

## Esclarecimiento de la identidad taxonómica de algunos registros cubanos de *Trichogramma* Westwood (Hym.: Trichogrammatidae)

J. RODRÍGUEZ, B. PINTUREAU y M. GALÁN

En América cuatro especies de *Trichogramma* Westwood presentan gran similitud morfológica: *T. pretiosum* Riley, *T. pintureaui* Rodríguez y Galán, *T. sudhae* Torre y *T. deion* Pinto y Oatman; las tres primeras constituyen registros para Cuba. Una serie de cruzamientos entre *T. pretiosum*, *T. pintureaui* y *T. deion* que pertenecen a cultivos fundados a partir de material colectado en la Isla y procedente del continente permitió mostrar que existe aislamiento reproductivo entre estas especies. Un cultivo de *T. pretiosum* fundado a partir del material colectado en la región occidental de Cuba presentó individuos telitocos. El estudio morfométrico (Análisis Factorial Discriminante) y morfológico de los individuos de algunos cultivos, así como de los ejemplares que restan de la serie original utilizada para la descripción de *T. sudhae* permitió establecer la validez de *T. pintureaui* y proponer a *T. sudhae* como un nuevo sinónimo de *T. pretiosum*. El análisis de las esterasas y superóxido dismutasas mostró diferencias entre *T. pretiosum*, *T. pintureaui* y *T. deion* para los loci Est 1, Est 2 y Est 5'. Estos resultados presentaron interés taxonómico en la identificación de las especies. Las semejanzas morfológicas entre dos especies simpátricas *T. pretiosum* y *T. pintureaui* permitió establecer su condición de dualspecies.

J. RODRÍGUEZ, M. GALÁN. Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar de Cuba, Ave Van Troi 17 203, Apdo. 6070, Boyeros, C. Habana, Cuba.

B. PINTUREAU. INSA, UA INRA 203, Biologie 406, 20 avenue A. Einstein, 69 621 Villeurbanne-cedex, Francia.

**Palabras Claves:** *Trichogramma*, registros cubanos, cruzamientos, morfometría, estudio enzimático, dualspecies.

### INTRODUCCIÓN

Los Tricogramas son pequeños, himenópteros parasitoides de huevos de insectos, fundamentalmente, lepidópteros. *Trichogramma* Westwood agrupa unas 160 especies (PINTO, 1992), de las cuales una parte están presentes en América. La sistemática de estos insectos resulta compleja debido a su pequeño tamaño y a la uniformidad morfológica que presentan (PINTUREAU, 1987). En Cuba, los primeros trabajos sobre la sistemática del género se inician en 1970 por Torre, quien en 1980 reporta tres nuevas

especies y una "variedad". Posteriormente, RODRÍGUEZ Y GALÁN (1991a, 1993) y GALÁN Y RODRÍGUEZ (1991a) realizan el registro de *T. pretiosum* RILEY y *T. rojasi* NAGARAJA y NAGARKATTI y describen una nueva especie, *T. pintureaui* RODRÍGUEZ Y GALÁN.

Cuatro especies descritas para América poseen gran similitud morfológica: *T. pretiosum*, *T. pintureaui*, *T. sudhae* TORRE y *T. deion* PINTO y OATMAN, las tres primeras reportadas para Cuba. *Trichogramma deion* está presente solamente en los Estados Unidos (PINTO *et al.*, 1986). Hasta la fecha,

no habían sido realizados los cruces entre cultivos de *T. pretiosum* y *T. deion* fundados a partir de material colectado en Cuba y de material procedente del continente, lo que ayudaría a establecer la validez de los registros cubanos.

El presente estudio tiene como objetivos valorar el registro de *T. pretiosum* para Cuba, y establecer la validez de *T. pintureaui* y de *T. sudhae*.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Material biológico utilizado.** Se consideraron seis cultivos de *Trichogramma* que pertenecen a tres especies. *Trichogramma pretiosum*: cultivo 9, colectado en huevos de *Mocis latipes* Guenée (Lep.: Noctuidae) en King Grass, localidad "Valle del Perú", Provincia de La Habana, Cuba; cultivo 100 procedente de California, Estados Unidos, y cultivo 103 procedente de Perú, suministrados por M. de Araujo, Centro de Introducción y Cría de Insectos Útiles (C.I.C.I.U.), Perú. *Trichogramma pintureaui*: cultivo 8, colectado en huevos de un Lepidóptero no identificado en *Manihot esculenta* Krantz, localidad Quivicán, Provincia de La Habana; cultivo 101, colectado en huevos de *Erinnyis ello* (L.) (Lep.: Sphingidae) en *M. esculenta*, localidad Guane, Provincia Pinar del Río, Cuba. *Trichogramma deion*: cultivo D, procedente de California, Estados Unidos, suministrado por J. D. Pinto, Universidad de California, Riverside, Estados Unidos.

**Reproducción del material biológico.** Todos los cultivos de *Trichogramma* mencionados se criaron en un huésped alternativo, *Corcyra cephalonica* (Stn.) o *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep.: Pyralidae), a 25°C, 60-70 % H.R. y 8:16 horas de luz:oscuridad. Como alimento se utilizó miel diluida.

**Cruzamientos experimentales.** Se aislaron separadamente en tubos de ensayo suficientes huevos de *C. cephalonica* (o *E.*

*kuehniella*) parasitados por los individuos de cada cultivo. Una vez emergidos los Tricogramas y sexados, se realizaron los apareamientos en parejas individuales considerándose ambas direcciones del cruce: macho del cultivo A x hembra del cultivo B y viceversa. En cada tubo de ensayo correspondiente a cada pareja se colocó una placa de cartulina (0,5 x 3,0 cm) con huevos del huésped en cantidad suficiente (al menos 250 huevos por pareja) y una gota de miel diluida como alimento. Las condiciones establecidas para los cruces fueron semejantes a las utilizadas para la reproducción de los cultivos. Entre el séptimo y el octavo días fueron retirados los progenitores y con posterioridad a la emergencia de los Tricogramas, se contó y sexó la progenie F1. Se consideró la descendencia de al menos 20 parejas por cada cruce programado y se calcularon los valores promedios y la desviación típica del número de individuos obtenidos por pareja. En todos los casos se programaron al unísono los cruces testigos correspondientes. Se estudió además la descendencia partenogenética de las hembras vírgenes para conocer las características reproductivas de las especies.

**Caracterización morfológica y morfométrica.** Aunque TORRE (1980) reporta la existencia de algunos paratipos de *T. sudhae* depositados en la colección del Instituto de Zoología de la Academia de Ciencias de Cuba (actual Instituto de Ecología y Sistemática), este material no se encuentra en la colección. Se consultó, por tanto, el material disponible conservado en el Departamento de Zoología de la Facultad de Biología de la Universidad de La Habana, material utilizado para la descripción original de la especie según el autor (quien señala un holotipo no encontrado). Se examinaron los siguientes ejemplares (la numeración corresponde al autor, S. de la Torre, y aparece en las preparaciones microscópicas):

– un ejemplar macho número 249, prácticamente destruido y en pésimas condiciones; no fue posible realizar mediciones aun-

que sí establecer el número y distribución de los sensilios basicónicos en el flagelo (PINTO *et al.*, 1986) y realizar observaciones sobre las características de algunas estructuras en los genitales;

– ocho ejemplares hembras, dos en la misma preparación numerada 239, señalados como paratipos procedentes de Guantánamo, y seis ejemplares sin numerar (dos en cada preparación) procedentes de Punta Brava, Provincia de La Habana, de los cuales cinco están en buenas condiciones de conservación.

