

Estudo da aceitação e adequabilidade dos ovos de algumas espécies de noctúdeos como hospedeiros de *Trichogramma* sp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae)

Gonçalves, C.I.^{1,2}; Amaro, F.²; Figueiredo, E.³; Godinho, M.C.²; Mexia, A.^{2,3}

¹Fac. Ciências, Univ. Lisboa. Campo Grande, 1749-016 Lisboa; catarinag@netcabo.pt

²EAN/INIAP. Quinta do Marquês, Av. da República, Nova Oeiras, 2784-505 Oeiras

³SAPI/DPPF-ISA. Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa

Resumo

A aceitação e a adequabilidade de uma espécie de *Trichogramma* capturada num campo de tomate de indústria na lezíria de Vila Franca de Xira, pelos ovos de quatro espécies de noctúdeos (*Helicoverpa armigera*, *Thysanoplusia orichalcea*, *Autographa gamma* e *Chrysodeixis chalcites*) são estudadas num ensaio preliminar. Avalia-se a especificidade dessa espécie de *Trichogramma* em relação à praga chave do tomate, *H. armigera*, bem como o potencial de outros noctúdeos presentes no ecossistema tomate de indústria como seus hospedeiros alternativos.

A aceitação é avaliada oferecendo a fêmeas de *Trichogramma* sp. ovos das quatro espécies de noctúdeos enquanto que a adequabilidade foi inferida das características biológicas dos descendentes.

Apesar de se observarem pequenas diferenças entre hospedeiros, constata-se que todos os hospedeiros testados são facilmente aceites para parasitismo pelas fêmeas de *Trichogramma* sp., e são adequados ao desenvolvimento dos parasitóides. Esta espécie de *Trichogramma* não parece apresentar especificidade em relação a *H. armigera*, o que sugere importância dos restantes lepidópteros como hospedeiros do parasitóide no campo.

Palavras-chave: *Trichogramma*; aceitação do hospedeiro; adequabilidade de hospedeiro; *Helicoverpa armigera*; *Thysanoplusia orichalcea*; *Autographa gamma*; *Chrysodeixis chalcites*.

Abstract

The acceptance and suitability of a species of *Trichogramma* captured in a processing tomatoes field in a tract of marshy land alongside a river, in Vila Franca "lezíria", of the eggs of four species of noctuids (*Helicoverpa armigera*, *Thysanoplusia orichalcea*, *Autographa gamma* e *Chrysodeixis chalcites*) is studied in a preliminary trial. The specificity of the *Trichogramma* species towards the key pest of tomato, *H. armigera*, is evaluated, as well as the potential of other noctuids present in the processing tomato ecosystem as its alternative hosts.

Acceptance is evaluated offering eggs of the four species of noctuids to *Trichogramma* sp. females while suitability is inferred from the biological traits of the progeny.

In spite of the small differences between hosts, it is observed that all the hosts evaluated are readily accepted to parasitism by *Trichogramma* sp. females, and are suitable to parasitoid development. This species of *Trichogramma* does not seem to show specificity towards *H. armigera*, which suggests the importance of the remaining lepidopterans as parasitoid hosts in the field.

Keywords: *Trichogramma*; host acceptance; host suitability; *Helicoverpa armigera*; *Thysanoplusia orichalcea*; *Autographa gamma*; *Chrysodeixis chalcites*.

1. Introdução

O género *Trichogramma* constitui um grupo de himenópteros pertencentes à família Trichogrammatidae, composta inteiramente por espécies de parasitóides oófagos, com centenas de espécies hospedeiras, sobretudo na ordem Lepidoptera (Nagarkatti & Nagaraja, 1977; Pinto, 1997). Hassan (1997) relata o uso de *Trichogramma* spp. em 33 culturas, incluindo o tomateiro, contra 52 géneros de pragas de lepidópteros.

