

Comportamento de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em posturas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae)

Eduardo B. Beserra¹

José R. P. Parra²

ABSTRACT. Parasitism behavior of *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner and *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) in *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae) egg masses. The parasitism behavior of *Trichogramma atopovirilia* and *T. pretiosum* in *Spodoptera frugiperda* eggs was evaluated focusing on the features related to the associative learning (alpha conditioning) and recognition of the egg parasitized by the female after the first oviposition experience. Females of both species were observed to recognize the parasitized egg, which takes place after the female drills into the host egg. Following oviposition, 43.59% and 67.53 of females began to feed with an average feeding time of 73.26 ± 11.57 and 64.04 ± 7.05 seconds for *T. atopovirilia* and *T. pretiosum*, respectively. The time elapsed in each step of the parasitism behavior significantly decreased after the first oviposition experience, with a trend to stabilize after the 2nd or 3rd egg parasitized, indicating associative learning in these *Trichogramma* species.

KEYWORDS. Egg parasitoid; fall armyworm; learning; parasitization.

INTRODUÇÃO

Espécies do gênero *Trichogramma* são parasitóides de ovos utilizados mundialmente para o controle de pragas, preferencialmente, da ordem Lepidoptera, como *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), considerada a principal praga do milho no Brasil. *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley são dois parasitóides freqüentes em posturas de *S. frugiperda* (ALVAREZ & ROA 1995; ZUCCHI & MONTEIRO 1997). Tais espécies apresentam um modelo de comportamento que envolve desde a localização do hospedeiro até o seu reconhecimento, aceitação e finalmente o parasitismo (VINSON 1998). Para a sua utilização em programas de controle biológico, é necessária a compreensão dos mecanismos e dos fatores que interferem no comportamento de parasitismo para que possam ser identificadas as situações onde a liberação do parasitóide terá impacto sobre a população da praga, bem como, sugerir formas de manipulação do ambiente que poderão aumentar a eficiência do inimigo natural no campo (THOMSON & STINNER 1990).

O comportamento de forrageamento e parasitismo pode ser inato, como consequência dos padrões fixados no genótipo da espécie ou apresentar uma flexibilidade e desenvolver padrões que podem ser aprendidos, como consequência da experiência obtida durante o processo de forrageamento e parasitismo. Muitos parasitóides são capazes de conseguir, por experiência, um aumento na sua capacidade de procura em uma situação ambiental particular ou na preferência por uma dada espécie de hospedeiro. Ao associar os sinais aprendidos durante o parasitismo ou durante o desenvolvimento, a fêmea pode prontamente localizar e parasitar o hospedeiro com maior eficiência e rapidez (CORBET 1985; NURINDAH *et al.* 1999). Assim, independente dos padrões inatos, as espécies podem modificar o seu comportamento ao perceberem sinais do ambiente em que eles conviveram quando jovens ou adultos, fenômeno conhecido como aprendizado associativo ou α -condicionamento (VINSON 1998; NURINDAH *et al.* 1999).

A influência combinada do condicionamento pré-imaginal ao hospedeiro de criação e o aprendizado após a experiência de oviposição de *Trichogramma maidis* Pintureau & Voegelé,

1. Departamento de Farmácia e Biologia, Universidade Estadual da Paraíba. Caixa Postal 781/791, 58100-000 Campina Grande-PB, Brasil. Endereço eletrônico: ebeserra@uol.com.br

2. Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Caixa Postal 09, 13418-900 Piracicaba-SP, Brasil

