

UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE  
CAMPINAS

**BC/7928**  
**IB/80306**

MESTRADO

INSTITUTO DE BIOLOGIA

*1987*

Este exemplar corresponde  
à redação final de tese  
defendida pelo Sr. Gilberto S.S. da  
& aprovada pela Comissão Julgadora

  
C. PAVAN  
orientador

20 Fevereiro 1987

BIOLOGIA REPRODUTIVA COMPARADA DE DOIS PARASITÓIDES DE  
*Drosophila*: *Trybliographa brasiliensis* (HYMENOPTERA:  
EUCOLIDAE) E *Trichopria drosophilae*  
(HYMENOPTERA: DIAPRIIDAE).



## AGRADECIMENTOS

- Prof. Dr. Crodowaldo Pavan pela orientação, apoio e amizade.
- Universidade Estadual de Maringá pelo uso dos laboratórios e apoio logístico.
- Maria Cristina Caleffi de Almeida, José Caleffi, Waldomira Chiaramonte Caleffi e André Caleffi de Almeida pelo apoio im prescindível e compreensão.
- Prof. Dr. Aldo Malavasi pelas sugestões e correções do texto final.
- Prof. Luis De Santis e Dra. Marta Loiácono pela identificação dos dois microhimenópteros utilizados neste trabalho.
- A todos àqueles que de um modo ou de outro tornaram possível este trabalho.

GILBERTO DE SOUZA SOARES DE ALMEIDA

BIOLOGIA REPRODUTIVA COMPARADA DE DOIS PARASITÓIDES DE  
*Drosophila*: *Trybliographa brasiliensis* (HYMENOPTERA:  
EUCOLIDAE) E *Trichopria drosophilae*  
(HYMENOPTERA: DIAPRIIDAE).

Dissertação apresentada ao Departamento  
de Genética e Evolução do Instituto de  
Biologia da Universidade Estadual de  
Campinas como parte dos requisitos ne-  
cessários para obtenção do Título de  
Mestre

Orientador:

Prof. Dr. Crodowaldo Pavan

Campinas

1987

UNICAMP

Classif.	T/UNICAMP
Author	AR 64 b
	Ex
Conto B3/	7928
	1B/715

1B/ 80306  
34/ 7928

- CM-00068701-2

## 1. INTRODUÇÃO

A capacidade reprodutiva dos insetos é de um modo geral muito eficiente (Borrer et al, 1976). Felizmente existe um controle natural que mantém as populações de insetos em níveis bem inferiores aos de sua capacidade reprodutiva (Huffaker & Messenger, 1964).

Em várias situações agropecuárias, os insetos tem escapado do controle natural e se tornado pragas. O suposto sucesso do controle químico através de inseticidas sintéticos a partir da década de 40 tem sido só aparente. Tem havido um aumento crescente na resistência dos insetos (Brown, 1968, West & Peters, 1973, Georghiou, 1980, Patton et al, 1980). Os custos dos inseticidas têm crescido muito mais do que os dos produtos agropecuários, aumentando conseqüentemente os custos de produção (De Lucchi, 1977, Epamig, 1983). Uma alternativa possível aos inseticidas químicos por várias razões é o controle biológico (Pimentel, 1975, Marsden et al, 1980, Anon, 1980, Waage & Hassell, 1982, Hokkanen, 1985). Dentre as importantes razões devemos destacar a não deterioração da qualidade ambiental (De Lucchi, 1977), a presença de resíduos químicos nos alimentos em doses perigosas ao homem (Paschoal, 1978), e a frequente especificidade do agente de controle em relação ao inseto-praga (Huffaker & Messenger, 1976).

Em reconhecimento a esta situação, a pesquisa tem sido cada vez mais orientada para dar ênfase a técnicas de controle que não apresentem efeitos colaterais perniciosos (Huffaker & Messenger, 1976, De Lucchi, 1977, Waage & Hassell, 1982, Hokkanen, 1985). O controle biológico tem sido uma das técnicas mais promissoras para o controle de insetos-praga

(Huffaker et al, 1971). A pesquisa e o emprego de parasitoides como agentes de controle biológico tem recebido uma considerável atenção nos últimos anos, como pode ser percebido pelo grande volume de trabalhos publicados a cada ano e pelas várias revisões recentes a respeito (Cassidy, 1974, Matthews, 1974, Vinson, 1976, Mackauer, 1976, Vinson & Iwantsch, 1980a,b, May & Hassell, 1981, Waage & Hassell, 1982, Hassell & Waage, 1984 e Hokkanen, 1985). Parasitóide se refere ao inseto que se desenvolve como larva em tecidos de outros arthropodes (geralmente insetos) que eles posteriormente matam, sendo o inseto adulto de vida livre (Reuter, 1913, Vinson 1976, Hassell & Waage, 1984).

Entretanto, apesar do sucesso obtido com o uso de parasitoides para o controle biológico de pragas em diversos casos (Hall et al, 1980, Hokkanen, 1985), em vários outros casos isto não ocorreu (Hoy, 1976, Beirne, 1980). Waage & Hassell (1984) concluem que o esforço continuado em pesquisa básica sobre os parasitoides é de enorme valor em identificar quais tipos de informações são necessárias para uma avaliação do controle biológico.

Quando se analisa de modo comparado atributos de importância ecológica e evolutiva da biologia dos parasitoides, verifica-se uma convergência evolutiva notável - diferentes espécies de parasitoides tendem a resolver problemas reprodutivos semelhantes através de estratégias adaptativas similares, quando não idênticas (Price, 1975).

Assim sendo, é necessário se realizar mais pesquisas básicas em sistemas parasitóide-hospedeiro, para se compreender melhor os padrões dos diferentes atributos biológicos envolvidos nestes sistemas, bem como seus mecanismos. E isto, mesmo em sistemas parasitoides-hospedeiro em que o hospedeiro não seja

uma espécie-praga, devido às convergências evolutivas das estratégias reprodutivas deste sistema, quando comparado a outros sistemas em que a espécie hospedeira seja uma espécie-praga.

Entretanto, é muito útil o emprego de sistemas parasitóide-hospedeiro que sejam mais baratos para manutenção, ocupem pequeno espaço, sejam de mais fácil manipulação e sejam produtivos. Pavan & Stunkel (1982) afirmam que o uso do sistema Trybliographa brasiliensis (Hym: Eucoilidae) - Drosophila (Dip: Drosophilidae), ou outros sistemas parasitóide-hospedeiro em que o hospedeiro seja Drosophila, não só satisfaz estes requisitos de criação, como apresenta um grande potencial para estudos de corte, feromônios, relações parasitóide-hospedeiro, etc.

Dentre os atributos essenciais dos parasitóides, como agentes de controle biológico, que devem ser investigados em cada sistema parasitóide-hospedeiro estão o grau de especificidade em relação ao hospedeiro, a capacidade de aumento em número em curto espaço de tempo, a razão sexual e a competitividade (Mackauer, 1976, Waage & Hassell, 1984).

Em relação à especificidade do parasitóide há espécies polífagas, como Compsilura concinnata Meigen (Hym: Tachinidae), para a qual tem sido registrados mais de 100 hospedeiros diferentes (Clausen, 1972). Trioxys complanatus Quilis (Hym: Aphidiidae) é estenófaga, desenvolvendo-se só em espécies de Therioaphis e gêneros aparentados, enquanto T. pallidus (Haliday) é aparentemente monófaga em Chromaphis juglandicola (Kaltenbach) (Bosch & Messenger, 1973). A maioria dos parasitóides é estenófaga, sendo específicos só para poucas espécies, geralmente aparentadas, de hospedeiros (Price, 1975).

A capacidade de produzir uma grande descendência em curto espaço de tempo envolve conhecimentos sobre tempo de geração, percentagem de parasitismo, tamanho de prole e idade do

hospedeiro.

O tempo médio de geração dos parasitóides depende do ciclo vital do hospedeiro. Em Bracon hebetor Say (Hym: Braconidae) é de 9 a 10 dias, a 30°C (Samis et al, 1973), enquanto o de Nasonia vitripennis Walker (Hym: Pteromalidae) é de 12 dias em média, a 26°C (Schneiderman & Horwitz, 1958, Firtel & Saul, 1974). Para Itoplectes conquisitor Say (Hym: Ichneumonidae) varia de 15 a 16 dias em Perilampus hyalinus Say (Hym: Perilampidae) é de 29 dias, em Dahlbominus fuscipennis (Zetterstedt) (Hym.: Eulophidae) é de cerca de 15 dias (Coppel & Martins, 1977). Em Allorhogas pyralophagus Marsh (Hym: Braconidae) foi de 17,75 dias a 26°C (Melton & Browning, 1986) enquanto para Apanteles dignus Muesebeck (Hym.: Braconidae) foi de cerca de 18 dias (Cardona & Oatman, 1971). Nos himenópteros parasitóides da família Diapriidae, o tempo de geração foi em Galesus silvestrii Kieff variável entre 25 a 32 dias, para Trichopria hirticollis variando entre 25 e 30 dias (Clausen, 1972). Enquanto isto, para os himenópteros da família Eucolidae foi, em Cothonaspis rapae Westw. de cerca de 3 meses, em espécies de Psilodora cerca de 35 dias em condições de verão indo até 7 meses em outras condições (Clausen, 1972).

A fecundidade dos parasitóides é conhecida para Anaphes sordidatus (Hym.: Mymaridae) como sendo de  $49,4 \pm 29,3$  indivíduos para fêmeas não acasaladas e  $33,2 \pm 19,7$  indivíduos para fêmeas acasaladas, sem haver diferença significativa entre elas (Collins & Grafius, 1986). Para Apanteles dignus, foi de 14,2 indivíduos (Cardona & Oatman, 1977), enquanto para Allorhogas pyralophagus variou entre 68,0 e 82,3 ovos por fêmea (Melton & Browning, 1986).

A percentagem de parasitismo obtido em diferentes espécies mostra a amplitude de variação. Em Banchus flavescens

Cresson (Hym: Ichneumonidae) em Mamestra configurata (Lep: Noctuidae) pode atingir 93,8% (Turnok & Bilodeau, 1984) ou 95% (Arthur & Ewen, 1975). Enquanto para 6 espécies de Braconidae, parasitóides de Ceratitidis capitata (Dip: Tephritidae), variou de 10% a 56 de acordo com a espécie (Steck et al, 1986). A percentagem de parasitismo de Ablerus clisiocampae (Hym: Aphelinidae) variou de 3,9% a 35,6% e a de Ooencyrtus clisiocampae (Hym: Encyrtidae) de 2,8% a 25,2%, nas mesmas condições experimentais (Smith & Goyer, 1985).

A maioria dos parasitóides só parasitam o hospedeiro durante certo período de seu ciclo vital (Clausen, 1972, Price, 1975, Vinson, 1976). Nas espécies da família Eucoilidae (Hym.) as fêmeas geralmente ovipõem em larvas de dípteros, sendo que o parasitóide adulto emerge do pupário hospedeiro (Costa Lima, 1962, Clausen, 1972). Nas poucas espécies de Diapriidae (Hym.) cujas preferências de idade do hospedeiro foram determinadas, as fêmeas geralmente ovipõem em pupários de dípteros (Clausen, 1972, De Santis, 1980).

Os dípteros parasitóides geralmente exibem uma proporção sexual estável de 1 macho: 1 fêmea, enquanto os himenópteros parasitóides normalmente apresentam uma grande variabilidade intraespecífica e interespecífica na razão sexual (Waage 1982, Waage & Hassell, 1982, Hassell & Waage, 1984). A variabilidade intraespecífica resulta da ação de numerosos fatores bióticos e abióticos, de tal modo que em cada combinação diferente destes fatores, pode ocorrer uma razão sexual diferente (Viktorov, 1976, Kochetova, 1978). A criação de parasitóides em laboratório tende a favorecer a endogamia, se o inóculo inicial foi pequeno e, conseqüentemente, pode tanto aumentar quanto diminuir a proporção sexual. Linhagens endogâmicas de Diadegma encerophaga Horst (Hym.: Ichneumonidae) sofreram desvio na razão sexual (macho: fêmea) de 0,32: 1 para 0,76: 1, ao longo de 4 ge-

rações (Waage, 1982). Já a endogamia em Cothonaspis boulandi (Hym: Eucoilidae) diminui a razão sexual, produzindo uma maior proporção de fêmeas (Biemont & Bouletreau, 1980). Para Apanteles dignus (Hym: Braconidae) é de 1,47 machos: 1 fêmea, embora variando de 0,82: 1 a 2,20: 1 (Cardona & Oatman, 1971). Em Campoletis perdistinctus (Hym.: Ichneumonidae) a proporção de machos geralmente é maior do que a de fêmeas, tanto em laboratório quanto em amostragens de campo (Hoelscher & Vinson, 1971). Em Ablerus clisiocampae (Hym.: Aphelinidae) e Ooencyrtus clisiocampae (Hym.: Encyrtidae) obteve-se, nas mesmas condições, um maior número de fêmeas na prole de fêmeas de ambas as espécies, mas variando a razão sexual, respectivamente, entre machos e fêmeas de 1: 1,19 a 1:1,43; e 1: 1,05 até 1: 1,7 (Smith & Goyer, 1985).

Nos himenópteros parasitóides é interessante se verificar qual o sexo e proporção sexual dos indivíduos obtidos na prole de fêmeas virgens. Na maioria das espécies conhecidas de himenópteros parasitóides, ocorre o haplodiploidismo (arrenotoquia): o macho é haplóide e a fêmea diplóide (Crozier, 1977, Cruz-Candin, 1984, Waage & Hassell, 1984), como em Apanteles dignus (Hym.: Braconidae) (Cardona & Oatman, 1971), Campoletis perdistinctus (Hym.: Ichneumonidae) (Hoelscher & Vinson, 1971), Galesus silvestrii Kieff. (Hym.: Diapriidae), Diapria conica F. (Hym.: Diapriidae) e espécies de Psilodora (Hym.: Eucoilidae) (Clausen, 1972). Entretanto, a produção por fêmeas virgens de prole constituída sô por fêmeas (telitoquia) ou com uma predominância de fêmeas (deuteroquia) foi encontrada em inúmeras espécies de himenópteros parasitóides pertencentes a 8 famílias da ordem Himenoptera (Clausen, 1972, Bosch & Messenger, 1973).

A competitividade é outro atributo relevante dos parasitóides (Mackauer, 1976, Vinson & Ivantsch, 1980, Hassel &

Waage, 1984). Narayanan & Rao (1960) afirmam que, em relação à competição entre himenópteros parasitóides, deve-se analisar tanto o superparasitismo quanto o multiparasitismo. Conforme proposto por Smith (1916) e atualmente aceito (Vinson & Iwantsch, 1980), "superparasitismo" é a ocorrência simultânea de mais de um indivíduo parasitóide pertencentes à mesma espécie e atacando um indivíduo hospedeiro, enquanto o "multiparasitismo" é a ocorrência simultânea, num mesmo indivíduo hospedeiro, de formas jovens de duas ou mais espécies diferentes de parasitóides primários. Em espécies de parasitóides solitários, o superparasitismo conduz há competição intraespecífica, enquanto o multiparasitismo à competição interespecífica (Vinson & Iwantsch, 1980b).

Em relação à competição intraespecífica, em parasitóides, foi relatado para Leptopilina heterotoma Thonson (= Pseudeucoila bochei Weld, Hym.: Eucoilidae), que geralmente as fêmeas põem mais de um ovo por larva de Drosophila melanogaster, embora só uma atinja o estado adulto, devido à intensa competição com ataque físico que ocorre entre elas (Jenni, 1947, Meyer-Grassmann, 1967, Eijackers & Bakker, 1971). Em Trichogramma evanescens Riley (Hym.: Trichogrammatidae) dependendo do caso, a competição pode resultar em morte de um dos competidores ou alterações na fecundidade, longevidade e tamanho deles (Chacko, 1969).

Entretanto, as evidências disponíveis apontam para a competição interespecífica como um processo potencialmente importante em modelar a composição de comunidades parasitóide-hospedeiro (Hassell & Waage, 1984) e devem ser levados em conta nos programas de controle biológico (Narayanan & Rao 1960, Mackauer, 1976). Quando as duas espécies competidoras são endoparasitóides solitários geralmente ocorre o ataque físico e luta entre

elas (Salt, 1961), como ocorre entre espécies de Opius (Hym.: Braconidae) (Bosch & Haramoto, 1953). Mas em outros casos em que ambos são endoparasitóides solitários, há supressão fisiológica, como é o caso de Leptopilina heterotoma que elimina Phaenocarpa tabida (Jenni, 1947).

Para se conhecer melhor a biologia reprodutiva de um parasitóide é necessário se analisar sua oviposição. Em relação a algumas espécies de parasitóides que foram analisadas em relação à oviposição, verificou-se que há um intervalo de tempo, denominado de período de pré-oviposição, entre o término da cópula e o início da oviposição. Em Apanteles dignus (Hym.: Braconidae) este período durou os primeiros 80 minutos após a emergência (Cardona & Oatman, 1971). Para Itoplectes conquisitor (Hym.: Ichneumonidae) foi de 8 a 10 dias, enquanto um Diplostichus lophyri (Towsend) (Diptera: Tachinidae) foi em média de 6,5 dias (Coppel & Martins, 1977).

O comportamento de oviposição dos endoparasitóides solitários apresenta algumas variações. Em Leptopilina heterotoma Thomson (Hym.: Eucoilidae), o tempo necessário para a oviposição variou de  $61,3 \pm 28,3$  segundos a  $48,9 \pm 24,1$  segundos dependendo da linhagem do parasitóide; sendo que o comportamento de oviposição foi estereotipado se caracterizando pela fêmea realizar piques de perfuração com o ovipositor no meio de cultura, enquanto caminha sobre a superfície deste meio; se numa dessas perfurações encontra uma larva, o ovipositor é protraído e inserido no corpo da larva para ovipositar (Veerkamp, 1982). Em Microplitis mediator (Haliday) (Hym.: Braconidae) quando a fêmea detecta com suas antenas o corpo do hospedeiro, ela rapidamente encurva o abdomen entre suas patas e deposita um ovo dentro da larva hospedeira (Arthur & Mason, 1986).

O estudo da corte dos himenópteros parasitóides tem

recebido considerável atenção nos últimos anos. Mas apesar de existir um grande número de observações casuais e fragmentárias, existem poucos trabalhos detalhados sobre a corte de himenópteros parasitóides (Matthews, 1975). Para a grande maioria das espécies de himenópteros parasitóides que ocorrem no Brasil a corte é desconhecida (De Santis, 1980). "Corte" é definido como qualquer comportamento entre indivíduos conspecíficos de sexo oposto e que facilita o acasalamento (Matthews, 1975), envolvendo não só o comportamento que precede como aquele que acompanha o ato sexual (Mc Farland, 1981).

Segundo Mayr (1970) a corte constitui o mais importante mecanismo de isolamento reprodutivo entre os animais. De acordo com Dobzhansky et al (1977) a corte é o mais poderoso agente responsável em manter isoladas espécies simpátricas aparentadas. Na maioria das espécies é o macho que normalmente procura a fêmea para acasalar e desempenha um papel mais ativo na corte (Mayr, 1973).

Os machos de cada espécie tem cortes ou exibições específicas para os quais geralmente só as fêmeas da mesma espécie são receptivas (Mayr, 1973), de modo a constituírem barreiras contra o cruzamento interespecífico (Carthy, 1967).

Mayr (1973) afirma que a reação específica de machos e fêmeas um para o outro é denominada "reconhecimento da espécie", sendo constituído por um intercâmbio de estímulos apropriados entre macho e fêmea para assegurar o acasalamento de indivíduos conspecíficos, e impedir a hibridização de indivíduos pertencentes a espécies diferentes.

Os artrópodes mostram um dos repertórios de comportamento mais ricos, atingindo o apogeu nos insetos, e especialmente nos Himenoptera (Malishev, 1968, Dethier & Stellar, 1970). Na história evolutiva dos Himenoptera, o papel desempenhado pelo

comportamento foi muito maior do que na de outras ordens de insetos (Bernard, 1951). Sendo que a análise do comportamento de corte é uma das contribuições mais importantes no estudo do comportamento (Maning, 1972).

De acordo com Hartl (1972) as espécies em que o macho é haplóide devem evoluir um terço mais rápido do que aquelas com machos diplóides. A ocorrência de espécies crípticas é muito comum nos grupos de himenópteros sugerindo que a especiação é rápida (Crozier, 1977). Dentre os parasitóides, são conhecidos alguns casos. No complexo Muscidifurax raptor (Hym.: Pteromalidae) uma espécie é uniparental e as 3 demais evoluíram para a gregaridade, sendo todas as 4 crípticas, (Legner, 1969, Kogan & Legner, 1970, Assem & Povel, 1973). Experimentos de hibridização também detectaram espécies crípticas no gênero Gryron (Hym.: Scelionidae) que diferiam em preferências de hospedeiro (Sankaran & Nagaraja, 1975). Em Aphytis mytilaspidus (Hym.: Aphelinidae) experimentos de hibridização mostraram isolamento sexual parcial ou total entre as linhagens, dependendo do tipo de cruzamento entre elas (Rao & De Bach, 1969).

Matthews (1975) revisando a corte em himenópteros parasitóides mostra que, em vários complexos de espécies crípticas, cada espécie pode ser diferenciada das demais no tipo e duração de elementos da corte sendo a corte espécie-específica.

Assim sendo, é conveniente se analisar e descrever o padrão de corte de cada espécie de himenóptero parasitóide, de tal modo que se possa diferenciá-lo daquele apresentado por outras espécies aparentadas.

A subfamília Pteromalinae (Hymenoptera: Pteromalidae) é a mais bem estudada dentre os Hymenoptera (Assem, 1974). E talvez a análise mais detalhada da corte de uma espécie de himenóptero parasitóide tenha sido feita por Barass (1960, 1961)

em Nasonia vitripennis (Hym.: Pteromalidae) sendo a seqüência de estímulos-resposta a seguinte: atração, reconhecimento, orientação, vibração das asas, antenação, cópula e limpeza ("grooming").

Assem (1969), estudando o comportamento de corte de Leptopilina heterotoma (Hym.: Eucolidae) verificou que: as fêmeas só são fertilizadas uma vez; durante a corte os machos vibram as asas rapidamente ao redor das fêmeas e, quando montam, as "acariciam" com as antenas, sendo que a cópula dura de 1 a 3 minutos.

Assem (1970a) estudando o comportamento de Lariophagus distinguendus (Hym.: Pteromalidae) constatou que os machos vibram suas asas, orientam-se em relação ao corpo das fêmeas, montam-as e realizam movimentos de antenação seguido pela cópula, que dura cerca de 10 segundos.

Bousch & Baerwald (1967) estudando Opius alleous (Hym.: Braconidae) verificaram que os machos respondem às fêmeas com a seguinte seqüência de eventos: assumindo uma postura rígida (durante 10 segundos), elevação das antenas para formar 90° com o ângulo do corpo caminhando em zig-zag, abertura parcial das asas, vibração das asas (15 a 70 segundos) e cópula (5 a 15 segundos); sendo que ocorrem cópulas repetitivas envolvendo ambos os sexos.

Grosch (1947, 1948) estudando os machos de Bracon hebetor (Hym.: Braconidae) observou que os machos excitados vibram suas asas, quando expostos às fêmeas, ou quando expostos apenas ao abdomen delas.

Vinson (1972) estudando o comportamento de Campoletis sonorensis (Hym.: Ichneumonidae) estabeleceu a seguinte seqüência de comportamento dos machos quando expostos às fêmeas: orientação, vibração das asas, toque com as antenas e tentativa de cópula. Sugeriu também que a vibração das asas pode auxiliar os

machos na localização das fêmeas, e que o toque com as antenas foi usado pelos machos para se posicionarem sobre as fêmeas. Estabeleceu que tanto os machos virgens quanto os não virgens se mostram excitados na presença de fêmeas virgens ou não.

Vinson (1978) estudando a corte e os feromônios sexuais de Cardiochiles nigriceps (Hym.: Braconidae) concluiu que a vibração das asas pelos machos auxilia a localização das fêmeas e também pode ter o efeito de acalmá-las, as antenas das fêmeas parecem desempenhar um papel importante na orientação do macho e que pode ser um sinal de receptividade da fêmea.

Evans (1965) constatou que as fêmeas de Synergus pacificus (Hym.: Eucoilidae) permitiu a cópula diversas vezes e que cada uma durava só uma fração de segundo.

Matthews (1975) analisando a corte em Diastrophus nebulosus (Hym.: Eucoilidae) verificou que a corte é similar a de Leptopilina heterotoma (Hym.: Eucoilidae), só que os machos não vibraram as asas e o tempo de cópula é de cerca de 60,5 segundos.

Zim (1982) analisando o comportamento de corte de Pseudeucoila brasiliensis (Hym.: Eucoilidae) um parasitóide de Drosophila melanogaster e D. simulans (Diptera: Drosophilidae) verificou que o processo de corte se caracterizou pela seguinte seqüência: atração, reconhecimento, orientação, vibração das asas, antenação e tentativa de cópula. Se a fêmea é receptiva ao macho após a antenação, ela levanta suas antenas da posição situada no mesmo plano de seu corpo para um ângulo de 90° com seu corpo e simultaneamente extroverte a genitália, enquanto o macho desce da fêmea e tenta copulá-la. A duração da cópula foi de 23 segundos. Quem estabelece o final da cópula é a fêmea, que se movimenta de maneira a afastar o macho da posição de cópula.

