

**PARASITÓIDES OÓFAGOS DO GÉNERO *TRICHOGRAMMA*
(HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) DA
ILHA DA MADEIRA**

L. OLIVEIRA, V. VIEIRA, P. GARCIA & J. TAVARES

Universidade dos Açores, Departamento de Biologia
Rua da Mãe de Deus 58, 9500 Ponta Delgada, Açores, Portugal.
ziza@alf.uac.pt; vieira @alf.uac.pt; patricia@alf.uac.pt; tavares@alf.uac.pt.

Resumo: Na ilha da Madeira, em Setembro de 1997, procedeu-se à recolha de ovos de diferentes espécies de Lepidópteros, visando o levantamento de parasitóides oófagos. Foram identificadas duas espécies pertencentes ao género *Trichogramma*, *T. cordubensis* e *T. evanescens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), parasitando ovos de *Chrysodeixes chalcites* (Esper.), *Autographa gamma* (L.), *Agrotis* spp., *Pieris rapae* L. e *P. brassicae wollastoni* Butler. A identificação foi efectuada com base na análise de três sistemas enzimáticos (Esterases, Tetrazolio-Oxidase e Malato-Desidrogenase), obtidos pela técnica de electroforese em gel de poliacrilamida, e pela análise biométrica de diferentes parâmetros da asa, antena e genitália dos machos. A população madeirense de *T. cordubensis* é idêntica à dos Açores, quer enzimática e morfologicamente, quer quanto ao modo de reprodução (partenogenese telítoque).

Palavras Chaves: *Trichogramma*, hospedeiros, sistemática, electroforese, Ilha da Madeira.

Abstract: Egg Parasitoids of *Trichogramma* Genus (Hymenoptera: Trichogrammatidae) of Madeira Island. Aiming to study the oophagous parasitoids of Madeira Island, a survey for Lepidoptera eggs was done in September 1997 at several biotopes in this island. Two species of the genus *Trichogramma* were identified *T. cordubensis* and *T. evanescens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), parasitizing eggs of *Chrysodeixes chalcites* (Esper.), *Autographa gamma* (L.), *Agrotis* spp., *Pieris rapae* L. and *P. brassicae wollastoni* Butler. Species identification was performed based on the analysis of three enzyme systems (Esterases, Tetrazolium oxidase and Malate dehydrogenase) studied by polyacrylamide gel electrophoresis and by the biometric study of characters from forewing, antenna and male genitalia. The Madeira Island population of *T. cordubensis* is identic to the Azorean population, both at the enzymatic and morphological levels, and have the same mode of reproduction (thelytokous parthenogenesis).

Key words: *Trichogramma*, hosts, systematic, electrophoresis, Madeira Island.

INTRODUÇÃO

Durante a Expedição Científica MADEIRA 97, realizada pelo Departamento de Biologia da Universidade dos Açores à Ilha da Madeira no mês de Setembro de 1997, procedeu-se à recolha de ovos de Lepidópteros, com vista à obtenção e identificação de parasitóides potencialmente capazes de serem utilizados no controlo de pragas agrícolas naquele Arquipélago.

Os parasitóides oófagos, especialmente as espécies pertencentes ao género *Trichogramma* Westwood são Himenópteros de reduzidas dimensões que parasitam principalmente ovos de Lepidópteros, sendo utilizados como controladores naturais de pragas agrícolas. Por isso, têm sido objecto de estudos aprofundados de biologia (Parra *et al.*, 1990; Cerrutti & Bigler, 1995), etologia (Pompanon *et al.*, 1993; Garcia & Tavares, 1995), genética (Landry *et al.*, 1993; Vanlerberghe-Masutti, 1994), biometria (Russo & Pintureau, 1981; Pintureau, 1994), o que facilita a identificação das diferentes espécies, uma vez que o seu reduzido tamanho e uniformidade morfológica dificultam os estudos de taxonomia do género (Nagarkatti & Nagaraja, 1977; Pintureau, 1993).

A fauna Madeirense inclui mais de quinhentas espécies de Himenópteros, pertencentes a 31 famílias (Baez, 1993), mas sem qualquer referência a espécies da família Trichogrammatidae. Os parasitóides oófagos do género *Trichogramma* encontrados na Ilha da Madeira foram identificados através da análise de caracteres bioquímicos e biométricos, elementos estes também usados por outros autores na identificação de *Trichogramma* (Russo & Pintureau, 1981; Pintureau, 1987; Ram *et al.*, 1995).

