

I ENCONTRO NACIONAL DE PROTECÇÃO INTEGRADA

* LIVRO DE ACTAS



UNIVERSIDADE DE ÉVORA - 10 A 12 DE JANEIRO DE 1991

A Protecção integrada na Universidade dos Açores. Investigação Fundamental e Aplicada com vista ao controlo de pragas agrícolas.

TAVARES J., SCHANDERL H., SIMÕES N. & GARCIA V.

Universidade dos Açores, Departamento de Biologia, P-9502 Ponta Delgada CODEX

ABSTRACT:

In the division of Biological Control we have 3 laboratories working on Entomoparasitology, Entomophagus Predators and Entomopathology, developing basic and applied research in biological control of insect pests. Normally our projects are developed in cooperation with regional, national and international agencies.

Based on the study of biocoenosis we are doing field experiments on the control of *Mythimna unipuncta*, *Lobesia botrana* e *Ostrinia nubilalis*, using *Trichogramma* sp., produced on the insect host *Ephestia kuehniella*.

We are trying to control Aphididae, Coccoidae and Psylidae populations on sugar beet, potatoes and citrus cultures with the introduction of *Harmonia axyridis*, *Coccinella septempunctata*, *Semiadalia undecimnotata*, *Episyrphus balteatus*, *Chrysoperla perla*, *Chrysopa sinica*, *Chrysoperla carnea*.

We are also trying to control the japanese beetle, *Popillia japonica* in Terceira Island, using bacteria, *Bacillus popilliae* and *Serratia* spp., entomophilic nematodes, *Steinernema* and *Heterorhabditis* and fungi, *Metharizium anisopliae* and *Bauveria bassiana*.

RESUMO:

O Centro de Luta Biológica, é formado por três Secções: Entomoparasitologia, Predadores Entomófagos e Entomopatologia, que desenvolvem investigação científica fundamental e aplicada, em cooperação com organismos regionais nacionais e internacionais, no âmbito de programas de luta integrada dos insectos nocivos às culturas.

A partir da análise do funcionamento das biocenoses procede-se a ensaios de campo para o controlo de *Mythimna unipuncta*, *Lobesia botrana* e *Ostrinia nubilalis*, pelo emprego de *Trichogramma* sp., produzidos a partir do hospedeiro *Ephestia kuehniella*.

Ensaia-se o controlo de populações de Afídeos, Cochonilhas e Psylas nas culturas de beterraba sacarina, batata e citrinos pela introdução de: *Harmonia axyridis*, *Coccinella septempunctata*, *Semiadalia undecimnotata*, *Episyrphus balteatus*, *Chrysoperla perla*, *Chrysopa sinica*, *Chrysoperla carnea*. Faz-se o controlo de *Popillia japonica*, na ilha Terceira com a utilização de bactérias, *Bacillus popilliae* e *Serratia* sp, nemátodos *Steinernema*, *Heterorhabditis* e fungos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*.

INTRODUÇÃO

Nas condições ambientais dos Açores, ecossistema insular com clima temperado oceânico, com fracas amplitudes térmicas, os insectos nocivos às culturas agrícolas encontram as condições bióticas e abióticas favoráveis ao seu desenvolvimento, principalmente, as pragas de afídeos, cochonilhas, fungos, lagarta-das-pastagens e escaravelho japonês.

Sendo o sector agrícola relevante para a economia regional, recorre-se frequentemente à utilização de produtos químicos para combatê-las, procedimento que é normalmente inoportuno e não satisfatório do ponto de vista económico e ambiental. Assim, tendo em consideração a investigação fundamental e aplicada efectuada há mais de uma década na Universidade dos Açores, o carácter cíclico das pragas, as suas características poiquilotérmicas, a compreensão adequada da biologia e da dinâmica de populações de Lepidópteros, Afídeos, Cochonilhas, Psylas e Coleopteros, levou ao estudo e à utilização de novas formas de luta, as quais eliminam ou reduzem substancialmente o emprego de pesticidas.

II - SECÇÃO DE ENTOMOPARASITOLOGIA:

Na Secção de Entomoparasitologia desenvolve-se os seguintes projectos:

1 - Biofábrica do hospedeiro intermediário *Ephestia kuehniella* ZELLER (Lep., Pyralidae), gerida e controlada por computador em tempo real para a produção de parasitas oófagos e predadores (projecto financiado pela Secretaria Regional da Agricultura e Pescas e em cooperação com o Instituto Superior de Línguas e Administração).