Miller & Tsao (1974) estudando o significado da vibração das asas dos machos de Nasonia vitripennis (Hym.: Pteromalidae) constataram que vibração das asas pode servir como um estímulo tátil para induzir a receptividade sexual das fêmeas.

A ocorrência de feromônios sexuais tem sido fonte de muitos trabalhos e sua existência foi comprovada em mais de 200 espécies de insetos de pelo menos 9 ordens (Shorey et al, 1968). Em relação aos himenópteros parasitóides, nas décadas de 20 e 30, a existência de feromônios sexuais foi apenas sugerida (Fink, 1926, Parker, 1931, Whitting, 1932).

Grosch (1948) estudando o comportamento de Bracon hebetor (Hym.: Braconidae) verificou que o abdomen das fêmeas, isoladamente, era capaz de excitar os machos, concluindo desta forma que o abdomen deveria ser a região de maior concentração de feromônio nesta espécie.

Vinson (1972) mostrou que em Campoletis sonorensis (Hym.: Ichneumonidae) nenhuma região do corpo da fêmea pode ser indicada como fonte produtora de feromônio, pois este parece ser secretado através de glândulas cuticulares. Em Cardiochiles nigriceps (Hym.: Braconidae) Vinson (1978) verificou que as fêmeas já produzem o feromônio sexual mesmo antes de sua eclosão, e que a região abdominal do corpo da fêmea (depois de separada do corpo) era capaz de excitar os machos. Mas, no entanto, nenhuma região do corpo de fêmeas desta última espécie foi capaz de levar o macho a realizar todo o processo de corte e tentativa de cópula.

Weseloh (1976) estudando Apanteles melanoscelus e Apanteles liparides (Hym.: Braconidae) verificou que um feromônio sexual é produzido pela glândula de Dufour que está localizada no interior do abdomen na base do oviduto.

Obara & Kitano (1974) observaram que o último segmento abdominal da fêmea de Apanteles glomeratus (Hym.; Braconidae) era responsável pela maior atividade de feromônio. Estes resultados sugerem que as glândulas acessórias da fêmea podem ser responsáveis pela produção de feromônio. Estas glândulas incluem a glândula de veneno, a glândula de Dufour, o ovário e o "cálix". No entanto, Tagawa, (1977) determinou que um grupo de células secretoras localizadas na base do segundo valvífero de Apanteles glomeratus (Hym: Braconidae) é o responsável pela produção de feromônio.

Na maioria dos casos, as fêmeas tem sido apontadas como a fonte de feromônios sexuais. Contudo, Melittobia chalibii (Hym.: Eulophidae) é o macho o produtor de feromônio sexual (Hermam et al, 1974).

Rao & De Bach (1969) apontaram a existência de um feromônio produzido pelo macho de Aphytis linguansensis (Hym: Aphelinidae) que teria a função de fazer a fêmea ficar quieta e torná-la mais receptiva.

Matthews (1974) sugeriu que os odores emanados pelos machos de várias espécies da família Braconidae podem ter um papel importante no acasalamento.

Weseloh (1977) estudando o comportamento de Apanteles melanoscelus (Hym: Braconidae) concluiu que os machos reconhecem as fêmeas primeiramente através do feromônio sexual e que os estímulos visuais e/ou táteis são utilizados mais tarde para orientação. Assim sendo, o feromônio em A. melanoscelus é espécie-específico. Weseloh afirmou também que o feromônio sexual da fêmea é muito pouco volátil, e que a sua atividade não cessa depois do acasalamento ou mesmo a medida que a fêmea envelhece.

Vinson (1978) realizou experiências em Cardiochiles

nigriceps (Hym.: Braconidae). Ele constatou que quando os machos tinham suas duas antenas amputadas, eles não se mostravam excitados na presença das fêmeas, e que só começavam a mostrar sinais de excitação a medida que um número maior de segmentos das antenas permaneciam intactos. As fêmeas por sua vez também não manifestaram interesse pelos machos sem antenas. A remoção de apenas uma antena dos machos fazia com que eles se movessem em círculos.

Já a remoção das asas dos machos desta espécie aumentava consideravelmente o tempo para que eles localizassem as fêmeas. As fêmeas, quando cortejadas por estes machos, permaneciam quietas, mas na grande maioria dos experimentos a cópula não se concretizou. Resultados similares foram obtidos com machos cuja metade distal das asas tinham sido amputadas. Mesmo quando as fêmeas tiveram suas asas amputadas, os machos ainda mostraram-se excitados e copularam. No entanto, quando as fêmeas tiveram as suas antenas removidas, foi muito elevado o número de vezes que os machos as montaram na posição invertida. Nas fêmeas cujos abdomen foram removidos os machos mostraram-se excitados.

Rao & De Bach (1969) sugeriram que a remoção das antenas em Aphytis (Hym: Aphelinidae) que resulta em isolamento sexual, tem um efeito muito pequeno na sua receptividade. No entanto, isto reduz a habilidade de orientação do macho em relação às fêmeas, levando ao conseqüente isolamento sexual.

Zim (1982) analisando Pseudeucoila brasiliensis (Hym: Eucoilidae) verificou que a mutilação das asas tanto dos machos quanto das fêmeas diminui a freqüência de cópula, sem contudo impedi-la. A ablação total das antenas dos machos os torna incapazes de cortejar e copular, enquanto a amputação total das antenas das fêmeas não as impede de aceitar a corte dos machos,

mas faz com que elas não extrovertam a genitália, impedindo desta forma a ocorrência de cópula. As fêmeas desta espécie produzem um feromônio capaz de excitar os machos. As partes com maiores concentrações de feromônio são a cabeça e tórax. As fêmeas só aceitam serem fecundadas uma única vez.

Os objetivos gerais deste trabalho foram procurar se conhecer tanto para Trybliographa brasiliensis (Hym.: Eucoilidae) quanto para Trichopria drosophilae (Hym.: Diapriidae), o parasitismo, a corte e a oviposição.

Os objetivos específicos em relação ao parasitismo foram:

- a) caracterizar a especificidade do parasitismo e, em cada hospedeiro, o estágio de desenvolvimento em que há parasitismo;
- b) estabelecer o tempo médio de geração;
- c) conhecer o tamanho médio de prole, a razão sexual e o tipo de partenogênese;
- d) verificar a eficiência competitiva entre as duas espécies de parasitóides;

Em relação à corte, os objetivos específicos foram:

- a) a descrição detalhada do comportamento de corte;
- b) caracterizar a importância de cada uma das partes do corpo desses himenópteros envolvidos na corte;
- c) estabelecer o intervalo de tempo médio para a aptidão para a corte;
- d) verificar a ocorrência de corte interespecífica;
- e) estabelecer o sistema de acasalamento.

Os objetivos específicos referentes à oviposição foram:

- a) determinar o período de tempo médio de pré-oviposição;
- b) caracterizar o comportamento de oviposição.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

As duas espécies de parasitóides utilizadas nas observações e experimentos foram coletadas em Maringá (PR) através de armadilhas.

A armadilha usada foi aquela de Freire-Maia & Pavan (1949) com modificações. A lata foi substituída por uma garrafa de vidro transparente (250 ml), que foi suspensa a 1,2 m a 1,7 m de altura com o uso de um gancho de arame, embebido com vaselina sólida e preso aos galhos de árvores de mata existente no campus da Universidade Estadual de Maringá. A boca da armadilha foi tampada com tela de malha de 2 mm e continha isca de banana nanica e larvas do 1º ao 3º estádios de Drosophila melanogaster ou D. mercatorum.

Uma semana após a colocação das armadilhas, elas eram retiradas e transportadas para o laboratório, onde as pupas de Drosophila eram observadas para se detectar microhimenópteros em seu interior.

As duas espécies de microhimenópteros obtidas foram mantidos em cultura no laboratório. Um certo número de exemplares foram conservados em líquido Dietrich, conforme Bücherl (1965), e enviados para identificação ao Prof. Dr. Luis De Santis da Universidade Nacional de La Plata (Argentina), que identificou uma delas como Trybliographa brasiliensis (Ihering, 1905) (Hymenoptera: Eucoilidae). A outra espécie foi identificada pela Dra. Marta S. Loiácono (Universidade Nacional de La Plata) como sendo Trichopria (Ashmedopria) drosophilae, que

foi confirmada para ela pelo Dr. Lars Huggert da Suécia.

As duas espécies de microhimenópteros parasitóides coletadas foram mantidas em estoque de laboratório desde a obtenção: T. brasiliensis foi obtida em 1982 e T. drosophilae em 1984.

Foram obtidas inicialmente seis linhagens de T. brasiliensis e uma de T. drosophilae, sendo que após os testes de especificidade de parasitismo, manteve-se só uma linhagem de cada espécie. O sistema parasitóide-hospedeiro tanto em estoque quanto para fins de observação e experimentação, foi mantido em garrafas incolores de vidro, de 250 ml, com meio de cultura de fubá, utilizando-se como hospedeiros D. melanogaster e D. simulans, conservando-se em câmara a  $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Os componentes e quantidades relativas do meio de cultura foram os mesmos usados por Renesto (1979). As técnicas de manipulação e montagem dos cruzamentos de Drosophila foram aquelas citadas em Oliveira (1967).

Foram sempre utilizados 10 casais de hospedeiro por vidro de cultura, colocando-se, quando necessário, 2 a 5 gotas de fermento biológico (Saccharomyces cerevisiae) 7 dias após a montagem do cruzamento. Os casais de parasitóides eram sempre introduzidos nos vidros de cultura 7 dias após a montagem do cruzamento, e após a eventual colocação das gotas de fermento biológico.

Exceto em alguns casos, como especificados adiante, todos os experimentos foram realizados com as duas espécies de parasitóides, e parceiros sexuais virgens em cada uma delas. A manipulação dos parasitóides, seja para a manutenção dos estoques seja para a utilização em experimentos, sempre foi feita com o uso de pincel fino, tipo aquarela. Exceto nos quatro grupos de experimentos de mutilação, nos quais se usou gás carbô-

nico como anestésico, em todos os demais casos não foi usado qualquer tipo de anestésico. Quando necessário, e para fins de imobilização temporária do parasitóide durante a manipulação deste com o pincel, umedeceu-se bem o pincel com água de torneira.

Em cada vidro-teste, foram colocados 5 casais de parasitóides nos experimentos de tempo de geração, especificidade de parasitismo, competição interespecífica, intervalo cópula-oviposição e comportamento de oviposição.

## 2.1. ESTUDOS GERAIS DO PARASITISMO

### 2.1.1. Especificidade de parasitismo (pag. 30)

Para os testes de especificidade de parasitismo, foram utilizadas as seguintes espécies de Drosophila: D. melanogaster, D. simulans, D. mercatorum, D. hydei, D. buzatii e D. paranaensis. D. melanogaster e D. simulans foram obtidas a partir de estoques mantidos no Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Maringá, e as demais espécies a partir de estoques do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Para D. mercatorum foram testadas 3 linhagens (A<sub>73</sub>; B<sub>31</sub> e B<sub>43</sub>), devido à ocorrência de espécies crípticas no complexo T. brasiliensis, conforme Zim (1982), que podem parasitar preferencialmente D. mercatorum. Por este motivo, para T. brasiliensis fez-se o teste de parasitismo das 6 linhagens diferentes do parasitóide em cada uma das 6 espécies de Drosophila anteriormente citadas, assim como nessas 3 linhagens de D. mercatorum. T. drosophilae foi testada em D. melanogaster, D. simulans e nas 3 linhagens de D. mercatorum.

Fez-se também o teste de especificidade de parasitismo, tanto de T. brasiliensis quanto T. drosophilae, para as 7

seguintes linhagens puras de mutantes de D. melanogaster: white, vestigial, ebony, brown, scarlet, M<sub>5</sub> (Muller 5) e forked crossveinless. Foram feitas 9 repetições para cada uma das espécies ou linhagens hospedeiras, sendo que em cada vidro - teste foram deixados os casais de parasitóides até que eles morressem.

Naquelas espécies hospedeiras cujo teste de especificidade de parasitismo deu resultados positivos, calculou-se a percentagem de parasitismo, conforme Southwood (1966).

Para se verificar em qual fase do desenvolvimento do hospedeiro ocorreu parasitismo, fez-se o teste de especificidade de parasitismo de 5, 10, 15 e 20 casais de uma das espécies de parasitóide (repetindo-se para a outra espécie de parasitóide) por vidro-teste do hospedeiro, durante 24 horas, com lotes de:

a) larvas de 1<sup>o</sup>, ou 2<sup>o</sup> ou 3<sup>o</sup> estádios;

b) pupas de 12, ou 24 ou 48 horas;

tanto em D. melanogaster quanto em D. simulans com 10 repetições para cada caso. Foram retiradas amostras aleatórias e diárias, durante 7 dias de hospedeiros de cada um dos lotes, dissecando-os a fim de se verificar a existência, número de ovos e/ou larvas do parasitóide assim como o estado de desenvolvimento.

### 2.1.2. Tempo de geração (pág. 38)

A análise do tempo de geração de T. brasiliensis foi feita em D. melanogaster e D. simulans, enquanto a de T. drosophilae além destas em D. mercatorum, com 9 repetições em cada espécie hospedeira. No grupo controle, foi analisado os tempos de geração de D. melanogaster e D. simulans sem terem sido parasitadas.

Para haver sincronização na geração, em cada vidro

utilizado os casais de Drosophila foram deixados por 24 horas, para as fêmeas oviporem. Os casais de parasitóides também foram deixados por 24 horas para as fêmeas oviporem, pelo mesmo motivo.

### 2.1.3. Tamanho de prole, razão sexual e partenogênese (pág. 44)

Para os experimentos de tamanho de prole e razão sexual, foi colocado em cada vidro-teste uma fêmea e 5 machos da mesma espécie de parasitóide, enquanto no teste de partenogênese, em cada vidro-teste foi colocada uma fêmea virgem e nenhum macho.

Os experimentos de tamanho de prole e razão sexual serviram como controle para os de partenogênese.

No teste de tamanho de prole e razão sexual para T. brasiliensis, foram feitas 12 repetições em D. simulans e 10 em D. melanogaster, enquanto no de partenogênese 8 repetições em D. simulans e 7 em D. melanogaster. Em relação a T. drosophilae, nos experimentos de tamanho de prole e razão sexual fez-se 9 repetições em D. simulans e 7 em D. melanogaster, enquanto no de partenogênese foram feitas 10 repetições em D. simulans e 8 em D. melanogaster.

### 2.1.4. Competição interespecífica (pág. 67)

Nos experimentos de competição interespecífica foram colocados em cada vidro-teste 40 larvas (2<sup>o</sup> estágio) de uma das 2 espécies de Drosophila (D. melanogaster ou D. simulans) e 5 casais de ambas as espécies de parasitóides sendo feitas 9 repetições em cada espécie hospedeira.

Nos vidros-controle, colocou-se só uma das espécies de parasitóide (5 casais) para 40 larvas de uma das espécies hospedeiras, com 6 repetições em cada espécie hospedeira.

## 2.2. EXPERIMENTOS DE CORTE (pág. 67)

Em todos os experimentos de corte foram usados machos e fêmeas virgens. Para a obtenção dos parasitóides virgens, as pupas hospedeiras parasitadas foram isoladas individualmente, 7 dias antes da emergência massal dos parasitóides adultos, em tubos de ensaio. Cada tubo de ensaio continha um pedaço (2cm x 1cm) de papel absorvente branco, estéril, que era mantido sempre umedecido até a emergência do parasitóide adulto.

As observações de comportamento dos parasitóides adultos sempre foram feitas colocando-os em cápsulas de gelatina.

Na montagem dos experimentos, só foi usada anestesia nos 4 grupos de experimentos de corte com mutilação, e não nos demais experimentos de corte. O anestésico usado foi o gás carbônico e durante alguns segundos, tempo suficiente para ser realizada a mutilação com uma lâmina de gilete e o inseto se recuperar da anestesia em menos de um minuto após a aplicação dela.

As cápsulas de gelatina utilizadas em cada observação não haviam sido utilizadas previamente em nenhum dos casos. Cada cápsula é constituída por 2 partes que se encaixam e, sendo de gelatina neutra, supõe-se que ela não afete o comportamento dos parasitóides. Elas são facilmente manipuláveis, medindo cada uma, quando fechada, 2 cm de comprimento por 0,5 cm de diâmetro. Sendo transparentes, permitem observações dos microhimenópteros parasitóides em seu interior, embora tenham sido colocadas sob o microscópio entomológico (lupa) para que as observações fossem feitas em detalhes, desde que ambas as espécies de parasitóides medem somente de 1,5 a 2,5 mm de comprimento.

Todas as observações de comportamento das vespas foram realizadas no laboratório, sendo que a temperatura, durante os vários meses em que as observações e experimentos foram rea-

lizadas variou entre 15°C e 29°C. Esta variação de temperatura aparentemente não afetou, de modo significativo, os diversos comportamentos analisados, conforme revelaram testes estatísticos preliminares feitos com este objetivo.

### 2.2.1. Aptidão para a corte (pág. 67)

Nos experimentos de aptidão para a corte, um indivíduo recém-emergido a ser testado foi exposto simultaneamente a grupos de 5 parceiros sexuais com idade variando entre 24 e 48 horas após a emergência e aptos para a corte. Análises preliminares indicaram que 100% de machos e fêmeas, de ambas as espécies estão aptos para o corte, 24 a 48 horas após a saída da pupa do hospedeiro. Foram realizadas 50 repetições por sexo para cada espécie de parasitóide, no presente experimento de aptidão para a corte.

### 2.2.2. Padrão de comportamento de corte e suas variações (pág. 69)

Para o estudo do padrão de comportamento de corte e suas variações, colocou-se dentro da cápsula de gelatina um casal de uma das espécies de parasitóide, observando-se com o microscópio entomológico os vários tipos de comportamentos, tanto dos machos quanto das fêmeas, os quais foram registrados em relação ao tipo e duração de cada um deles.

Foram feitas observações, separadamente, em 200 casais de cada espécie de parasitóide, com o objetivo de estabelecer de modo inequívoco o padrão de comportamento de corte em ambas as espécies de microhimenópteros desde que, pelo menos numa delas (T. brasiliensis) o comportamento de corte obtido em testes preliminares revelou diferenças significativas para aquele obtido por Zim (1982). Para se verificar a eficiência biológica do padrão de comportamento obtido, fez-se o teste de fecundidade em 10%

das fêmeas observadas em cada espécie, em amostragem aleatória. Os testes de corte interespecífica serviram de controle para estas observações.

Em todas as observações realizadas no presente experimento foram utilizados indivíduos aptos para o corte, com idade variando entre 24 h e 48 h.

### 2.2.3 - Corte Interespecífica (pág. 77)

Nos testes de corte interespecífica, colocou-se dentro da cápsula de observação um macho (ou uma fêmea) com parceiro sexual da outra espécie de parasitóide, fazendo-se 15 repetições para cada sexo em cada uma das 2 espécies de parasitóide. Foram registrados todos os tipos e duração dos comportamentos observados, de ambos os parceiros sexuais, para cada casal, durante 20 minutos.

### 2.2.4 - Cortes Múltiplas (pág. 78)

Nos experimentos de cortes múltiplas, cada macho (ou fêmea) foi exposto, por um intervalo de tempo até que tenha ocorrido corte, com cópula ou no máximo por 20 minutos, a 5 parceiros sexuais virgens e aptos para a corte, um por vez, de 2 modos:

1º grupo: sucessivamente

2º grupo: um a cada 24 horas

Fez-se 25 repetições para cada sexo de cada uma das espécies de parasitóide em cada um dos 2 grupos. Para se veri

ficar a eficiência biológica dos testes de cortes múltiplas de um macho com 5 fêmeas, fez-se o teste de fecundidade em 10 dos grupos analisados, tomados ao acaso, para cada uma das espécies.

#### 2.2.5 - Corte em indivíduos mutilados e feromônios em diferentes partes do corpo. (pág. 78)

Para se caracterizar a importância de cada uma das partes do corpo, de ambos os sexos, envolvidos na atração, corte e cópula em ambas as espécies de microhimenópteros, fez-se 4 grupos de experimentos. Em todos os experimentos foram utilizados parceiros sexuais virgens, ou partes do corpo destes, e aptos para a corte, sendo colocados em cápsulas de gelatina e observados sob o microscópio entomológico, anotando-se o tipo e duração de cada comportamento observado, assim como as sequências deles, nos indivíduos testados.

No 1º grupo, uma das partes do corpo do macho (ou da fêmea) foi mutilado, sendo o indivíduo mantido isolado, em tubo de ensaio com papel absorvente estéril e umedecido, por um período de 24 horas, na tentativa de afastar os possíveis efeitos causados pelo traumatismo da mutilação. Decorrido este período, o indivíduo mutilado foi oferecido a um parceiro sexual não mutilado e da mesma espécie. Em cada tipo de experimento mutilou-se, em indivíduos de um dos sexos, as seguintes partes do corpo: 1 antena, 2 antenas, 2 asas e 4 asas. Fez-se 50 repetições para cada sexo em cada espécie de parasitóide, registrando-se também, em cada tipo de experimento a frequência de cópula com parceiro sexual mutilado. Para este grupo de experimentos, houve 3 classes de controle para cada tipo de experimento: ambos os parceiros sexuais não anestesiados e não mutilados; machos anestesiados e não mutilados; e, fêmeas anestesiadas e não mutiladas.

Para os experimentos do 2º, 3º e 4º grupos, houve 2 variantes. Numa delas, expôs-se para o macho as mesmas partes do corpo em teste sô que de fêmeas da outra espécie de parasitôide em estudo, enquanto na outra variante expôs-se para o macho as mesmas partes do corpo em teste, sô que de machos da mesma espécie de microhimenóptero.

No 2º grupo de experimentos, foi exposto ao macho uma parte do corpo recém-removida de uma fêmea da mesma espécie de parasitôide. Cada parte do corpo removida foi colocada, logo após a remoção, em cápsula contendo um macho, registrando-se também, em cada tipo de experimento a frequência de tentativa de cópula dos machos observados. Foram testadas as seguintes partes do corpo das fêmeas: tórax, cabeça, 4 asas, 3 pares de patas, abdômem, 2 antenas. Fez-se 50 repetições para cada parte do corpo testada de fêmeas de cada uma das espécies de parasitôide.

No 3º grupo de experimentos, foi feito o mesmo que no 2º grupo, exceto que as partes do corpo da fêmea do parasitôide foram maceradas em rodela de papel filtro circular, medindo 3mm de diâmetro. O papel filtro com o macerado foi colocado em uma das extremidades da cápsula, enquanto na extremidade oposta como controle foi colocado um outro pedaço idêntico de papel filtro, sô que umedecido com solução fisiológica para insetos, de acordo com Bücherl (1965).

No 4º grupo de experimentos, foram expostas para o macho duas partes do corpo de uma fêmea da mesma espécie. Logo após a remoção, cada uma das partes foi colocada numa das extremidades da cápsula. Registrou-se em qual das duas extremidades da cápsula cada macho preferiu permanecer e tentou a cópula. Foram feitas as seguintes combinações de 2 partes do corpo da fêmea: cabeça x tórax; cabeça x abdômem; cabeça x 4 asas; cabeça x 2 antenas; tórax x abdômem; tórax x 4 asas; 4 asas x 2 antenas; 4 asas x 6 patas; 6 patas x 2 antenas. Para cada com-

binação de partes do corpo da fêmea, fez-se 50 repetições em cada uma das espécies de microhimenópteros parasitóides. Devido ao pequeno volume das antenas, asas e patas, naquelas combinações de 2 partes em que estas regiões estavam envolvidas, fez-se um experimento adicional em que se procurou igualar, em volume estas partes do corpo (antenas ou asas ou patas) com a outra parte testada. Isto foi feito para se verificar se as preferências dos machos em termos de atratividade para as diferentes partes do corpo envolvia o volume dos órgãos em teste ou as respectivas taxas de emissões diferenciais de substâncias atrativas. Sempre quando se usou a "cabeça" extraiu-se as 2 antenas.

### 2.3. ESTUDOS DE OVIPOSIÇÃO (pág. 86)

#### 2.3.1. Intervalo Cópula-Oviposição (pág 86)

A análise do intervalo de tempo mínimo entre a cópula e a oviposição foi feita expondo-se, após a corte com cópula, uma fêmea de T. brasiliensis por vidro-teste contendo larvas do hospedeiro (D. melanogaster ou D. simulans), ou uma fêmea de T. drosophilae por vidro-teste contendo pupas hospedeiras (D. melanogaster ou D. simulans). Fez-se 50 repetições para cada espécie de parasitóide, sendo a metade em cada uma das 2 espécies hospedeiras utilizadas.

#### 2.3.2. Comportamento de oviposição (pág. 86)

Foi observado o comportamento de oviposição de fêmeas de cada uma das espécies de parasitóide, quanto ao tipo e duração de cada componente, fazendo-se 50 repetições por espécie.

#### 2.4. TESTES ESTATÍSTICOS

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada com a aplicação dos testes estatísticos especificados a seguir. Fez-se o teste  $t$  de "Student", conforme Stell & Torrie (1960), para diferenças entre 2 médias. E o Teste de Scheffé, de acordo com Zar (1974), para diferenças entre 3 médias. Para se verificar se as curvas obtidas apresentaram o comportamento de uma curva normal, aplicou-se o Teste de Kolmogorov-Smirnov, segundo Zar (1974).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. ESTUDOS DE PARASITISMO

##### 3.1.1. Testes de parasitismo (pág. 20)

O teste de parasitismo indicou que todas as 6 linhagens de T. brasiliensis foram capazes de parasitar tanto D. melanogaster quanto D. simulans, mas não as demais espécies testadas, enquanto T. drosophilae parasitou além destas somente D. mercatorum.