MATERIAL E MÉTODOS

A recolha dos ovos dos Lepidópteros *Chrysodeixes chalcites* (Esper.), *Autographa gamma* (L.), *Agrotis* spp. (Noctuidae), *Pieris rapae* L. e *P. brassicae wollastoni* Butler (Pieridae), foi efectuada aleatoriamente nas culturas de *Lycopersicum esculento* Mill., *Ipomoea batatas* L. e *Brassica oleracea* L. em diferentes locais da Ilha da Madeira. Os ovos foram trazidos para o laboratório ($20 \pm 1^\circ\text{C}$, $75 \pm 5\%$ de humidade relativa e 16 horas de fotofase), onde se procedeu à triagem e isolamento em tubos de vidro, ficando a evoluir até à eclosão da larva ou emergência do parasitóide. Nos tubos que continham parasitóides foram colocadas pequenas plaquetas de cartolina amarela com ovos de *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep.: Pyralidae) irradiados com ultravioletas, de modo a permitir a multiplicação do *Trichogramma* para posterior identificação.

As diferentes espécies foram identificadas com base na análise de três sistemas enzimáticos (Esterases, Tetrazolio-Oxidase e Malato-Desidrogenase), obtidos pela técnica de electroforese em gel de poliácridamida (Pintureau, 1987, 1993).

Devido ao reduzido tamanho dos *Trichogramma*, cada amostra foi constituída por um

homogeneizado de vinte adultos descendentes de uma fêmea virgem (20 filhos para a espécie bissexuada ou 20 filhas para a espécie telítóque), o que permitiu obter uma maior quantidade de material com a informação genética de uma só fêmea (Voegelé & Bergé, 1976; Smith & Hubbes, 1986; Pintureau, 1987).

O número de amostras utilizadas no estudo das Esterases foi de 36 para a população bissexuada e de 33 para a população telítóque. No estudo da Tetrazolio-Oxidase e Malato-Desidrogenase foram analisadas 10 amostras de cada população, para cada sistema.

A análise biométrica foi efectuada sobre 14 caracteres de 21 machos de cada espécie (Figura 1): asa (3), comprimento (LA), largura (IA) e comprimento da maior seda (SA); antena (4), comprimento do flagelo (L5An), largura do flagelo (L5An), comprimento do escapo (L1An) e comprimento da maior seda do flagelo (S5An); e genitália (7), comprimento da falobase (G1), largura da falobase (G2), comprimento do pénis (G3), comprimento dos apodemas (G4), distância entre a extremidade posterior dos parâmeros e a extremidade posterior dos volseos (G5), extremidade posterior da carena ventral (G6), extremidade da lâmina dorsal (G7) de acordo com a metodologia descrita por Russo & Pintureau (1981).

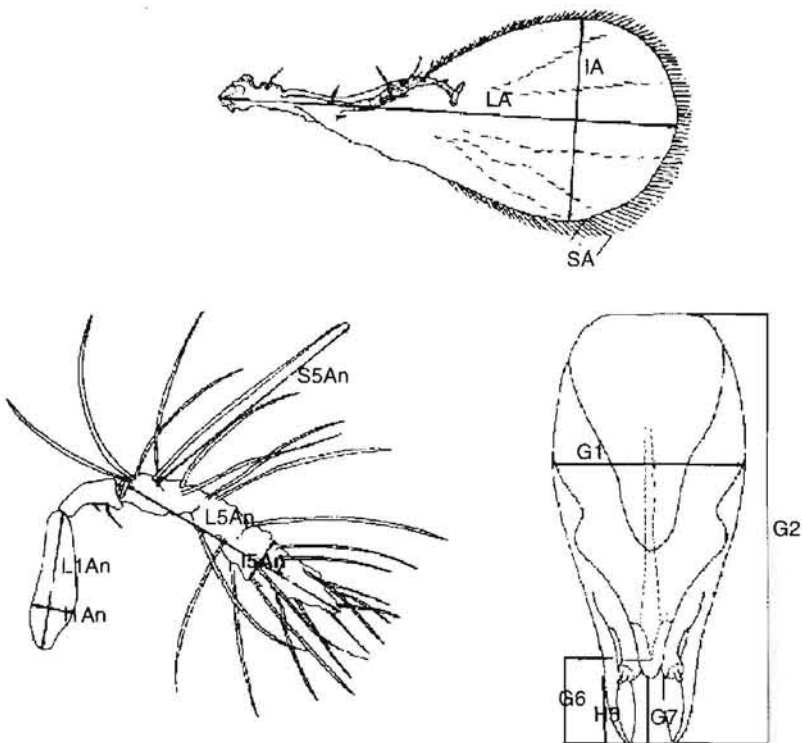


Figura 1 - Caracteres biométricos da asa, antena e genitália dos machos, utilizados na identificação das espécies de *Trichogramma* (Adaptado de Russo & Pintureau, 1981).