Para se atingirem os números suficientes para as largadas inundativas de insectos parasitoides oófagos do género *Trichogramma* e predadores afídifagos da família Coccinellidae, torna-se necessário produzir industrialmente um hospedeiro intermediário *E. kuehniella*. Os estudos biológicos e tecnológicos já efectuados no protótipo da Biofábrica da Universidade dos Açores, objecto de patente de invenção nº 76184 (TAVARES, 1983), levaram-nos à automatização da recuperação dos adultos de *E. kuehniella*. Em 1990, esta unidade produziu cerca de 282.000 milhões de Tricogramas destinados ao combate de diversas pragas agrícolas nos Açores e no Continente.

2 - Bioecologia de *Apanteles militaris* Walsh. (Hym., Braconidae) parasita larvar da "lagarta das pastagens" *Mythimna unipuncta* Haw. (Lep., Noctuidae) (projecto financiado pela Secretaria Regional da Agricultura e Pescas).

O parasita larvar *A. militaris* é o responsável pela maioria do parasitismo quantificado da praga *M. unipuncta* (GARCIA & TAVARES, 1979). Com o objectivo de reforçar as populações naturais do parasita, desde a primeira geração da praga, estão a ser desenvolvidos estudos sobre o desenvolvimento e a reprodução de *A. militaris*, avaliando-

se a sua eficácia sobre a forma de largadas inundativas para o controlo do seu hospedeiro. Paralelamente, investiga-se a sua caracterização (morfológica e enzimática) tendo em vista a comparação de diferentes populações insulares e continentais (OLIVEIRA, 1991).

3 - Controlo biológico de pragas agrícolas: Traça-da-uva *Lobesia botrana* Den. & Schiff. (Lep., Tortricidae) e Broca-do-milho *Ostrinia nubilalis* Hubn. (Lep., Pyralidae) pelo emprego de parasitas oófagos do género *Trichogramma* (projecto em cooperação com o Centro Nacional de Protecção à Produção Agrícola e as Direcções Regionais de Agricultura do Ribatejo e Oeste e BeiraInterior)

As culturas da vinha e do milho do continente português são atacadas, respectivamente, pelas pragas agrícolas: *L. botrana* e *O. nubilalis*. Estas espécies causam grandes prejuízos directos e indirectos na qualidade e quantidade daquelas culturas, obrigando à intervenção com pesticidas. Para encontrar alternativas a estes, e com base no inventário da entomofauna associada, decorrem ensaios com parasitas oófagos do género *Trichogramma* sp. na região de Santarém e Castelo Branco. Em consequência, verifica-se um decréscimo acentuado das pragas para níveis inferiores ao económico de ataque (TAVARES *et al.* 1989).

4 - Estudos ecológicos e genéticos da praga *Mythimna unipuncta* (Lep., Noctuidae). Definição duma estratégia de luta (projecto em cooperação com o Institut des Sciences Appliquées de Lyon e a Université de Laval - Québec).

Esta praga foi assinalada pela primeira vez nos Açores por GODMAN, em 1870. Um século mais tarde, com o desaparecimento das culturas anuais em favor das pastagens artificiais, tornou-se uma séria ameaça no sector primário, já que anualmente consome cerca de 8% da produção das pastagens (TAVARES, 1989). Para eliminar os inconvenientes da utilização dos pesticidas no seu combate, estuda-se a sua caracterização bioecológica e genética para a definição de uma estratégia de luta com recurso aos inimigos naturais. Assim, em 1990 foram tratados com êxito 400 ha de pastagem com o parasita *Trichogramma cordubensis* (Hym., Trichogrammatidae).

5 - Estudo dos inimigos naturais de *Myrica faya* Ait. (Myr., Myricaceae) no Arquipélago dos Açores (projecto em cooperação com a University of Hawaii at Manoa).

M. faya, planta nativa da Macaronésia, foi introduzida no Hawaii, por emigrantes Portugueses como planta ornamental (KIM, 1969), provavelmente no fim do século passado. Actualmente, é uma ameaça à agricultura do Hawaii. Com a investigação em curso, pretende-se estudar os inimigos desta planta, os quais serão posteriormente introduzidos no Hawaii como agentes de controlo da propagação da planta. Presentemente estuda-se a

caracterização, biologia, ecologia e produção em massa de quatro lepidópteros, responsáveis pela desfoliação da planta, nomeadamente, dos órgãos reprodutores.

6 - Prestação de serviços de consultadoria sobre a lagarta-das-pastagens a Sociedades Agro-Pecuárias (as empresas Altiprado e Eduardo Pacheco).