No processo de selecção dos hospedeiros por *Trichogramma* spp., Douth (1958) refere a ocorrência de quatro fases distintas e consecutivas: (1) encontro do habitat do hospedeiro; (2) encontro do hospedeiro; (3) aceitação do hospedeiro e (4) adequação do hospedeiro. Neste estudo são abordados aspectos dos pontos 3 e 4. O ovo é inspeccionado, tanto externa como internamente, para avaliar o seu tamanho, forma, qualidade e estado de parasitismo (Pak, 1988; Suverkropp, 1997). O tamanho do hospedeiro é um factor crítico: hospedeiros maiores dão origem a parasitóides maiores, que tendem a apresentar maior fecundidade, longevidade e capacidade de busca do que os que emergem de hospedeiros menores (Boldt, 1974; Bai *et al.*, 1992). As substâncias químicas presentes na superfície dos hospedeiros podem promover ou inibir a aceitação destes pelas espécies de *Trichogramma* (Anunciada, 1983; Pak, 1988). Dois dos factores mais frequentemente relatados que levam à rejeição são a idade, sendo preferidos hospedeiros mais jovens, e o contacto com hospedeiros já parasitados (Vinson, 1997). O superparasitismo conduz a descendentes menores, pois existe um compromisso entre o número de descendentes criados e o seu tamanho (Van Alphen & Visser, 1990).

A avaliação de uma espécie de *Trichogramma* deve envolver, entre outros factores, os critérios de preferência e adequabilidade do hospedeiro (Hassan, 1994). Uma combinação de características, tais como: taxa de emergência, percentagem de fêmeas mal-formadas, razão sexual, longevidade e fecundidade, permitem estimar a sua qualidade global (Hassan, 1989; Dutton *et al.*, 1996). A aceitação e a adequabilidade de vários hospedeiros em laboratório não são evidência de que as vespas parasitam com sucesso estas espécies em condições naturais, mas podem, ainda assim, ajudar a esclarecer a situação de campo (Van Dijken *et al.*, 1986).

Helicoverpa armigera (Hübner) (Lep.: Noctuidae) é uma das pragas mais nocivas presentes na região Oeste-Paleártica. Cosmopolita e altamente polífaga, em Portugal foi observado o ataque a inúmeras culturas, nomeadamente o tomate (Araújo, 1990). De entre os lepidópteros noctuídeos que se podem encontrar nos campos de tomate, destacam-se ainda plusiíneos (subfamília Plusiinae): *Autographa gamma* Linnaeus, *Chrysodeixis chalcites* Esper e *Thysanoplusia orichalcea* Fabricius. Enquanto que *H. armigera* se alimenta essencialmente de frutos, constituindo a praga-chave da cultura do tomate, os plusiíneos alimentam-se quase exclusivamente de folhas e, em regra, não constituem um factor limitante economicamente significativo. Em Portugal, sabe-se que parasitóides do género *Trichogramma* ocorrem naturalmente nos ovos destas quatro espécies de lepidópteros (Meirrose *et al.*, 1990). Os ovos de *H. armigera* têm aproximadamente 0.5mm de diâmetro e são ligeiramente achatados no topo; os ovos dos plusiíneos são muito semelhantes, apesar de ligeiramente mais achatados no topo (Maurício & Nunes, 2001).

Com este estudo preliminar, pretende-se avaliar a aceitação e a adequabilidade dos ovos de quatro espécies de noctuídeos como hospedeiros de *Trichogramma* sp., uma espécie autóctone de tricograma, da qual aguardamos identificação específica. Pretende-se avaliar a eventual especificidade deste parasitóide em relação a *H.*

armigera, praga-chave do tomate, e o potencial de três de plusiíneos como hospedeiros alternativos do parasitóide.

2. Material e Métodos

Espécimes de *Trichogramma* sp., *A. gamma*, *T. orichalcea*, *H. armigera* e *C. chalcites* foram recolhidos num campo de tomate de indústria na lezíria de Vila Franca de Xira. A população laboratorial de *Trichogramma* sp. foi estabelecida a partir de um ovo de noctuídeo parasitado do qual emergiram duas fêmeas e um macho, enquanto que as dos noctuídeos foram estabelecidas a partir de ovos e larvas recolhidos no mesmo campo.