As medidas foram efectuadas após a montagem das diferentes peças, entre lâmina e lamela, em líquido de Faure, recorrendo a um microscópio óptico munido de ocular micrométrica.

Os machos da espécie telítoque foram obtidos depois de se efectuarem três gerações consecutivas a 31°C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificadas duas espécies pertencentes ao género *Trichogramma*: *T. cordubensis* e *T. evanescens* (Hym.: Trichogrammatidae).

T. cordubensis

É uma espécie que apresenta reprodução partenogénica telítoque, isto é, fêmeas diplóides não fecundadas dão apenas origem a fêmeas diplóides. No entanto, a alteração do modo de reprodução é possível, quando o desenvolvimento da espécie se verifica acima dos 30 °C durante duas ou mais gerações (Cabello & Vargas 1986).

Em relação ao estudo enzimático não se verificou o aparecimento de polimorfismo em nenhum dos sistemas analisados. As esterases revelaram a existência de quatro bandas (0,13; 0,22; 0,45 e 0,51) idênticas às bandas apresentadas pela população Açoreana de *T. cordubensis* (Pintureau *et al.*, 1991; Pintureau, 1993; Garcia, 1995). Na Tetrazolio-Oxidase verificou-se o aparecimento da banda 0,17 característica desta espécie, enquanto que na Malato-Desidrogenase são legíveis duas bandas, a 0,07 e a 0,27, tal como foi observado na população açoreana (Pintureau *et al.*, 1991).

A análise biométrica mostrou que os valores observados para a população madeirense são semelhantes aos obtidos para *T. cordubensis* existente nos Açores (Garcia, 1995), tendo em conta as relações obtidas entre os diferentes caracteres analisados (Quadro 1).

Quadro 1 - Relações observadas entre alguns caracteres biométricos da asa, antena e genitália, das populações de *T. cordubensis* da Madeira e dos Açores. *Ver significado das variáveis no texto; **Adaptado de Garcia (1995).

Estrutura	Relação*	Madeira	França**
Asa	LA/IA	1,98	1,92
LA/SA	14,93	14,02	
Antena	L5An/l5An	2,57	2,56
Genitália	G1/G2	4,87	5,75

Esta espécie foi encontrada a parasitar ovos de *C. chalcites* e de *A. gamma*, ovipositados em *L. esculento* e *B. oleracea*, respectivamente.

T. evanescens

É uma espécie que apresenta reprodução bissexuada, por partenogénese arrenotoque, em que as fêmeas são diplóides e os machos são haplóides.

Tal como para *T. cordubensis*, verificou-se a ausência de polimorfismo nos três sistemas enzimáticos analisados. Em relação às Esterases, observou-se o aparecimento de quatro

bandas nos níveis 0,10; 0,22; 0,44 e 0,48. A Tetrazolio-Oxidase revelou uma banda mais forte (0,25) e uma mais fraca (0,33), enquanto que a Malato-Desidrogenase apresentou duas bandas (0,07 e 0,27) idênticas às observadas em *T. cordubensis*.

Os dados biométricos observados são semelhantes aos obtidos por Pintureau (1987) para uma população de *T. evanescens* capturada em França, cujas relações entre os diferentes caracteres analisados constam do Quadro 2.

Quadro 2 - Relações observadas entre alguns caracteres biométricos da asa, antena e genitália, das populações de *T. evanescens* da Madeira e de França. *Ver significado das variáveis no texto; **Adaptado de Pintureau (1987).

Estrutura	Relação*	Madeira	França**
Asa	LA/IA	2,03	1,96
LA/SA	10,29	14,10	
Antena	L5An/l5An	4,95	5,90
Genitália	G1/G2	2,48	2,85

T. evanescens parasitou ovos de *Pieris* spp. e *A. gamma* na cultura de *B. oleracea*, e ovos de *Agrotis* spp. na cultura de *I. batatas*. Saliente-se, também, que tanto *T. cordubensis* como *T. evanescens* parasitaram ovos de *A. gamma* ovipositados na cultura de *B. oleracea*.