O número de microhimenópteros obtidos e a percentagem de parasitismo em cada uma das espécies de hospedeiro testadas estão na Tabela 1. No caso de T. brasiliensis, o número total de microhimenópteros é a somatória dos testes com as 6 linhagens deste inseto e a percentagem dada é a média daquela obtida para elas. A percentagem de parasitismo obtida para cada uma das 6 linhagens de T. brasiliensis são apresentadas na Tabela 2. Pode-se verificar nesta tabela que não houve diferença significativa entre as médias e desvios padrão das 6 linhagens deste microhimenóptero.

Para se verificar se houve ou não diferença significativa em relação aos índices de parasitismo de T. brasiliensis em D. melanogaster e D. simulans, aplicou-se o teste t, obtendo-se o valor  $t = 0,87$ , sendo  $t_{60;0,05} = \pm 2,00$ , indicando não haver diferença significativa. Quando aplicado a T. drosophilae, foi obtido  $t = 1,57$ , sendo  $t_{18;0,05} = \pm 2,10$ , de modo que não há diferença significativa dos índices de parasitismo obtidos

TABELA 1 - Número total de parasitóides obtidos (N) e percentagem média de parasitismo (P) de T. brasiliensis e T. drosophilae em espécies de Drosophila. Os dados de T. brasiliensis referem-se às 6 linguagens testadas

Espécies de <u>Drosophila</u>	<u>T. brasiliensis</u>		<u>T. drosophilae</u>	
	N	P	N	P
<u>D. melanogaster</u>	1586	19,42 ± 2,17	1771	17,36 ± 6,08
<u>D. simulans</u>	1218	18,57 ± 3,12	1363	23,22 ± 10,49
<u>D. mercatorum</u>				
A <sub>73</sub>	-	-	179	30,55 ± 2,12
linhagens B <sub>31</sub>	-	-	209	36,47 ± 1,77
B <sub>43</sub>	-	-	527	88,05 ± 2,16
<u>D. buzatii</u>	-	-	-	-
<u>D. hydei</u>	-	-	-	-
<u>D. paranaensis</u>	-	-	-	-

TABELA 2 - Número de parasitóides obtidos (N) e Percentagem média de Parasitismo (P) de 6 linhagens de T. brasiliensis em espécies de Drosophila

LINHAGENS	Espécies de <u>Drosophila</u>			
	<u>D. melanogaster</u>		<u>D. simulans</u>	
	N	P (%)	N	P (%)
L <sub>1</sub>	836	19,47 ± 1,60	639	18,63 ± 2,97
L <sub>2</sub>	1004	19,37 ± 3,55	865	18,49 ± 3,34
L <sub>3</sub>	737	19,45 ± 2,03	903	18,35 ± 3,13
L <sub>4</sub>	921	19,53 ± 2,62	749	18,53 ± 3,16
L <sub>5</sub>	1117	19,28 ± 2,10	764	18,54 ± 3,42
L <sub>6</sub>	715	19,42 ± 2,32	1022	18,50 ± 3,01

por este microhimenóptero quando criado em D. melanogaster ou D. simulans.

O teste de Scheffé foi aplicado em relação ao parasitismo de T. drosophilae nas 3 linhagens de D. mercatorum.

Os resultados deste teste revelam que houve uma diferença significativa em relação aos índices de parasitismo obtido entre as três linhagens.

O teste de parasitismo aplicado aos 7 mutantes de D. melanogaster deu resultados, os quais são mostrados na Tabela 3. Verifica-se que tanto T. brasiliensis quanto T. drosophilae foi capaz de parasitar todos os mutantes testados, e com índices de parasitismo que não diferem significativamente entre si e em relação aos indivíduos do tipo selvagem.

Os resultados do teste de parasitismo realizado em diferentes fases do desenvolvimento do hospedeiro são apresentados nas Tabelas 4 e 5. Pode-se observar que as fêmeas de T. brasiliensis foram capazes de ovipor só nos 3 estágios larvais do hospedeiro, tanto em D. melanogaster quanto em D. simulans e não em pupas hospedeiras. Entretanto, os adultos deste microhimenóptero emergiram sempre a partir de pupas do hospedeiro, seja de D. melanogaster ou de D. simulans. De cada pupa parasitada, em 100% dos casos só emergiu um adulto deste microhimenóptero e nenhum hospedeiro. Logo, pode-se caracterizar esta espécie de microhimenóptero como sendo um endoparasitóide larvo-pupal solitário. T. drosophilae, diferentemente de T. brasiliensis, revelou que suas fêmeas ovipuseram só em pupas do hospedeiro, e de todas as 3 idades testadas, tanto em D. melanogaster quanto em D. simulans e não em larvas do hospedeiro. Os adultos de T. drosophilae emergiram, em 100% dos casos, a partir de pupas do hospedeiro, em ambas as espécies hospedeiras testadas, sendo que

TABELA 3 - Número total de parasitóides obtidos (N) e Percentagem de parasitismo (P) de T. drosophilae e T. brasiliensis em 7 mutantes de D. melanogaster.

LINHAGENS MUTANTES:	<u>T. brasiliensis</u>		<u>T. drosophilae</u>	
	N	P	N	P
white	913	20,07 ± 0,16	969	17,12 ± 3,45
ebony	864	18,95 ± 0,72	841	18,09 ± 4,13
vestigial	1019	19,25 ± 1,81	1013	17,55 ± 5,03
scarlet	935	19,63 ± 1,91	945	17,87 ± 6,09
brown	783	19,86 ± 2,02	954	18,20 ± 5,56
M <sub>5</sub>	845	20,00 ± 1,47	1045	19,17 ± 3,15
forked crossveinless	932	18,87 ± 2,13	887	18,31 ± 5,43

TABELA 4 - Percentagem média de parasitismo de T. brasiliensis e T. drosophilae em diferentes fases do desenvolvimento de D. melanogaster.

NÚMERO DE CASAIS	Estágio do hospedeiro					
	Larva			Pupa (h)		
	1ª	2ª	3ª	12	24	48
<u>T. brasiliensis</u>						
5	19.51±1.34	18.34±2.10	17.95±2.30	—	—	—
10	19.78±1.78	19.80±1.50	19.91±2.53	—	—	—
15	20.10±2.10	20.23±2.34	19.34±1.71	—	—	—
20	20.21±1.72	19.87±1.56	19.56±1.13	—	—	—
<u>T. drosophilae</u>						
5	—	—	—	19.34±1.32	18.12±2.14	17.79±2.28
10	—	—	—	18.27±1.19	19.13±1.45	18.13±1.32
15	—	—	—	19.16±2.13	20.2±1.54	19.37±1.69
20	—	—	—	20.11±1.57	20.33±2.13	19.87±1.87

TABELA 5 - Percentagem média de parasitismo de T. brasiliensis e T. drosophilae em diferentes fases do desenvolvimento de D. simulans.

NÚMERO DE CASAIS	Estágio do hospedeiro					
	Larva			Pupa. (h)		
	1♀	2♀	3♀	12	24	48
<u>T. brasiliensis</u>						
5	20.12±2.17	19.26±1.52	18.37±2.10	—	—	—
10	20.13±1.13	20.21±1.59	20.33±1.67	—	—	—
15	18.24±1.73	19.28±2.31	20.27±1.13	—	—	—
20	17.20±1.54	20.31±3.14	20.47±2.15	—	—	—
<u>T. drosophilae</u>						
5	—	—	—	18.51±1.47	19.12±2.16	20.19±1.74
10	—	—	—	19.35±1.68	20.87±1.43	22.85±2.13
15	—	—	—	20.15±2.18	21.12±1.79	23.37±2.06
20	—	—	—	19.97±1.73	22.63±2.18	23.12±1.69

de cada pupa parasitada sempre emergiu só um adulto deste microhimenóptero e nenhum hospedeiro. Assim sendo, T. drosophilae pode ser caracterizado como um endoparasitóide pupal solitário. Para cada espécie de parasitóide analisado, não houve diferenças significativas nas percentagens médias e desvios-padrão obtidos, seja pela comparação entre as 2 espécies hospedeiras testadas, seja numa mesma espécie hospedeira - em função do número de casais de parasitóide por vidro-teste, ou do estágio do hospedeiro, ou ainda independente do estágio hospedeiro - (Tabela 1).

Em todas as amostras coletadas com 24 horas após o início do experimento obteve-se indivíduos com um ou mais ovos e/ou larvas do parasitóide testado, por larva hospedeira, no caso T. brasiliensis; por pupa hospedeira, no caso de T. drosophilae; independentemente no número de casais de parasitóide por vidro-teste, da espécie hospedeira, ou de idade testada do hospedeiro. Nos testes com T. brasiliensis, foi obtido de 1 a 9 ovos e/ou larvas deste parasitóide por larva hospedeira, enquanto nos testes de T. drosophilae, foi obtido de 1 a 15 ovos e/ou larvas deste parasitóide por pupa hospedeira. Em nenhuma das 2 espécies de parasitóides houve um aumento significativo do número de ovos e/ou larvas com o aumento no número de casais de parasitóide por vidro-teste analisado.

Nas amostras coletadas com 48, 72, 96, 120 ou 164 horas após o início do experimento, sempre foram obtidos indivíduos com uma ou mais larvas do parasitóide testado:

- a) por larva hospedeira, no caso de T. brasiliensis;
- b) por pupa hospedeira, no caso de T. drosophilae.

Todavia, em todas as amostras coletadas com 168 horas após o início do experimento, obteve-se somente uma larva ativa do parasitóide, por larva hospedeira no caso T. brasiliensis;

por pupa hospedeira, no caso de T. drosophilae.

Entre 144 e 168 horas, os indivíduos supranumerários de parasitóides já não existem, de modo a restar só um indivíduo parasitóide por hospedeiro após 168 horas.

Comparando-se os aspectos morfológicos das larvas em cada espécie de parasitóide, entre amostras coletadas de um dia para outro, verifica-se que, em ambas as espécies de microhimenópteros, elas são transparentes e revelam modificações constantes: seja na forma externa, seja na segmentação do corpo, seja nas estruturas internas.

### 3.1.2. Tempo de geração (pag. 21)

O tempo de geração obtido para D. melanogaster foi de  $14,16 \pm 1,68$  dias (N = 5870 indivíduos), o de D. simulans foi de  $13,99 \pm 1,79$  dias (N = 6472) e o de D. mercatorum foi  $20,54 \pm 2,05$  dias (N = 1670), como pode ser visto, respectivamente, nas figuras 1, 2 e 3.

Devido à assimetria das curvas obtidas para o tempo de geração das 3 espécies de Drosophila analisadas, fez-se o teste de Kolmogorov-Smirnov, para se verificar se as curvas obtidas tinham um comportamento de curva normal. Os resultados (ver Tabela 6) indicam que as diferenças não são significativas e que todas as curvas revelaram um distribuição normal.

Os tempos de geração dos parasitóides analisados estão na Tabela 7. Pode-se verificar nesta tabela que houve um aumento de alguns dias no tempo de geração T. drosophilae quando criada em D. mercatorum em relação a quando criada em D. melanogaster ou D. simulans. Para ambas as espécies de parasitóides, não houve diferença nos respectivos tempos de geração, quando elas eram criadas em D. melanogaster ou

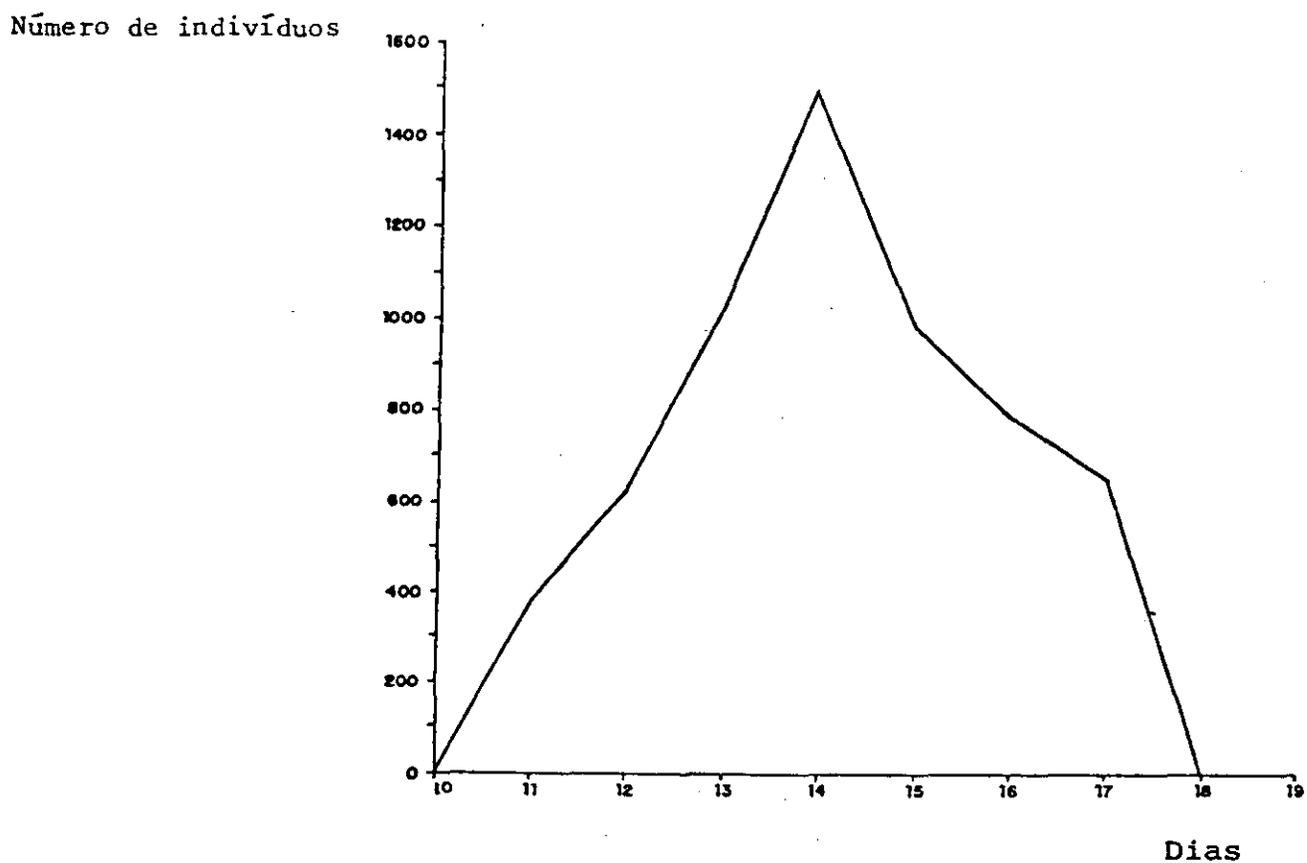


FIGURA 1 - Número de dias em que emergiram os adultos de D. melanogaster após a data do cruzamento parental.

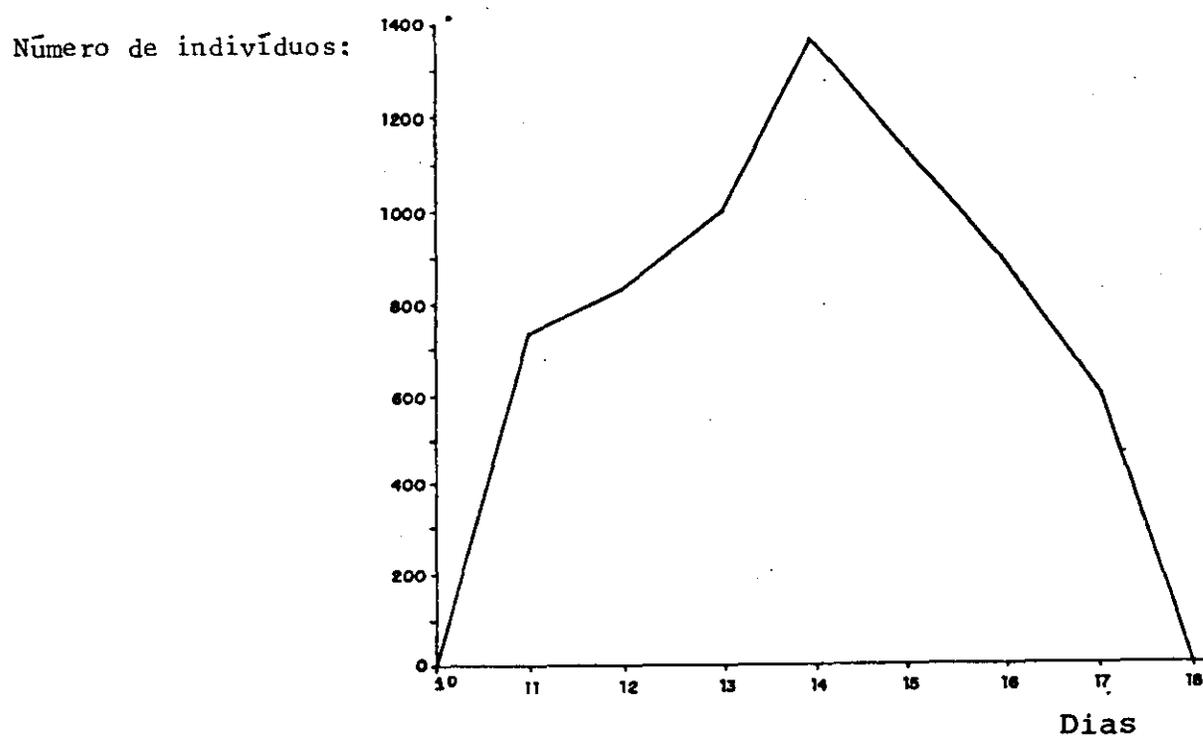


FIGURA 2 - Número de dias em que emergiram os adultos de D. simulans após a data do cruzamento parental.

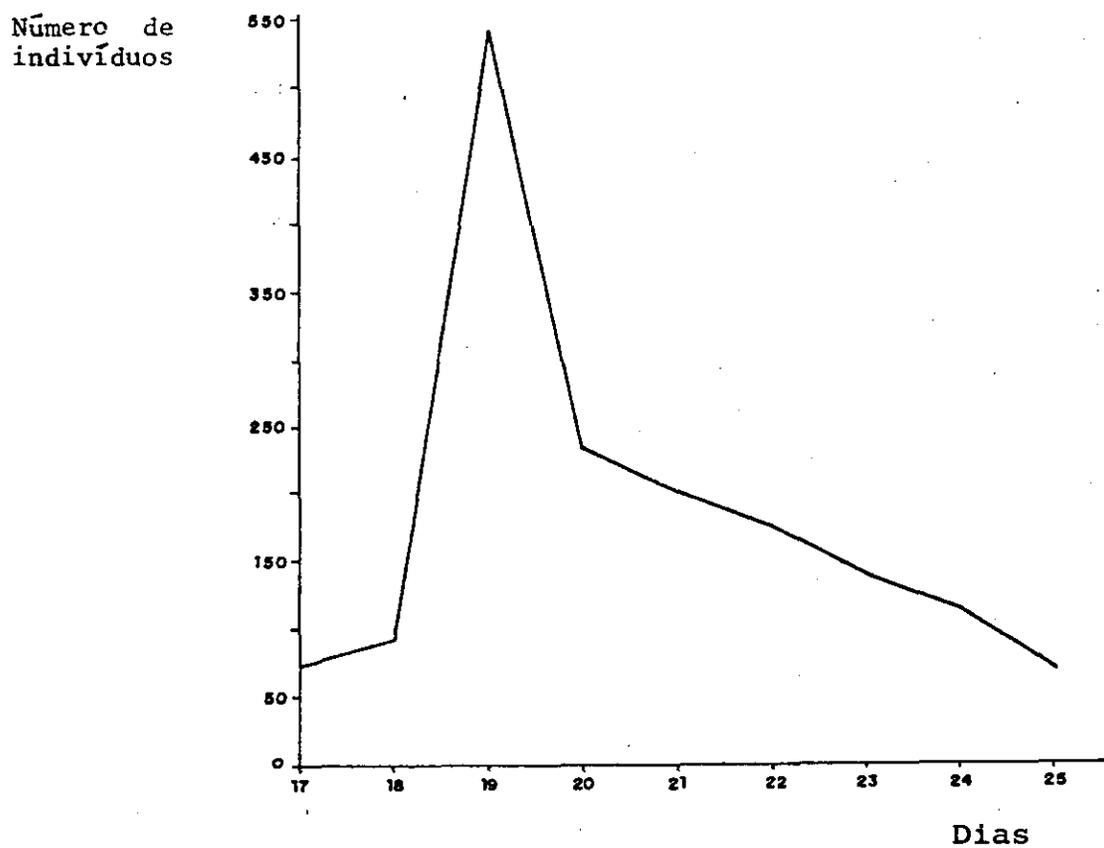


FIGURA 3 - Número de dias em que emergiram os adultos de D. mercatorum após a data do cruzamento parental.

TABELA 6 - Valores obtidos no Teste Kolmogorov-Smirnov para verificação de distribuição normal do tempo de geração de T. drosophilae, T. brasiliensis e espécies de Drosophila

ESPÉCIE TESTADA:	Valores do Teste Kolmogorov-Smirnov	
	Obtido (1)	Tabela
<u>D. melanogaster</u>	0,1872	$D_{7;0,05} = 0,4830$
<u>D. simulans</u>	0,1522	$D_{7;0,05} = 0,4830$
<u>D. mercatorum</u>	0,1147	$D_{9;0,05} = 0,4300$
<u>T. brasiliensis</u> *	0,1536	$D_{5;0,05} = 0,5633$
<u>T. brasiliensis</u> **	0,1841	$D_{6;0,05} = 0,5192$
<u>T. drosophilae</u> *	0,2051	$D_{5;0,05} = 0,5633$
<u>T. drosophilae</u> **	0,1530	$D_{6;0,05} = 0,5192$
<u>T. drosophilae</u> ***	0,2007 <sup>(2)</sup>	$D_{13;0,05} = 0,3610$ <sup>(2)</sup>
	0,2232 <sup>(3)</sup>	$D_{14;0,05} = 0,3490$ <sup>(3)</sup>

\* criada em D. melanogaster

\*\* criada em D. simulans

\*\*\* criada em D. mercatorum e testada separadamente para machos e fêmeas

(1) valores /D/ máximo

(2) valores para machos

(3) valores para fêmeas

TABELA 7 - Tempo de Geração e Número de Indivíduos obtidos (N) de T. brasiliensis e T. drosophilae em espécie de Drosophila.

ESPÉCIES DE <u>Drosophila</u> :	Tempo de geração (em dias)	
	<u>T. brasiliensis</u>	<u>T. drosophilae</u>
<u>D. melanogaster</u>	20,97 ± 1,25 (N = 850)	20,80 ± 0,93 (N = 476)
<u>D. simulans</u>	20,54 ± 1,43 (N = 945)	20,19 ± 1,30 (N = 832)
<u>D. mercatorum</u>	-	25,12 ± 2,21 (N = 2437)

D. simulans, nem quando comparadas as 2 espécies de parasitóide numa mesma espécie hospedeira. Os tempos de geração obtidos para T. drosophilae quando criada em D. melanogaster, D. simulans e D. mercatorum têm sua distribuição apresentada nas figuras 4, 5 e 6, respectivamente. As distribuições dos tempos de geração de T. brasiliensis quando criada em D. melanogaster e D. simulans são apresentados nas figuras 7 e 8, respectivamente.

A assimetria das curvas obtidas como tempos de geração de T. brasiliensis e T. drosophilae, em todas as espécies hospedeiras analisadas, foi o motivo de se aplicar o teste de Kolmogorov-Smirnov para curva normal, sendo os resultados apresentados na Tabela 6. Observa-se que, em todos os casos, as curvas obtidas revelaram apresentar um comportamento normal.

Entretanto, para ambas as espécies de parasitóides analisados, há uma emergência massal dos machos antes das fêmeas, como pode ser verificado na Tabela 8, e nas figuras 9 a 18. A emergência massal dos machos antes das fêmeas ocorre para ambos os parasitóides em todas as espécies de Drosophila analisadas, é no entanto mais acentuada em T. drosophilae quando criada em D. mercatorum, devido ao tempo de geração desta.