III- SECÇÃO DE PREDADORES ENTOMÓFAGOS

No que concerne à investigação desenvolvida pela Secção de Predadores Entomófagos encontram-se actualmente 3 linhas de investigação em curso:

1 - Biofábrica de multiplicação maciça de coccinelídeos afidíípagos (projecto financiado pela I.N.I.C.T.).

Actualmente as unidades de produção maciça de Predadores Entomófagos funcionam através da reconstituição da cadeia trófica: suporte vegetal, fitófago e predador. Estas unidades funcionam em condições artificiais e põem problemas de ordem biotécnica (SCHANDERL, 1987), já que a qualidade dos insectos produzidos nem sempre é a melhor. As suas potencialidades biológicas (reprodução, longevidade, duração do ciclo, poder predador e consumo alimentar) são na maior parte das vezes afectadas, exigindo uma biomassa considerável, que só se atinge mediante custos muito elevados (instalações, mão-de-obra e material renovável). Tendo em conta todos estes factores desenvolvemos estudos com vista à multiplicação maciça de predadores entomófagos, neste caso o de coccinelídeos afidíípagos, utilizando uma alimentação de substituição. Vários alimentos e predadores foram utilizados sobressaindo como presa os ovos de *Ephestia kuehniella* ZELLER (Lep., Pyralidae) e como predador a joaninha *Harmonia axyridis* PALLAS (SCHANDERL, 1988 e 1989a). Ao fim de 12 gerações as "performances" de *H. axyridis* estabilizaram-se ou melhoraram sensivelmente com relação àquelas observadas com uma alimentação natural (afídeos). Nas larvas a maior parte dos critérios biológicos mostrou-se superior (caso da sobrevivência) ou comparável (peso dos adultos, duração do desenvolvimento) aos observados com os afídeos. Nos adultos a fecundidade e fertilidade é multiplicada por um factor de 1,12 para a 1ª Geração, atingindo 2,4 ao fim da 12ª Geração. (SCHANDERL, 1989b). Estes resultados demonstram ser possível uma multiplicação maciça contínua de *H. axyridis* utilizando como presa os ovos de *E. kuehniella*. No momento actual prosseguem estudos com vista à automatização desta produção o que virá revolucionar as técnicas de produção de Predadores Entomófagos

2 - Introdução na Ilha de Santa Maria (Açores) de *Harmonia axyridis* PALLAS (Col., Coccinellidae) para controlo dos afídeos dos citrinos (projecto financiado pela Secretaria Regional da Agricultura e Pescas).

Desde 1977, que o Departamento de Biologia vem estudando hipóteses de largadas maciças de espécies locais ou de introdução de novas espécies de predadores afidípagos com o fim de repôr um equilíbrio biológico, que se encontra bastante alterado. Durante este espaço de tempo numerosos predadores foram por nós estudados: *Chrysoperla carnea* Stephens, *Chrysoperla perla* Say (Neur., Chrysopidae), *Adalia bipunctata* L., *Semiadalia undecimnotata* Schneider, *Coccinella undecimpunctata* L., *Coccinella septempunctata* L. e *Harmonia axyridis* Pallas (Col. Coccinellidae). De entre estes e tendo em conta os afídeos a combater, neste caso os afídeos dos citrinos, *Harmonia axyridis* mostrou ser a espécie mais adaptada, quer pela sua plasticidade alimentar, quer pela sua fecundidade/fertilidade, e adaptação excepcional às condições abióticas. Assim desde há 3 anos que têm sido largadas nos pomares de citrinos da ilha de Santa Maria cerca de 60.000 larvas/ano desta espécie de joaninha afidífaga para controlo dos afídeos existentes (SCHANDERL *et al.* 1991). Se os resultados de introdução não podem ser até à data totalmente conhecidos, os de acção directa, ou seja, combate imediato são já um sucesso pois diminuiu-se e nalguns casos eliminou-se por completo o emprego de aficidas.

3 - Estudo das principais doenças e pragas dos citrinos (projecto em colaboração com a Secretaria Regional da Agricultura e Pescas).

No século passado a cultura de citrinos foi a base da Economia Açoreana, tendo desaparecido gradualmente em razão do aparecimento de novas pragas. Com o fim de repôr esta cultura entre as principais na Agricultura Açoreana vimos desenvolvendo estudos sobre as suas principais pragas das famílias: *Aphidoidea*, *Coccoidea*, *Psilidae* e *Aleurodae*. O conhecimento profundo da dinâmica destas populações e dos seus principais controladores possibilitará alterar o panorama actual quer por modificações culturais quer pelo incremento da Luta Biológica.