em relação à preferência entre *Anagasta kuehniella* (Zeller) e *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera, Pyralidae) foi investigada por KAISER *et al.* (1989). Nesse sentido, foi constatado que a criação de *T. maidis* em um hospedeiro não preferido (ovos de *A. kuehniella*), aumentou a sua afinidade por esta espécie, ocorrendo o mesmo quando o desenvolvimento do parasitóide se deu em ovos de *O. nubilalis*. Este aumento foi associado à familiarização do parasitóide com sinais do hospedeiro, obtidos durante o desenvolvimento ou no período de emergência do adulto, o que indica a possibilidade da fêmea reconhecer sinais químicos ou físicos específicos do hospedeiro. NURINDAH *et al.* (1997) perceberam que as fêmeas de *Trichogramma australicum*, quando criadas em ovos de *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Lepidoptera, Gelechiidae), exigem um período de tempo para reconhecer ovos de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae) como hospedeiro, e só ovipositam após uma segunda inserção do ovipositor. Este resultado indica que o reconhecimento interno contribui para aquisição de experiência que irá induzir a aceitação do hospedeiro potencial no próximo exame. Portanto, a experiência de parasitismo irá maximizar a resposta comportamental da fêmea e a sua eficiência no controle da praga, sendo de fundamental importância a utilização desses conhecimentos em programas de controle biológico. Neste trabalho, foi avaliado o comportamento de parasitismo de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* em posturas de *S. frugiperda* com diferentes características físicas, enfocando aspectos relacionados ao aprendizado associativo em função do tempo gasto pela fêmea durante as etapas do comportamento, e o reconhecimento do ovo parasitado após uma primeira experiência de oviposição.

MATERIALE MÉTODOS

O comportamento de parasitismo foi estudado utilizando-se posturas de *S. frugiperda* (0-12 horas de idade) com diferentes características físicas, considerados os tratamentos: 1) uma camada de ovos sem escamas; 2) duas camadas de ovos sem escamas; 3) uma camada de ovos com baixa densidade de escamas; 4) uma camada de ovos com alta densidade de escamas. Foram individualizadas, em tubos de vidro (12,0 x 7,0 mm), para cada tipo de postura, de 20 a 30 fêmeas de *T.*

atopovirilia e *T. pretiosum* com até 24 horas de idade, as quais foram filmadas por 20 minutos, por meio de um microscópio estereoscópico (Leica-Wild M10) acoplado a uma câmara filmadora (VK_C360N, Hotachi®) adaptada a um sistema de vídeo. As avaliações foram iniciadas após o encontro do parasitóide com a postura hospedeira, cronometrando-se os tempos de: (a) exame externo (período em que a fêmea caminha sobre a superfície do ovo tocando-o com as antenas); (b) penetração do ovipositor e reconhecimento interno (caracterizado por movimentos verticais descendentes e ascendentes do abdome, durante os quais a fêmea introduz o ovipositor e faz a avaliação interna do ovo hospedeiro); (c) oviposição; esse parâmetro teve o seu tempo computado juntamente com o tempo de marcação do ovo; (d) tempo de marcação do ovo; para a sua avaliação excluiu-se o tempo de oviposição; (e) período de alimentação; (f) reconhecimento e rejeição do ovo parasitado pela fêmea, através do registro da presença ou ausência de movimentos abdominais que caracterizam a oviposição e do cálculo da porcentagem de redução do tempo obtido durante a penetração do ovipositor e reconhecimento interno, entre um ovo parasitado e um não parasitado; e (g) ocorrência de aprendizado em *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, comparando-se os tempos obtidos em cada etapa do comportamento de parasitismo nos ovos subsequentes ao primeiro ovo parasitado. Neste caso, optou-se por avaliar os resultados referentes ao tratamento com posturas de uma camada de ovos e sem escamas, como forma de se isolarem os efeitos adversos devido à distribuição dos ovos em camadas e da presença de escamas sobre o comportamento do inseto. As médias referentes ao comportamento de aprendizado foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$), adotando-se o delineamento experimental inteiramente casualizado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos tempos das diversas etapas do comportamento de oviposição de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, dois aspectos do comportamento podem ser discutidos: (1) se a fêmea reconhecia e rejeitava o ovo por ela parasitado e (2) se a experiência de *Trichogramma spp.*, após parasitar o primeiro

Tabela 1. Redução (%) no tempo (segundos) gasto durante o reconhecimento externo do ovo de *Spodoptera frugiperda* por *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma pretiosum* quando da avaliação de um ovo já parasitado.