### 3.1.3. Tamanho de prole, razão sexual e partenogênese (pag. 22)

O tamanho de prole de fêmeas fecundadas de T. brasiliensis foi de  $68,11 \pm 55,44$  indivíduos ( $N = 1744$ ), sendo que a distribuição de frequência pode ser observada na figura 19. Para se verificar se houve ou não diferença significativa no tamanho de prole de T. brasiliensis em função das espécies de Drosophila utilizadas como hospedeiro (D. melanogaster e D. simulans) aplicou-se o teste  $t$  de Student, obtendo-se  $t = -1,46$ , sendo

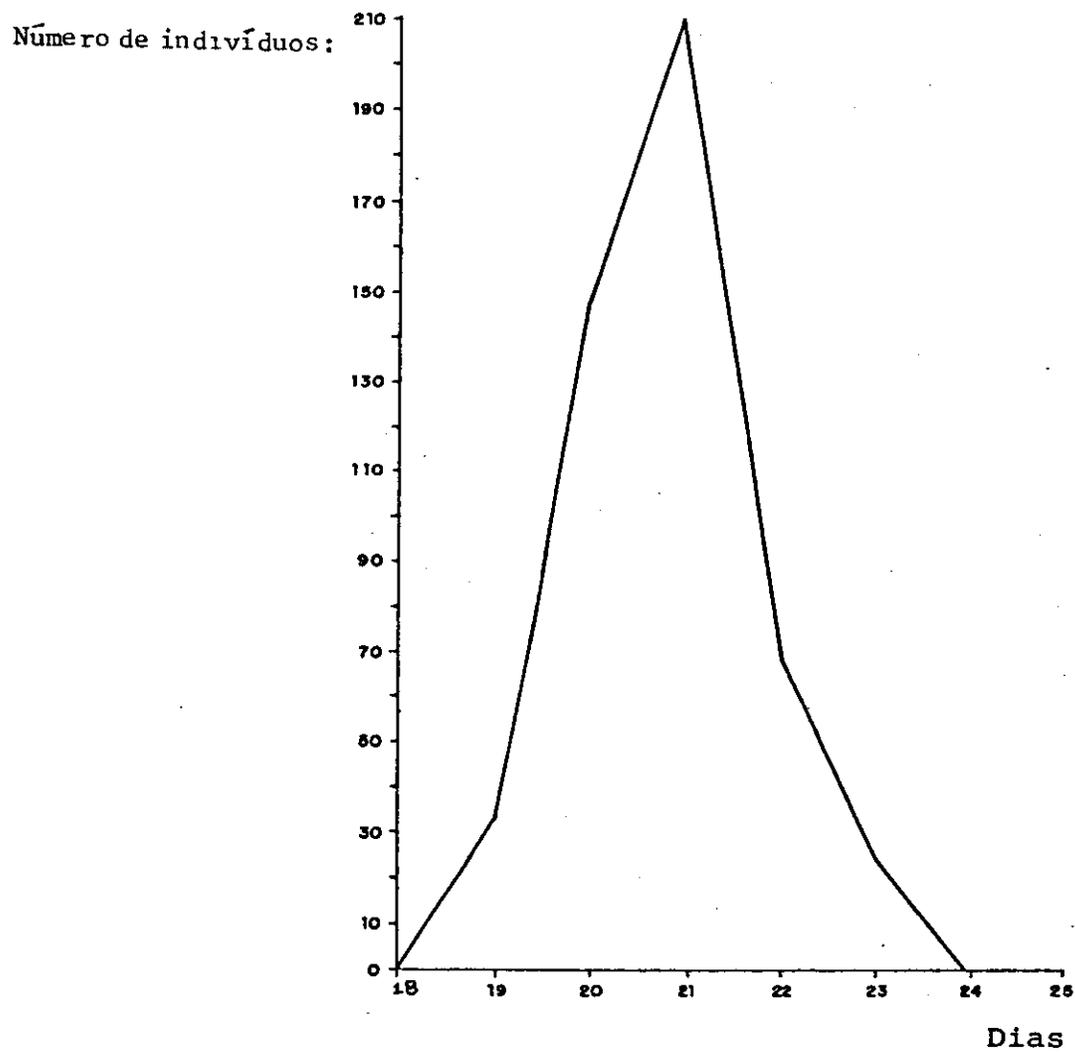


FIGURA 4 - Número de dias em que emergiram os adultos de T. drosophilae, em D. melanogaster, após a data do cruzamento parental.

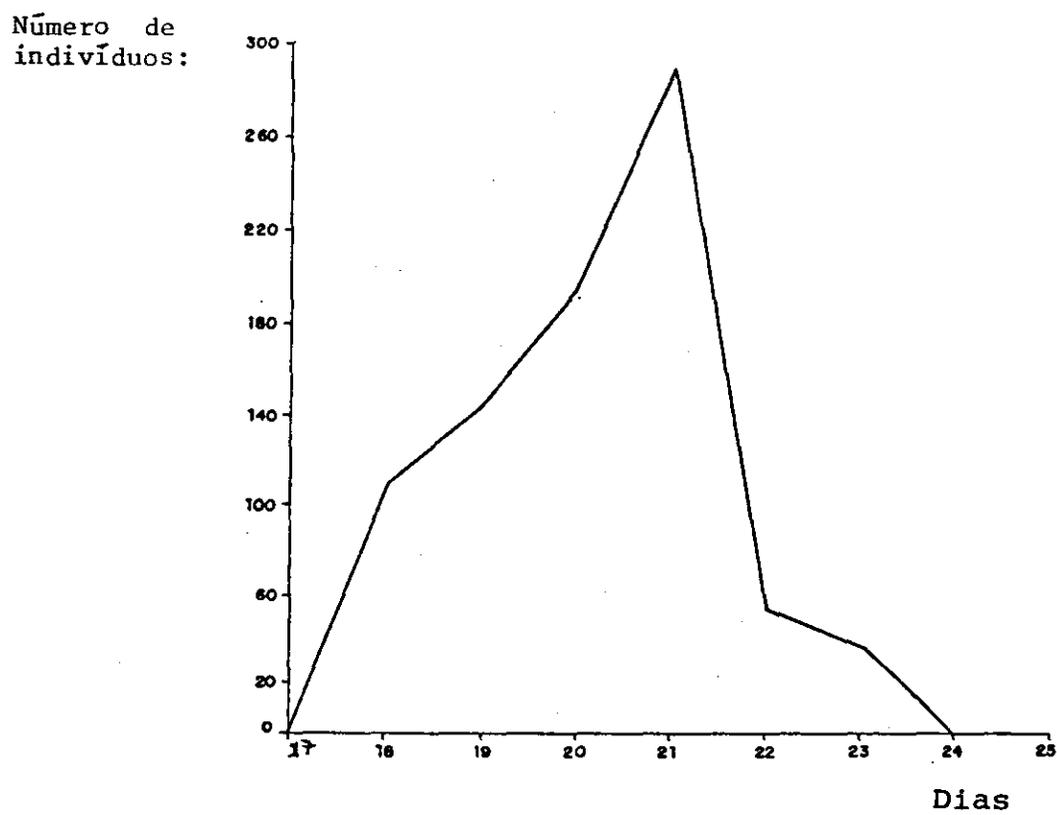


FIGURA 5 - Número de dias em que emergiram os adultos de T. drosophilae, em D. simulans, após a data do cruzamento parental.

Número de indivíduos:

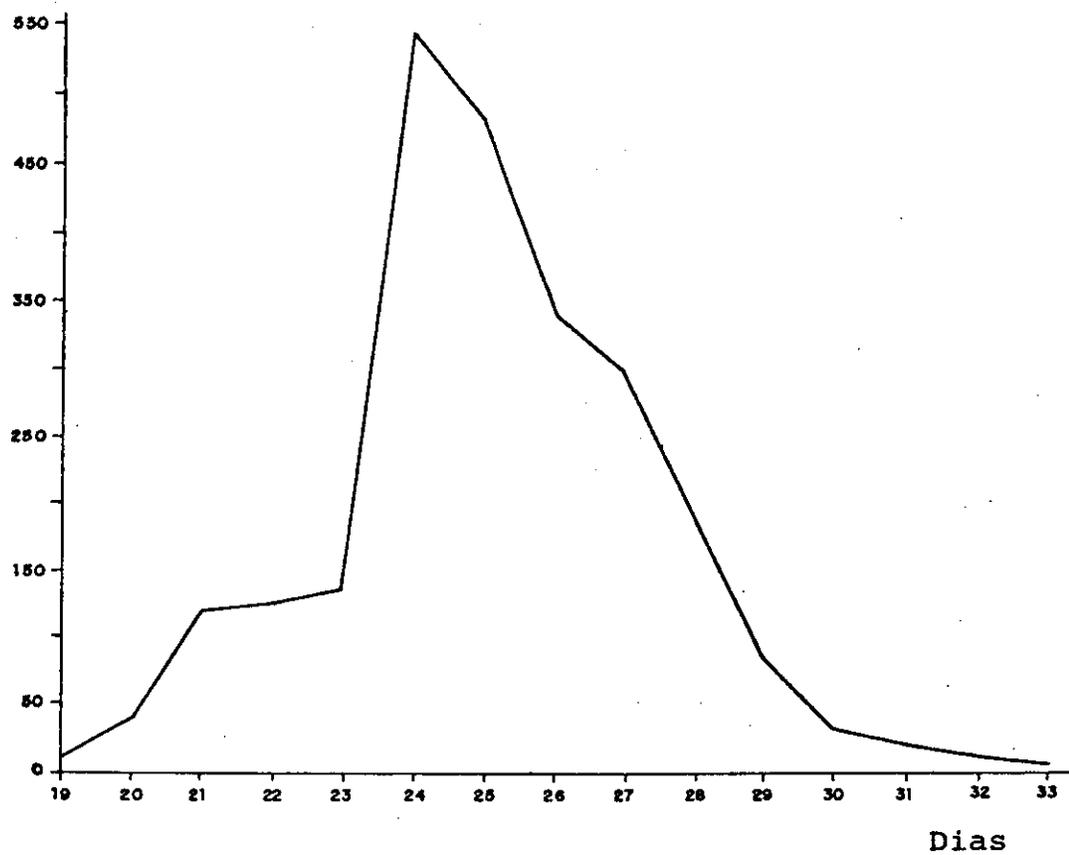


FIGURA 6 - Número de dias em que emergiram os adultos de T. drosophilae, em D. mercatorum, após a data do cruzamento parental.

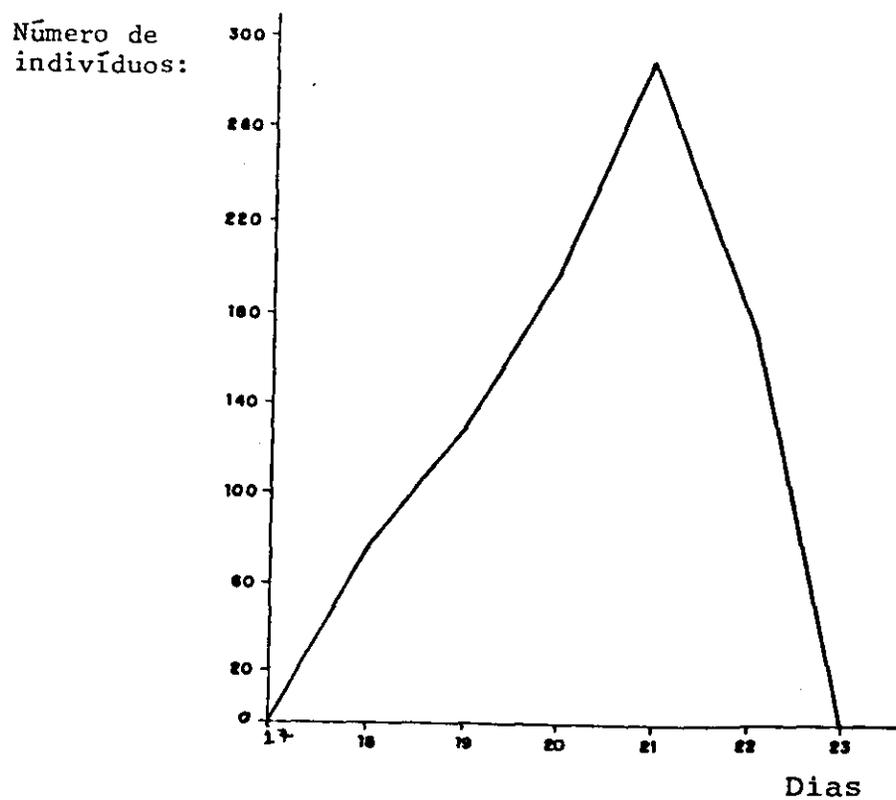


FIGURA 7 - Número de dias em que emergiram os adultos de T. brasiliensis, em D. melanogaster, após a data do cruzamento parental.

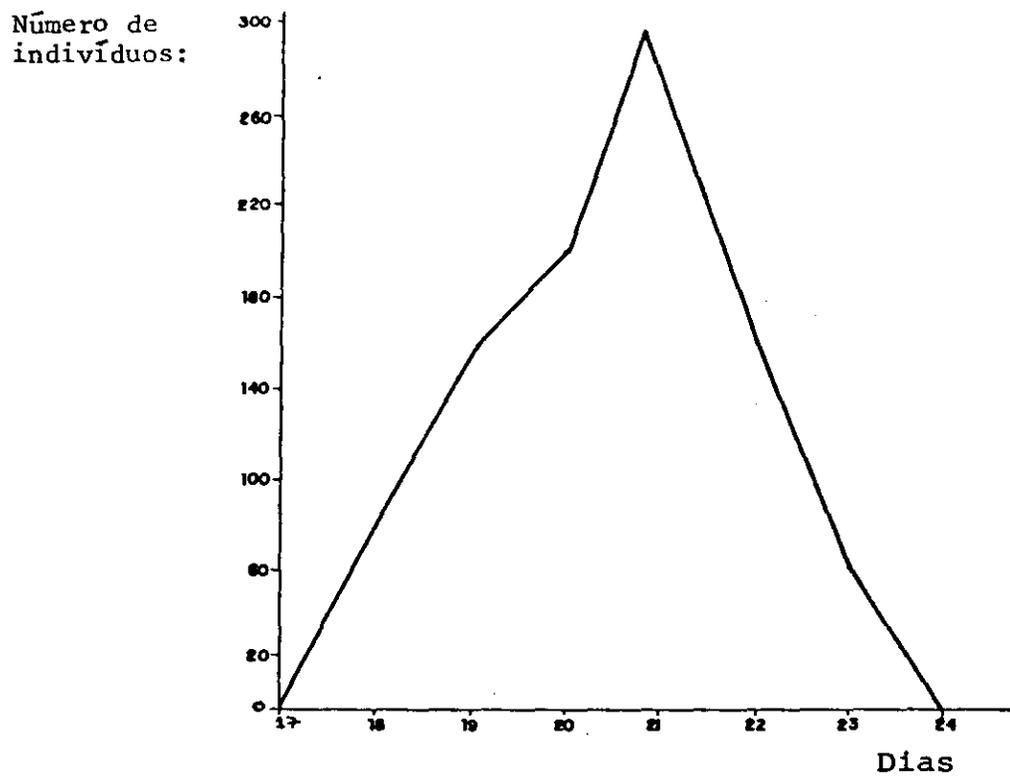


FIGURA 8 - Número de dias em que emergiram os adultos de T. brasiliensis, em D. simulans, após a data do cruzamento parental.

TABELA 8 - Tempo de geração e Número (N) de machos e fêmeas obtidos de T. brasiliensis e T. drosophilae em espécies de Drosophila

ESPÉCIES DE <u>Drosophila</u> :	Tempo de geração (em dias)			
	<u>T. brasiliensis</u>		<u>T. drosophilae</u>	
	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
<u>D. melanogaster</u>	20,42 ± 1,32 (N = 449)	21,53 ± 1,05 (N = 401)	20,59 ± 1,00 (N = 1275)	21,08 ± 0,74 (N = 1201)
<u>D. simulans</u>	20,01 ± 1,51 (N = 402)	21,14 ± 1,22 (N = 543)	19,75 ± 1,35 (N = 1413)	20,69 ± 1,09 (N = 1419)
<u>D. mercatorum</u>	-	-	24,44 ± 2,10 (N = 1247)	25,85 ± 2,10 (N = 1190)

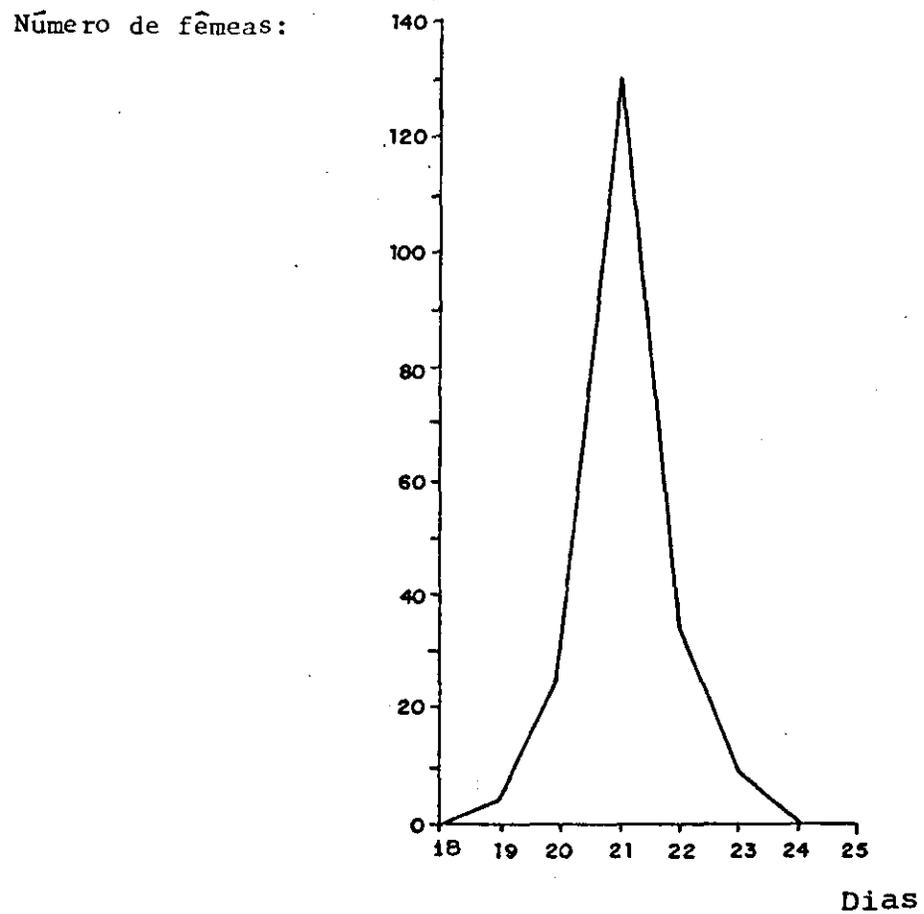


FIGURA 9 - Número de dias em que emergiram as fêmeas de T. drosophilae, em D. melanogaster, após a data do cruzamento parental.

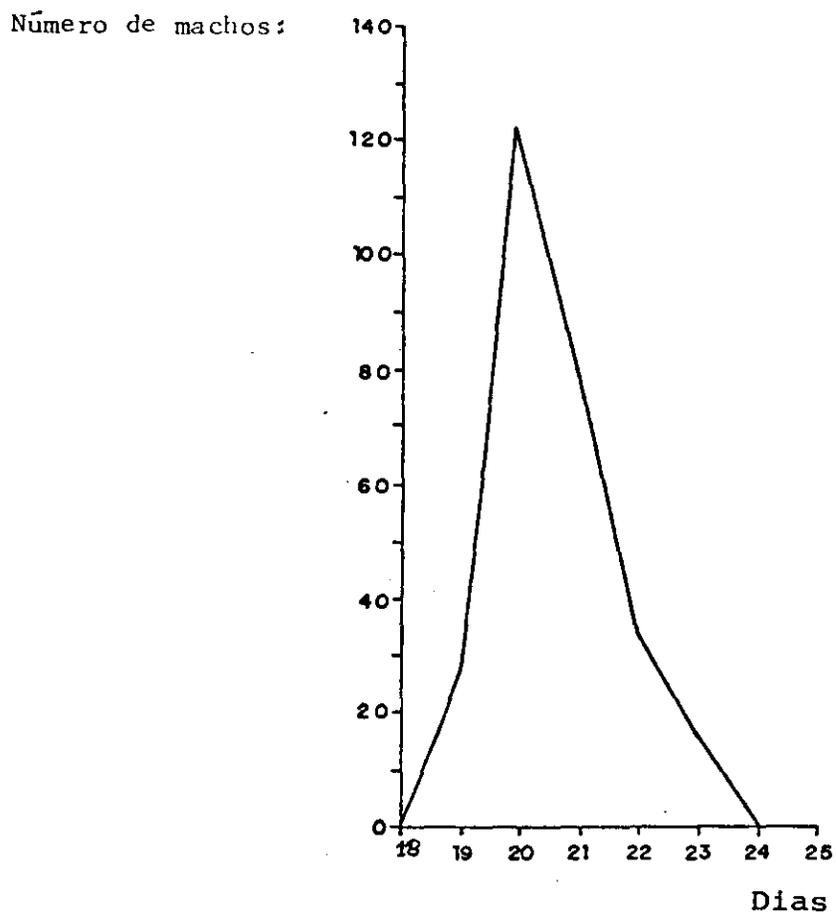


FIGURA 10 - Número de dias em que emergiram os machos de T. drosophilae, em D. melanogaster, após a data do cruzamento parental.

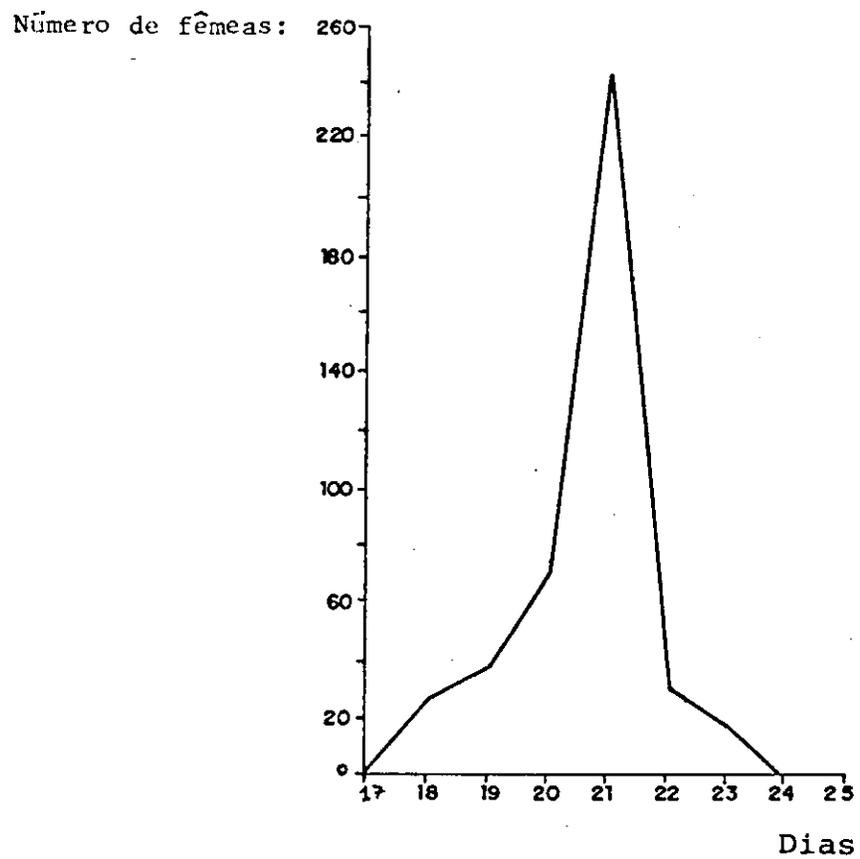


FIGURA 11 - Número de dias em que emergiram as fêmeas de T. drosophilae, em D. simulans, após a data do cruzamento parental.

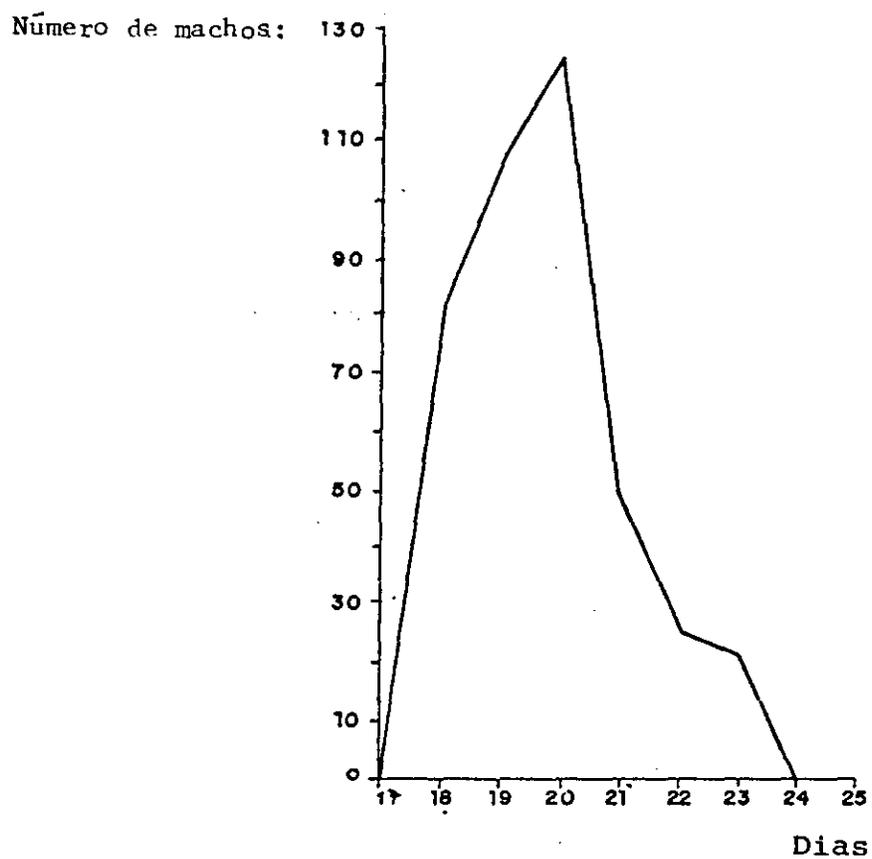


FIGURA 12 - Número de dias em que emergiram os machos de T. drosophilae, em D. simulans, após a data do cruzamento parental.