IV - SECÇÃO DE ENTOMOPATOLOGIA

As actividades da Secção de Entomopatologia iniciaram-se com a investigação sobre o controlo do escarvelho japonês na Ilha Terceira em 1984.

Actualmente, a nossa investigação está orientada para: utilização de agentes entomopatogénicos em controlo biológico, pesquisa de biopesticidas, novas estirpes de microorganismos e biomoléculas de origem microbiológica, multiplicação em massa em bioreactor de microorganismos para utilização em projectos de controlo biológico e interacção parasita/hospedeiro.

1 - Integrat Pest Management (IPM)

No "Projecto de controlo integrado do escaravelho japonês, *Popillia japonica*, na Ilha Terceira" (projecto em colaboração com a Secretaria Regional da Agricultura e Pescas), fizemos o estudo da biologia e da dinâmica da população do insecto praga (SIMÕES & MARTINS, 1985). Na monitorização do insecto utilizamos amostragens directas para as larvas e indirectas, com recurso a semioquímicos, para os adultos (MARTINS *et al.*, 1988). No que respeita ao controlo da praga, avaliamos a eficácia dos tratamentos com pesticida contra os adultos e vimos ensaiando a aplicação de controladores microbiológicos: a bactéria causadora da "doença leitosa", *Bacillus popilliae*, os nemátodos entomopatogénicos das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae (SIMÕES *et al.*, 1991) e uma das várias estirpes de fungos entomopatogénicos, que encontramos na Terceira. Recentemente, temos vindo a fazer ensaios com uma outra bactéria, *Serratia* sp. e com um protozoário, *Ovavesicula popilliae*.

2 - Pesquisa e selecção de novos agentes entomopatogénicos.

É conhecida a variabilidade da eficácia das diferentes estirpes do mesmo agente entomopatogénico. Desde 1984 que vimos isolando estirpes de fungos, nemátodos, bactérias e vírus e testando a sua patogenicidade contra os insectos pragas *Popillia japonica* e *Mythimna unipuncta*. Iniciamos os ensaios de melhoramento de um de fungo, com base na recombinação, via ciclo parasexual, para uma característica específica relacionada com a patogenicidade.

3 - Factores ambientais e parasitismo.

Tem sido demonstrado que o grau de eficácia de um parasita está ligado, para além das condições inerentes ao hospedeiro, a condições abióticas. Pensa-se também que os factores bióticos devem desempenhar um importante papel. Estamos a desenvolver investigação sobre o sinergismo de factores das duas naturezas no parasitismo de larvas que vivem no solo.

4 - Produção em massa de microorganismos para controlo microbiológico.

Fazemos a produção *in vitro* de nemátodos e fungos entomopatogénicos. Estamos a fazer investigação sobre a multiplicação em bioreactor de nemátodos entomopatogénicos para a sua utilização em controlo microbiológico. Com vista à concepção e construção de um fermentador, estamos a desenvolver trabalhos de biologia do nemátodo: reprodução, nutrição, indução do estado resistente (3º estado larvar) e comportamento dos adultos em meio líquido (NEVES *et al.*, 1990).

5 - Metabolitos de origem microbiana com actividade insecticida.

Alguns microorganismos entomopatogénicos libertam secreções e/ou excreções (S/E) com actividade entomotóxica. Estamos a fazer o isolamento e a caracterizar metabolitos de um nemátodo do género *Steinernema* (LAUMOND *et al.*, 1989). Recorremos a técnicas de cromatografia líquida e electroforese para o isolamento, ensaios de toxicidade *in vivo* sobre lepidópteros e coleópteros e *in vitro* sobre cultura de tecidos de insectos para a caracterização. Na determinação do modo de acção, recorremos à microscopia óptica e electrónica e a ensaios enzimáticos: proteases, lipases, quitinases e AChE.

6 - Modo de acção do parasita: imunodepressão.

Numa perspectiva de controlo de insectos, por um parasita, é muito importante conhecer as reacções de defesa que o insecto desenvolve e o modo como o microorganismo actua. Ensaio *in vivo* e *in vitro* mostram a existência de factores imunitários, pouco específicos, no insecto induzidos pela presença do microorganismo. O nemátodo entomoparasita *Steinernema carpocapsae* destrói os factores imunológicos do insecto contra bactérias gram positivo.