Se seleccionaron al azar 40 ejemplares hembras de los cultivos 8 (*T. pintureaui*) y 9 (*T. pretiosum*) reproducidos sobre *C. cephalonica*, los que fueron clarificados en ácido acético glacial y montados en portaobjetos con Líquido For (TORRE, 1980). Se realizó la medición de los mismos y de los sintipos de *T. sudhae* en el microscopio con la ayuda de un ocular micrométrico. Se consideraron 21 variables correspondientes al ala anterior, pata posterior y genitales (RUSSO y PINTUREAU, 1981; GALÁN Y RODRÍGUEZ, 1991b):

– ala anterior - largo (LAA), ancho (AAA) y longitud de la mayor seta del fleco (LMSF);

– pata posterior - largo (LC) y ancho (AC) de la coxa, largo (LF) y ancho (AF) del fémur, largo de la tibia hasta la espina (L1 T) y largo de la tibia hasta el ápice (L2T), ancho de la tibia (AT) y longitudes del primero, segundo y tercer artículos del tarso (LT1, LT2 y LT3);

– antena - largo (LE) y ancho (AE) del escapo y largo (LFL) y ancho (AFL) del flagelo;

– genitales - largo (LTA) y ancho (ATA) de la barrena, longitud de la placa genital (LP) y longitud del ovipositor (LO).

El diseño de los genitales y antenas donde se muestran las variables consideradas aparece en un trabajo preliminar (GALÁN Y RODRÍGUEZ, 1991b). El procesamiento de los resultados se realizó con la ayuda de un Análisis Factorial Discriminante (A.F.D.), quien maximiza la varianza entre grupos

(BENZECRI, 1980). Se estableció el grado de semejanza entre los cultivos 8, 9 y los sintipos de *T. sudhae* a través de la Distancia de Mahalanobis,  $D^2$  (MAHALANOBIS, 1936), y se determinaron los caracteres con mayor poder discriminante tomando en consideración el porcentaje de varianza explicado por cada componente y el valor del coeficiente de cada variable en el vector propio. Solamente se considerarán importantes las variables cuyos coeficientes sean superiores a la mitad del mayor valor del coeficiente obtenido en cada vector propio.

**Caracterización bioquímica.** Se consideraron dos sistemas isoenzimáticos, esterasas (Est) y tetrazolium oxidasas (o superóxido dismutasas) (TO). La técnica de electroforesis utilizada corresponde a la descrita por PINTUREAU (1987, 1993).

En la mayoría de los casos cada muestra consistió en la maceración in toto de al menos 20 individuos obtenidos por partenogénesis arrenotoca de una hembra virgen. Este procedimiento permitió realizar un análisis genético debido a que la progenie representa un fiel reflejo del genoma materno (PINTUREAU, 1987, 1993). En los casos de presencia de individuos telitóquicos se siguió el mismo procedimiento. Para algunos cruces de interés se analizó también la progenie de parejas individuales, lo que será aclarado en el texto.

Para ambas enzimas, las bandas de actividad enzimática fueron definidas por su poder migratorio con la ayuda de índices Rf, los que fueron corroborados con la participación de testigos conocidos (PINTUREAU, 1987). El Rf dará nombre al alelo que codifica a la enzima correspondiente. Los loci serán nombrados Est y TO para ambas enzimas y en el caso de las esterasas podrá aparecer un acento prima que será aclarado en el texto. Se codificó además la intensidad de las bandas reveladas de la forma siguiente: +++, fuerte intensidad y ++, intensidad media. La representación gráfica de esta gradación se corresponde con el grosor de las líneas reflejadas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Cruces experimentales.** El resultado de los cruces testigos se presenta en el cuadro 1. En todos los casos el porcentaje de hembras obtenidos en la F1 es superior al 50 %.

Todos los cultivos involucrados en los cruces intraespecíficos produjeron porcentajes de hembras en la descendencia F1 superiores al 50 % para ambas direcciones del cruce, por lo que pertenecen a la misma especie (Cuadro 1). Por el contrario, todos los cultivos involucrados en los cruces interespecíficos mostraron aislamiento reproductivo, al menos en una de las dos direcciones del cruce, por lo que pertenecen a especies aisladas reproductivamente (Cuadro 1). En dos casos, y en la dirección del cruce donde intervinieron las hembras del cultivo 9 de *T. pretiosum*, se obtuvieron hembras en la progenie. Este resultado puede explicarse tomando en consideración tres posibilidades: una verdadera reproducción sexual donde intervienen ambos progenitores (fecundación del óvulo), una inducción de la telitoquia producto de la cópula con un macho de otra especie (PINTUREAU, 1987, 1991) o debido a la presencia de hembras telitocas en el cultivo 9. Esta última explicación parece ser la más correcta, debido a que el estudio de la descendencia partenogenética de las hembras vírgenes mostró que el cultivo 9 produce hembras por partenogénesis telitoca (Cuadro 2). El análisis electroforético de la progenie resultante de los dos cruces "hembra 9 x macho 8" y "hembra 9 x macho D" confirmó esta aseveración.

La presencia en América del fenómeno de telitoquia en cultivos de laboratorio y poblaciones naturales de *T. pretiosum* ha sido reportada por diversos autores (STERN y BOWEN, 1963, 1968; BOWEN y STERN, 1966; OATMAN *et al.*, 1970; STOUTHAMER *et al.*, 1990ab; PINTO *et al.*, 1991; RODRÍGUEZ Y GALÁN, 1991a). En el caso particular de esta especie, ha sido demostrada la acción del incremento de la temperatura de cría y del uso de antibióticos en la producción de

machos por partenogénesis arrenotoca (STOUTHAMER *et al.*, 1990ab), lo que hace suponer que la presencia de este fenómeno se debe a la acción de microorganismos. Un cultivo procedente de la provincia de Guantánamo (Localidad Imías), quien presentó solamente dos machos durante las tres primeras generaciones en el laboratorio (RODRÍGUEZ Y GALÁN, 1991a), en la actualidad posee valores de 0,70 para la razón sexual después de mantener su reproducción permanente a 30-32°C (J. RODRÍGUEZ, resultados no publicados). Numerosos estudios relacionados con la acción de microorganismos endosimbiontes en la reversión del sexo en *Trichogramma* han sido desarrollados en los últimos años (HURST *et al.*, 1990; STOUTHAMER *et al.*, 1990ab, 1993; STOUTHAMER, 1991; ROUSSET *et al.*, 1992; LOUIS *et al.*, 1993; PINTUREAU *et al.*, 1993).

Diversos trabajos han mostrado que la naturaleza de las barreras reproductivas entre los *Tricogramas* varía según las especies estudiadas (NAGARKATTI y FAZALUDDIN, 1973; PINTUREAU, 1991). En primer lugar, en este género no se ha reportado la presencia de barreras precopulatorias, por lo que incluso especies alejadas filogenéticamente se acoplan en el laboratorio (PINTUREAU, 1987). Entre las diferentes posibilidades descritas para *Trichogramma*, todo parece indicar que, en este estudio, las barreras existentes entre estas tres especies son de naturaleza postcopulatoria, fundamentalmente la ausencia de fecundación de los óvulos o aislamiento gamético (NAGARKATTI y FAZALUDDIN, 1973). En ningún caso se observó la presencia de híbridos muertos en estados preimaginales, aunque el control se realizó tomando en consideración el oscurecimiento de los huevos del huésped parasitado (tercer estado larval) y no antes (PINTUREAU, 1991).

