 h	201,3 \pm 62,51ab	97,4 \pm 41,11ab	90,4 \pm 38,93ab	85,2 \pm 38,15a	0,73
T6		24 h	205,7 \pm 81,76ab	88,4 \pm 48,23ab	83,4 \pm 46,56ab	79,5 \pm 46,99ab	0,69
T7		0 h	236,5 \pm 55,88a	109,0 \pm 34,13a	102,5 \pm 35,80a	94,6 \pm 34,53a	0,73
T8	24 h	12 h	246,6 \pm 94,67a	103,3 \pm 58,65a	96,5 \pm 56,22a	92,9 \pm 55,16a	0,69
T9		24 h	251,1 \pm 65,50a	119,2 \pm 35,28a	105,5 \pm 33,09a	97,6 \pm 31,00a	0,68

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 ($p < 0,05$).

O número de adultos emergidos de *H. hebetor*, da mesma forma, sofreu interferência do fotoperíodo no qual o parasitoide se desenvolveu, 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 que também foi evidenciado por Santana et al. (2013), que concluíram 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*, mas, na fase adulta, este não interfere.

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).

Este aspecto é importante pois um grande número de fêmeas do parasitoide, com razão sexual superior a 0,5, é indicativo de uma boa condição de criação (Navarro, 1998).

A maior porcentagem estimada de mortalidade foi observada na fase de eclosão do ovo até o desenvolvimento do último instar larval, independente do fotoperíodo testado, diminuindo nos estágios posteriores. A mortalidade estimada dos parasitoides criados em escotofase e após expostos nas diferentes fotofases (T1-T3) foi numericamente maior do que os períodos com fotofase em todas as fases de desenvolvimento (T4-T9) (Tabela 3).

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

Tabela 3. Porcentagem estimada baseada em Southwood & Henderson (2000) de mortalidade de *Habrobracon hebetor* em larvas de *Ephestia kuehniella* em nove diferentes combinações de fotoperíodos (n = 15) ($28 \pm 2^\circ\text{C}$ e $50 \pm 20\%$ UR) (T= Tratamento)

Table 3. Percentage estimated based on Southwood & Henderson (2000) of mortality of *Habrobracon hebetor* in *Ephestia kuehniella* larvae in nine different combinations of photoperiods (n = 15) ($28 \pm 2^\circ\text{C}$ and $50 \pm 20\%$ RH) (T = Treatment)

Fase	Fotofase fase pré-imaginal: 0 h								
	% média de Mortalidade								
	Da (Aparente)			Dr (Real)			Di (Indispensável)		
	Fotofase fase adulta			Fotofase fase adulta			Fotofase fase adulta		
	0 h	12 h	24 h	0 h	12 h	24 h	0 h	12 h	24 h
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
4° Larva/Pupa	13,82	15,01	18,23	5,62	5,79	7,17	0,68	0,66	0,89
Pupa/Adulto	12,34	9,95	8,06	4,32	3,26	2,59	0,60	0,41	0,35
Fase	Fotofase fase pré-imaginal: 12 h								
	% média de Mortalidade								
	Da (Aparente)			Dr (Real)			Di (Indispensável)		
	Fotofase fase adulta			Fotofase fase adulta			Fotofase fase adulta		
	0 h	12 h	24 h	0 h	12 h	24 h	0 h	12 h	24 h
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
4° Larva/Pupa	9,13	7,25	5,66	4,39	3,51	2,43	0,85	0,67	0,48
Pupa/Adulto	8,24	5,75	4,63	3,60	2,58	1,88	0,76	0,52	0,39
Fase	Fotofase fase pré-imaginal: 24 h								
	% média de Mortalidade								
	Da (Aparente)			Dr (Real)			Di (Indispensável)		
	Fotofase fase adulta			Fotofase fase adulta			Fotofase fase adulta		
	0 h	12 h	24 h	0 h	12 h	24 h	0 h	12 h	24 h
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
4° Larva/Pupa	5,93	6,58	11,47	2,73	2,76	5,44	0,60	0,65	1,26
Pupa/Adulto	7,74	3,66	7,53	3,35	1,43	3,17	0,79	0,35	0,80

Diferentes mortalidades de acordo com a fase de desenvolvimento são registradas para diversas espécies de parasitoides de lepidópteros. *Cirrospilus lyncus* Walker (Hymenoptera: Eulophidae), por exemplo, parasitando *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae), independente do fotoperíodo (16:8, 12:12 e 8:16; fotofase: escotofase), apresentam a fase larval mais sensível, enquanto que os ovos e as pupas foram mais resistentes (Urbaneja et al., 2001). Esse conhecimento, portanto, é importante para o estabelecimento de criações massais ou experimentais.

A mortalidade aparente (D_a) indica que, no tratamento T2, somente 38,58% dos ovos desenvolveram-se até o último instar 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).

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 instar 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) 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).

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 et al. (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. 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. Assegurando que, 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 neste parâmetro biológico.

4 Conclusões

O fotoperíodo pode ter efeito indireto no parasitismo de *H. hebetor* devido a alterações na fecundidade das fêmeas, que produzem maior número de ovos e, conseqüentemente, parasitam maior número de larvas quando se desenvolvem em 12 e 24 horas de luz (T4-T9).

O número de larvas paralisadas foi sempre superior às parasitadas em todos os tratamentos. Uma vez feita a oviposição, o fotoperíodo não afeta a viabilidade da prole do parasitoide bem como razão sexual da progênie de *H. hebetor*.