Criação. *Trichogramma* sp. foi criado sobre ovos de *Ephestia kuenhiella* Zeller (Lep.: Pyralidae) em tubos de ensaio (70mm x 10mm, com rolha de algodão), a cerca de 20°C, 65% de humidade relativa (HR) e um fotoperíodo de 16L:8D. *E. kuehniella* foi criada sobre dieta artificial à base de gérmen de trigo em frascos de vidro, sendo a infestação feita a partir de ovos. Os adultos, após emergência, foram recolhidos com um aspirador entomológico e colocados num frasco de oviposição, coberto por rede de plástico e invertido sobre uma placa de Petri, para que nela caíssem os ovos. Estes foram esterilizados com radiação UV e colocados a cerca de 8°C. As lagartas dos lepidópteros noctuídeos foram criadas em caixas de Petri com diâmetro de 10cm, providas de um fundo de papel absorvente e com um cubo da dieta artificial à base de farinha de milho, levedura de cerveja e gérmen de trigo. A criação das lagartas decorreu a 24,5°C, HR de 60-70% e um fotoperíodo de 16L:8D. As pupas foram mantidas a 16°C, na escuridão e sem controlo da humidade relativa até ser necessário obter adultos. Os adultos foram colocados em caixas de acrílico, forradas com papel, sobre o qual se realizavam as posturas, e solução açucarada como alimento, às condições abióticas descritas para a criação de *Trichogramma* sp.

Aceitação do Hospedeiro. Para cada espécie de lepidóptero testada, foi fornecida a cada fêmea de *Trichogramma* sp. da geração parental uma plaqueta de cartolina com 20 ovos do hospedeiro com menos de 24 horas. Os ovos foram dispostos em cinco fiadas de quatro ovos, a uma distância de 2-3 mm. As fêmeas estavam fecundadas, alimentadas e não tinham experiência de postura. Para tal, criaram-se casais com indivíduos com menos de 24 horas e deixaram-se copular durante quatro a seis horas, colocando-os em tubos de ensaio com solução de mel a 50%. Após este período, os machos foram eliminados e permitiu-se a cada fêmea parasitar durante cinco horas. Seguidamente, eliminou-se a fêmea e incubaram-se os ovos nas condições abióticas descritas para a criação de *Trichogramma* sp. Não tendo sido possível a individualização dos ovos hospedeiros durante a incubação, os tubos com ovos foram observados regularmente de modo a eliminar as larvas do hospedeiro emergentes para evitar que estas danificassem os restantes ovos. Para cada fêmea de *Trichogramma* sp. registou-se o número de ovos hospedeiros parasitados, a fecundidade, a taxa de parasitismo (*i. e.*, número de ovos parasitados em função do número de ovos viáveis disponíveis) e a taxa de rejeição (*i. e.*, percentagem de fêmeas que, tendo ovos viáveis disponíveis não parasitaram).

Adequabilidade do Hospedeiro. Foi avaliada a partir dos indivíduos da F1 do estudo de aceitação, registando-se o tempo de desenvolvimento, sexo e condição (normal, braquíptero ou anão). Contou-se o número de hospedeiros inviáveis, ou seja, ovos dos quais não emergiu larva. A longevidade dos parasitóides emergentes foi determinada isolando uma fêmea e um macho ao acaso entre os descendentes, com

menos de 24 horas, por fêmea de *Trichogramma* sp. da geração parental, por hospedeiro, sem alimento, num tubo de ensaio, e acompanhou-se a sua longevidade diariamente. Simultaneamente, colocou-se uma plaqueta com cerca de 200 ovos de *E. kuehniella* dentro do tubo, o que permitiu avaliar a fecundidade da fêmea.

Tratamento Estatístico. O tratamento estatístico dos dados consistiu na realização de testes não paramétricos de Kruskal-Wallis, dada a ausência de normalidade e homogeneidade das variâncias dos dados obtidos, com o programa estatístico Statistica®.