**Estudio morfológico y morfométrico.** PINTO *et al.* (1986) señalaron la condición de "cryptic species" para *T. pretiosum* y *T. deion*. RODRÍGUEZ (1994) destacó las semejanzas morfológicas entre *T. pretiosum*, *T. deion*, *T. pintureaui* y la descripción original

Cuadro 1. Resultados de los cruces testigos, intraespecíficos e interespecíficos

	Progenitores: especies (cultivos)			Progenie	
	Hembras	Machos	N (1)	Adultos emergidos (2)	Tasa sexual (3)
Cruces testigos	<i>T. pretiosum</i> (9)	<i>T. pretiosum</i> (9)	58	25,20 (15,20)	67,58
	<i>T. pretiosum</i> (100)	<i>T. pretiosum</i> (100)	24	50,50 (10,24)	72,01
	<i>T. pretiosum</i> (103)	<i>T. pretiosum</i> (103)	22	46,21 (08,62)	69,02
	<i>T. pintureaui</i> (8)	<i>T. pintureaui</i> (8)	20	22,50 (16,40)	69,97
	<i>T. pintureaui</i> (101)	<i>T. pintureaui</i> (101)	19	23,02 (11,80)	68,02
	<i>T. deion</i> (D)	<i>T. deion</i> (D)	21	39,33 (12,83)	69,73
Cruces intraespecíficos	<i>T. pretiosum</i> (9)	<i>T. pretiosum</i> (100)	31	35,06 (09,59)	74,75
	<i>T. pretiosum</i> (100)	<i>T. pretiosum</i> (9)	39	40,82 (09,55)	78,07
	<i>T. pretiosum</i> (103)	<i>T. pretiosum</i> (9)	21	41,16 (09,72)	67,08
	<i>T. pretiosum</i> (9)	<i>T. pretiosum</i> (103)	24	25,12 (08,72)	63,54
	<i>T. pretiosum</i> (103)	<i>T. pretiosum</i> (100)	22	42,02 (07,70)	67,07
	<i>T. pretiosum</i> (100)	<i>T. pretiosum</i> (103)	26	43,07 (12,10)	70,16
	<i>T. pintureaui</i> (8)	<i>T. pintureaui</i> (101)	20	24,10 (06,70)	68,70
	<i>T. pintureaui</i> (101)	<i>T. pintureaui</i> (8)	23	21,16 (05,92)	67,52
Cruces interespecíficos	<i>T. pretiosum</i> (9)	<i>T. pintureaui</i> (8)	25	25,50 (16,69)	29,90
	<i>T. pintureaui</i> (8)	<i>T. pretiosum</i> (9)	26	11,54 (10,00)	0
	<i>T. pretiosum</i> (9)	<i>T. pintureaui</i> (101)	18	26,16 (08,27)	0
	<i>T. pintureaui</i> (101)	<i>T. pretiosum</i> (9)	20	08,16 (02,32)	0
	<i>T. pretiosum</i> (9)	<i>T. deion</i> (D)	25	29,32 (09,01)	06,31
	<i>T. deion</i> (D)	<i>T. pretiosum</i> (9)	34	13,08 (06,12)	0
	<i>T. pretiosum</i> (100)	<i>T. pintureaui</i> (8)	26	16,53 (10,30)	0
	<i>T. pintureaui</i> (8)	<i>T. pretiosum</i> (100)	25	09,56 (08,23)	0
	<i>T. pretiosum</i> (100)	<i>T. pintureaui</i> (101)	21	17,26 (09,18)	0
	<i>T. pintureaui</i> (101)	<i>T. pretiosum</i> (100)	24	08,14 (03,27)	0
	<i>T. pretiosum</i> (100)	<i>T. deion</i> (D)	26	19,17 (08,70)	0
	<i>T. deion</i> (D)	<i>T. pretiosum</i> (100)	20	18,40 (11,08)	0
	<i>T. pretiosum</i> (103)	<i>T. pintureaui</i> (8)	23	28,12 (13,16)	0
	<i>T. pintureaui</i> (8)	<i>T. pretiosum</i> (103)	20	12,06 (07,70)	0
	<i>T. pretiosum</i> (103)	<i>T. pintureaui</i> (101)	21	29,16 (12,05)	0
	<i>T. pintureaui</i> (101)	<i>T. pretiosum</i> (103)	26	10,02 (06,91)	0
	<i>T. pretiosum</i> (103)	<i>T. deion</i> (D)	25	30,16 (11,57)	0
	<i>T. deion</i> (D)	<i>T. pretiosum</i> (103)	22	19,15 (08,89)	0
	<i>T. pintureaui</i> (8)	<i>T. deion</i> (D)	27	10,12 (06,72)	0
	<i>T. deion</i> (D)	<i>T. pintureaui</i> (8)	18	21,75 (13,22)	0
	<i>T. pintureaui</i> (101)	<i>T. deion</i> (D)	20	04,15 (02,00)	0
	<i>T. deion</i> (D)	<i>T. pintureaui</i> (101)	32	15,62 (08,48)	0

Condiciones: parejas aisladas y alimentadas con miel diluída disponiendo de huevos del huésped (*C. cephalonica*) en cantidad excedente, 25°C, 60-70% H. R., 16 H de luz por día.

1. Número de parejas
2. Medidas y desviaciones típicas (entre paréntesis)
3. Porcentaje de hembras.

Cuadro 2. Descendencia partenogenética de las hembras vírgenes

Progenitores		Progenie				
Especies (cultivos)	N (1)	% con			Adultos + emergidos (2)	Tasa Sexual (3)
		Machos	Hembras	Machos Hembras		
<i>T. pretiosum</i> (9)	50	70	12	18	44,23 (18,85)	26,9
<i>T. pretiosum</i> (100)	19	100	0	0	19,22 (06,84)	0
<i>T. pretiosum</i> (103)	14	100	0	0	68,71 (15,12)	0
<i>T. pintureaui</i> (8)	35	100	0	0	21,72 (08,84)	0
<i>T. pintureaui</i> (8)	20	100	0	0	09,75 (05,81)	0
<i>T. deion</i> (D)	19	100	0	0	26,93 (07,88)	0

Condiciones: parejas aisladas y alimentadas con miel diluída disponiendo de huevos del huésped (*C. cephalonica*) en cantidad excedente, 25°C, 60-70% H. R., 16 H de luz por día.

1. Número de parejas
2. Medidas y desviaciones típicas (entre paréntesis)
3. Porcentaje de hembras.

de *T. svdhae* realizada por TORRE (1980). El estudio morfológico de los cultivos 8, 9 y D, y de los sintipos de *T. sudhae*, permite esclarecer el estado taxonómico de cultivos y especies. Por las características de genitales y antenas, el cultivo 9 se corresponde con las poblaciones identificadas por PINTO *et al.* (1978) como *T. pretiosum* (RODRÍGUEZ Y GALÁN, 1991a). El cultivo 8 fue utilizado por RODRÍGUEZ Y GALÁN (1993) para realizar la descripción de *T. pintureaul*. Estos autores establecieron para *T. pretiosum* y *T. pintureaui* la condición de dualspecies.

Los resultados del cruce entre los cultivos 9, 100 y 103 confirmaron que pertenecen a la misma especie; por sus características morfológicas, RODRÍGUEZ (1994) asignó los cultivos 100 y 103 a *T. pretiosum*. Estos tres cultivos se encuentran aislados reproductivamente de los cultivos 8, 101 (*T. pintureaul*) y D (*T. deion*), y este último de los dos cultivos 8 y 101. Se está en presencia de tres especies aisladas reproductivamente entre sí. Es necesario definir si los sintipos de *T. sudhae* corresponden a una de éstas tres especies, así como, la validez de *T. sudhae* y *T. pintureaui*. Para esto deberá reali-

zarse un análisis del material disponible y de los resultados presentes en la literatura.