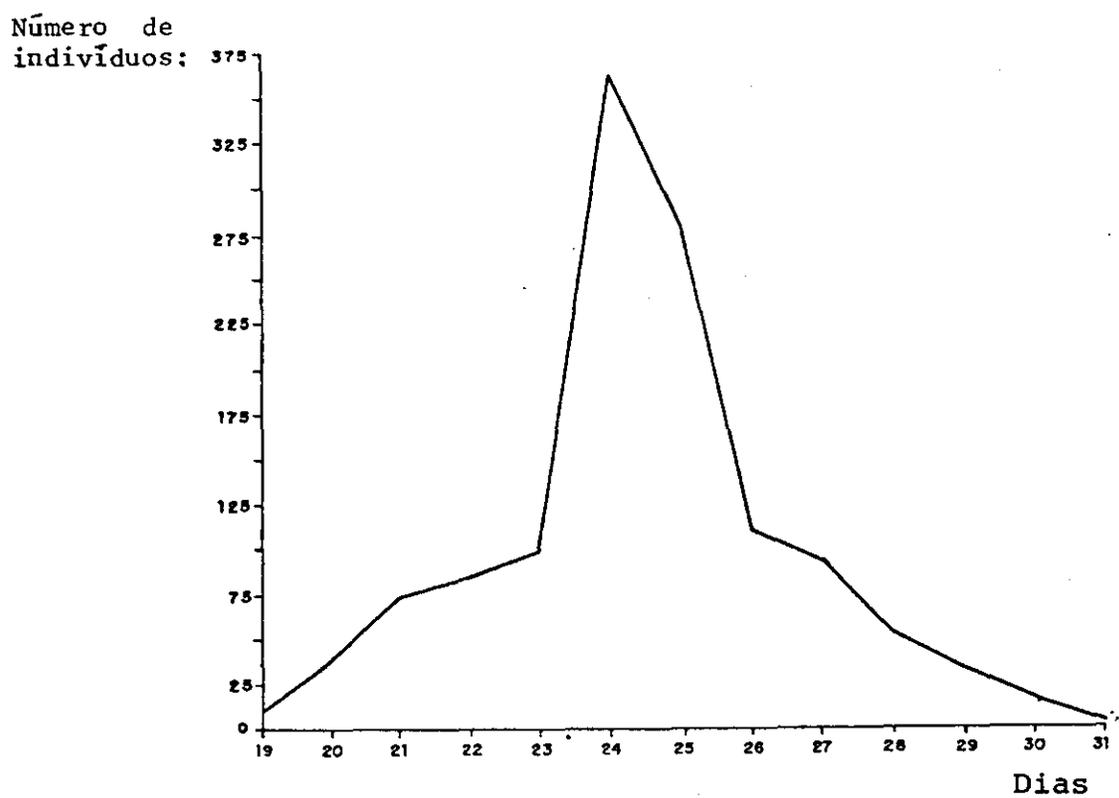


FIGURA 13 - Número de dias em que emergiram os machos de T. drosophilae, em D. mercatorum, após a data do cruzamento parental.

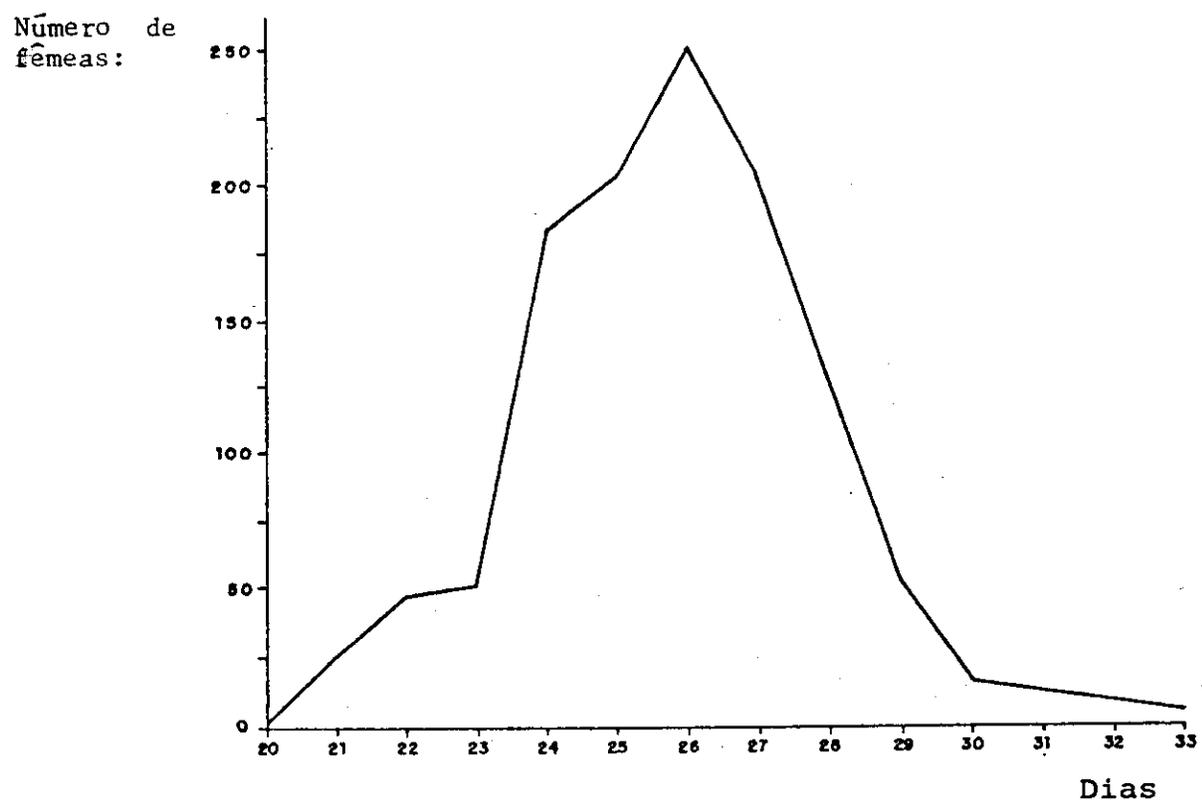


FIGURA 14 - Número de dias em que emergiram as fêmeas de T. drosophilae, em D. mercatorum, após a data do cruzamento parental.

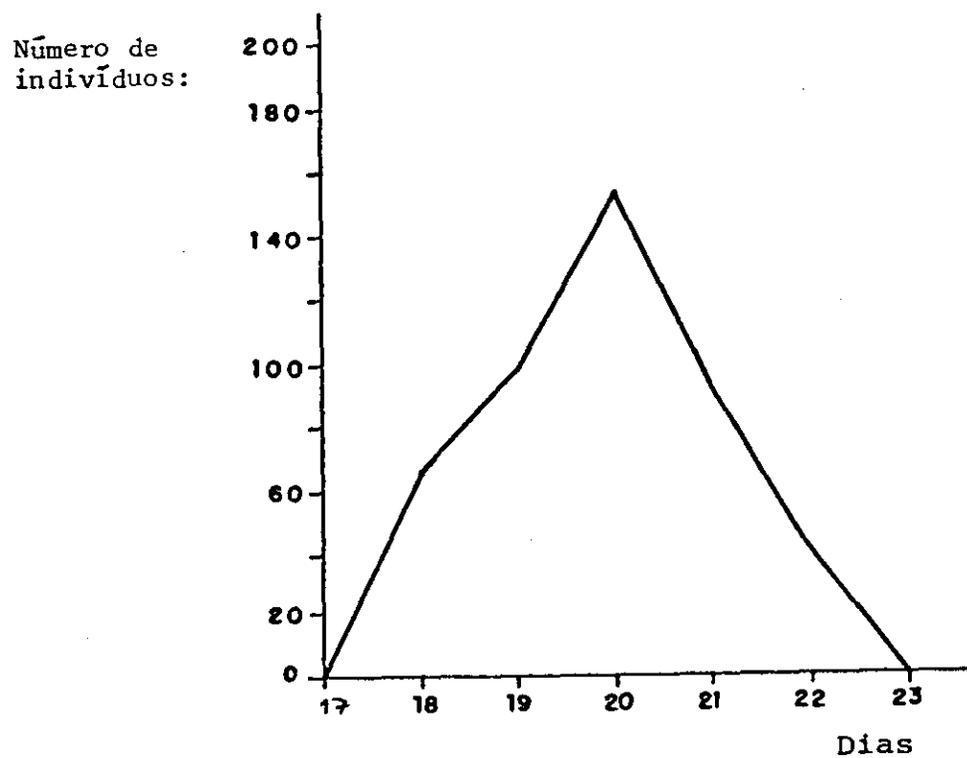


FIGURA 15 - Número de dias em que emergiram os machos de T. brasiliensis, em D. melanogaster, após a data do cruzamento parental.

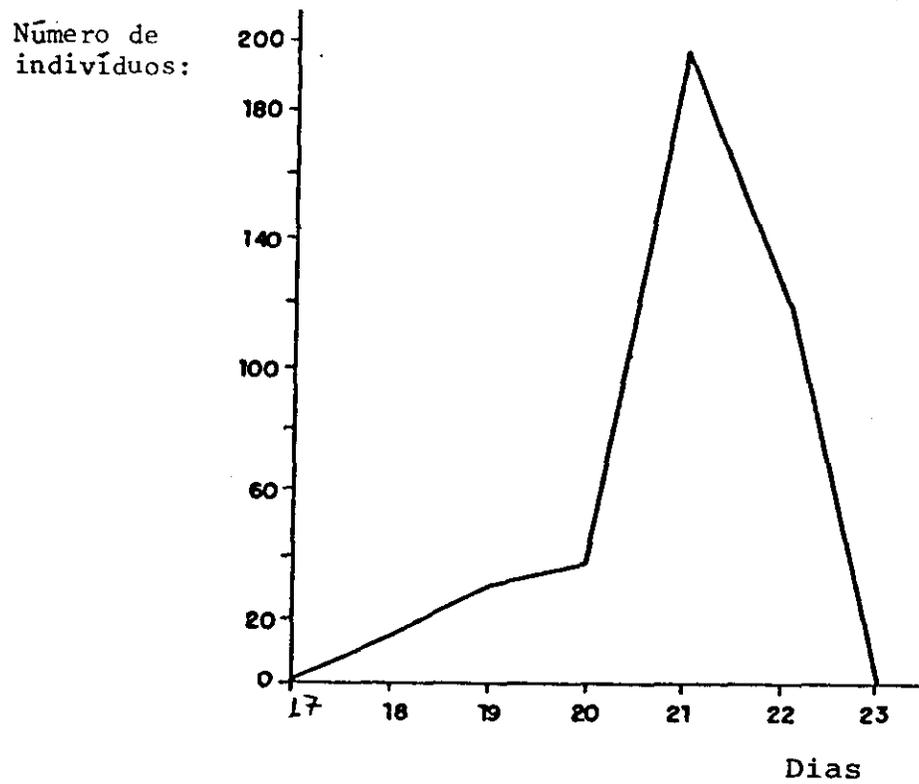


FIGURA 16 - Número de dias em que emergiram as fêmeas de T. brasiliensis, em D. melanogaster, após a data do cruzamento parental.

Número de  
indivíduos:

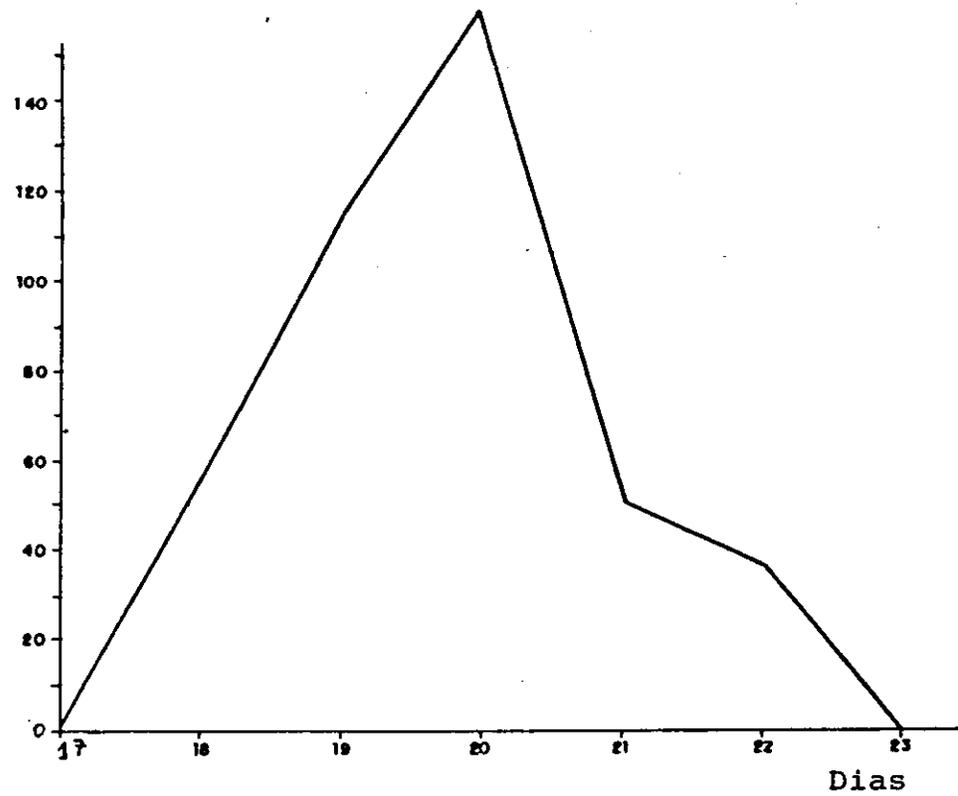


FIGURA 17 - Número de dias em que emergiram os machos de T. brasiliensis, em D. simulans, após a data do cruzamento parental.

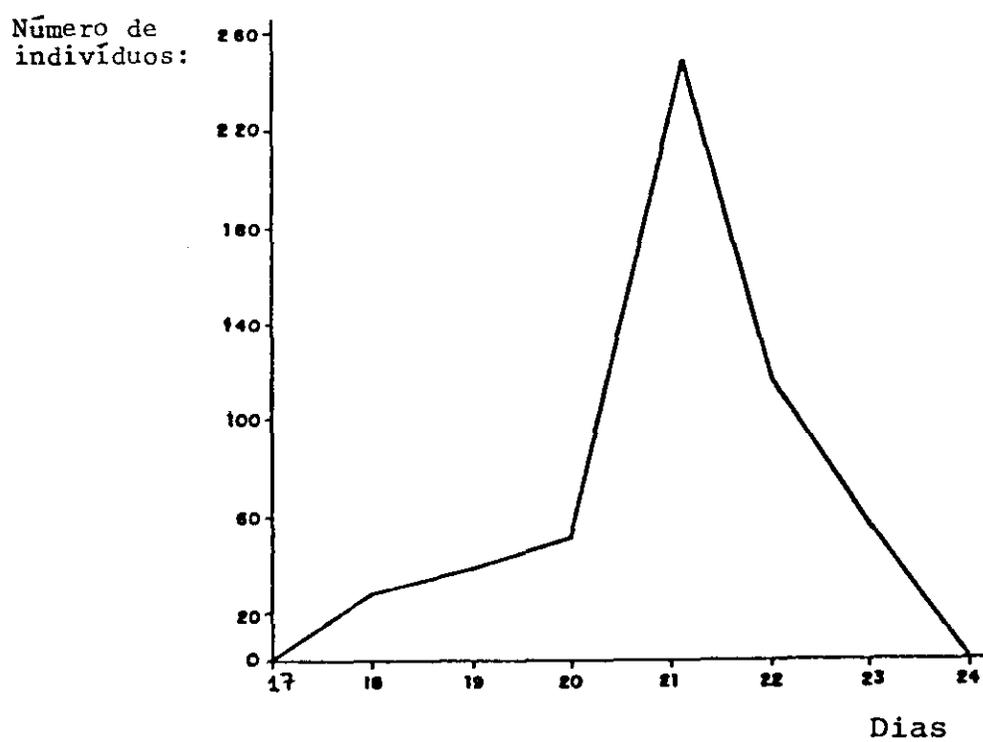


FIGURA 18 - Número de dias em que emergiram as fêmeas de T. brasiliensis, em D. simulans, após a data do cruzamento parental.

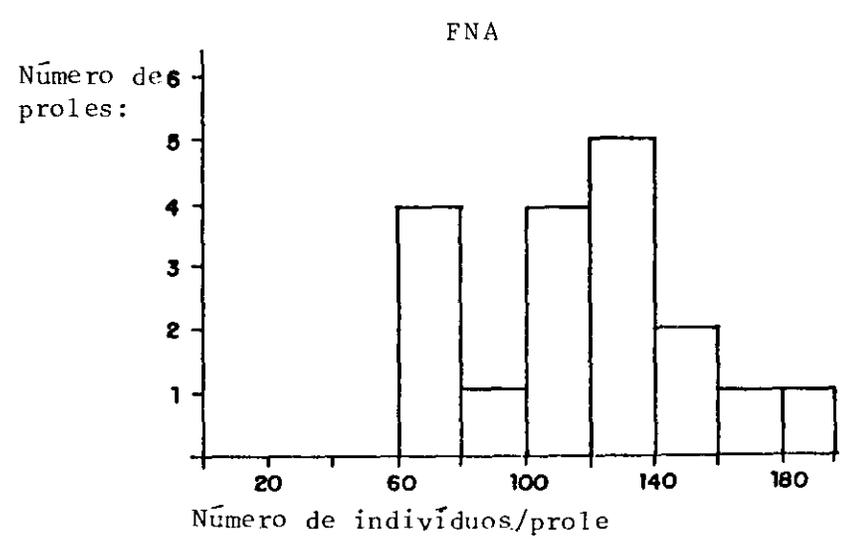
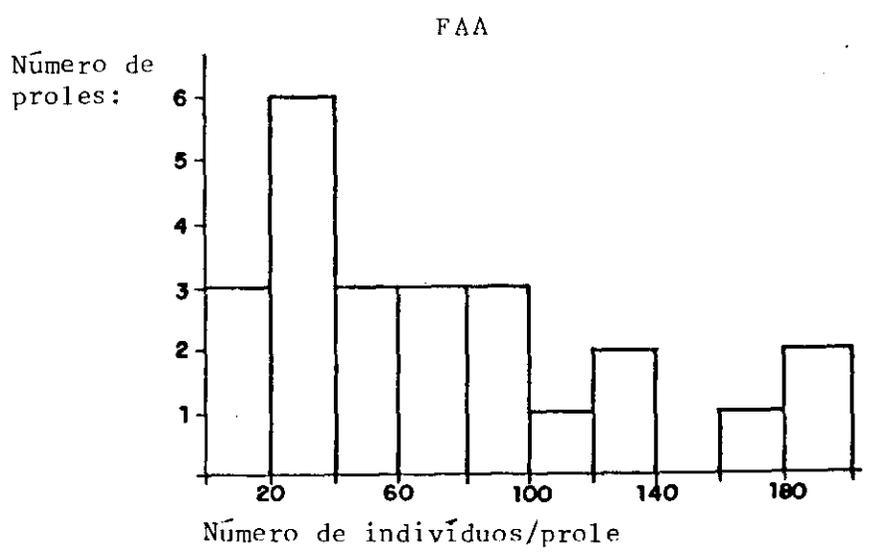


FIGURA 19 - Distribuição de frequência do tamanho de prole em T. brasiliensis para: fêmeas acasaladas (FAA) e fêmeas não acasaladas (FNA).

$t_{25-0,05} = \pm 2,056$ , indicando não haver diferença significativa.

Na prole de fêmeas acasaladas de T. brasiliensis obteve-se tanto machos quanto fêmeas sendo que a razão sexual foi de 1,29 machos: 1 fêmea. Mas a variação obtida foi ampla: desde 7,31 machos: 1 fêmea até 0,27 machos: 1 fêmea, sendo a distribuição de frequência mostrada figura 20.

No teste de partenogênese para T. brasiliensis, obteve-se que 100% das fêmeas testadas apresentou prole constituída só por machos, e nenhuma fêmea, sendo o tamanho da prole de  $123,35 \pm 39,64$  machos ( $N = 2097$ ). Como pode ser visto na figura 19, a distribuição de frequência do tamanho de prole de fêmeas não acasaladas foi mais irregular do que a de fêmeas acasaladas.

O tamanho de prole de fêmeas acasaladas de T. drosophilae foi de  $149,00 \pm 111,64$  indivíduos ( $N = 1978$ ). Estes resultados indicam que o desvio padrão foi grande, revelando a ampla variação existente no tamanho da prole, de modo similar ao obtido para T. brasiliensis. A distribuição de frequência do tamanho de prole em T. drosophilae é apresentada na figura 21. Aplicou-se o teste  $t$  para se saber se houve ou não diferença no tamanho de prole de T. drosophilae, de acordo com a espécie de Drosophila (D. melanogaster ou D. simulans) utilizadas como hospedeiro, obtendo-se  $t = -1,10$ , sendo na Tabela  $t_{14;0,05} = \pm 2,14$ , indicando não haver diferença significativa.

Na prole de T. drosophilae, as fêmeas acasaladas originaram machos e fêmeas, sendo a razão sexual de 3,23 machos: 1 fêmea. Entretanto, a variação foi muito ampla, desde 8,06 machos: 1 fêmea até 1,53 machos: 1 fêmea, conforme a figura 22.

O teste de partenogênese de T. drosophilae, revelou que 100% das fêmeas testadas originaram prole constituída só por

Número de  
proles:

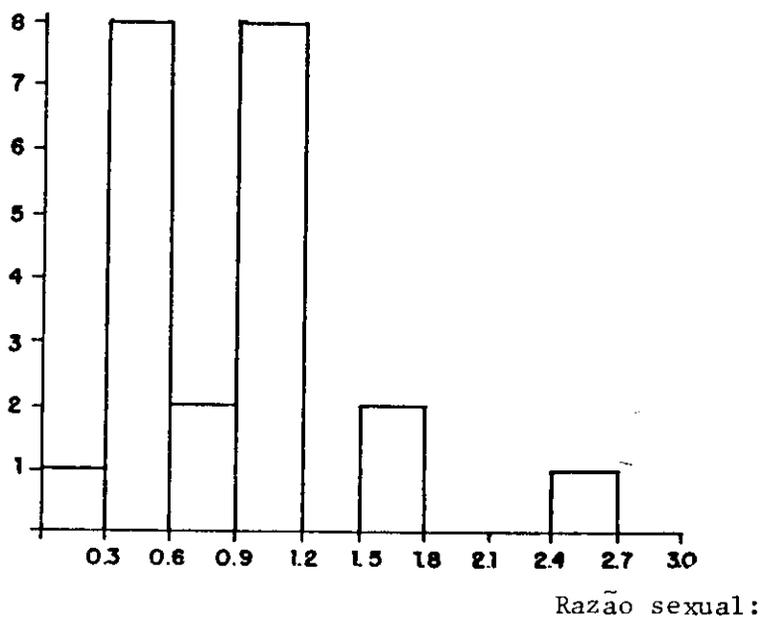


FIGURA 20 - Distribuição de frequência da razão sexual (macho: fêmea) em T. brasiliensis.

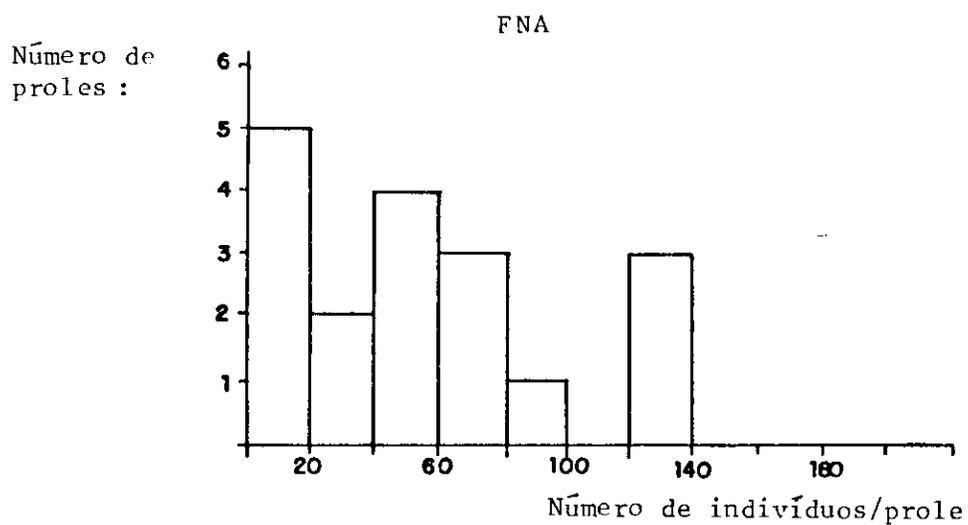
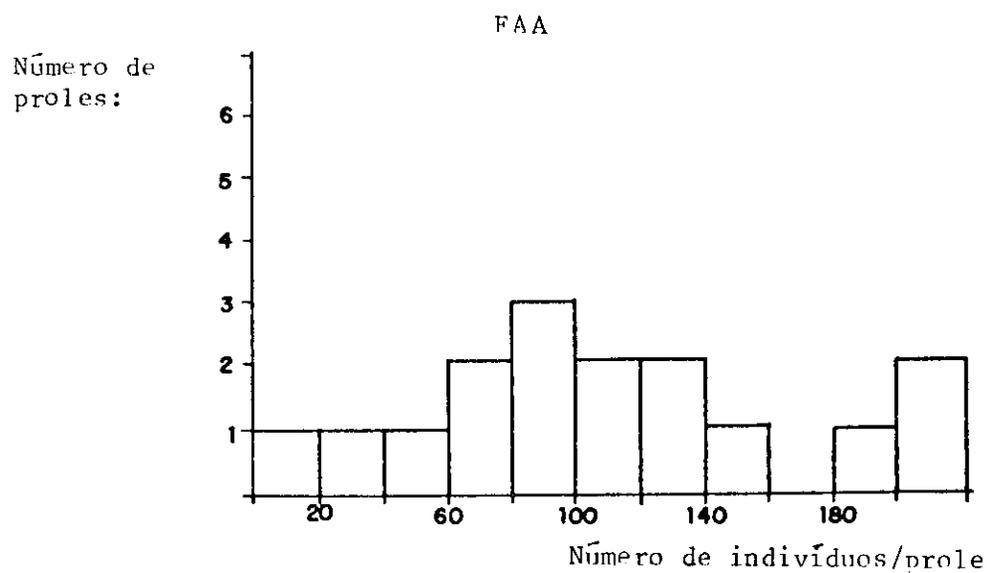


FIGURA 21 - Distribuição de frequência do tamanho de prole em T. drosophilae para fêmeas acasaladas (FAA) e fêmeas não acasaladas (FNA).