Em resumo, foram identificados os parasitóides *T. cordubensis* e *T. evanescens*, que constituem duas citações novas para a fauna da Madeira. Além disso, tratam-se de dois parasitóides de primordial importância no controlo natural de pragas agrícolas, que neste Arquipélago podem parasitar os ovos de *C. chalcites*, *A. gamma*, *Agrotis* spp., *P. rapae* e *P. brassicae wollastoni*.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Doutor B. Pintureau (INRA, UA INSA 203, Villeurbanne, França) pela confirmação da identificação das espécies de *Trichogramma*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAEZ, M. (1993). Origins and affinities of the fauna of Madeira. *Bol. Mus. Mun. Funchal*, Sup. 2, 9-40.
- CABELLO-GARCIA, T. & VARGAS-PIQUERAS, P. (1986). Temperature as a factor influencing the form of reproduction of *Trichogramma cordubensis* Vargas & Cabello (Hym., Trichogrammatidae). *Zeitschrift angew. Ent.*, **100** (5), 434-441.
- CERRUTTI, F. & BIGLER F. (1995). Quality assessment of *Trichogramma brassicae* in the laboratory. *Entomol. exp. appl.*, **75**: 19-26.

- GARCIA, P. (1995). *Trichogramma cordubensis* Vargas & Cabello (Hym., Trichogrammatidae) na ilha de S. Miguel (Açores): Aspectos de sistemática e ecologia. Provas de Aptidão Pedagógica e Capacidade Científica, Universidade dos Açores: 1-114.
- GARCIA, P. & TAVARES, J. (1995). Within strain competition of *Trichogramma cordubensis* (Hym., Trichogrammatidae), pp. 443-448. In "Avances en Entomologia Iberica". Comité Editorial (eds.) Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC), y Universidad Autónoma de Madrid.
- LANDRY, S. B., DEXTRASE, L. & BOIVIN, G. (1993). Random amplified polymorphic DNA markers for DNA fingerprinting and genetic variability assessment of minute parasitic wasp species (Hym.: Mymaridae and Trichogrammatidae) used in biological control programs of phytophagous insects. *Genome*, **36**: 580-587.
- NAGARKATTI, S. & NAGARAJA H. (1977). Biosystematics of *Trichogramma* and *Trichogrammatoidea* species. *Ann. Rev. Entomol.*, **22**: 157-176.
- PARRA, J. R. P., ZUCCHI, R. A., SILVEIRA NETO, S. & HADDAD, M. L. (1990). Biology and thermal requirements of *Trichogramma galloi* Zucchi and *T. distinctum* Zucchi, on two alternative hosts. *Les Colloques INRA*, **56**: 81-84.
- PINTUREAU, B. (1987). *Systematique évolutive du genre Trichogramma WESTWOOD (Hym., Trichogrammatidae) en Europe*. Thèse doctorat d'Etat, Université Paris VII: 1-311.
- PINTUREAU, B. (1993). Enzymatic analysis of the genus *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae) in Europe. *Entomophaga*, **38** (3): 411-431.
- PINTUREAU, B. (1994). Phylogenetic study of the European species of the genus *Trichogramma* Westwood (Hym.: Trichogrammatidae). *Entomol. (Trends in Agric. Sci.)*, **2**: 141-150.
- POMPANON, F., FOUILLET, R., ALLEMAND, R. & BOULÉTREAU, M. (1993). Organization temporelle de l'activité locomotive chez les *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae): variabilité et relation avec l'efficacité du parasitisme. *Bull. Soc. zool. Fr.*, **118** (2): 141-148.
- PINTUREAU, B., OLIVEIRA L. & ANUNCIADA L. (1991). Contribution to the study of the egg parasitic Hymenoptera of the Azores Islands. *Les Colloques INRA*, **56**: 115-118.
- RAM, P., TSHERNYSHEV, W. B., AFONINA, V. M. & GREENBERG, S. M. (1995). Studies on the strains of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hym., Trichogrammatidae) collected from different hosts in Northern Moldova. *J. Appl. Ent.*, **119**, 79-82.
- RUSSO, J. & PINTUREAU, B. (1981). Etude biométrique de quatre espèces de *Trichogramma* Westwood (Hym. Trichogrammatidae). *Annls Soc. Ent. Fr. (N. S.)* **17** (2), 214-258.
- SMITH, S. M. & HUBBES, M. (1986). Strains of the egg parasitoid *Trichogramma minutum* Riley. I. Biochemical and biological characterization. *Z. Angew. Entomol.*, **101**: 223-239.
- VANLERBERGHE-MASUTTI (1994). Detection of genetic variability in *Trichogramma* populations using molecular markers. *Norwegian J. Agric. Sci., Supp.*, **16**: 171-176.
- VOEGELÉ, J. & BERGÉ, J. B. (1976). Les Trichogrammes (Insectes Hyménopt. Chalcidiens, Trichogrammatidae), caractéristiques isoestérasiques de deux espèces: *Trichogramma evanescens* Westw. et *T. acheae* Nagaraja, Nagarkatti. *C. R. Acad. Sc. Paris*, **283**: 1501-1503.