V - BIBLIOGRAFIA

- GARCIA V. & TAVARES J. (1980) *Mythimna unipuncta* HAW. (Lep., Noctuidae) e o seu parasita larvar *Apanteles militaris* WALSH (Hym., Braconidae) em S. Miguel - Açores. Arquipélago, Série Ciências da Natureza, 1, 135-141.
- KIM J. (1969) *Myrica faya* control in Hawaii. Down to Earth, 25: 23-25.
- LAUMOND C., SIMÕES N. & BOEMARE N. (1989). Toxins of entomoparasitic nematodes. Pathogenicity of *Steinernema carpocapsae*. Prospectives of genetic engineering. C. R. Acad. Agric. 75: 135-138.
- MARTINS A., PAIVA, M. R. & SIMÕES N. (1988). Japanese beetle: monitoring in the Azores with semiochemicals. Ecological Bulletin, 39: 101 - 103.
- NEVES J., TELXEIRA J. A., MOTA M. & SIMÕES N. Detecção e caracterização de uma feromona envolvida na multiplicação de *Steinernema carpocapsae*. V Congresso Nacional de Biotecnologia. Braga 31, Out. - 3 Nov. de 1990
- OLIVEIRA L. (1991) Bioecologia de *Apanteles militaris* (WALSH) (Hym., Braconidae). Rel. Síntese das provas para Assistente de Investigação, Universidade dos Açores (em preparação).
- SCHANDERL, H. (1987). Determination des conditions optimales d'élevage de la coccinelle *Harmonia axyridis* PALLAS (Col., Coccinellidae), et possibilité d'une production continue à l'aide d'une proie de substitution, les oeufs d'*Ephesia*

- kuehniella* ZELLER (Lep., Pyralidae). Thèse de Docteur en Sciences, Université de Droit, d'Economie et des Sciences, d'Aix-Marseille III, 139 pp.
- SCHANDERL, H. & FERRAN, A. (1988). Possibilité d'élevage de 2 coccinelles *Harmonia axyridis* PALLAS et *Semiadalia undecimnotata* SCHNEIDER (Col., Coccinellidae) à l'aide d'oeufs d'*Ephestia kuehniella* ZELLER (Lep., Pyralidae) tués par une exposition à un rayonnement ultra-violet. *Entomologia Experimentalis and Applicata*, 49: 235-244.
- SCHANDERL, H. (1989a). Síntese dos trabalhos realizados com vista à instalação de uma nova unidade Biotecnológica produtora de Joaninhas Afídifagas. I - Relação Predador/Presa. Universidade dos Açores, 1-54.
- SCHANDERL, H. (1989b). Estudo das capacidades predadoras da Joaninha *Harmonia axyridis* PALLAS. (Col., Coccinellidae) e valor nutritivo dos afídeos *Aphis fabae* SCOPOLLI, *Acyrtosiphon pisum* HARRIS e *Myzus persicae* SULZER. Universidade dos Açores, 1-52.
- SCHANDERL, H., FERRAN, A. & ALMEIDA, J. (1991) First introduction of *Harmonia axyridis* PALLAS, (Col., Coccinellidae) in S. Maria (Azores Islands) for control of Orchards Aphids. *Agronomie (em publicação)*.
- SIMÕES N. & MARTINS A. (1985) Life cycle of *Popillia japonica* Newman (Coleoptera: Scarabaeidae) in Terceira Island - Azores. *Arquipélago, Série Ciências da Natureza*, 6: 173-179.
- SIMÕES N., LAUMOND C. & BONIFASSI, E. (1991) Effectiveness of entomophilic nematodes *Steinernema* and *Heterorhabditis* against *Popillia japonica* (Col.: Scarabaeidae) in Açores. (in press).
- TAVARES J. (1983) Unidade de processamento automático para os adultos da traça-da-farinha usadas como hospedeiros de substituição nas biofábricas de insectos oófagos. *Entomologia industrial - produção animal. Patente de Invenção nº 76184-Int CI A 01* M. Bol. Prop. Ind. - Apêndice ao Diário da República de 23/02/1984.
- TAVARES J., OLIVEIRA L., TEIXEIRA R., ANUNCIADA L., MOREIRA I., SANTOS F., MADEIRA D., HENRIQUES L. & MATIAS H. (1989) Controlo biológico da Traça-da-uva *Loebesia botrana* DEN. & SCHIFF. (Lep., Tortricidae) pelo emprego de *Trichogramma cacoeciae* MARCHAL (Hym., Trichogrammatidae). *Bol. Soc. Port. Ent.*, 103 (4) 1. 1-11.
- TAVARES J. (1989) *Mythimna unipuncta* (HAWORTH) (Lep., Noctuidae) aux Açores. *Bioécologie et Lutte Biologique. Tese de Doctorat d'État Ès-Sciences, Université de Droit d'Économie et des Sciences d'Aix - Marseille*, 1-203.