

# Instituto Universitário dos Açores



## **Efeitos de um aficida sobre as potencialidades biológicas de dois predadores afidípagos:**

*Cheilomenes sulphurea* (OLIVIER) e *Semiadalia undecimnotata* SCHNEIDER:

**(Coleoptera, Coccinellidae)**

por

**VASCO GARCIA**

Laboratório de Ecologia Aplicada

Tese de doutoramento em Ciências  
(Especialidade: Ecologia Animal),



**Ponta Delgada.**

**1979**

# Instituto Universitário dos Açores



**Efeitos de um aficida sobre as potencialidades  
biológicas de dois predadores afidípagos:**

*Cheilomenes sulphurea* (OLIVIER) e *Semiadalia undecimnotata* SCHNEIDER.

**(Coleoptera, Coccinellidae)**

por

**VASCO GARCIA**

Laboratório de Ecologia Aplicada

Tese de doutoramento em Ciências  
(Especialidade: Ecologia Animal)



Ponta Delgada

1979

Instituto Universitário dos Açores  
Ponta Delgada

21568  
EX-2

595.7  
G 211 ef  
EX-2

À memória do Professor  
VIRGILIO CANNAS MARTINS,  
pela mão de quem entrei  
na investigação científica.

Aos Açores, as minhas ilhas.  
À Europa, o meu continente.

## I N D I C E

PREFÁCIO	1
INTRODUÇÃO	4
<u>ESTATÍSTICA</u>	8
1 - <u>Parâmetros estatísticos</u>	8
2 - <u>Regressão linear</u>	9
2.1. <u>Determinação do declive e da ordenada na origem</u>	9
2.2. <u>Coeficiente de correlação</u>	10
2.3. <u>Segurança do coeficiente de correlação</u>	10
3 - <u>Teste de "MANN-WHITNEY"</u>	11

### PRIMEIRA PARTE

#### A ESCOLHA DAS ESPÉCIES DE COCCINELÍDEOS

<u>CAPÍTULO I</u>	14
A METODOLOGIA	
1 - <u>RAZÕES DAS ESCOLHAS</u>	14
2 - <u>A POSIÇÃO SISTEMÁTICA DE SEMIADALIA 11 NOTATA SCHNEIDER</u>	15
3 - <u>A POSIÇÃO SISTEMÁTICA DE CHEILOMENES SULPHUREA (OLIVIER)</u>	17
4 - <u>OS MÉTODOS EM GERAL</u>	17
5 - <u>OS CARACTERES FOSSEIS</u>	18
6 - <u>OS CARACTERES BIOECOLÓGICOS</u>	19
<u>CAPÍTULO II</u>	20
O LUGAR EVOLUTIVO DE <u>SEMIADALIA UNDECIMNOTATA SCHNEIDER</u> ENTRE ALGUNS AFIDÍFAGOS DO SUDESTE DA FRANÇA	
1 - <u>MATERIAL E MÉTODOS</u>	20
1.1. <u>As disseccões</u>	20
1.2. <u>Montagem dos órgãos não quitinizados</u>	21
1.3. <u>Montagem dos órgãos quitinizados</u>	21
1.4. <u>Os critérios de estudo</u>	21
2 - <u>CRITÉRIOS MORFOLÓGICOS</u>	22
2.1. <u>A forma dos élitros</u>	22