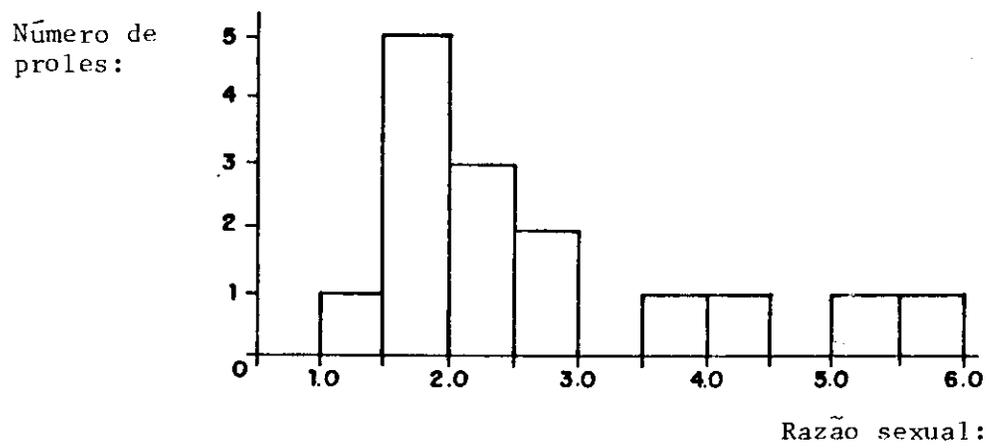


FIGURA 22 - Distribuição de frequência da razão sexual (macho: fêmea) em T. drosophilae.

machos, sendo o tamanho de prole de  $52,00 \pm 41,01$  machos (N = 988). Comparando-se os resultados das figuras 19 e 21, verifica-se que, enquanto em T. brasiliensis as fêmeas acasaladas produziram proles de tamanho, em média, maiores do que as fêmeas virgens, em T. drosophilae ocorrem o contrário.

É interessante saber se houve diferença significativa nos tamanhos de prole obtidos em situações comparáveis.

Aplicou-se o teste t para se verificar se, em cada uma das duas espécies de parasitóides os tamanhos de prole são ou não significativamente diferentes.

Quando aplicado a T. brasiliensis verificou-se que houve diferença significativa entre os tamanhos de prole de fêmeas fecundadas e fêmeas virgens, pois foi obtido  $t = 3,39$ , sendo na tabela  $t_{29; 0,05} = \pm 2,021$ .

Aplicado a T. drosophilae, também se constatou que os tamanhos de prole de fêmeas virgens e fêmeas fecundadas revelaram ser significativamente diferentes, porque obteve-se  $t = 3,52$ , enquanto na tabela  $t_{36; 0,05} = \pm 2,013$ .

Quando foi aplicado o teste t para se verificar se houve ou não diferença significativa nos tamanhos de prole entre fêmeas fecundadas de T. brasiliensis e T. drosophilae, obteve-se  $t = 2,73$ , sendo na tabela  $t_{40; 0,05} = \pm 2,021$ . Estes resultados indicam que os tamanhos de prole são significativamente diferentes entre as duas espécies, neste caso.

Ao se aplicar o teste t para se constatar se há ou não diferença significativa no tamanho de prole de fêmeas virgens de T. brasiliensis e T. drosophilae, foi obtido  $t = 5,27$ , enquanto na tabela  $t_{36; 0,05} = \pm 2,031$ . Este resultado indica que também há diferença significativa nos tamanhos de prole entre as duas espécies de parasitóides.

Entretanto, pode-se observar que enquanto para T. brasiliensis o tamanho de prole de fêmeas virgens foi significativamente maior do que o de fêmeas fecundadas, em T. drosophilae ocorreu o contrário.

A produção de 100% de machos nas proles tanto de T. brasiliensis quanto de T. drosophilae, indica que o tipo de partenogênese que ocorre em ambas estas espécies de parasitóides é do tipo arrenótoca.

#### 3.1.4. Competição interespecífica (pág. 22)

Os resultados deste teste estão na Tabela 9. Pode-se verificar que, enquanto as percentagens de parasitismo de T. brasiliensis diminuíram de modo acentuado, em cada espécie hospedeira, quando se compara o grupo teste com o grupo controle, as percentagens de parasitismo de T. drosophilae não sofreram alterações significativas.

Assim sendo, T. drosophilae revelou maior eficiência competitiva quando comparado com T. brasiliensis, tanto em D. melanogaster quanto em D. simulans.

### 3.2. EXPERIMENTOS DE CORTE (pág. 23)

#### 3.2.1. Aptidão para a corte (pág. 24)

Em T. brasiliensis, os machos tornam-se aptos para a corte após um intervalo de tempo  $t_1 = 12\text{min } 35\text{s} \pm 5\text{min } 23\text{s}$ , enquanto as fêmeas após um  $t_2 = 14\text{min } 12\text{s} \pm 2\text{min } 41\text{s}$ , em seguida à emergência do hospedeiro.

Em T. drosophilae os respectivos tempos médios de aptidão para a corte foram menores do que em T. brasiliensis, sendo  $t_3 = 5\text{min } 47\text{s} \pm 1\text{min } 24\text{s}$  para machos e  $t_4 = 9\text{min } 54\text{s} \pm 3\text{min } 27\text{s}$  para fêmeas, após a emergência do pupário hospedeiro.

Em ambas as espécies de parasitóides, os machos de-

TABELA 9 - Percentagem médias de parasitismo de T. drosophilae e T. brasiliensis em competição pelo hospedeiro D. melanogaster (Dm) ou D. simulans (Ds)

Espécie hospedeira:	Grupo:	<u>T. drosophilae</u>	<u>T. brasiliensis</u>
Dm	teste	57,00 ± 15,08	7,50 ± 7,90
	controle	62,50 ± 36,83	38,75 ± 12,67
Ds	teste	55,00 ± 15,00	13,00 ± 14,47
	controle	54,38 ± 31,91	62,50 ± 12,99

monstraram sua aptidão para a corte ao procurarem ativamente uma das 5 fêmeas do grupo e subir sobre ela, após um intervalo de tempo. Antes do macho procurar ativamente a fêmea nenhum macho apresentou qualquer comportamento que demonstrasse que ele estava atraído para ela: na maioria das vezes ele permaneceu parado, enquanto nos demais casos ele caminhou porém, tocando ou não na fêmea, não alterou o seu comportamento. As fêmeas, de ambas as espécies se mostraram receptivas para a corte somente após um intervalo de tempo, durante o qual elas geralmente permaneceram caminhando. Geralmente, durante este intervalo de tempo, um ou mais dos machos tocaram na fêmea, e tentaram ativamente subir sobre ela, mas geralmente ela não parou de caminhar; entretanto, mesmo quando ela parou e permitiu eventualmente que o macho subisse temporariamente sobre ela, ela não se mostrou receptiva, pois não levantou suas 2 antenas para a posição vertical e tornou a caminhar logo em seguida. O tipo de comportamento da fêmea, em ambas as espécies de parasitóides, que indicou que ela estava apta para a corte foi: ela permaneceu imóvel, permitiu que o macho subisse sobre ela e, ao mesmo tempo, elevou suas 2 antenas para um ângulo de 90º com o plano de seu corpo.

### 3.2.2. Padrão de comportamento de corte e suas variações (pág. 24)

Para ambas as espécies de parasitóides foi determinado o padrão de comportamento de corte, assim como suas variações. Nas 2 espécies de parasitóides, esse padrão de comportamento se caracterizou por conter componentes com denominação de acordo com Matthews (1975), que se apresentaram na seguinte sequência: reconhecimento, atração, antenação, cópula e atividade pós-copulatória.

O padrão de comportamento de corte entre as 2 espécies de parasitóides foi diferente, divergindo em cada um de

seus componentes quanto ao tipo e duração de cada comportamento observado.

O tempo médio de duração de cada um dos componentes do padrão de comportamento de corte de ambas as espécies de parasitóides analisadas é mostrado na Tabela 10.

As características de cada componente do padrão de comportamento de corte e suas variações são os seguintes, em cada uma das espécies de parasitóides analisadas.

### T. brasiliensis

#### - Reconhecimento e Atração

Logo após os 2 parceiros sexuais terem sido colocados na cápsula de observação, ambos os parceiros tipicamente andam no interior da cápsula em todas as direções, sendo que o macho caracteristicamente começa a vibração simultânea de suas asas, independentemente de ter tocado ou não na fêmea com suas antenas. O macho vibra suas asas durante alguns segundos, alternando com períodos de não vibração.

O macho, enquanto vibra suas asas, procura ativamente a fêmea e, quando toca nela com suas antenas, tenta ativamente segui-la. Todavia, a fêmea caminha rapidamente e geralmente o macho não consegue acompanhá-la, perdendo-a uma ou mais vezes. Em cada vez que ele perde a fêmea, ele pára de caminhar e mexe suas antenas lenta e alternadamente até que, ou se decida a caminhar numa certa direção, ou fique imóvel até que a fêmea toque novamente nele e ele torne a segui-la. A fêmea toca no macho de uma a sete vezes, sendo mais frequente 3 vezes.

Mesmo se a fêmea tocar nele, ela não necessariamente pára de andar, exceto se ela se mostrar receptiva. A fêmea se mostra receptiva tipicamente parando de andar e permanecendo

TABELA 10 - Tempo de duração total e de cada um dos elementos do padrão de comportamento de corte de T. brasiliensis e T. drosophilae

	<u>T. brasiliensis</u>	<u>T. drosophilae</u>
Reconhecimento e Atração	17s ± 9s	20s ± 12s
Antenação	9s ± 6s	1min 15s ± 36s
Cópula	53s ± 23s	1min 4s ± 47s
Atividade pós-copulatória	27s ± 9s	20s ± 17s
TOTAL	1 min 40s ± 32s	3min 9s ± 1min 5s

imóvel, com suas antenas mantidas paralelamente uma com a outra e com um ângulo de 90° em relação ao seu plano do corpo.

As fêmeas de T. brasiliensis se mostraram receptivas em 97% dos casais analisados. Na maioria (89%) dos casais observados em que a fêmea se mostrou receptiva, ela parou de andar logo após ter tocado (uma ou mais vezes) com suas antenas no macho, sem a necessidade de uma ação enérgica do macho. Nos demais (11%) casos, a fêmea só se mostrou receptiva após o macho energicamente tentar e conseguir subir sobre ela ainda andando.

Em 3% dos casos analisados a fêmea não se mostrou receptiva ao seu parceiro sexual. Ela demonstrou isto com o comportamento de continuar andando, mesmo quando o macho subia energicamente sobre ela, ou parando de andar, mas mantendo suas antenas no plano do corpo, ou mesmo abaixo deste plano, mas nunca em ângulo de 90° ou próximo a este ângulo. Para se certificar de que a fêmea era "não-receptiva" para machos e não somente para o seu 1º parceiro sexual testado, para cada uma delas, após se verificar que não se mostrava receptiva com o primeiro macho, oferecia-se: (1º) 4 machos, sendo um de cada vez e por 20 minutos, um após o outro; (2º) e, em seguida, simultaneamente a 5 machos por 20 minutos. No 1º caso, os machos revelaram um dos seguintes tipos de comportamento:

(a) em 28% das vezes o macho subia sobre a fêmea uma ou mais vezes e logo em seguida descia;

(b) em 35% das vezes o macho subia na fêmea uma vez e, embora não encontrasse as 2 antenas dela erguidas, forçava com suas antenas o erguimento das antenas dela, embora em nenhuma das observações ele tenha conseguido erguê-las.

(c) em 37% das vezes o macho subia duas ou mais vezes na fêmea e, apesar de não encontrar as antenas dela erguidas, forçava com suas antenas a elevação das antenas dela, mas não conseguiu er-

guê-las em nenhum dos casos.

No 2º caso, constatou-se em todas as observações que, enquanto dois ou mais machos tentavam subir sobre ela, um ou mais dos demais tentavam copulá-la.

O teste de fecundidade revelou que todas as fêmeas receptivas testadas originaram na prole tanto machos quanto fêmeas, indicando terem sido fecundadas; enquanto 100% das fêmeas não receptivas produziram prole constituída só por machos, indicando que elas não devem ter sido fecundadas.

#### - Antenação

A antenação se iniciou com o macho, sobre a fêmea, batendo alternadamente com suas antenas nas antenas dela. A fêmea manteve suas antenas paralelamente entre si e em ângulo de 90° com o plano de seu corpo. O batimento das antenas do macho foi característico: de trás para a frente e de dentro para fora, em média 3,7 vezes por segundo. Durante a corte o macho realizou em média  $37,40 \pm 11,61$  batimentos antenares.

Cada batimento antenar do macho só tocou nos 3 últimos segmentos antenares da correspondente antena da fêmea. Embora o macho possa vibrar suas asas durante a corte, na maioria dos casos (87%) observados, isto não ocorreu.

Durante a antenação, o macho se manteve sobre a fêmea, com seu primeiro par de patas sobre o tórax dela, sem movimentar nenhuma de suas patas.

Durante a antenação a fêmea manteve-se imóvel, sendo que em 100% dos casos em que ela se mostrou "receptiva", ela aceitou ser copulada, sinalizando isto para o macho com o movimento de abaixamento simultâneo de suas 2 antenas para a frente ligeiramente inclinadas para os lados, até que elas toquem no substrato. Ao mesmo tempo que a fêmea abaixava suas antenas, ela

abria sua genitália e o macho tentava copulá-la.

- Cópula:

A cópula se iniciou com o macho andando para trás, descendo da fêmea, encurvando seu abdômem, extrovertendo seu pênis e introduzindo-a na genitália da fêmea.

Durante a cópula a fêmea se manteve imóvel, com suas antenas posicionadas para frente e para baixo, exceto nos últimos 3 segundos, quando ela começou a caminhar com o macho ainda em cópula.

Durante a cópula, o macho ficava tipicamente inclinado para um dos dois lados do corpo da fêmea, e atrás dela, com os 2 pares de asas em posição semiaberta e inclinada em relação ao plano de seu corpo, com o primeiro par de patas apoiada no abdômem dela e as demais patas apoiadas no substrato.

- Atividade pós-copulatória:

Logo após terminada a cópula, a fêmea ficava caracteristicamente imóvel com sua genitália fechada, durante um período de tempo variável entre 5s e 2 min 31s, mas em média  $27s \pm 9s$ .

O macho logo após terminada a cópula, caminhava, mas geralmente (92% dos casos) não tentava nova corte ou cópula com a

mesma fêmea. Entretanto, há casos em que o macho tentava nova corte pós-cópula com a mesma fêmea, principalmente se a duração da cópula foi curta (cerca de 30s). Apesar disto, a fêmea, após a cópula, em nenhum dos casos aceitou nova corte com o mesmo macho, apresentando o mesmo comportamento de uma fêmea não receptiva.

Após a cópula, o macho na maioria (98%) dos casos não realizou limpeza ("grooming") de suas antenas e/ou patas.

### T. drosophilae

- Reconhecimento e atração:

Os tipos de comportamento, interações e frequências reveladas por machos e fêmeas de T. drosophilae durante o reconhecimento e atração foram aparentemente idênticos aos obtidos para T. brasiliensis e anteriormente já descritos, com exceção das seguintes diferenças:

- a) os machos de T. drosophilae não vibraram suas asas em nenhuma das observações;
- b) a frequência de fêmeas receptivas de T. drosophilae foi de 93%;
- c) em 100% dos casos em que a fêmea se mostrou receptiva, ela parou de andar e ficou imóvel com suas antenas paralelamente entre si e formando um ângulo de  $90^\circ$  com o plano do corpo.

O teste de fecundidade para fêmeas receptivas e para fêmeas não receptivas de T. drosophilae deu resultados idênticos aos obtidos para as respectivas fêmeas de T. brasiliensis.

- Antenação:

A antenação se iniciou com o macho sobre a fêmea, apoiando o seu primeiro par de patas na cabeça dela, colocando suas antenas entre as dela e movimentando simultaneamente suas antenas sobre as antenas dela.

A fêmea manteve-se imóvel com suas antenas posicionadas paralelamente entre si e formando um ângulo de 90° com o plano de seu corpo. Durante a antenação, o movimento das antenas do macho foi típico: cada antena dele acariciava a correspondente antena dela, de baixo para cima, e ao longo de toda a região frontal da antena dela. Cada movimento simultâneo das antenas durou em média 9 segundos, sendo que em cada corte o macho realizou em média  $8,14 \pm 3,25$  movimentos antenares simultâneos.

Durante a antenação o macho não vibrou suas antenas nem movimentou suas patas.

Em todos os casos em que a fêmea se revelou "receptiva", ela aceitou ser copulada, sinalizando isto para o macho com o movimento de abaixamento simultâneo das antenas, para uma posição inclinada, uma para cada lado do copo, e até tocar no substrato. Ao mesmo tempo em que a fêmea abaixava suas antenas, ela abria sua genitália e o macho tentava copulá-la.

A tentativa de interrupção da corte de T. drosophilae apresentou resultados idênticos aos obtidos para T. brasiliensis, exceto que o intervalo de tempo em que a fêmea permaneceu imóvel com a genitália aberta foi menor,  $t = 3\text{min } 45\text{s} \pm 1\text{min } 12\text{s}$ .

#### - Cópula:

A cópula teve início com o macho andando para trás, descendo da fêmea, encurvando seu abdomen, extrovertendo seu pênis e introduzindo-o na genitália dela.

Durante a cópula a fêmea permaneceu imóvel, com suas 2 antenas posicionadas de modo inclinado para os lados e para baixo, exceto nos 2 últimos segundos de cópula, em que ela começou a caminhar com o macho ainda copulando-a.

O macho, durante a cópula, manteve-se atrás da fêmea

com o primeiro par de patas sobre o abdomen dela, enquanto as demais patas se apoiavam no substrato mantendo as asas semi-abertas e inclinadas em relação ao plano do corpo.

- Atividade pós-copulatórias:

Logo após o término da cópula o macho e a fêmea caminharam cada um para uma direção. Entretanto, na maioria (87%) das vezes, o macho logo após o término da corte realizou a limpeza ("grooming") de suas antenas e patas durante um intervalo médio de tempo  $t = 20s \pm 17s$ , e logo em seguida tentou novamente a corte com a mesma fêmea. Geralmente (92% dos casos) em que o macho tentou nova corte com a mesma fêmea, ela se mostrou receptiva para uma nova corte, mas em nenhum dos casos ela aceitou ser copulada novamente. Nos demais casos (8%) ela continuou andando, não se mostrando receptiva para nova corte com o mesmo macho.

### 3.2.3. Corte interespecífica (pág. 25)

Não houve diferença entre os testes de corte interespecífica de macho de T. brasiliensis x fêmea de T. drosophilae e o recíproco: em 100% das observações realizadas em ambos os casos, tanto o macho quanto a fêmea não revelaram qualquer comportamento de atração para o indivíduo de sexo oposto da outra espécie, permanecendo um ou ambos parados ou andando durante o período de observação, sendo que, mesmo quando eventualmente eles se tocavam, cada um seguia numa direção, como se nada tivesse ocorrido.

Em nenhuma das observações, em qualquer das 2 combinações de cruzamento, houve tentativa de corte e/ou cópula do macho para a fêmea da outra espécie de parasitóide.

### 3.2.4. Cortes múltiplas (pág. 25)

Verificou-se que 100% das fêmeas de ambas as espécies de parasitóides só aceitaram ser fecundadas uma única vez, independentemente de pertencer ao 1º ou 2º grupos experimentais.

Entretanto, para os machos os resultados foram diferentes. Quando um macho foi exposto sucessivamente a 5 fêmeas; 21% dos machos testados de T. drosophilae fecundaram todas as 5 fêmeas do seu grupo, enquanto nenhum macho de T. brasiliensis fecundou todas as 5 fêmeas do seu grupo. Mas após um certo intervalo médio de tempo, todas as 5 fêmeas foram fecundadas em 100% dos grupos, sendo este tempo:  $t_1 = 32\text{min } 43\text{s} \pm 5\text{min } 22\text{s}$  para T. drosophilae e  $t_2 = 1\text{h } 17\text{min } 29\text{s} \pm 7\text{min } 36\text{s}$  para T. brasiliensis.

O teste de fecundidade confirmou as observações sobre os acasalamentos: todas as 5 fêmeas de todos os grupos analisados originaram machos e fêmeas na prole, indicando terem sido fecundadas.

### 3.2.5 - Corte em indivíduos mutilados e feromônios em diferentes partes do corpo (pág. 26)

1º grupo:

No 1º grupo de experimentos, a frequência de cópula ( $f$ ) entre os 3 controles foi igual entre si e com o valor  $f_1 = 97\%$  para T. brasiliensis e  $f_2 = 93\%$  para T. drosophilae. Apesar disto houve diferenças qualitativas, para ambas as espécies de parasitóides, entre os 2 controles em que um dos parceiros sexuais foi anestesiado e o controle em que nenhum dos parceiros sexuais foi anestesiado: nos 2 primeiros tipos de controle houve um intervalo de tempo bem maior para a etapa de reconhecimento-atração. Nos experimentos em que foram retiradas as 2 antenas do macho ou da fêmea, em 100% dos casos e para ambas as espécies de parasitóide:  $f = 0\%$ . Quando as antenas removidas eram

as da fêmea, em ambas as espécies de parasitóides, o macho subia uma ou mais vezes sobre a fêmea, e logo em seguida descia; enquanto isto, a fêmea, geralmente ficava parada ou andava lentamente em qualquer direção. Quando as antenas removidas eram as 2 do macho a fêmea ficava andando pela cápsula de um lado para outro e, apesar de geralmente tocar no macho uma ou mais vezes, este geralmente ficava parado ou se movia lentamente em qualquer direção e em nenhum caso apresentou um comportamento de atração para a fêmea.

Quando removidas uma das antenas de macho seja a direita ou a esquerda, a frequência de cópula foi menor que a dos respectivos controles das 2 espécies:

$f_3 = 83\%$  para T. brasiliensis

$f_4 = 79\%$  para T. drosophilae

Nos demais experimentos deste grupo as frequências de cópula foram idênticas às dos respectivos controles.

2º grupo:

Para os experimentos do 2º grupo (ver Tabela 11), embora tenha ocorrido diferenças entre as 2 espécies de parasitóides em relação às frequências de tentativa de cópula, em ambas as espécies de microhimenópteros houve a seguinte ordem decrescente destas frequências: cabeça, tórax, asas, patas, abdômen e antenas.

3º grupo:

Nos experimentos do 3º grupo (ver Tabela 12), apesar das diferenças nas frequências de tentativas de cópula entre as 2 espécies de microhimenópteros testados, em ambas as espécies obteve-se a mesma ordem decrescente de frequências obtida no 2º grupo. As frequências para cada espécie, em relação a uma mesma parte do corpo da fêmea, obtidas nos grupos 2 e 3, foram muito

TABELA 11 - Frequência de tentativa de cópula de macho para diferentes partes do corpo da fêmea, tomadas isoladamente.

Parte do corpo da fêmea:	<u>T. brasiliensis</u>	<u>T. drosophilae</u>
tórax	93,0%	91,4%
cabeça	97,1%	96,7%
4 asas	78,2%	73,3%
3 pares de patas	68,5%	71,3%
abdomen	31,3%	67,4%
antenas	27,2%	26,7%

TABELA 12 - Frequência de tentativa de cópula do macho para macerado de diferentes partes do corpo da fêmea, tomadas isoladamente.

Partes do corpo da fêmea:	<u>T. brasiliensis</u>	<u>T. drosophilae</u>
tórax	95,5%	95,7%
cabeça	97,0%	96,8%
2 asas	81,7%	76,7%
3 pares de patas	67,9%	70,2%
abdomen	29,2%	57,5%
2 antenas	0,0%	0,0%

semelhantes.

4º grupo:

Os resultados obtidos no 4º grupo (ver Tabelas 13 e 14) indicam que as frequências de tentativa de cópula preferencial dos machos de ambas as espécies de parasitóides, está de acordo com a ordem decrescente de frequências obtida nos grupos 2 e 3.

Nos 2 tipos de variantes utilizadas para os experimentos dos grupos 2, 3 e 4, verificou-se que em todos os casos a frequência de tentativa de corte e/ou cópula foi de 0%.