Tipo de postura	<i>T. atopovirilia</i>			<i>T. pretiosum</i>		
	Primeiro ¹ contacto	Segundo ² contacto	Porcentagem de redução (%)	Primeiro contacto	Segundo contacto	Porcentagem de redução (%)
Uma camada sem escamas	23,9 ± 1,3	24,9 ± 2,3	-4,56	15,9 ± 0,7	17,6 ± 1,3	-10,33
Duas camadas sem escamas	29,1 ± 1,2	30,6 ± 3,4	-5,22	20,1 ± 1,2	18,1 ± 1,4	9,65
Uma camada e baixa densidade de escamas	30,4 ± 2,0	24,1 ± 1,3	20,76	21,7 ± 1,3	22,3 ± 2,2	-2,85
Uma camada e alta densidade de escamas	31,2 ± 2,4	22,6 ± 2,1	27,30	23,9 ± 1,5	25,2 ± 3,3	-5,52
Média geral	28,6 ± 1,7	25,6 ± 2,3	9,57	20,4 ± 1,2	20,8 ± 2,0	-2,26

¹ Contato com um ovo hospedeiro não parasitado; ² contato com o ovo hospedeiro após ter sido parasitado.

ovo na postura de *S. frugiperda*, implicaria na redução do tempo gasto durante o comportamento de oviposição nos ovos subseqüentes, indicando a existência de aprendizado nas espécies estudadas. Quando da avaliação em um ovo parasitado, a fêmea, após examiná-lo externamente, realizava os movimentos abdominais que caracterizam a penetração do ovipositor e reconhecimento interno, e a marcação, sem, no entanto, apresentar movimentos que caracterizavam a oviposição, indicando a rejeição da fêmea em ovipositar em um ovo por ela parasitado. Não se observou redução no tempo durante o reconhecimento externo, com exceção do tempo gasto por *T. atopovirilia* em posturas com escamas (Tabela 1). Provavelmente, esta redução reflete mais um efeito das escamas sobre o comportamento do inseto do que propriamente uma diminuição, como reflexo do reconhecimento do ovo parasitado, já que não se observou a rejeição durante esta etapa. Porém, as etapas de reconhecimento interno e marcação, foram bastante reduzidas (Tabelas 2 e 3) para ambas espécies em todos os tratamentos. Estes resultados discordam dos observados por SUZUKI *et al.* (1984), que não encontraram redução no tempo das etapas do comportamento quando fêmeas de *Trichogramma chilonis* Ishii, ovipositaram em um ovo de *Papilio xuthus* L. (Lepidoptera, Papilionidae) já parasitado.

Do total de ovos parasitados por *T. atopovirilia* (523 ovos) e *T. pretiosum* (502 ovos), 16,25% (85 ovos) e 36,65% (184 ovos), respectivamente, foram reexaminados pelas fêmeas, reiniciando, a seguir, a série comportamental a partir do reconhecimento externo. A rejeição desses ovos por *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* foi de 89,41% e 81,52%, respectivamente, ocorrendo sempre durante o reconhecimento interno, o que indica a capacidade de discriminar o ovo parasitado, provavelmente, devido à presença de algum marcador interno, como observado por PAK *et al.* (1986) para *Trichogramma brassicae* Bezd., pois esta espécie reconhece um ovo parasitado, por meio de estímulos internos. Assim, a rejeição do ovo parasitado por *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* ficou evidenciada pela redução do tempo gasto durante a penetração do ovipositor e reconhecimento interno, e pela ausência dos movimentos abdominais que caracterizam a oviposição, mostrando que a fêmea é capaz de reconhecer e rejeitar o ovo parasitado. Deve-se ressaltar, contudo, que o exame se deu em ovos parasitados pela própria fêmea o que deve ter facilitado no reconhecimento de seus próprios marcadores internos.

A alimentação ocorreu sempre após a oviposição e foi observada em 43,59% e 67,53% das fêmeas, com um tempo

Tabela 2. Redução (%) no tempo (segundos) gasto durante a penetração do ovipositor e reconhecimento interno, e marcação do ovo de *Spodoptera frugiperda* parasitado por *Trichogramma atopovirilia* quando da avaliação de um ovo já parasitado.