3. Resultados e Discussão

Aceitação do Hospedeiro. Observou-se que o número médio, por tubo, de ovos hospedeiros inviáveis, foi relativamente baixo para *A. gamma*, *H. armigera* e *C. chalcites* (3,6, 5,0 e 2,8, respectivamente), mas muito elevado para *T. orichalcea* (14,2), provavelmente como consequência do manuseamento dos ovos. Assim, criou-se um novo parâmetro, a percentagem de parasitismo, referente ao número de ovos parasitados em função do número de ovos do hospedeiro disponíveis e viáveis. A partir do número de tubos nos quais não ocorreu parasitismo, apesar da presença de ovos viáveis, calculou-se a taxa de rejeição, ou seja, a percentagem de fêmeas que, tendo ovos hospedeiros viáveis à disposição, não parasitaram.

A aceitação dos ovos dos quatro hospedeiros pelas fêmeas de *Trichogramma* encontra-se resumida no Quadro 1. O número de ovos parasitados por fêmea e a fecundidade não revelaram diferenças significativas entre *A. gamma*, *H. armigera* e *C. chalcites*. Quanto a *T. orichalcea*, apresentou uma fecundidade significativamente inferior à dos outros plusiíneos mas não à de *H. armigera*, possivelmente devido ao reduzido número de repetições para *H. armigera*. As percentagens de parasitismo não foram estatisticamente diferentes para os quatro hospedeiros, apesar de *T. orichalcea* ter apresentado uma percentagem superior, o que pode ser um artifício dada a baixa disponibilidade de ovos viáveis observada para esta espécie. No entanto, a baixa taxa de rejeição dos ovos de *T. orichalcea* pode indicar que, de facto, este hospedeiro foi melhor aceite do que os restantes. É de referir que *H. armigera*, a espécie mais importante do ponto de vista económico, foi o hospedeiro mais frequentemente rejeitado.

Quadro 1 – Aceitação dos quatro hospedeiros pelas fêmeas de *Trichogramma* sp. (n= número de replicados).

Hospedeiro	n	N.º de ovos parasitados ¹	Fecundidade ¹	Percentagem de parasitismo ¹	Taxa de rejeição (%)
<i>Autographa gamma</i>	25	8.52 ± 2.92 a	14.52 ± 5.10 a	0.52 ± 0.16 a	35.90
<i>Thysanoplusia orichalcea</i>	12	3.33 ± 2.15 b	6.25 ± 4.31 b	0.70 ± 0.32 a	11.11
<i>Helicoverpa armigera</i>	4	7.75 ± 4.99 ab	8.00 ± 6.53 ab	0.52 ± 0.32 a	54.55
<i>Chrysodeixis chalcites</i>	16	8.00 ± 3.22 a	13.00 ± 5.74 a	0.45 ± 0.17 a	30.43

¹ Valores seguidos de letras diferentes são estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Kruskal-Wallis (p<0.05).

Adequabilidade do Hospedeiro. A partir da análise do Quadro 2, pode observar-se que o número de parasitóides que se desenvolveram por ovo hospedeiro foi semelhante para os quatro hospedeiros, tendo sido ligeiramente mais elevado para *T. orichalcea*. Tal pode ter resultado do reduzido número de hospedeiros viáveis

disponíveis nesta espécie, que poderá ter conduzido ao superparasitismo. A razão sexual elevada, a taxa de emergência de adultos do parasitóide próxima de 100% e a percentagem de indivíduos mal formados muito baixa indicaram uma elevada qualidade dos ovos dos quatro noctuídeos.

Quadro 2 – Adequabilidade dos quatro hospedeiros para o desenvolvimento de *Trichogramma* sp.