Nos experimentos referentes ao 4º grupo em que se procurou igualar o volume das partes do corpo das fêmeas (nas combinações envolvendo antenas, asas ou patas) não houve alteração nas frequências de tentativa de cópula preferencial dos machos de cada espécie, em relação ao obtido quando não se igualou os volumes (ver Tabelas 13 e 14).

Os experimentos do 1º grupo indicam que para a ocorrência de corte acompanhada de cópula, é necessário que ambos os parceiros sexuais tenham pelo menos uma antena. Indicam também que as antenas do macho são mais importantes que as da fêmea para se aumentar a probabilidade de corte acompanhada de cópula.

Comparando-se os resultados obtidos nestes 4 grupos de experimentos com aqueles experimentos feitos para se determinar o padrão de corte, verifica-se que o macho desempenha um papel mais ativo e a fêmea mais passivo, pois ele revelou-se, em ambas espécies de parasitóides, ser o principal responsável em desencadear sequências de comportamentos interativos entre machos e fêmeas da mesma espécie.

Ao se comparar os resultados obtidos nos experimentos

TABELA 13 - Frequência (F) de tentativa de cópula dos machos de T. drosophilae para duas partes diferentes do corpo da fêmea da mesma espécie, oferecidas simultaneamente.

Combinação de partes do corpo da fêmea:			F (%)	
1ª parte		2ª parte	1ª parte	2ª parte
cabeça	x	tórax	54,0	46,0
cabeça	x	abdome	95,7	4,3
cabeça	x	4 asas	94,1	5,9
cabeça	x	2 antenas	100,0	0,0
tórax	x	abdome	96,3	3,7
tórax	x	4 asas	93,6	6,4
4 asas	x	2 antenas	100,0	0,0
4 asas	x	6 patas	81,3	18,7
6 patas	x	2 antenas	87,6	12,4

TABELA 14 - Frequência (F) de tentativa de cópula de machos de T. brasiliensis para duas partes diferentes do corpo da fêmea da mesma espécie, oferecidas simultaneamente.

Combinação de partes do corpo da fêmea:			F (%)	
1ª parte		2ª parte	1ª parte	2ª parte
cabeça	x	tórax	56,0	44,0
cabeça	x	abdomen	100,0	0,0
cabeça	x	4 asas	87,4	12,6
cabeça	x	2 antenas	100,0	0,0
tórax	x	abdomem	100,0	0,0
tórax	x	4 asas	91,9	8,1
4 asas	x	2 antenas	100,0	0,0
4 asas	x	6 patas	88,6	11,4
6 patas	x	2 antenas	94,5	5,5

do 1º grupo com aqueles dos demais grupos, em cada espécie de parasitóide, é razoável se supor que as antenas da fêmea desempenham na corte mais uma função tátil do que atrativa e excitante.

Comparando-se os resultados obtidos no 2º, 3º e 4º grupos de experimentos, verifica-se que diferentes partes do corpo da fêmea atraem e excitam diferentemente os machos da mesma espécie. Devido à ausência de diferenças significativas entre os resultados obtidos para cada parte do corpo, no 2º e 3º grupos, em cada espécie de parasitóide, é razoável se supor que os principais estímulos responsáveis pela atração e excitabilidade dos machos, é de natureza química e não, necessariamente, visuais ou táteis.

Como não houve qualquer tentativa de corte e/ou cópula nos 2 tipos de controle utilizados para os 2º, 3º e 4º grupos, pode-se supor que as substâncias atrativas e excitantes (provavelmente feromonios sexuais):

- a) são liberadas exclusivamente pelas fêmeas e não pelos machos de cada espécie;
- b) só são atrativas e excitantes para machos da mesma espécie, sendo, portanto espécie-específica .

Os experimentos do 2º, 3º e 4º grupos evidenciam que há uma polaridade corporal de excitabilidade decrescente da parte anterior para a posterior, com exceção das antenas: cabeça, tórax, asas, patas, abdomen. As ausências de diferenças entre as frequências de tentativa de cópula preferencial (4º grupo) obtidas quando se tentou igualar os volumes das partes e quando não se igualou os volumes, indica que, em cada espécie de parasitóide testada, as diferenças de atração e excitabilidade das diferentes partes do corpo são devido às atividades diferenciais de feromonios sexuais das diferentes partes do corpo da fêmea, e não devido às diferenças entre os volumes das partes

do corpo dela. A ordem decrescente de atividade de feromônio sexual pelas diferentes partes do corpo das fêmeas, em ambas as espécies de parasitóides é a seguinte: cabeça, tórax, asas, patas, abdomen e antenas.

### 3.3. ESTUDOS DE OVIPOSIÇÃO (pág. 28)

#### 3.3.1. Intervalo Cópula-Oviposição (pág. 28)

Verificou-se que o intervalo de tempo médio entre a cópula e o início da ovipostura em fêmeas de T. drosophilae foi de  $t_1 = 23\text{min } 47\text{s} \pm 7\text{min } 9\text{s}$  enquanto para fêmeas de T. brasiliensis foi de  $t_2 = 1\text{h } 12\text{min } 15\text{s} \pm 9\text{min } 44\text{s}$ .

Pode-se verificar que, geralmente, a maioria das fêmeas, em ambas as espécies de parasitóides, as fêmeas não ovipõem logo após o término da cópula, sendo necessário um intervalo de tempo até que ela inicia a primeira oviposição.

#### 3.3.2. Comportamento de Oviposição (pág. 28)

O tempo médio do comportamento de oviposição em fêmeas de T. brasiliensis durou  $t_1 = 3\text{min } 18\text{s} \pm 1\text{min } 35\text{s}$  enquanto para fêmeas de T. drosophilae, durou  $t_2 = 45\text{s} \pm 57\text{s}$ .

No início da oviposição, a fêmea, de ambas as espécies de parasitóides, caracteristicamente toca com suas antenas ao longo do corpo do hospedeiro. Logo após, para todas (100%) as fêmeas de T. brasiliensis e a maioria (85,6%) das fêmeas de T. drosophilae, a fêmea subiu sobre o corpo do hospedeiro e se posicionou paralelamente ao eixo longitudinal do corpo do hospedeiro e iniciou a oviposição ao extroverter o ovipositor e introduzi-lo no hospedeiro. Uma menor proporção (11,4%) das fêmeas de T. drosophilae não subiu sobre o hospedeiro para ovipor,

realizando a ovipostura apoiando-se no substrato em que a pupa estava fixada.

Quando a fêmea de T. brasiliensis, introduziu o ovipositor na larva hospedeira, geralmente (85,3% dos casos) a larva moveu sua metade anterior do corpo em movimentos alternados para cada lado do corpo durante alguns segundos, enquanto nos demais (14,7%) dos casos, ela continuou a realizar o mesmo comportamento que estava fazendo (continuando a caminhar ou permanecendo imóvel).

Logo após o término da oviposição, enquanto as fêmeas de T. brasiliensis tipicamente abandonaram a larva hospedeira, todas as fêmeas de T. drosophilae esfregaram a extremidade de seu abdomen sobre a superfície da pupa hospedeira, de modo perpendicular ao eixo longitudinal do corpo do hospedeiro e ao longo de todo o semi-círculo livre desta.

#### 4. DISCUSSÃO

Comparando-se os resultados obtidos em relação à biologia reprodutiva de Trybliographa brasiliensis (Hym.: Eucoilidae) e Trichopria drosophilae (Hym.: Diapriidae), e destes com a literatura verifica-se que a generalização de Price (1975) mostra-se correta: há uma notável convergência adaptativa das estratégias reprodutivas nos himenópteros parasitóides, pois problemas comuns a eles foram resolvidos através de estratégias similares.

Apesar das 2 espécies de himenópteros parasitóides analisados neste trabalho pertencerem a famílias e mesmo superfamílias distintas, houve uma grande semelhança geral entre os resultados obtidos da biologia reprodutiva delas. Enquanto T. brasiliensis pertence à família Eucoilidae, superfamília Cynipoidea (Nordlander, 1981), T. drosophilae pertence à família Diapriidae, superfamília Proctotrupeoidea (De Santis, 1980).

As maiores diferenças entre elas foram aquelas referentes à corte. Isto já seria de se esperar pois, segundo Mayr (1973) a corte é o mais disseminado e poderoso mecanismo de isolamento reprodutivo entre animais. Considerando que T. brasiliensis e T. drosophilae são simpátricas em Maringá (PR), de acordo com Dobzhansky et al (1977) há uma razão mais forte para esta divergência: enquanto os mecanismos de isolamento reprodutivo entre algumas espécies animais alopátricas não é tão forte, como demonstrado por experiências de laboratório em que elas são colocadas juntas ao ponto delas poderem se cruzar, entre as es-

pécies simpátricas aparentadas as diferenças no padrão de corte são suficientemente acentuadas, de modo a se constituir num mecanismo de isolamento impedindo, na maioria das vezes, que ocorra cruzamento entre elas.

Após a revisão de Nordlander (1981) Pseudeucoila brasiliensis passou a se chamar Trybliographa brasiliensis, e o nome da família a qual esta espécie pertence, que antes era denominada Cynipidae (De Santis, 1980) passou a se chamar Eucoididae. Assim sendo, o padrão de corte que estabeleci para T. brasiliensis seria idêntico ao obtido por Zim (1982) para Pseudeucoila brasiliensis. No entanto, comparando-se os resultados obtidos, verifica-se que houve diferenças nítidas entre o padrão de corte nas duas espécies assim como outras diferenças da biologia reprodutiva delas. Zim (1982) verificou que, quando a fêmea de P. brasiliensis aceita ser cortejada ela mantém suas duas antenas no mesmo plano de seu corpo, enquanto para T. brasiliensis, verificou-se neste trabalho que a fêmea demonstra receptividade para ser cortejada pela elevação de ambas as antenas para formar um ângulo de 90° com o plano de seu corpo. Zim (1982) constatou que, quando a fêmea de P. brasiliensis aceita ser copulada após a antenação, ela eleva suas 2 antenas formando um ângulo de 90° com o plano de seu corpo, enquanto neste trabalho observei que a fêmea de T. brasiliensis demonstra aceitar ser copulada com o abaixamento das antenas após a antenação, para um posição abaixo do plano de seu corpo.

Tanto Pseudeucoila brasiliensis estudada por Zim (1982) quanto T. brasiliensis analisada neste trabalho foram identificadas pelo eminente entomologista Prof. Luis De Santis como sendo pertencentes à mesma espécie. Entretanto, como o padrão de corte é "espécie-específico" e funciona como um mecanismo forte de isolamento reprodutivo (Mayr, 1973) e conside-

rando a revisão de Nordlander (1981), pode-se concluir que a espécie Trybliographa brasiliensis estudada por Zim (1982) e coletada por Crodowaldo Pavan em 1976 em São Paulo (SP) é uma espécie críptica de Trybliographa brasiliensis coletada em Maringá (PR) e analisada neste trabalho. Isto está de acordo com Zim (1982) que afirma existir para Trybliographa brasiliensis um complexo de espécies crípticas a partir da constatação do isolamento reprodutivo parcial em cruzamento de diferentes linhagens de T. brasiliensis.

Comparando-se os padrões de corte obtidos no presente trabalho com aqueles da literatura, verifica-se que há dois fatores distintos que parecem ser determinantes para a eficiência biológica deste comportamento como um mecanismo de isolamento reprodutivo entre T. brasiliensis e T. drosophilae: feromônios sexuais e o componente da corte denominado "antenação" que precede a cópula.

A definição dada por Shorey (1976) para feromônio sexual sugere que ele é espécie-específico: "são substâncias secretadas por animais de uma espécie e que causam reações comportamentais em indivíduos do sexo oposto que facilitam o acasalamento". A ausência de qualquer demonstração de comportamentos de atração e/ou tentativa de cópula nos controles intraspecíficos utilizados para os experimentos de padrão de corte e experimentos de mutilação revelaram isto. Quando se colocou junto numa cápsula um indivíduo ou parte deste como um parceiro sexual da outra espécie, não se verificou qualquer atração e/ou tentativa de cópula.

Entretanto, Crodowaldo Pavan (Comunicação pessoal, 1986) constatou que os feromônios sexuais em duas espécies crípticas do complexo Trybliographa brasiliensis não são espécie-específicos, pois as fêmeas de uma espécie atraíam e excitavam para a corte os machos da outra espécie. Mas ele verificou que as fêmeas foram sempre copuladas só por machos da mesma espécie.

As evidências experimentais disponíveis suportam a idéia de que embora os feromônios sexuais em algumas espécies sejam constituídos só por uma substância, na maioria dos casos o feromônio sexual de uma espécie é constituído por um conjunto de substâncias químicas, cada uma apresentando uma função (Shorey, 1976): atração do macho das vizinhanças, manutenção da corte pelo sexo oposto, elicitação e manutenção da postura de cópula pela fêmea e o comportamento de cópula pelo macho.

Vinson (1972) encontrou evidências de que o etil acetado extraído de fêmeas de Campoletis sonorensis (Hym.: Ichneumonidae) elicita a corte em machos. Obara & Kitano (1974) constataram que Apanteles glomeratus (Hym.: Braconidae) apresenta uma maior concentração de feromônio sexual no último segmento do abdomen da fêmea. Weseloh (1976) mostrou que em Apanteles melanoscelus (Hym.: Braconidae) o feromônio sexual é produzido pela glândula de Dufour localizado na base de oviduto. Bousch & Baerwald (1967) encontraram evidências de que fêmeas de Opius alloeus (Hym.: Braconidae) produziu um feromônio sexual para o qual os machos exibem nítido comportamento précopulatório.

Zim (1982) obteve resultados similares aos obtidos neste trabalho. Ela verificou que todas as regiões do corpo da fêmea parecem produzir feromônio sexual, embora a cabeça e o tórax elicitem uma resposta, de tentativa de cópula pelos machos, mais ativa que as outras partes.

Comparando-se a corte de T. drosophilae e T. brasiliensis entre si e com aquela obtida por Zim (1982) verifica-se que as diferenças na etapa de "antenação" são bastante nítidas. O tipo de movimento das antenas do macho e a duração da "antenação" parecem ser espécie-específico. A antenação em T. brasiliensis observada por Zim (1982) durou  $t_1 = 6,17s$  enquanto neste trabalho foi obtido para T. brasiliensis  $t_2 = 9s \pm 6s$  e para T. drosophilae  $t_3 = 1min\ 15s \pm 36s$ . Mas a distinção entre T. brasiliensis analisada por Zim (1982) e T. brasiliensis analisada neste trabalho é mais nítida sob o ponto de vista qualitativo, nos movimentos antenares dos machos e fêmeas.

Em relação a corte, de um modo geral, verifica-se que houve grande semelhança entre T. brasiliensis analisado por Zim (1982), Leptopilina heterotoma (Hym.: Eucoilidae) analisada por Assem (1969) e T. brasiliensis analisada neste trabalho. Nas 3 espécies o macho movimenta as antenas alternadamente durante a antenação, e vibração das asas durante o reconhecimento atração. Mas houve diferença entre elas no tempo de cópula: em L. heterotoma durou  $t_1 = 1$  a 3 minutos, em T. brasiliensis analisado por Zim (1982) foi de  $t_2 = 23,41s \pm 9,27s$  enquanto para T. brasiliensis neste trabalho durou  $t_3 = 53s \pm 23s$ .

A vibração das asas dos machos antes ou durante a corte parece ser atitude muito comum dentre os himenópteros. Esta atitude é bem evidente em T. brasiliensis analisada por Zim (1982) e em outras espécies por Bousch & Baerwald (1967), Grosch (1947, 1948), Vinson (1972, 1978), Miller & Tsao (1974). Neste trabalho, verificou-se que em T. brasiliensis, também há, tipi

camente, vibração das asas do macho durante a etapa de reconhecimento-atração.

Já em T. drosophilae, no presente trabalho verificou-se que os machos geralmente não vibram as asas durante a etapa de reconhecimento-atração. Matthews (1975), analisando Diastrophus nebulosus (Hym.: Eucoilidae) verificou que os machos não vibram as asas durante a corte.

O papel das antenas como elementos sinalizadores entre machos e fêmeas ficou evidente. Os experimentos de ablação total das antenas dos machos realizados neste trabalho deram resultados similares aos obtidos por Vinson (1978) e Zim (1982): os machos aparentemente ficam desorientados e não procuram as fêmeas, nem realizam a cópula. Em relação à amputação total das antenas da fêmea, os resultados obtidos neste trabalho foram similares aos obtidos por Zim (1982): as fêmeas não aceitam ser copuladas.

Em relação aos demais experimentos realizados, os resultados obtidos estão concordando bastante com o que se conhece para outras espécies de himenópteros parasitóides estudadas.

Nossos resultados sobre a especificidade de parasitismo em relação à espécie de hospedeiro e à fase de desenvolvimento do hospedeiro estão de acordo com o que se conhece para a maioria das espécies de himenópteros parasitóides até hoje analisadas (Clausen, 1972, Price, 1975, Vinson, 1976, Waage & Hassell, 1982): cada espécie geralmente só ovipõe em certas espécies de hospedeiro e em certa fase do desenvolvimento do hospedeiro.

O tempo de geração tanto de T. brasiliensis quanto de T. drosophilae mostra uma interessante convergência adaptativa. Neste trabalho verificou-se que o tempo de geração em ambas estas espécies é tal que quando os adultos do parasitóide estejam

emergindo do pupário hospedeiro, haja estágios imaturos numa idade adequada para ovipostura pelas fêmeas de ambas as espécies de parasitóides. T. drosophilae mostrou um maior tempo de geração quando criada em D. mercatorum do que quando criada em D. melanogaster ou D. simulans, revelando uma regulação no tempo de geração em função das condições do hospedeiro. Vinson & Iwantsch (1980a) mostram que inúmeras espécies de parasitóides mostram uma regulação do seu tempo de geração em função do tempo de geração e duração das fases de desenvolvimento do hospedeiro. Crodowaldo Pavan (comunicação pessoal, 1986) verificou em T. brasiliensis coletada em São Paulo, que a larva deste parasitóide se desenvolve lentamente durante a fase larval do hospedeiro, tendo um impulso de desenvolvimento acelerado na fase de pupa do hospedeiro.

A emergência de machos antes das fêmeas constatada neste trabalho, já foi estabelecida para outras espécies de parasitóides. Em Habrocytus cerealellae (Ashmead) (Hym.: Pteromalidae), a 25°C os machos emergem com 12,7 dias e as fêmeas com 13,7 dias em média (Fulton, 1933). Em Synergus pacificus (Hym.: Eucolidae) os machos emergem 2 a 3 dias antes das fêmeas (Evans, 1965). De acordo com Price (1975) na maioria das espécies de himenópteros parasitóides solitários em que se analisou o tempo necessário para a emergência dos adultos, verificou-se que os machos geralmente saem do pupário hospedeiro antes das fêmeas. Segundo ele, a explicação atualmente aceita para esta diferença entre os sexos no tempo de emergência, é para se evitar a endogamia, pois os machos emergindo antes irão eventualmente sair do sítio de emergência para procurar fêmeas para acasalar.

A ocorrência de fêmeas monândricas e machos poligínicos em T. brasiliensis e T. drosophilae está de acordo com o conhecido para a maioria dos himenópteros parasitóides estudados a respeito disto, segundo Mathews (1975).

Em relação ao tamanho da prole, os resultados contidos neste trabalho também correspondem com os da literatura a respeito. Jackson & Butler (1984) verificaram a 25°C que Bracon greeni (Hym.: Braconidae) produz uma prole com 125 indivíduos em média, e Bracon hebetor 176 indivíduos em média.

O tipo de partenogênese e a variabilidade na razão sexual obtidos neste trabalho estão de acordo com o que é conhecido para a maioria das espécies de himenópteros parasitóides, conforme Waage & Hassell (1984).

Se a larva do 1º estágio de T. drosophilae for do tipo mandibulado, como ocorre com a maioria das espécies da família Diapriidae, e a larva de T. brasiliensis for do tipo eucoiliforme, como a maioria das espécies da família Eucoilidae (Malishev, 1968, Clausen, 1972), é razoável se supor que a eliminação de T. brasiliensis por T. drosophilae seja por ataque físico da larva mandibulada na larva eucoiliforme.

Os períodos de pré-oviposição obtidos neste trabalho foram semelhantes aos obtidos para Apanteles dignus (Hym.: Braconidae), ocorrendo nos primeiros 80 minutos após a emergência (Cardona & Oatman, 1971), embora bem distintos daqueles obtidos para Itoplectes conquisitor (Hym.: Ichneumonidae) que variou de 8 a 10 dias ou para Diplostichus lophyri (Dip: Tachinidae) que foi em média de 6,5 dias (Coppel & Martins, 1977).

A obtenção nestre trabalho de fêmeas não receptivas para a corte, sendo 3% em T. brasiliensis e 7% em T. drosophilae parecer ser uma perda significativa de indivíduos. Entretanto essa alta esterilidade natural pode ter uma finalidade de produção somente de machos por estas fêmeas, cujo sentido evolutivo foge, por várias razões, ao âmbito de discussão deste trabalho.

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que os sistemas parasitóide - hospedeiro T. brasiliensis - Drosophila e T. drosophilae - Drosophila são muita úteis para a análise de vários problemas comuns aos insetos, e especificamente aos parasitóides. Vários aspectos da biologia desses dois parasitóides revelam ampla variabilidade e indicam ser regulados, requerendo análises posteriores mais profundas para cada um deles.

A ocorrência de espécies crípticas nestes parasitóides de Drosophila apresentam um campo fértil para estudos genéticos, ecológicos e evolutivos.

## 5. CONCLUSÕES

- 1) Trichopria drosophilae é parasitóide de Drosophila melanogaster, D. simulans e pode também infestar indivíduos de D. mercatorum. A oviposição de T. drosophilae se dá nas fases de pupa dos hospedeiros. Trybliographa brasiliensis é também parasitóide de D. simulans, D. melanogaster mas não de D. mercatorum, sendo que sua oviposição se dá em larvas do hospedeiro.
- 2) Nas duas espécies de parasitóides, a fêmea fecundada produz machos e fêmeas na descendência, enquanto que as fêmeas virgens embora produzam descendentes, estes são todos do sexo masculino.
- 3) A cópula só ocorre após um preparo da fêmea por uma complexa corte na qual o macho é o parceiro mais ativo. A fêmea em geral não procura o macho, é sempre procurada por ele e frequentemente pode aceitar a corte mesmo quando não esteja apta a aceitar a cópula.
- 4) As atividades sexuais em T. brasiliensis e T. drosophilae se caracteriza pela seguinte sequência de eventos: atração, reconhecimento, antenação, cópula e atividade pós-copulatória.
- 5) As atividades de corte de T. brasiliensis analisada neste trabalho apresentam nítidas diferenças principalmente na etapa de antenação, não só em relação à espécie simpátrica T. drosophilae que se utiliza de hospedeiros comuns, como também em relação à provável espécie crítica também identificada como T. brasiliensis e trabalhada por Zim(1

6) O parte masculina responsável pela procura de fêmeas para início das atividades sexuais parece ser a antena, em ambas as espécies de parasitóides. Machos mutilados de ambas as antenas não reage às fêmeas, mesmo quando estas entram em contato, ao acaso, com eles. Os machos quando amputados de uma só das duas antenas, procura a fêmea, corteja-a e pode mesmo efetivar a cópula.

7) As antenas são partes importantes da fêmea com relação às atividades sexuais. Uma fêmea amputada das duas antenas pode permitir a corte, mas não permite a cópula.

8) Embora a cópula seja aceita ou não pela fêmea e se segue obrigatoriamente à corte executada pelo macho, uma fêmea fecundada pode aceitar nova corte sem com isso permitir nova cópula.

9) Nas populações de T. brasiliensis e T. drosophilae existe uma determinada frequência de fêmeas (3% e 7% respectivamente em nossa amostra) que embora aparentemente sejam normais e ativas em relação a outras características, não aceitam a corte e nem permitem a cópula.

10) Em condições experimentais equivalentes, T. brasiliensis tem eficiência de 19,42% em parasitar D. melanogaster e 18,57% em D. simulans enquanto que os valores correspondentes para T. drosophilae são 17,36% e 23,22%. Estes valores não são significativamente diferentes. Diferenças significativas foram encontradas entre as percentagens médias de parasitismo de T. drosophilae quando testadas em três linhagens de D. mercatorum.

11) Há um período de pré-oviposição tanto em T. brasiliensis quanto em T. drosophilae.

12) As antenas dos machos, nas duas espécies aqui testadas, parece ter uma função olfativa (atração pelos ferormônios) e tátil no processo de antenação, que se faz reconhecer pelas fêmeas da mesma espécie. Nas fêmeas as antenas parecem ter uma função tátil no reconhecimento da antenação executada pelo macho da mesma espécie, mas parece ter uma função olfativa para o reconhecimento do hospedeiro.

13) A oviposição de T. drosophilae é mais rápida do que de T. brasiliensis.

14) Normalmente ocorre superparasitismo de T. brasiliensis ou T. drosophilae em Drosophila melanogaster ou D. simulans, mas entre 6 e 7 dias após a primeira oviposição os parasitóides supranumerários não são mais encontrados, restando sempre após 7 dias uma só larva de T. brasiliensis ou T. drosophilae por hospedeiro. De uma cápsula pupal de Drosophila parasitada, sempre emerge um só parasitóide.

15) Na maioria das vezes, quando em competição, T. drosophilae foi capaz de eliminar T. brasiliensis, independente do hospedeiro utilizado ser D. melanogaster ou D. simulans.