Tipo de postura	Penetração do ovipositor e reconhecimento interno (seg)			Marcação do ovo parasitado (seg)		
	Primeiro ¹ contacto	Segundo ² contacto	Porcentagem de redução (%)	Primeiro contacto	Segundo contacto	Porcentagem de redução (%)
Uma camada sem escamas	44,7 ± 3,5	26,1 ± 3,2	41,66	12,9 ± 0,5	6,8 ± 0,6	47,29
Duas camadas sem escamas	38,2 ± 1,9	26,8 ± 2,2	29,82	14,7 ± 0,3	7,1 ± 0,4	51,49
Uma camada e baixa densidade de escamas	53,2 ± 7,0	30,7 ± 5,5	42,22	14,6 ± 0,6	5,8 ± 0,8	60,27
Uma camada e alta densidade de escamas	73,0 ± 5,5	43,5 ± 10,5	40,32	15,2 ± 0,6	8,4 ± 1,7	44,57
Média geral	52,3 ± 4,5	31,8 ± 5,3	38,50	14,3 ± 0,5	7,0 ± 0,9	50,90

¹ Contato com um ovo hospedeiro não parasitado; ² contato com o ovo hospedeiro após ter sido parasitado.

Tabela 3. Redução (%) no tempo (segundos) gasto durante a penetração do ovipositor e reconhecimento interno, e marcação do ovo de *Spodoptera frugiperda* parasitado por *Trichogramma pretiosum* quando da avaliação de um ovo já parasitado.

Posturas	Penetração do ovipositor e reconhecimento interno (seg)			Marcação do ovo parasitado (seg)		
	Primeiro ¹ contacto	Segundo ² contacto	Porcentagem de redução (%)	Primeiro contacto	Segundo contacto	Porcentagem de redução (%)
Uma camada sem escamas	23,2 ± 0,6	15,2 ± 0,8	34,38	9,4 ± 0,2	6,3 ± 0,6	33,08
Duas camadas sem escamas	32,3 ± 2,5	20,6 ± 1,7	36,21	11,4 ± 0,4	6,8 ± 0,6	40,17
Uma camada e baixa densidade de escamas	39,7 ± 2,1	26,8 ± 2,8	32,45	12,1 ± 0,4	7,6 ± 0,8	37,11
Uma camada e alta densidade de escamas	41,1 ± 2,1	24,7 ± 2,2	39,80	12,4 ± 0,4	6,5 ± 0,7	47,35
Média geral	34,1 ± 1,8	21,8 ± 1,9	35,71	11,3 ± 0,4	6,8 ± 0,6	39,43

¹ Contato com um ovo hospedeiro não parasitado; ² contato com o ovo hospedeiro após ter sido parasitado.

médio de $73,26 \pm 11,57$ e $64,04 \pm 7,05$ segundos, respectivamente, para *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*. O período de ocorrência e o tempo gasto na alimentação poderão ocorrer em função do hospedeiro de criação e, conseqüentemente, da necessidade nutricional do parasitóide, como constatado por NURINDAH *et al.* (1997) para fêmeas de *Trichogramma australicum* Girault. Estas se alimentam antes ou após a oviposição, dependendo da origem do biótipo, se proveniente de ovos de *H. armigera*, *S. cerealella* ou da criação “in vitro”, e gastaram, em média, 52,4; 58,9 e 139,1 segundos, respectivamente. Segundo esses autores, a alimentação contribui para aumentar a performance reprodutiva da fêmea, porém quando ocorre antes da oviposição, em espécies criadas “in vitro”, reflete a falta de algum nutriente na dieta artificial consumida pela larva do parasitóide, necessário para melhorar o seu desempenho e fornecer energia adicional para maturação dos ovos.

Associado ao comportamento de alimentação de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, constatou-se que as fêmeas, após se alimentarem, caminhavam arrastando a extremidade abdominal, como se espalhassem o líquido extravasado do orifício de oviposição sobre a superfície do ovo. Esse comportamento, por vezes, foi intercalado com movimentos das antenas tocando a superfície por onde percorreu a extremidade abdominal, associados com contatos do aparato bucal sobre esta área, seguidos, ou não, de nova alimentação. KAISER *et al.* (1989) descreveram este movimento de arrastar o abdome sobre a superfície do ovo como um comportamento de marcação de *T. maidis* sobre a superfície externa do ovo de *O. nubilalis*. NURINDAH *et al.* (1997) descreveram comportamento semelhante para *T. australicum*, como um segundo exame externo do ovo hospedeiro, após a primeira oviposição, seguido por novo parasitismo. Não foram encontradas evidências de que este movimento do abdome sobre a superfície do ovo estivesse associado à marcação externa do hospedeiro por *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*. Entretanto, duas observações merecem destaque: (1) que este comportamento não foi apresentado por todas as fêmeas mas, exclusivamente, por aquelas que se alimentaram, estando, portanto, associado ao comportamento de alimentação e (2) que a rejeição de um ovo parasitado ocorreu sempre durante a etapa de avaliação interna, indicando a presença de um marcador.