*Trichogramma deion* posee una distribución neártica, y los estudios de prospección realizados no señalan su presencia en el área neotropical (PINTO *et al.*, 1986). *Trichogramma pretiosum* está distribuida en todo el Continente Americano (OATMAN *et al.*, 1970; NAGARKATTI Y NAGARAJA, 1971, 1977; OATMAN Y PLATNER, 1973; PINTO *et al.*, 1978, 1983, 1989; THORPE, 1984; ZUCCHI *et al.*, 1991) y en el caso particular de Cuba, RODRÍGUEZ (1994) señala su presencia en toda la Isla, lo mismo que TORRE (1980) para *T. sudhae*. *Trichogramma pintureaui* ha sido colectada solamente en las provincias occidentales, La Habana y Pinar del Río (RODRÍGUEZ Y GALÁN, 1991a; RODRÍGUEZ, 1994).

*Trichogramma deion* posee una distribución de los sensilios basicónicos en el flagelo del macho 1-1-1-1, mientras que *T. pretiosum* (incluyendo los cultivos 9, 100 y 103) posee una distribución 1-2-2-1-1. El único sintipo macho disponible de la serie de TORRE de *T. svdhae* (ver Material y Métodos) posee una distribución 1-2-2-1-1.

**Cuadro 3. Dimensiones (en micrómetros) de las estructuras seleccionadas en las hembras de *T. pintureaui* (cultivo 8), de *T. pretiosum* (cultivo 9) y de los sintipos de *T. sudhae***

Estructuras	Cultivo 8		Cultivo 9		Sintipos	
	Media	D. típ. (1)	Media	D. típ. (1)	Media	D. típ. (1)
LAA	489,17	24,19	479,61	18,31	489,35	15,80
AAA	225,88	11,69	240,76	9,57	235,57	14,16
LMSF	33,30	1,66	30,30	2,07	32,82	0,75
LC	105,93	4,89	96,64	4,67	103,26	3,66
AC	45,30	2,75	45,57	3,74	49,38	2,18
LF	138,54	11,94	134,87	6,49	140,67	10,26
AF	34,04	3,09	32,99	3,14	39,65	4,06
L1T	145,35	8,90	147,45	5,80	159,00	9,36
L2T	164,21	10,31	161,59	7,36	172,84	9,28
AT	23,30	2,60	24,40	2,96	25,06	2,74
LT1	51,59	2,20	46,35	3,61	53,12	3,34
LT2	51,07	3,65	47,79	3,91	53,50	1,90
LT3	36,01	2,09	39,02	3,50	38,15	2,36
LE	91,01	4,48	91,01	5,19	89,78	2,34
AE	24,88	2,26	25,14	2,40	26,16	0,03
LFL	87,77	4,77	78,46	3,25	87,75	4,26
AFL	33,59	2,31	33,75	2,29	36,15	4,64
LTA	164,64	12,32	159,80	7,87	185,21	6,95
ATA	8,43	1,00	7,87	1,29	8,23	0,55
LP	151,62	8,62	155,53	7,51	170,81	9,59
LO	167,72	10,26	165,46	8,13	193,15	7,01

#### 1. Desviación típica

Según PINTO *et al.* (1986, 1989), este carácter permite discriminar entre *T. pretiosum* y *T. deion*. Resultados concernientes al estudio de la plasticidad fenotípica con relación a este carácter (PINTO *et al.*, 1989) mostraron que, si bien se observa alguna variabilidad relacionada con el tamaño de los ejemplares, *T. deion* posee un sólo sensilio en las posiciones 2 y 3, y los ejemplares de *T. pretiosum* pueden tener un sensilio en alguna de las dos posiciones, pero nunca en ambas a la vez. Estos resultados confirman que los sintipos de *T. sudhae* pueden corresponder a *T. pretiosum* o a *T. pintureaui*, pero no a *T. deion*. Resta a definir si los ejemplares de la serie de Torre corresponden a una de estas dos especies.

Los resultados del A.F.D. mostraron mayor semejanza de los sintipos de *T. sudhae* con los ejemplares del cultivo 9 de *T. pretiosum* que con los ejemplares del cultivo 8 de *T. pintureaui*. En el cuadro 3 se reflejan las medias y las desviaciones típicas de las variables analizadas, y en el cuadro 4 los característicos del A.F.D. En la figura 1 se presenta la dispersión de los individuos en el plano Z1Z2 del A.F.D.

La variable con mayor peso en Z1 (59,2%) fue LFL, en orden de magnitud decreciente aparecen AAA, LT1 y LO. Este eje permite discriminar los ejemplares del cultivo 8 de *T. pintureaui* y del grupo formado por los sintipos de *T. sudhae*, y los ejemplares del cultivo 9 de *T. pretiosum*.

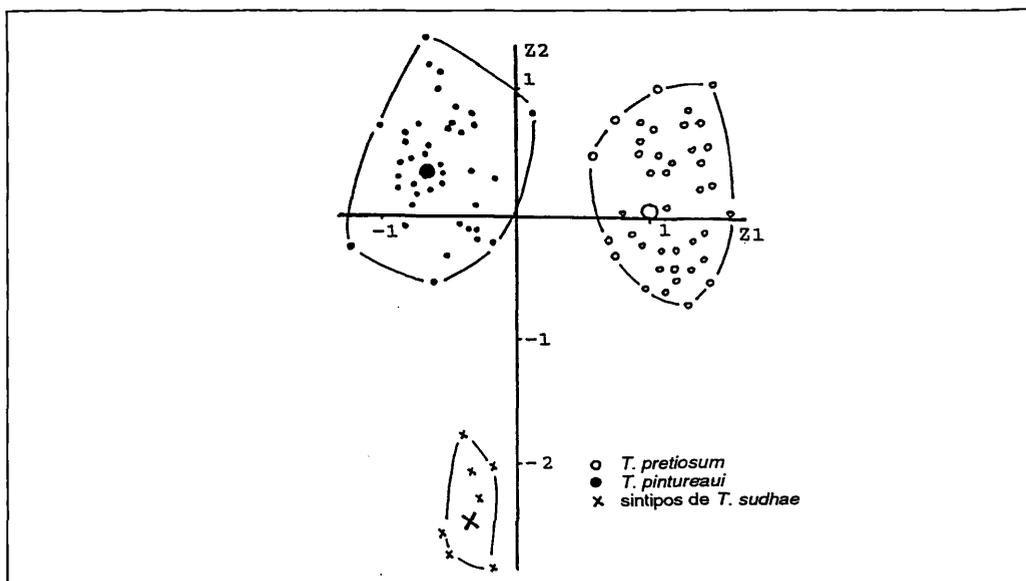


Fig. 1.—Dispersión de los individuos hembras del cultivo 9 (*T. pretiosum*), del cultivo 8 (*T. pintureaui*) y de los ejemplares de la serie de Torre (*T. sudhae*) en el plano Z1Z2 del A.F.D. realizado con 21 caracteres morfométricos.

La variable más importante en Z2 (40,8%) fue LO y en menor magnitud, LC. Este eje discrimina entre los sintipos de *T. sudhae* y el conjunto formado por los individuos de los cultivos 8 y 9.