16) O tempo médio de geração de T. brasiliensis ou T. drosophilae, quando criadas em D. melanogaster ou D. simulans é de cerca de 21 dias, sendo que os machos emergem cerca de um dia antes das fêmeas. O tempo médio de geração de T. drosophilae quando criada em D. mercatorum é de cerca de 25 dias, sendo que os machos emergem cerca de um dia e meio antes das fêmeas.

17) Em condições experimentais equivalentes, o tamanho médio de prole

de fêmeas fecundadas é de 68,11 indivíduos para T. brasiliensis e de 149,00 indivíduos para T. drosophilae, com uma diferença significativa entre elas. Os tamanhos médios de prole de fêmeas virgens também apresentaram uma diferença significativa, sendo: 123,35 machos para T. brasiliensis e de 52,00 machos para T. drosophilae. Tanto em T. brasiliensis quanto em T. drosophilae houve uma diferença significativa entre os tamanhos de prole de fêmeas fecundadas e fêmeas virgens.

18) A razão sexual tanto em T. brasiliensis quanto em T. drosophilae apresenta ampla variação, podendo ser igual ou diferente de um para um.

## 6. RESUMO

Foram analisadas várias características biológicas de T. brasiliensis e T. drosophilae, duas espécies de microhimenópteros parasitóides de Drosophila. Na análise das várias atividades destes parasitóides durante a corte, verificou-se que o processo é complexo e pode mesmo servir de base para manter o isolamento sexual entre espécies. A atração do macho pela fêmea está relacionada com substâncias químicas atrativas e excitantes (feromônios) que estão distribuídas de forma diferencial nas várias partes do corpo da fêmea. Estes feromônios não são produzidos pelos machos e sua presença nas fêmeas parece ser detectada pelas antenas dos machos da mesma espécie. É a fêmea quem decide se aceita ou não ser copulada, sendo que ela demonstra ter aceitado ao abrir sua genitália. A fêmea pode permitir a corte, mas não necessariamente aceita ser copulada. A fêmea só permite uma cópula, embora possa aceitar múltiplas cortes. A especificidade dos microhimenópteros em relação às espécies de Drosophila é relativa, pois espécies taxonomicamente próximas podem ser parasitadas pela mesma espécie de microhimenóptero. Quando isto ocorre, o tempo de desenvolvimento do parasitóide no corpo do hospedeiro está relacionado com o tempo do ciclo vital deste. Quanto mais longo for o tempo de desenvolvimento do hospedeiro, mais longo torna-se o tempo de desenvolvimento do parasitóide. É tentada uma explicação para esta correlação.

A oviposição do microhimenóptero nos casos estudados se dá em larvas ou pupas de Drosophila, em nenhum caso deu-se

nas duas fases. A oviposição em geral é múltipla, mas apenas um microhimenóptero se desenvolve. As larvas derivadas dos ovos extra introduzidos no hospedeiro abortam. Há uma diferença significativa no número de descendentes de T. drosophilae e T. brasiliensis. Para as condições experimentais estabelecidas, a razão sexual média em T. brasiliensis é de 1,29 machos:1 fêmea, enquanto que em T. drosophilae é de 3,23 machos : 1 fêmea.

## 7. SUMMARY

It has analysed several biological features of Trybliographa brasiliensis (Hymenoptera: Eucoilidae) and Trichopria drosophilae (Hymenoptera: Diapriidae), two species of parasitoids of Drosophila. In the analysis of the several activities of these parasitoids during the courtship, it was verified that the process is complex and also can serve as a basis for the sexual isolation between species. The attraction of male to female is related to attractive and exciting chemical substances (pheromone), that are distributed at a distinctive way along the several parts of the female body. These pheromones are not produced by males and its presence in females seems to be detected by the antennae of males of the same specie. It is the female who decides if accept or no be copulated, and the female demonstrated the acceptance by opening its genitalia. The female may permite the courtship, but no necessarily accept be copulated. The female only permit one copula, although may accept several courtship. The specificity of the microhimenoptera in relation to the species of Drosophila is relative, because taxonomicaly close species may be parasitized by the same of microhimenoptera. When this occur, the time of development of the parasitoid in the host body is related to the time of the vital cicle of it. The longer the time of development of the

host, longer will be the time of development of the parasitoid. A tentative explanation of this correlation is attempt.

The oviposition of the microhimenoptera in the studied cases occur in larvae and pupae of *Drosophila*, and in none of them have occurred in both phases. The oviposition generally is multipla, but only one microhimenoptera develops itself. The larvae derivated from the extra eggs introduced in the host, are aborted. There is one significant difference between the prole of T. brasiliensis and T. drosophilae. The sex ratio is variable and may be or no equal of one to one.

## 8. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, G. S. S., ALMEIDA, M. C. C., VERÍSSIMO, S. M., SOUZA, C.L. & ALMEIDA Jr., J. (1986) Parasitismo de Euexorista brasiliensis (Diptera: Tachinidae) em Danaus (Danaus) erippus (Cramer, 1775) (Lepidoptera, Nymphalidae) e como um novo inimigo natural em Danus (Anosia) gilippus (Cramer 1775) (Lepidoptera, Nymphalidae). Ciência e Cultura, 38(9): 1594-1596.
- ANONYMOUS (1980) Biological Control Service. 25 Years of Achievement. Slough, Commonwealth Agricultural Bureaux.
- ARTHUR, A. P. & EWEN, A. B. (1975) Cuticular encystement: a unique and effective defense reaction by cabbage looper larvae against parasitism by Banchus flavescens (Hym: Ichneumonidae). Ann. Ent. Soc. Am., 68:1091-1094.
- ARTHUR A. P. & MASON, P. G. (1986). The life history and immature stages of Banchus flavescens (Hym.: Ichneumonidae) a parasitoid of the bertha armyworm, Mamestra configurata (Lep.: Noctuidae) in western Canada. Can. Ent., 117: 1249-1255.
- ASSEM, J. van den (1969) Reproductive behavior of Pseudeucoila bochei I. - A description of courtship behaviour - Neth. J. Zool., 19: 641-648.
- ASSEM, J. van den (1970) Courtship and mating of Lariophagus distinguendus (Forst.) Kurdj. (Hymenoptera: Pteromalidae) Neth. J. Zool., 20: 329-352.
- ASSEM, J. van den (1974). Male courtship patterns and female receptivity signal of Pteromalinae (Hym: Pteromalidae) with a consideration of some evolutionary trends on a comment on the taxonomic position of Pachycrepodeous vindemiae Neth. J. Zool., 24:253-278.

- AZEREDO-ESPIN, A. M. L., SILVEIRA, G. A. R. & PAVAN, C. (1985) Prasiatóides (Hymenoptera: Chalcidoidea) de Cochlyomyia hominivorax (Diptera: Calliphoridae) Ciência e Cultura, 37(5): 826-827.
- BARASS, R. (1960). The courtship behavior of Mormoniella vitripennis Walk. (Hymenoptera: Pteromalidae). Behaviour, 15: 185-209.
- BARASS (1961). A quantitative study of the behaviour of the male Mormoniella vitripennis (Walker) (Hymenoptera): Pteromalidae) (towards two constant stimulus situations. Behaviour, 18: 288-311.
- BEIRNE, B. P. (1980). Biological: benefits and opportunities. In: Perpectives in Word Agriculture. Slough, Commonwealth Agricultural Bureaux, pp: 307-321.
- BERNARD, F. (1951) In: Berland, L & Bernard, F. Hymenoptères vespiforms, III. Faune Fr., 34: 135-153.
- BIEMONT, C. & BOULETREAU, M. (1980) Hibridization and inbreeding effects on genome coadaptation in a haplo-diploid Hymenoptera: Cothonaspis boulandi (Eucoilidae). Experientia, 36: 45-46.
- BORROR, D. J., DELONG, D. M. & TRIPLEHORN, C. A. (1976). An Intruduction to the Study of Insects. 4 ed. New York, Holt, Rinehart and Winston.
- BOSCH, R. van den & HARAMOTO, F. H. (1953) Competition among parasites of the Oriental Fruit Fly. Proc. Hawaii. Ent. Soc., 15: 201-206.
- BOSCH, R. vanden & MESSENGER, P. S. (1973) Biological Control. New York, Intex Education Publishers.
- BROWN, A. W. A. (1968). Inseticide resistance comes of age. Bull. Ent. Soc. Am., 14: 3-9.
- BRUNO, T. V. & GUIMARÃES, J. H. (1986) Dípteros sinantrópicos que se desenvolvem em aviários no Estado de São Paulo e seus parasitóides. Res. XII Cong. Brasil. Zool., p. 90.

- BUCHERL, W. (1965). Técnica microscópica. São Paulo, Polígono, 171p.
- CARDONA, C. & OATMAN, E. R. (1971) Biology of Apanteles dignus (Hym.: Braconidae), a primary parasite of the tomato pinworm. Ann. Entomol. Soc. Am., 64: 996-1007.
- CARTHY, J. D. (1967) The Study of Behaviour. London, Edward, Arnold.
- CASSIDY, J. D. (1974). The parasitoid wasps Habrobacon and Mormoniella. In: Insects of Genetic Interest. Vol. 3 R. C. King, ed., Plenum Press, New York, pp: 173-203.
- CHACKO, M.J. (1969). The phenomenon of superparasitism in Trichogramma evansens minutum. Riley-I. Beitr. Ent., 19: 617-635.
- CLAUSEN, C. P. (1972). Entomophagous insects. New York, Hafner Publ. Co, 688 pp.
- COLLINS, R. D. & GRAFIUS, E. (1986) Biology and life cycle of Anaphes sordidatus (Hym: Mymaridae), an egg parasitoid of the carrot weevil (Coleoptera: Curculionidae) Environ. Entomol., 15: 100-105.
- COPPEL, M.C. & MARTINS, J.W. (1977). Biological Insect Pest Suppression. Berlin, Spring-Verlag.
- COSTA LIMA, A.M. (1948). Entomofagos sul americanos (parasitos e predadores) de insetos nocivos a agricultura. Bol. Soc. Brasil. Agron., 11(1) 21-32.
- COSTA LIMA, A. M. (1962). Insetos do Brasil. 129 Tomo, 2ª parte. Rio de Janeiro, Escola Nacional de Agronomia.
- CROZIER, R.H. (1977). Evolutionary Genetics of Hymenoptera. Ann. Rev. Entomol., 22: 263-288.
- CRUZ-LANDIM, C. (1984). Haplodiplidia em Hymenoptera. Rev. Brasil. Gen., 7(3): 433-449.
- DE LUCCHI, V. L., ed. (1977). Studies in biological control. Cambridge Univ. Press.

- DE SANTIS, L. (1980). Catálogo de los himenópteros brasileños de la Série Parasitica. Curitiba, Ed., da UFPr, 395 p.
- DETHIER, V. G. & STELLAR, E. (1970). Animal Behaviour. New Jersey, Prentice Hall.
- DOBZHANSKY, T. AYALA, F. J., STEBBINS, P. & VALENTINE, M. (1977) Evolution. New York, Academic Press.
- DOUTT, R. L. (1959) The biology fo parasitic hymenoptera. Ann. Rev. Entomol., 4: 161-182.
- EIJACKERS, H. J. P. & BAKKER, K. (1971). Elimination by physical attack of supernumerary larvae of Pseudeucoila bochei Weld (Cynipidae) in their host, larvae of Drosophila. Neth. J. Zool., 21(2): 205-207.
- EPAMIG (1983). Controle Biológico de Pragas. Informe Agropecuário, 9 (104): 1-60
- EVANS, D. (1965). The life history and imature stages of Synergus pacificus (Hymenoptera: Cynipidae). Can. Ent., 97: 185-188..
- FERREIRA, A. B.H. (1975). Novo Dicionário da Língua Portuguesa. Nova Fronteira, Rio de Janeiro, 1499p.
- FINK, D.E. (1926). The biology Of Macrocentus anchyvora Rohwer, an important parasite of the strawberry leaf roller (Ancylus comptans Foehl). L.J. Agric. Res., 32: 1121-1134 .
- FIRTEL, R. A. & SAUL II, G. B. (1967). Characteristics of phenol oxidases in Mormoniella vitripennis (Walker) J. Insect Physiol., 13: 1197-1206.
- FREIRE-MAIA, N. & PAVAN, C. (1949). Introdução ao Estudo da Drosophila. Cultus, 1(5): 1-71.
- FULTON, B. B. (1933). Notes on Habrocytus cerealella, parasite of the angoumus grain moth. Ann. Ent. Soc. Am., 26: 536-553.
- GEORGHIOU, G. P. (1980). Inseticide resistance and propects for its management Residue Rev., 76: 131-145.

- GROSCH, D. S. (1947). The importance of antennae in the mating reaction of male Habrobracon. J. Comp. Physiol. Psychol., 40.
- GROSCH, D. S. (1948). Experimental studies on the mating reaction of male Habrobracon. Comp. Physiol. Psychol., 41: 188.
- GUIMARÃES, J. H. & SANTOS, A. M. M. (1986) Ocorrência de ácaros predadores de Mosca doméstica em aviários no Estado de São Paulo e seu potencial como agente de controle biológico. Res. XIII Cong. Brasil. Zool., p. 86.
- HALL, R. W., EHLER, L. E. & BISABRI-ERSHADI, B. (1980). Rate of success in classical biological control of arthropods. Bull Entom. Soc. Amer., 26: 111.
- HARTL, D. L. (1972). A fundamental theorem of natural selection for sex linkage or arrenotoky. Am. Nat., 106: 516-524.
- HASSEL, M. P. & Waage, J. K. (1984). Host parasitoid population interactions Ann. Rev. Entomol., 29: 89-114.
- HERMANN, L. D., HERMANN, H. R. & MATTHEWS; R. W. (1974). A possible calling pheromone in Mellitobia chalybii (Hym. Eulophidae). J. Georgia Entomol. Soc., 9: 17.
- HOELSCHER, C. E. & VINSON, S. B. (1971). The Sex ratio of a Hymenopterous parasite and Campoletis perdinctus, as affected by photoperiod mating and temperature. Ann. Entomol. Soc. Am., 64: 1373-1376.
- HOKKANEN, H. M. T. (1985). Success in Classical biological control. C.R.C. Critical Reviews in Plants Sciences, 3(1):35-72.
- HOY, M. (1976). Establishment of gypsy moth parasitoids in North America: an evaluation of possible reasons for establishment or non-establishment. In: Perspectives in Forest Entomology J. F. Anderson & H. K. Kaya, eds., New York. Academic Press, pp: 215-232.
- HUFFAKER, C. B. & MESSENGER, P. S. (1964). The concept and significance of natural control. In: Biological Control of Inset Pests and Weeds. P. De Bach, ed., Reinhold New York, pp: 74-117.

- HUFFAKER, C. B., MESSENGER, P. S. & DE BACH, P. (1971). The natural enemy component in natural control and the theory of biological control. In: Biological Control. C. B. Huffaker, ed., Plenum, New York, pp: 16-67.
- HUFFAKER, C. B. & MESSENGER, P. S. (1976). Theory and Practice of Biological Control. New York, Academic Press, 788 p.
- INPM (1971). Sistema Internacional de Unidades, Ministério da Indústria e do Comércio, Instituto Nacional de Pesos e Medidas, 50p.
- JACKSON, C. G. & BUTLER, G. D., Jr. (1984). Development Time of three species of Bracon (Hym.: Braconidae) on the pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae) in relation to temperature. Ann. Entomol. Soc. Am., 77: 539-542.
- JENNI, W. (1947). Beziehung Zwischen Geschlechtsverhältniss und Parasiterungsgrad einer in Drosophilalarven schmarotzenden Gallwespe (Eucoila sp.) Revue Suisse de Zoologie, 54(10): 252-258.
- KOCHETOVA, N. I. (1978). Factors determining the sex ration in some entomophagous Hymenoptera. Entomological Review, 60: 1-5.
- LÁZZARI, S. N. & LÁZZARI, F. A. (1985). Ocorrência de Pseudaletia sequax Franchemont, 1951 (Lepidoptera, Noctuidae) e seus inimigos naturais em cevada (Hordeum sp) no Paraná, Anais Soc. Entomol. Brasil, 14(1): 59-66.
- MACKAUER, M. (1976). Genetic problems in the production of biological control agents. Ann.Rev. Entomol., 21: 369-385.
- MADEIRA, N. G. (1986). Razão sexual e eficiência do parasitóide Nasonia vitripennis (Hymenoptera) em diferentes densidades da mosca Chrysomya albiceps (Diptera). Res. XII Cong. Brasil Zool., p. 88.
- MALYSHEV, S. I. (1968). Genesis of the Hymenoptera. London, Methuen & Co., 304 p.

- MARSDEN, F. S., MARTIN, G. E., PARNHAM, D. J., SMITH, T. J. & JOHNTON, B. J. (1980). Returns on Australian Agricultural Research. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization.
- MATTHEWS, R. W. (1974). Biology of Braconidae. Ann. Rev. Entomol., 19: 15-32.
- MATTHEWS, R. W. (1975). Courtship in Parasitic Wasps. In: Evolutionary Strategies of Parasitic Insects and Mites. P. W. Price, ed., New York, Plenum, pp: 67-86.
- MAYR, E. (1970). Populations, Species and Evolution. Massachusetts, Harvard University Press, 485p.
- MAYR, E. (1973). Animal Species and Evolution. Massachusetts, Harvard University Press, 797 p.
- MAY, R. M. & HASSELL, M. P. (1981). The Dynamics of multiparasitoid-host interactions. Am. Nat., 117(3):234-261,
- Mc FARLAND, D. (1981). The Oxford Companion to Animal Behaviour. New York, Oxford University Press, 1567p.
- MELTON, C. W. & BROWING, H. W. (1986). Life history and Reproductive Biology of Allorhogas pyralophagus (Hym.: Braconidae) a parasite imported for release against Eoreuma loftini (Lep: Pyralidae). Ann. Entomol. Soc. Am., 79:402-406.
- MEYER-GRASSUNANN, A. (1967). Drosophila und Pseudeucoila V: Beitrage zur Parasitierungsbiologie von Pseudeucoila bochei Weld (Cynipidae, Hymenoptera) und Bericht über zwei neue Mutanten. Revue Suisse de Zoologie, 74(8): 409-437.
- MILLER, M. C. & TSAO, C. H. (1974). Significance of wing vibration in male Nasonia vitripennis (Hym.: Pteromalidae) during courtship. Ann. Ent. Soc. Am., 67: 772-774.
- NARAYANAN, E. S. & RAO, B. R. S. (1960). Super-multi- and hyperparasitism and their effect on the biological control of insect pests. Proc. Nat. Inst. Sc. India, Part B, 26: 257-280.

- NORDLANDER, G. (198). A review of the genus Trybliographa Förster, 1869 (Hymenoptera, Cynipoidea: Eucolidae) Entomologica Scandinavica, 12: 381-402.
- OBARA, M. & KITANO, H. (1974). Studies on the courtship behavior of Apanteles glomeratus. I. Experimental studies on relaser of wing-vibrating behaviour in the male. Kontyu, 42: 208-214.
- OLIVEIRA, N. (1967). Iniciação à Pesquisa Genética em Drosófila. Rio de Janeiro, Serviço de Informação Agrícola do Ministério de Agricultura, 31p.
- PARKER, H. L. (1931). Macrocentrus gifuensis Ashmead, a polyembriomic braco id parasite in Europeau corn borer. USDA Tech. Bull., 230. 62p.
- PASCHOAL, A. D. (1978). Ecologia de populações e manejo integrado de pragas: estratégias para o presente e futuro. Ciência e Cultura, 30 (5): 543-548.
- PATTON, S. CRAIG, I. & CONWAG, G. R. (1980) Inseticide and acaricide resistance In: Pesticide Resistance and World Food Production. G. R. Conway, ed. London, Imperial College Centre for Enviromental Technology Serie E. nº 2, pp: 14-28.
- PAVAN, C. & STUNKEL, T.P. (1982). Microhimenoptera parasito de Drosophila. Ciência e Cultura, 34(7), Supl. 717.
- PIMENTEL, D. (1965). Restoring the quality of our environment In: President's Science Advisory Commitee. The White House, Washington.
- PRICE, P. W. (1975). The panasitic way of life and its consequences. In: Evolutionary Strategies of Parasitic Insects and Mites. P. W. Price, ed., New York, Plenum Press, pp. 1-13.
- RAO, S. V. & De BACH P. (1969). Experimental studies on hibridization and sexual isolation between some Aphytis species (Hymenoptera: Aphelinidae) I - Experimental hibridization and interpretation of evolutionary relationships among the species. Hilgardia, 39: 515-554.

- RENESTO, E. (1979). Efeitos do Cronossomo X em Populações Experimentais de Drosophila melanogaster. Tese de Doutorado. Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina, USP, 141p.
- REUTER, O. M. (1913). Lebensgewohnheiten und Instinkte den Insekten bis zum Erwachen der Sozialoen Instinkte. Friedlande, Berlin, 448 pp.
- SALT G. (1961). Competition among insect parasitoid. Symp. Soc. Exp. Biol., 15: 96-119.
- SAMIS, H. V. BAIRD, M. B. & LINTS, F. A. (1973) Life span and temperature: insects. In: Biology Data Book, 2<sup>o</sup> ed., vol. 2 p. L. Altman & D. S. Dittmer, eds. Federation of the American Society of Experimental Biology Washington.
- SHNEIDERMAN, H. A. & HORWITZ, J. (1958). The induction and Termination of facultative diapause in the chalcidoid wasps Mormoniella vitripennis (Walker) and Tritneptis klugii (Ratzburg). J. Exp. Biol., 35: 520-551.
- SHOREY, H. H. (1976) Animal Communication by pheromones. New York Academic Press.
- SHOREY, H. H., LYLE K., GASTON, K. & JEFFERSON, R. N. (1968) Insect sex pheromones. In: Advances in pest controle research. vol. 8 New York, pp: 57-126.
- SMITH, H. S. (1916). An attempt to redefine the host relationship, exhibited by entomophagous insects. J. Econ. Entomol., 9: 477-486.
- SMITH, J. D. & GOYER, R. A. (1985). Rates of parasitism and sex ratio of Ablerus clisiocampae and Ooencyrtus clisiocampae egg parasites of the forest tent caterpillar Malacosoma disstria in Southern Lousiana. J. Entomol. Sci., 20(2): 189-193.
- SOUTHWOOD, T.R. E. (1966). Ecological Methods. London, Chapman and Hall.
- STECK, G. L., GILSTRAP, F. E., WAHRTON, R. A. & HART, W. G. (1986). Braconid parasitoids of tephritidae (Diptera) infesting coffee and other fruits in west-central Africa. Entomophaga, 31(11). 59-67.

- STEEL, R. F. D. & TORRIE, J. H. (1960). Principles and Procedures of Statistics: with special reference to the biological sciences, New York, Mac Graw-Hill, 481 p.
- TURNOCK; W. J. & BILODEAU, R. J. (1984) Survival of pupae of Mamestra configurata (Lep: Noctuidae) and two of its parasites in untilled and tilled soil. Can. Ent., 116: 257-267.
- VEERKAMP, F. A. (1982). Genetic variation in the pattern of initial oviposition behavior of Leptopilina heterotoma Thounson (= Pseudeucoila bochei weld), a parasite of Drosophila melanogaster. Neth. J. Zool., 32(1): 88-107.
- VIKTOROV, G. A. (1976). The Ecology of Entomophagous Parasites. Moscou, Izdale'stvo Nauka. (em russo).
- VINSON, S. B. (1976) Host selection by insect parasitoids. Ann. Rev. Entomol. 21: 109-133.
- VINSON, S. B. (1976) Host selection by insect parasitoids. Ann. Rev. Entomol., 21: 109-133.
- VINSON, S. B. (1978). Courtship behavior and source of sexual pheromone from Cardiochiles nigriceps. Ann. Ent. Soc. Am., 71(6): 832-837.
- VINSON, S. B. & IWANTSCH, G. F. (1980a) Host regulation by insect parasitoids. Quart. Rev. Biol., 55: 143-165.
- VINSON, S. B. & IWANTSCH, G. F. (1980b). Host suitability for insect parasitoids. Ann. Rev. Entomol., 25: 397-419.
- WAAGE, J. K. (1982) Sex-ratio and population dynamics of natural enemies-some possible interactions. Ann. Appl. Biol., 101: 159-164.
- WAAGE, J. K. & HASSELL, M. P. (1982) Parasitoids as biological control agents-a fundamental approach. Parasitology, 84: 241-268.
- WESELOH, R. M. (1976) Duffour's Gland: Source of sex pheromene in a hymenopterous parasitoid. Science, 193: 695-697.

- WESELOH, R. M (1977) Mating behavior of the gypsy moth parasite, Apanteles melanoscelus. Ann. Entomol. Soc. Am., 70:40: 549-554.
- WEST, L. S. & PETERS, O. B. (1973) An annotated bibliography of Musca domestica. Marquette, Northern Michigan Univ.
- WHITTING, P. W. (1923) Reproductive reactions of sex mosaics parasitic wasp Habrobacon juglandis. J. Comp. Psychol., 14: 345-363.
- ZAR, J. H. (1974). Biostatistical Analysis. New Jersey, Prentice Hall, 354 pp.
- ZIM, M. N. S, (1982). Biologia de Pseudeucoila brasiliensis (Hymenoptera: Cynipidae) microhimenóptero parasito de Drosophila. Dissertação de Mestrado. São Paulo, Instituto de Biociência, USP, 72 p.