Referências

- AL-MALIKY, S. K.; AL-IZZI, 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*, New York, v. 33, n. 2, p. 193-200, 1988.
- ASHRAF, S.; ABDIN, Z.; ABBAS, S. K.; KHAN, R. S. A.; TAHIR, M.; RASOOL, S.; ANWAR, M.; HUSSAIN, F. Effect of different diet concentrations on longevity and fecundity of parasitic wasp *Bracon hebetor* (Say.) (Hymenoptera: Braconidae). *Pakistan Journal of Zoology*, Lahore, v. 49, n. 3, p. 761-767, 2017.
- AYRES, M.; AYRES JUNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. A. *BioEstat: aplicações estatísticas na área da ciências biológicas e médicas*. 5. ed. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, 2007.
- 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*, Oxford, v. 41, n. 3, p. 697-705, 2012.
- 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*, Akola, v. 8, n. 9, p. 123-130, 2015.
- 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.
- 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*, Washington, DC, v. 107, n. 4, p. 809-817, 2014.
- HAGSTRUM, D. W. Self-provisioning with paralyzed hosts and age, density, and concealment of hosts as factors influencing parasitization of *Ephesia cautella* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae) by *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae). *Environmental Entomology*, Oxford, v. 12, n. 6, p. 1727-1732, 1983.
- 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.; KIDD, N. (ed.). *Insect natural enemies: practical approaches to their study and evaluation*. London: Chapman & Hall, 1996. p. 63-161.
- JIAN, F.; JAYAS, D. S. The ecosystem approach to grain storage. *Agricultural Research*, New York, v. 1, n. 2, p. 148-156, 2012.
- KOŠTÁL, V. Insect photoperiodic calendar and circadian clock: independence, cooperation, or unity? *Journal of Insect Physiology*, Amsterdam, v. 57, n. 5, p. 538-556, 2011.

- LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. B.; HENNING, A. A.; HENNING, F. A. *Manejo integrado de pragas de grãos e sementes armazenadas*. Brasília, DF: Embrapa, 2015.
- LUM, P. T. M.; FLAHERTY, B. R. Influence of continuous light on oöcyte maturation in *Bracon hebetor*. *Annals of the Entomological Society of America*, Oxford, v. 66, n. 2, p. 355-357, 1973.
- MAGRO, S. R.; DIAS, A. B.; TERRA, W. R.; PARRA, J. R. P. 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. Criação in vitro de *Bracon hebetor*. In: PARRA, J. R. P.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BOTELHO, P. S. M.; BENTO, J. M. S. (ed.). *Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores*. Barueri: Manole, 2002. p. 277-293.
- METWALLY, M. M.; EL-KORDY, M. W.; MOHAMED, H. A.; EL-SEBAI, O. A.; ATTA, A. A. 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*, Almançora, v. 4, n. 9, p. 781-793, 2013.
- NAVARRO, M. A. *Trichogramma spp.*: producción, uso y manejo en Colombia. Guadalupe de Buga: Impretec, 1998.
- 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*, New York, v. 80, n. 2, p. 79-83, 2007.
- PARRA, J. R. P.; COELHO JUNIOR, A.; GEREMIAS, L. D.; BERTIN, A.; RAMOS, C. J. *Criação de Anagasta kuehniella, em pequena escala, para produção de Trichogramma*. Piracicaba: Occasio, 2014.
- PEZZINI, C.; JAHNKE, S. M.; KÖHLER, A. Morphological characterization of immature stages of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera, Braconidae) ectoparasitoid of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera, Pyralidae). *Journal of Hymenoptera Research*, Sofia, v. 60, p. 157-171, 2017.
- SAHIN, A. K.; OZKAN, C. Effect of light on the longevity and fecundity of *Venturia canescens* (Gravenhorst) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Pakistan Journal of Zoology*, Lahore, v. 39, n. 5, p. 315-319, 2007.
- SANTANA, D. R. S.; BELLON, P. P.; MELO, E. P.; OLIVEIRA, H. N. Influência do fotoperíodo no parasitismo de *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae). *EntomoBrasilis*, Vassouras, v. 6, n. 2, p. 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*, Hoboken, v. 17, n. 1, p. 25-40, 2014.
- SOLÀ, M.; CASTAÑÉ, C.; LUCAS, E.; RIUDAVETS, J. Optimization of a banker box system to rear and release the parasitoid *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) for the control of stored-product moths. *Journal of Economic Entomology*, Oxford, v. 111, n. 5, p. 2461-2466, 2018.
- SOUTHWOOD T. R. E.; HENDERSON, P. A. *Ecological methods*. 3. ed. Oxford: Blackwell Science, 2000.
- 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*, New York, v. 76, n. 6, p. 176-180, 2003.
- URBANEJA, A.; LLÁCER, E.; GARRIDO, A.; JACAS, J. A. 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*, Lutz, v. 84, n. 2, p. 305-307, 2001.
- ZART, M.; BERNARDI, O.; NUNES, A. M.; ANDERSSON, F. S.; MANFREDI-COIMBRA, S.; BUSATO, G. R.; GARCIA M. S. Influência do fotoperíodo e da densidade de ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) sobre aspectos biológicos e parasitismo de ovos por *Trichogramma pretiosum* Riley. *EntomoBrasilis*, Vassouras, v. 5, n. 2, p. 115-119, 2012.

Contribuição dos Autores: Cleder Pezzini conduziu os experimentos, realizou a revisão bibliográfica e escrita científica. Simone Mundstock Jahnke e Andreas Köhler orientaram e supervisionaram o estudante em todas as etapas, além de contribuir na revisão e redação científica.

Agradecimento: À empresa Japan Tobacco International (JTI) pelo apoio financeiro.

Fontes de Financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida ao primeiro autor e auxílio financeiro com verba do projeto MCTI/CT-Agronegócio/CNPq nº 38/2013.

Conflito de Interesse: Os autores declaram não haver conflito de interesse.