El plano Z1Z2 permite discriminar los tres conjuntos. *Trichogramma pretiosum* y los especímenes de *T. sudhae* poseen mayor longitud del flagelo que *T. pintureaui*, y los ejemplares de *T. sudhae* poseen mayor lon-

Cuadro 4. Porcentaje de varianza (% V.) y valores propios (V. P.) de los ejes Z1 y Z2 del A. F. D. realizado con 21 caracteres morfométricos de las hembras. Vectores propios (Ve. P.) de los 4 o 2 caracteres con mayor poder discriminante (variables en orden de magnitud decreciente). Distancias de Mahalanobis ( $D^2$ ) entre el cultivo 9 (*T. pretiosum*), el cultivo 8 (*T. pintureaui*) y los ejemplares de *T. sudhae* (T, serie de Torre)

		Z1	Z2
% V		55,8	44,2
V. P.		0,8948	0,7092
Ve. P.	LFL	-0,4275	LO
	AAA	0,3810	LC
	LO	-0,3087	
	LT1	-0,2678	
<b>D<sup>2</sup></b>			
8	1,9610		
T	3,0100	3,3208	
	9		8

gitud del ovipositor que los ejemplares de los cultivos 8 y 9.

La estimación de la  $D^2$  de Mahalanobis (Cuadro 4) confirmó la mayor semejanza entre los sintipos de *T. sudhae* con los ejemplares del cultivo 9 que con los ejemplares del cultivo 8. El menor valor de distancia se observó, no obstante, entre los individuos de los cultivos 8 y 9. Este resultado es responsabilidad del tamaño del huevo del huésped, quien influye en el tamaño de los ejemplares y razones entre estructuras (KASINSKAYA, 1980; PINTO *et al.*, 1989; PINTUREAU y DAUMAL, 1995). Los sintipos de *T. sudhae* fueron colectados en *E. ello* (TORRE, 1980), mientras que los ejemplares de los cultivos 8 y 9 fueron reproducidos sobre huevos de *C. cephalonica*, de menor tamaño, lo que se refleja en las dimensiones de las estructuras que aparecen en el cuadro 3. Los resultados del A.F.D. no deben ser utilizados más que para establecer la mayor semejanza de los sintipos de *T. sudhae* con uno u otro de los cultivos de *T. pretiosum* y *T. pintureaui* ya que el sesgo introducido por el tamaño del huevo del huésped impide realizar otras consideraciones.

Por otra parte, las únicas diferencias evidentes entre la descripción original de *T. sudhae* y la redescrición de *T. pretiosum* realizada

por PINTO *et al.* (1978), están dadas en los valores de la razón entre la longitud de la mayor seta del flagelo del macho y el ancho del flagelo (2,70 para *T. sudhae*), y en la ausencia de carena medio-ventral conspicua en la genitalia del macho (TORRE, 1980). Durante las observaciones realizadas en el único ejemplar macho que resta de la serie de Torre, se observó la carena medio-ventral conspicua, lo que contradice la descripción original del autor. Además, los valores de la razón entre la longitud de la mayor seta del flagelo y el ancho del flagelo reportados por TORRE en la descripción original de *T. sudhae*, caen dentro del rango reportado para *T. pretiosum* por PINTO *et al.* (1978, 1989), lo que elimina la importancia de este caracter para establecer posibles diferencias.

Los resultados anteriores, a pesar de las dificultades del análisis producto del mal estado del sintipo macho, y de basar parte de nuestras consideraciones en el estudio de las hembras, evidencian que si *T. sudhae* es una especie válida, no es por cierto *T. pintureaui* un sinónimo de esta especie.

**Estudio bioquímico. Esterasas.** Las bandas reveladas para los cultivos y especies estudiadas se presentan en la figura 2. La interpreta-

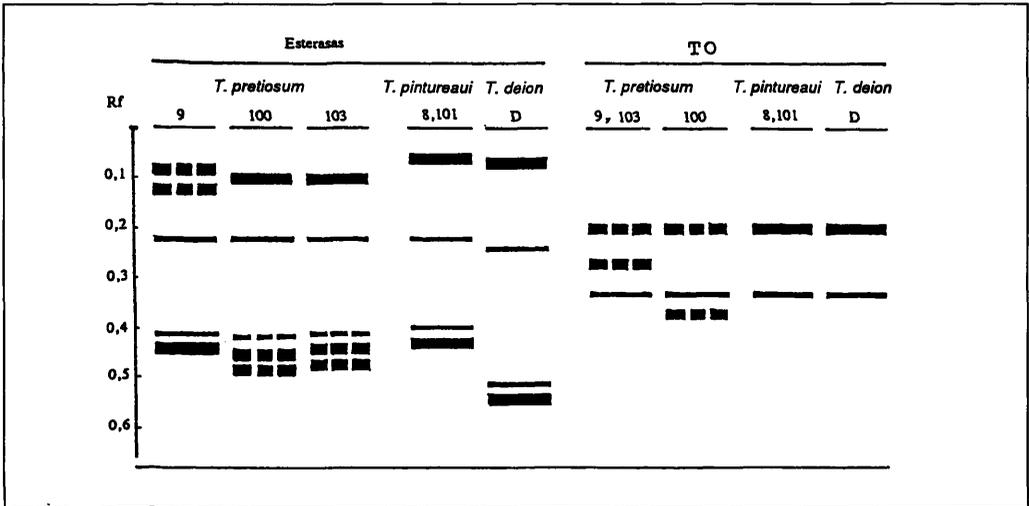


Fig. 2.—Electroforetogramas de esterazas y TO de los cultivos de *T. pretiosum*, *T. pintureaui* y *T. deion*. El ancho de la banda representa su intensidad; las bandas que aparecen con líneas discontinuas no están presentes en todos los individuos (casos de polimorfismo). Para el sentido de la corrida, el ánodo se corresponde con la zona superior del gráfico.

Cuadro 5. Frecuencias alélicas observadas para los loci Est 1, Est 2, Est 5', TO 2 y TO 3 en los cultivos estudiados de *T. pretiosum*, *T. deion* y *T. pintureaui*

Loci	Alelos	T. pretiosum				T. deion D	T. pintureaui 8,101
		9	100	103	Medios		
Est 1	0.06						1
	0.07					1	
	0.08	0.597			0,199		
	0.10		1	1	0,667		
	0.12	0.403			0,134		
Est 2	0.22	1	1	1	1		1
	0.24					1	
Est 5'	0,40-0,43						1
	0,41-0,44	1		0.182	0.394		
	0,42-0,45		0.265		0.088		
	0,44-0,47			0.818	0.273		
	0,45-,048		0.735		0.245		
	0,51-0,56					1	
N (1)		36	34	32	102	30	49
TO 2	0.20	0.395	0.625	0.421	0.480	1	1
	0.27	0.605		0.579	0.395		
	0.37		0.375		0.125		
TO 3	0.33	1	1	1	1	1	1
N (1)	38	16	19	73	42	16	

1. Número de hembras vírgenes analizadas a través de su descendencia (al menos 20 individuos obtenidos por partenogénesis)

ción de las mismas se apoyó en un análisis genético que comprendió diferentes pasos: definición de las bandas a considerar teniendo en cuenta su repetibilidad en función del grado de precisión de la técnica utilizada, cálculo del Rf de cada banda, señalización de su intensidad (para lo cual se consideraron también los testigos conocidos) y de su color, y polimorfismo observado entre y dentro de los cultivos. Además de los testigos conocidos se tomarán en cuenta los resultados descritos por la literatura para un grupo de especies del género (PINTUREAU y BABAULT, 1980, 1981, 1982; BABI *et al.*, 1984; PINTUREAU, 1987, 1993; PINTUREAU y KEITA, 1989).