Exceto quando da etapa de penetração do ovipositor e reconhecimento interno de *T. atopovirilia*, fêmeas de ambas as espécies estudadas, após parasitarem o primeiro ovo na postura de *S. frugiperda*, diminuíram, significativamente, os tempos para cada etapa do comportamento de parasitismo, tendendo, estes tempos, a se estabilizarem após o 2º ou 3º ovo parasitado (Fig. 1). Assim, há uma diminuição sucessiva no tempo durante o comportamento de parasitismo que pode estar relacionado à experiência adquirida pela fêmea quando do primeiro ovo parasitado. Este padrão de comportamento tem sido observado para outras espécies deste gênero como, *T. maidis* (WAJNGERG 1989), *T. nr. pretiosum* (THOMSON & STINNER 1990) e *T. australicum* (NURINDAH *et al.* 1997, 1999), e é conhecido, como frisado anteriormente, como aprendizado associativo ou α - condicionamento (VINSON 1998). O

aprendizado associativo está relacionado à percepção dos estímulos químicos e/ou físicos do primeiro hospedeiro parasitado que possibilita o reconhecimento e aceitação dos hospedeiros subsequentes (KAISER *et al.* 1989; NURINDAH *et al.* 1997) ou, segundo CORBET (1985), aos estímulos do hospedeiro percebidos pelo parasitóide durante o seu desenvolvimento embrionário que irão influenciar a resposta quimiosensorial dos adultos. Esta última hipótese, está relacionada ao condicionamento pré-imaginal e explica, em parte, o maior tempo gasto no comportamento de oviposição do primeiro ovo de *S. frugiperda* parasitado por *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*. Como estas espécies foram mantidas por várias gerações em ovos de *A. kuenhiella*, as fêmeas, provavelmente, condicionadas aos componentes químicos desse lepidóptero durante o desenvolvimento larval, gastaram mais tempo em reconhecer e aceitar o ovo de *S. frugiperda* como hospedeiro. No entanto, após o primeiro ovo parasitado, as fêmeas passaram a reconhecer os estímulos químicos presentes no ovo de *S. frugiperda*, o que contribuiu para diminuir o tempo do comportamento de parasitismo nos ovos subsequentes.