Hospedeiro	N.º médio de parasitóides por ovo ¹	Razão sexual (% de fêmeas) ¹	Taxa de emergência (%) ¹	Indivíduos mal formados (%) ¹
<i>Autographa gamma</i>	1.71 ± 0.34	76.03	99.53	0.55
<i>Thysanoplusia orichalcea</i>	1.88 ± 0.39	84.00	100.00	0.00
<i>Helicoverpa armigera</i>	1.71 ± 0.40	82.76	100.00	0.00
<i>Chrysodeixis chalcites</i>	1.69 ± 0.25	75.00	96.09	3.03

¹ Não se encontraram diferenças significativas entre as amostras de acordo com o teste de Kruskal-Wallis (p<0.05)

As características biológicas dos parasitóides da F1 encontram-se resumidas no Quadro 3. Em relação à fecundidade e à longevidade, quer de fêmeas quer de machos, não se encontraram diferenças significativas entre hospedeiros de criação. Ainda assim, é possível observar que estes valores foram consistentemente superiores para os parasitóides emergidos de *T. orichalcea*. As fêmeas de *Trichogramma* alimentam-se do hospedeiro (Doutt, 1958) o que provavelmente explica a maior longevidade das fêmeas em relação aos machos. Quanto ao tempo de desenvolvimento, foi significativamente superior para os parasitóides emergentes de *T. orichalcea* em relação a *A. gamma* e *C. chalcites*, mas não em relação a *H. armigera*.

Quadro 3 – Impacto dos quatro hospedeiros de criação sobre as características biológicas de *Trichogramma* sp. (n= número de replicados utilizados na avaliação de cada parâmetro).

Hospedeiro	n	Fecundidade ¹	n	Longevidade ¹		n	Tempo médio de desenvolvimento (dias) ²
				Fêmeas	Machos		
<i>Autographa gamma</i>	23	63.52 ± 17.67	24	7.79 ± 1.84	2.75 ± 0.61	25	17.54 ± 0.61 a
<i>Thysanoplusia orichalcea</i>	6	72.17 ± 14.33	9	9.56 ± 3.28	3.78 ± 2.39	12	18.27 ± 1.12 b
<i>Helicoverpa armigera</i>	4	46.25 ± 16.86	4	7.50 ± 2.52	2.25 ± 0.50	4	17.13 ± 0.40 ab
<i>Chrysodeixis chalcites</i>	14	58.14 ± 31.14	15	6.53 ± 2.23	3.40 ± 1.45	16	16.45 ± 0.33 a

¹ Não se encontraram diferenças significativas entre as amostras de acordo com o teste de Kruskal-Wallis (p<0.05)

² Valores seguidos de letras diferentes são estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Kruskal-Wallis (p<0.05)

4. Conclusões

Em relação à aceitação dos ovos dos quatro hospedeiros, o número de ovos parasitados por fêmea e a sua fecundidade sugerem que *A. gamma* e *C. chalcites* foram os hospedeiros melhor aceites por *Trichogramma* sp., seguidos de *H. armigera* e de *T. orichalcea*. No entanto, a percentagem de ovos parasitados e a taxa de rejeição indicam que os ovos de *T. orichalcea* foram provavelmente tão ou melhor aceites por *Trichogramma* sp. do que os ovos dos restantes hospedeiros. Curiosamente, *H. armigera*, praga alvo em tomate de indústria, pareceu ser, neste estudo preliminar, o hospedeiro

menos aceite por *Trichogramma* sp. O reduzido número de repetições de que foi possível dispor pode, no entanto, explicar estes resultados.

Quanto à adequabilidade dos quatro hospedeiros, apenas o tempo de desenvolvimento revelou existirem diferenças significativas entre os hospedeiros, sendo superior para *T. orichalcea*.

A boa aceitação e adequação ao desenvolvimento dos parasitóides para os quatro hospedeiros, sugere uma pronta aceitação destas espécies no campo. Assim, a presença de plusiíneos no campo, sobretudo quando *H. armigera* não se encontra presente, pode potencialmente permitir o crescimento das populações dos parasitóides, que apresentarão densidades populacionais elevadas quando *H. armigera* surge. No entanto, dada a aparente ausência de especificidade do parasitóide em relação a *H. armigera*, pode conduzir à diluição da sua acção sobre *H. armigera* quando estão presentes densidades populacionais elevadas dos plusiíneos.

Agradecimentos

Este trabalho foi realizado no âmbito do projecto Agro 189 e foi objecto de um Estágio Profissionalizante na Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, sob co-orientação do Professor J. A. Quartau.