*Trichogramma pretiosum*: Est 1 (+++), alelos 0,08, 0,10 y 0,12; Est 2 (++), alelo 0,22; Est 5' (++++), alelos 0,41-0,44, 0,42-0,45, 0,44-0,47 y 0,45-0,48. En esta especie se observó polimorfismo para los loci Est 1 y Est 5'. Los tres cultivos estudiados resultaron polimórficos: el cultivo 9 para el locus Est 1, y los cultivos 100 y 103 para el locus Est 5' (Cuadro 5).

*Trichogramma pintureaui*: Est 1 (+++), alelo 0,06; Est 2 (++), alelo 0,22; Est 5' (+++), alelo 0,40-0,43. No se observó polimorfismo a nivel de cultivo o de especie (Cuadro 5). En un trabajo preliminar,

RODRÍGUEZ y GALÁN (1993) reportaron los resultados del estudio de las esterasas para el cultivo 8 de esta especie.

*Trichogramma deion*: Est 1 (+++), alelo 0,07; Est 2 (++) , alelo 0,24; Est 5' (+++), alelo 0,51-0,56. No se observó polimorfismo en el cultivo estudiado (Cuadro 5).

Los alelos del locus Est 5' producen dos bandas de fuerte migración, una de intensidad media y otra de fuerte intensidad (PINTUREAU, 1987). Los tres loci Est 1, Est 2 y Est 5', así como la mayoría de los alelos asignados a cada locus, han sido reportados para el género en trabajos preliminares (PINTUREAU y BABAU, 1980, 1981, 1982; BABI *et al.*, 1984; PINTUREAU, 1987, 1993; PINTUREAU y KEITA, 1989; NETO y PINTUREAU, 1995). En el presente trabajo se reportan por primera vez dos alelos para el locus Est 5': 0,41-0,44 y 0,44-0,47.

La combinación de los alelos presentes para los loci Est 1 y Est 5' permite la discriminación de las especies, preferentemente aquellos cuyos valores de Rf corresponden a bandas más distantes en el gel y minimizan los errores de apreciación o repetibilidad de la técnica. Los alelos de Est 1 permiten la discriminación entre *T. pretiosum* (alelos 0,08, 0,10 y 0,12) y *T. pintureaui* (alelo 0,06), mientras que los alelos del locus Est 5' permiten el diagnóstico entre *T. deion* (alelo 0,51-0,56) y las dos dualspecies presentes en Cuba (alelos 0,40-0,43, 0,41-0,44, 0,42-0,45, 0,44-0,47 y 0,45-0,48).

Debido a las características y al poder de resolución de la técnica electroforética utilizada, no se realizó el análisis de otras bandas reveladas de menor intensidad que han sido asignadas a otros loci (PINTUREAU, 1987). HUNG (1982) reportó cuatro bandas para las esterasas en *T. pretiosum*. Aunque este autor no señaló los valores de Rf, éstos pueden analizarse en los electrofretogramas. Dos bandas que puede presumirse corresponden al locus Est 5', poseen Rf comprendidos entre 0,40 y 0,45. Los resultados de XIE y ZHU (1989), aunque no presentan valores de Rf, sí permiten establecer algunas diferencias entre *T. deion* y *T. pretiosum*. Si se ana-

lizan los resultados de estos autores, la banda que parece corresponder a Est 1 migra menos en *T. deion*, mientras que las dos bandas que parecen corresponder a Est 1 migran más en esta especie. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el presente trabajo.

Durante el estudio de algunas especies americanas, PINTUREAU (1987, 1993) señaló la presencia de un nuevo locus, Est 1', para un cultivo mexicano de *T. pretiosum*. Este locus posee cuatro bandas asociadas de pobre migración. En el presente estudio no se observó este locus en *T. pretiosum*, sin embargo, durante los primeros trabajos realizados con las especies cubanas, sí se revelaron estas cuatro bandas en algunas muestras consistentes en macerados de individuos tomados al azar procedentes de las colectas en campo (RODRÍGUEZ y GALÁN, 1991b). El cultivo 9 de *T. pretiosum* fue fundado a partir de una de estas colectas. Deberá considerarse, por tanto, la posible fijación de un alelo nulo para este locus en el cultivo 9 durante su reproducción en el cepario a través de sucesivas generaciones y tomar en cuenta su presencia en las poblaciones de *T. pretiosum* en la Isla. Tres diferencias alélicas se observan entre el cultivo mexicano estudiado por PINTUREAU (1987, 1993) y los cultivos estudiados en el presente trabajo: Est 1 (alelo 0,13), Est 2 (alelo 0,20bis) y Est 5' (alelo 0,38-0,41). Estos resultados manifiestan una gran variabilidad para esta especie en el continente americano.

Como resultado del cruce entre las hembras del cultivo 9 de *T. pretiosum* y los machos de los cultivos 8 de *T. pintureaui* y D de *T. deion*, se obtuvieron hembras en la progenie para una tasa sexual de 29,90 y 6,31, respectivamente (Cuadro 1). Se realizaron macerados in toto de las progenies de ambos cruces donde se obtuvieron hembras y se estudiaron sus esterasas. En todos los casos se observaron las mismas bandas que para el cultivo 9 de *T. pretiosum*, lo que demuestra que son hembras obtenidas por partenogénesis telitoca y la presencia de barreras reproductivas entre el cultivo 9 y los dos restantes.

**Tetrazolium oxidasas.** Las bandas reveladas para los cultivos y especies estudiados se presentan en la figura 2. La interpretación de las mismas se realizó bajo consideraciones semejantes a las utilizadas para la interpretación de las esterazas. Estudios precedentes para el género han mostrado la presencia de tres bandas principales para esta enzima asignadas a los loci TO 1, TO 2 y TO 3 (RUSSO, 1980; PINTUREAU y BABAULT, 1981, 1982; FARGETTE, 1984; PINTUREAU, 1987, 1993). En el presente trabajo se hará referencia a dos de las bandas descritas por PINTUREAU (1987, 1993) asignadas a los loci TO 2 y TO 3.

*Trichogramma pretiosum*: TO 2 (+++), alelos 0,20, 0,27 y 0,37; TO 3 (++), alelo 0,33. Los tres cultivos resultaron polimórficos; el cultivo 100 difiere de los cultivos 9 y 103 en que posee el alelo 0,37 y no presenta alelo 0,27 (Cuadro 5).

*Trichogramma pintureaui* y *T. deion*: TO 2 (+++), alelo 0,20; TO 3 (++), alelo 0,33. En los cultivos 8 y 101 de *T. pintureaui* y D de *T. deion* se observaron los mismos alelos y no se detectó polimorfismo.

A diferencia de las esterazas, esta enzima no permite la discriminación de las especies. Diversos autores han señalado la pobre variabilidad de las TO para el género (PINTUREAU y BABAULT, 1981, 1982; HUNG, 1982; FARGETTE, 1984; PINTUREAU, 1987, 1990, 1993). XIE y ZHU (1989), sin embargo, encontraron alguna variabilidad en 18 especies, pero el número de bandas observado resultó limitado para algunas de éstas. En nuestro caso, se observó variabilidad evidente al menos en una especie, *T. pretiosum*.

## CONCLUSIONES

Se puede concluir que existen en Cuba dos especies muy semejantes en el plano morfológico, *T. pretiosum* y *T. pintureaui*. Estas dos especies, simpátricas y aisladas reproductivamente, presentan la condición de dualspecies. *Trichogramma pretiosum*

está distribuida por toda la Isla, mientras que *T. pintureaui* ha sido colectada solamente en la región occidental de Cuba. La identificación de estas dos especies resulta compleja, ya que su similitud morfológica no permite un diagnóstico seguro a partir de los caracteres morfológicos o morfométricos utilizados convencionalmente en la sistemática del género. Para este fin, es necesario utilizar caracteres bioquímicos.