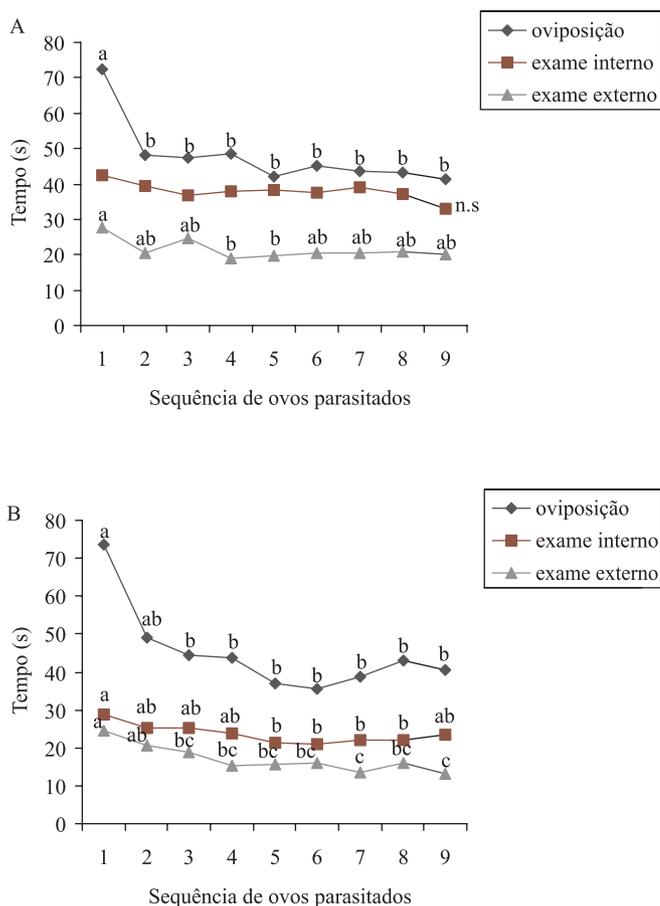


Fig. 1. Variação no tempo (segundos) em cada etapa do comportamento de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* (A) e *Trichogramma pretiosum* (B) de acordo com a seqüência de ovos parasitados de *Spodoptera frugiperda*. Símbolos em cada linha seguidos de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

O comportamento de parasitismo de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* é influenciado pela experiência adquirida pela fêmea após o primeiro ovo parasitado. No entanto, este resultado não é conclusivo e apenas dá uma indicação da existência de aprendizado associativo em *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*. Uma das questões a ser ressaltada, é que o estudo foi feito em posturas, com vários ovos agrupados, e alterações no comportamento ocorrem em função da localização do ovo na postura, como observado para *T. minutum* por SCHMIDT & SMITH (1985). Ovos que estão localizados mais ao centro da postura têm menor superfície de área exposta e a fêmea tende a gastar menos tempo examinando-os em relação àqueles mais externos, o que altera a resposta do inseto quando se quer avaliar o aprendizado como base no tempo gasto durante o comportamento de parasitismo. Assim, são necessários estudos mais específicos que dêem indicação de mecanismos associados ao aprendizado nestas espécies.

Agradecimentos. À Universidade Estadual da Paraíba-UEPB e à CAPES/PICDT pela concessão de bolsa de estudos, e à ESALQ/USP pelas condições materiais que permitiram a realização desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ALVAREZ, L. R. & F. G. ROA. 1995. Comportamiento parasítico de *Telenomus* sp. em *Spodoptera frugiperda*. **Revista Colombiana de Entomologia** **21**: 191-196.
- CORBET, S. A. 1985. Insect chemosensory responses: a chemical legacy hypothesis. **Ecological Entomology** **10**: 143-153.
- KAISER, L.; M. H. PHAM-DELEGUE & C. MASSON. 1989. Behavioural study of plasticity in host preferences of *Trichogramma maidis* (Hym.: Trichogrammatidae). **Physiological Entomology** **14**: 53-60.
- NURINDAH; G. GORDH & B. W. CRIBB. 1997. Oviposition behaviour and reproductive performance of *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared in artificial diet. **Australian Journal of Entomology** **36**: 87-93.
- NURINDAH; B. W. CRIBB & G. GORDH. 1999. Experience acquisition by *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Australian Journal of Entomology** **38**: 115-119.
- PAK, G. A.; H. C. E. M. BUIS; I. C. C. HECK & M. L. G. HERMANS. 1986. Behavioural variations among strains of *Trichogramma* spp.: host-age selection. **Entomologia Experimentalis et Applicata** **40**: 247-258.
- SCHMIDT, J. M. & J. J. B. SMITH. 1985. The mechanism by which the parasitoid wasp *Trichogramma minutum* responds to host clusters. **Entomologia Experimentalis et Applicata** **39**: 287-294.
- SUZUKI, Y; H. TSUJI & M. SASAKAWA. 1984. Sex allocation and effects of superparasitism on secondary sex ratios in the gregarious parasitoid, *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Animal Behavior** **32**: 478-484.
- THOMSON, M. S. & R. E. STINNER. 1990. The scale response of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): variation among species in host specificity and the effect of conditioning. **Entomophaga** **35**: 7-21.
- VINSON, S. B. 1998. The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological Control** **11**: 79-96.
- WAJNBURG, E. 1989. Analysis of variations of handling-time in *Trichogramma maidis*. **Entomophaga** **34**: 397-407.
- ZUCCHI, R. A. & R. C. MONTEIRO. 1997. O gênero *Trichogramma* na América do Sul, p. 41-66. In: J. R. P. PARRA & R. A. ZUCCHI. (ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba, FEALQ, 324 p.