Referências bibliográficas

- Anunciada, L. 1983. A escolha de um oóforo *Trichogramma* para o controlo biológico de *Mythimna unipuncta*, Diss. Doutorado Biologia, Univ. Açores, Ponta Delgada, 380 pp.
- Araújo, A.C. 1990. Luta Biológica contra *Heliothis armigera* no ecossistema agrícola "Tomate para Indústria", Diss. de Doutorado, Univ. Évora. Évora, 380 pp.
- Bai, B., Luck, R.F., Forster, L., Stephens, B. & Jansen, J.A.M. 1992. The effects of host size on quality attributes of the egg parasitoid, *Trichogramma pretiosum*, Entomol. exp. appl., 64: 37-48.
- Boldt, P.E. 1974. Temperature, humidity, and host: effect of rate of search of *Trichogramma evanescens* and *T. minutum* auctt. (not Riley, 1871), Ann. entomol. Soc. Am., 67: 706-708.
- Doutt, R.D. 1958. The biology of parasitic hymenoptera, Ann. Rev. Entomol., 4: 161-182.
- Dutton, A., Cerutti, F. & Bigler, F. 1996. Quality and environmental factors affecting *Trichogramma brassicae* efficiency under field conditions, Entomol. exp. appl., 81: 71-79.
- Hassan, S.A. 1989. Selection of suitable *Trichogramma* strains to control the codling moth *Cydia pomonella* and the two summer tortrix moths *Adoxophyes orana*, *Pandemis heparana* [Lep.: Tortricidae]. Entomophaga, 34: 19-27.
- Hassan, S.A. 1994. Strategies to select *Trichogramma* species for use in biological control. Wajnberg, E. & Hassan, S.A. (eds.), In: Biological Control with Egg Parasitoids, CAB Int., Wallingford, pp. 55-71.
- Hassan, S.A. 1997. Selecção de espécies de *Trichogramma* para o uso em programas de controlo biológico, Parra J. & Zucchi, R. (eds.), In: *Trichogramma e o Controlo Biológico Aplicado*, FEALQ, Piracicaba, pp. 183-205.
- Maurício, A. & Nunes, A.P. 2001. Tomate de Indústria em Protecção Integrada, DGDR, Lisboa, 79 pp.
- Meirrose, C., Silva, I. & Araújo, J. 1990. Egg parasitoids from *Heliothis armigera* on tomato in southern Portugal. II. Biological characterization of several *Trichogramma* strains occurring naturally. Les Coll. de l'INRA 56: 221-229.

- Nagarkatti, S. & Nagaraja, H. 1977. Biosystematics of *Trichogramma* and Trichogrammatoidea species. *Ann. Rev. Entomol.*, 22: 157-176.
- Pak, G.A. 1988. Selection of *Trichogramma* for inundative biological control, Diss. Doutoramento. Univ. Wageningen, Wageningen, Holanda, 224 pp.
- Pinto, J.D. 1997. Taxonomia de Trichogrammatidae (Hymenoptera) com ênfase nos gêneros que parasitam Lepidoptera, Parra, J. & Zucchi, R. (eds.), In: *Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado*, FEALQ, Piracicaba: 13-39.
- Suverkropp, B.P. 1997. Host finding behaviour of *Trichogramma brassicae* in maize, Diss. Doutoramento. Univ. Wageningen, Wageningen, Holanda, 249 pp.
- Van Alphen, J.J.M. & Visser, M.E. 1990. Superparasitism as an adaptative strategy for insect parasitoids, *Ann. Rev. Entomol.*, 35: 59-79.
- Van Dijken, M.J., Kole, M., Van Lenteren, J.C. & Brand, A.M. 1986. Host-preference studies with *Trichogramma evanescens* Westwood (Hym., Trichogrammatidae) for *Mamestra brassicae*, *Pieris brassicae* and *Pieris rapae*. *J. appl. Entomol.*, 101: 64-85.
- Vinson, S.B. 1997. Comportamento de selecção hospedeira de parasitóides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae, Parra, J. & Zucchi, R. (eds.), In: *Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado*, FEALQ, Piracicaba: 67-119.