*Trichogramma pretiosum* y *T. pintureaui* se encuentran aisladas reproductivamente de *T. deion*, pero hasta la fecha, sólo los caracteres bioquímicos (esterazas) y el número y distribución de los sensilios basicónicos en el flagelo del macho, permiten la discriminación entre esta última especie y las dos restantes. Por las características de genitales y antenas del macho, y por la presencia del locus Est 5' estas tres especies pertenecen al grupo *pretiosum* de reciente creación (PINTUREAU, 1987, 1993). *Trichogramma pretiosum*, especie nominal, fue ubicada por PINTUREAU (1987), *T. pintureaui*, por RODRÍGUEZ y GALÁN (1993) y se incluye a *T. deion* en el presente trabajo.

Tomando en cuenta la importancia de los machos en la identificación de las especies, el estado de conservación del único sintipo macho de *T. sudhae* que resta de la serie original de Torre, no permite realizar comparaciones con ejemplares de *T. pretiosum* y *T. pintureaui*. Para esclarecer el estado taxonómico de esta especie es necesario consultar la descripción original y tomar en consideración algunas estructuras que pueden observarse en el material disponible (sensilios basicónicos en el flagelo y carena medioventral). En ambos casos, no se detectan diferencias con la redesccripción de *T. pretiosum* realizada por PINTO *et al.* (1978) o con otras poblaciones o cultivos descritos de esta especie (PINTO *et al.*, 1986). Es necesario profundizar en el conocimiento de la misma a partir de la colecta de nuevo material y de su caracterización bioquímica; hasta tanto, se considera a *T. sudhae* como una especie *incertae sedis* o como un nuevo sinónimo de *T. pretiosum*.

## ABSTRACT

RODRÍGUEZ, J., B. PINTUREAU Y M. GALÁN, 1996. On the identity of some Cuban *Trichogramma* Westwood (Hym.: Trichogrammatidae). *Bol San. Veg. Plagas*, 22 (3): 585-599.

Four American species of *Trichogramma* Westwood, namely *T. pretiosum* Riley, *T. pintureaui* Rodríguez and Galán, *T. sudhae* Torre and *T. deion* Pinto and Oatman, show a great similarity in their morphology. The three former species were recorded in Guba. A series of crossings performed among *T. pretiosum*, *T. pintureaui* and *T. deion* coming from cultures based on material collected both in the Island and the continent, showed the presence of a reproductive isolation between these species. One strain of *T. pretiosum* derived from material collected in the western Region of Cuba showed thelytokous individuals. Morphological and morphometric studies (Discriminant Factorial Analysis) of individuals coming from some cultures and from the original series used for the first *T. sudhae* description allowed to establish the *T. pintureaui* validity and to propose *T. sudhae* as new synonym of *T. pretiosum*. Esterases and superoxide dismutases analyses showed differences among *T. pretiosum*, *T. pintureaui* and *T. deion* for the Est 1, Est 2 and Est 5' loci. These results are interesting from a taxonomic viewpoint for species identification. Morphological similarity between the two sympatric species *T. pretiosum* and *T. pintureaui* leads to consider them as dualspecies.

**Key Words:** *Trichogramma*, recorded in Cuba, morphology.

## REFERENCIAS

- BABI, A.; PINTUREAU, B.; VOEGELÉ, J., 1984. Etude de *Trichogramma dendrolimi* (Hym.: Trichogrammatidae), description d'une nouvelle sous-espèce. *Entomophaga*, 29 (4): 369-379.
- BENZEKRI, J. P., 1980. *L'analyse des données: la taxonomie* (Tomo 1), Dunod, Paris: 412 pp.
- BOWEN, W. R.; STERN, V. M., 1966. Effect of temperature on the production of males and sexual mosaics in a uniparental race of *Trichogramma semifumatum* (Hym.: Trichogrammatidae), *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 59 (4): 823-834.
- FARGETTE, M., 1984. Utilisation de l'électrophorèse dans l'étude de la systématique de deux organismes d'intérêt agricole: *Trichogramma* supersp. *evanescens* (Hymenoptera, Chalcidoidea) et *Meloidogyne* spp. (Nematoda, Tylenchida). Tesis de Doctor Ingeniero, E.N.S.A. Montpellier, 189 pp.
- GALÁN, M.; RODRÍGUEZ, J., 1991a. Registro de *Trichogramma rojasi* (Hym.: Trichogrammatidae) para Cuba. *Rev. Biología*, 5 (2-3): 177-181.
- GALÁN, M.; RODRÍGUEZ, J., 1991b. Caracterización morfológica de cuatro cultivos de *Trichogramma* Westwood (Hym.: Trichogrammatidae). *Rev. Biología*, 5 (1): 73-82.
- HUNG, A. C., 1982. Chromosome and isozyme studies in *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae). *Proc. Entomol. Soc. Wash.*, 84 (4): 791-796.
- HURST, L. D.; GODFRAY, A. C.; HARVEY, P. H., 1990. Antibiotics cure asexuality. *Nature*, 346: 510.
- KASINSKAYA, L. V., 1980. Efecto sobre *Trichogramma* de la nutrición a partir de dos hospedantes diferentes. *Byull. Vses. Nauk. Issled. Inst. Zashch. Rast.*, 49: 50-56.
- LOUIS, C.; PINTUREAU, B.; CHAPPELLE, L., 1993. Recherches sur l'origine de l'unisexualité: la thérapie élimine à la fois rickettsies et parthénogenèse thélytoque chez un Trichogramme (Hym., Trichogrammatidae). *C. R. Acad. Sci. Paris, Série III*, 316: 27-33.
- MAHALANOBIS, P. C., 1936. On the general distance in statistics. *Proc. Natl. Inst. Sci. India*, 12: 49.
- NAGARKATTI, S.; FAZALUDDIN, M., 1973. Biosystematic studies on *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae). II. Experimental hybridization between some *Trichogramma* spp. from the new world. *Syst. Zool.*, 22 (2): 103-117.
- NAGARKATTI, S.; NAGARAJA, H., 1971. Redescription of some known species of *Trichogramma* (Hym., Trichogrammatidae), showing the importance of the male genitalia as a diagnostic character. *Bull. ent. Res.*, 61: 13-31.
- NAGARKATTI, S.; NAGARAJA, H., 1977. Biosystematics of *Trichogramma* and *Trichogrammatoidea* species. *Annu. Rev. Entomol.*, 22: 157-176.
- NETO, L.; PINTUREAU, B., 1995. Taxonomic study of a population of *Trichogramma turkestanica* discovered in southern Portugal (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ann. Soc. Entomol. Fr. (N.S.)*, 31 (1): 21-30.
- OATMAN, E. R.; PLATNER, G. R., 1973. Biosystematic studies of *Trichogramma* species. I. Populations from California and Missouri. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 66 (5): 1090-1102.
- OATMAN, E. R.; PLATNER, G. R.; GONZÁLEZ, D., 1970. Reproductive differentiation of *Trichogramma pretiosum*, *T. semifumatum*, *T. minutum* and *T. evanescens*, with notes on the geographical distribution of *T. pretiosum* in the southwestern United States and in Mexico (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 63 (3): 633-635.
- PINTO, J. D., 1992. Novel taxa of *Trichogramma* from the New World tropics and Australia (Hymenoptera:

- Trichogrammatidae). *J. New York Entomol. Soc.*, **100** (4): 621-633.
- PINTO, J. D.; OATMAN, E. R.; PLATNER, G. R., 1983. The identity of two closely related and frequently encountered species of New World *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Proc. Entomol. Soc. Wash.*, **85** (3): 588-593.
- PINTO, J. D.; OATMAN, E. R.; PLATNER, G. R., 1986. *Trichogramma pretiosum* and a new cryptic species occurring sympatrically in south western North America (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **79**: 1019-1028.
- PINTO, J. D.; PLATNER, G. R.; OATMAN, E. R., 1978. Clarification of the identity of several common species of North American *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **71** (2): 169-180.
- PINTO, J. D.; STOUTHAMER, R.; PLATNER, G. R.; OATMAN, E. R., 1991. Variation in reproductive compatibility in *Trichogramma* and its taxonomic significance (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Entomol. Soc. Am.* **84** (1): 37-46.
- PINTO, J. D.; VELTEN, R. K.; PLATNER, G. R.; OATMAN, E. R., 1989. Phenotypic plasticity and taxonomic characters in *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **82**: 414-425.
- PINTUREAU, B., 1987. Systématique évolutive du genre *Trichogramma* Westwood (Hym. Trichogrammatidae) en Europe. Tésis Doctor de Estado, Univ. Paris VII, 311 pp.
- PINTUREAU, B., 1990. Polymorphisme, biogéographie et spécificité parasitaire des *Trichogrammes* européens (Hym. Trichogrammatidae). *Bull. Soc. ent. Fr.*, **95**: 17-38.
- PINTUREAU, B., 1991. Indices d'isolement reproductif entre espèces proches de *Trichogrammes* (Hym. Trichogrammatidae). *Ann. Soc. Entomol. Fr. (N.S.)*, **27** (4): 379-392.
- PINTUREAU, B., 1993. Enzyme polymorphism in some African, American and Asiatic *Trichogramma* and *Trichogrammatoidea* species (Hym.: Trichogrammatidae). *Biochem. Syst. Ecol.*, **21** (5): 557-573.
- PINTUREAU, B.; BABAULT, M., 1980. Comparaison des estérases chez 19 souches de *Trichogramma* (Hym. Trichogrammatidae) appartenant au groupe d'espèces *evanescens*. *Arch. Zool. exp. gén.*, **121**: 249-260.
- PINTUREAU, B.; BABAULT, M., 1981. Caractérisation enzymatique de *Trichogramma evanescens* et de *T. maidis* (Hym. Trichogrammatidae); étude des hybrides. *Entomophaga*, **26** (1): 11-22.
- PINTUREAU, B.; BABAULT, M., 1982. Comparaison des enzymes chez 10 souches de *Trichogramma* (Hym. Trichogrammatidae). *Les Colloques de l'INRA*, **9**: 31-44.
- PINTUREAU, B.; DAUMAL, J., 1995. Effects of diapause and host species on some morphometric characters in *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae). *Experientia*, **51** 67-72.
- PINTUREAU, B.; KEITA, F. B., 1989. Nouvelles données sur les estérases des *Trichogrammes* (Hym. Trichogrammatidae). *Biochem. Syst. Ecol.*, **17**: 603-608.
- PINTUREAU, B.; LOUIS, C.; CHAPPELLE, L., 1993. Symbiose entre microorganismes et *Trichogrammes* (Hym. Trichogrammatidae): intérêt pour la lutte biologique. *Bull. Soc. zool Fr.*, **118** (2): 159-167.
- RODRÍGUEZ, J., 1994. Sistemática del género *Trichogramma* Westwood (Hym.: Trichogrammatidae) en Cuba. Consideraciones sobre las especies americanas. Tésis Doctor en Ciencias Biológicas, Univ. Habana, M.E.S., 178 pp.
- RODRÍGUEZ, J.; GALÁN, M., 1991a. Registro de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym. Trichogrammatidae) para Cuba. *Rev. Biología*, **5** (2-3): 169-175.
- RODRÍGUEZ, J.; GALÁN, M., 1991b. Caracterización morfométrica, mixiológica y bioquímica de algunos cultivos de *Trichogramma* Westwood (Hym.: Trichogrammatidae). Clave para la identificación de las especies cubanas e introducidas. Resúmenes del II Simposio de Zoología, Palacio de las Convenciones, C. Habana, Cuba, 18-23 Jun.: p. 38.
- RODRÍGUEZ, J.; GALÁN, M., 1993. Descripción de una nueva especie de *Trichogramma* Westwood (Hym.: Trichogrammatidae) en Cuba. *Rev. Prot. Vegetal*, **8** (1): 17-22.
- ROUSSET, F.; BOUCHON, D.; PINTUREAU, B.; JUCHAULT, P.; SOLIGNAC, M., 1992. *Wolbachia* endosymbionts responsible for various alterations of sexuality in Arthropods. *Proc. R. Soc. Lond. B*, **250**: 91-98.
- RUSSO, J., 1980. Caractérisation de quatre souches de *Trichogrammes* (Hyménoptères, Trichogrammatidae) trouvées sur pontes d'*Ostrinia nubilalis* (Lépidoptères, Pyralidae). Tésis de 3<sup>e</sup> Ciclo, Univ. Ciencias y Téc. del Languedoc, 136 pp.
- RUSSO, J.; PINTUREAU, B., 1981. Etude biométrique du dimorphisme sexuel chez *Trichogramma maidis* et *T. nubilale* (Hym. Trichogrammatidae). *Bull. mens. Soc. Linn. Lyon*, **50** (6): 193-201.
- STERN, V. M.; BOWEN, W., 1963. Ecological studies of *Trichogramma semifumatum*, with notes on *Apanteles medicaginis* and their suppression of *Colias eurytheme* in southern California. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **56**: 358-372.
- STERN, V. M.; BOWEN, W., 1968. Further evidence of a uniparental race of *Trichogramma semifumatum* at Bishop, California. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **61**: 1032-1033.
- STOUTHAMER, R., 1991. Effectiveness of several antibiotics in reverting thelytoky to arthenotoky in *Trichogramma* spp. *Les Colloques de l'INRA*, **56**: 119-122.
- STOUTHAMER, R.; BREEUWER, J. A. J.; LUCK, R. F.; WERREN, J. H., 1993. Molecular identification of microorganisms associated with parthenogenesis. *Nature*, **361**: 66-68.
- STOUTHAMER, R.; LUCK, R. F.; HAMILTON, W. D., 1990a. Antibiotics cause parthenogenetic *Trichogramma* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) to revert to sex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **87**: 2424-2427.
- STOUTHAMER, R.; PINTO, J. D.; PLATNER, G. R.; LUCK, R. F., 1990b. Taxonomic status of thelytokous forms of *Trichogramma*. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **83**: 475-481.
- THORPE, K. W., 1984. Seasonal distribution of

- Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) species associated with a Maryland Soybean Field. *Environ. Entomol.*, **13**: 127-132.
- TORRE, S. L. DE LA, 1970. Efectividad del *Trichogramma* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) en el control biológico del bórer, *Diatraea saccharalis* (Fab.), en Cuba. *Ciencias, U.H.*, **4** (14): 2.
- TORRE, S.L. DE LA, 1980. *Revisión de los Trichogramma de Cuba, con la descripción de tres nuevas especies y una variedad*. Ed. Dir. Inf. Cient. Téc., La Habana, 36 pp.
- XIE, L.; ZHU, D.-F., 1989. Studies on isozyme comparisons of eighteen species of *Trichogramma*. *Nat. Enemies of Insects*, **11** (2): 77-81.
- ZUCCHI, R. A.; PARRA, J. R. P.; SILVEIRA NETO, S., 1991. *Trichogramma* species associated with some lepidopterous pests in Brazil. *Les Colloques de l'INRA*, **56**: 131-134.

(Aceptado para su publicación: 14 mayo 1996)