2.2.	<u>A convexidade do corpo</u>	22
2.3.	<u>O edeago</u>	24
2.4.	<u>A espermateca</u>	26
2.5.	<u>As mandíbulas</u>	26
3 -	<u>CRITÉRIOS BIOECOLÓGICOS</u>	29
3.1.	<u>O número de ovaríolos</u>	29
3.2.	<u>A fertilidade média diária</u>	30
3.3.	<u>O voltinismo</u>	32
3.4.	<u>A influência do estrato vegetal</u>	32
3.5.	<u>O grau de atracção dos pulgões</u>	33
3.6.	<u>A distribuição geográfica</u>	34
3.7.	<u>Conclusões</u>	34
 <u>CAPÍTULO III</u>		36
<u>COMPARAÇÃO DE DOIS AFIDÍFAGOS: CHEILOMENES SULPHUREA (OLIVIER) E SEMIADALIA UNDECIMNOTATA SCHNEIDER</u>		
1 -	<u>COMPARAÇÃO DAS POSIÇÕES EVOLUTIVAS DENTRO DOS COCCINELLINI SENSU LATO</u>	36
1.1.	<u>A forma dos élitros</u>	36
1.2.	<u>A convexidade do corpo</u>	36
1.3.	<u>O edeago</u>	38
1.4.	<u>A espermateca</u>	38
1.5.	<u>As mandíbulas</u>	38
1.6.	<u>O número de ovaríolos</u>	38
1.7.	<u>A fertilidade média</u>	41
1.8.	<u>O voltinismo</u>	41
1.9.	<u>A influência do estrato vegetal</u>	42
1.10.	<u>O grau de atracção dos afídeos</u>	42
1.11.	<u>A distribuição geográfica</u>	42
 <u>CONCLUSÕES DA PRIMEIRA PARTE</u>		44
 SEGUNDA PARTE  <u>MATERIAL, MÉTODOS E TÉCNICAS</u>		
 <u>GENERALIDADES</u>		47

<u>CAPÍTULO I</u>	48
MATERIAIS E MÉTODOS	
1 - <u>MÉTODOS DE CULTURA DOS PREDADORES DE AFÍDEOS</u>	48
1.1. <u>A cultura do suporte vegetal</u>	48
1.1.1. <u>Material</u>	48
1.1.2. <u>As técnicas e as condições de ambiente</u>	49
1.2. <u>A multiplicação dos Afídeos</u>	50
1.3. <u>A criação de joaninhas</u>	51
1.3.1. <u>A fase de reactivação dos adultos</u>	52
1.3.2. <u>A fase de postura e de incubação dos ovos</u>	53
1.3.3. <u>A fase de cultura das larvas</u>	53
1.3.4. <u>A fase de cultura dos adultos</u>	54
2 - <u>COMPARAÇÃO DOS CICLOS BIOLÓGICOS</u>	54
<u>CAPÍTULO II</u>	58
AS TÉCNICAS UTILIZADAS	
1 - <u>O CONTROLO PONDERAL</u>	58
2 - <u>O CONTROLO DO ESTADO FISIOLÓGICO DAS FÊMEAS</u>	59
3 - <u>A PULVERIZAÇÃO DO PESTICIDA</u>	59
4 - <u>O PESTICIDA UTILIZADO</u>	63
5 - <u>A RESPIROMETRIA DAS LARVAS</u>	64
5.1. <u>Material</u>	65
5.2. <u>Métodos</u>	66
5.2.1. <u>Condições de experimentação</u>	66
5.2.2. <u>Nutrição, pesagem das larvas e protocolo experimental</u>	66
5.2.3. <u>Particularidades do método respirométrico</u>	66
6 - <u>A CARDIOMETRIA DAS PUPAS</u>	67
6.1. <u>As pupas observadas</u>	68
6.2. <u>A técnica utilizada</u>	68
6.3. <u>Material</u>	69
<u>CONCLUSÕES DA SEGUNDA PARTE</u>	70

TERCEIRA PARTE  
EFEITOS DE UM AFICIDA SOBRE AS LARVAS

<u>GENERALIDADES</u>	73
<u>CAPÍTULO I</u>	75
<u>INFLUENCIA DO PIRIMICARBE SOBRE A VORACIDADE LARVAR DE CHEILOMENES SULPHUREA</u>	
1 - <u>MATERIAL E MÉTODOS</u>	75
2 - <u>INFLUENCIA DO PIRIMICARBE SOBRE A VORACIDADE LARVAR DE CHEILOMENES SULPHUREA</u>	75
3 - <u>INFLUENCIA DO PIRIMICARBE SOBRE A MORTALIDADE LARVAR</u>	76
<u>CAPÍTULO II</u>	80
<u>EFEITOS DO PIRIMICARBE SOBRE O CONSUMO ALIMENTAR DAS LARVAS DE SEMIADALIA 11 NOTATA</u>	
1 - <u>MATERIAL E MÉTODOS</u>	80
1.1. <u>Coeficiente de utilização alimentar</u>	80
1.2. <u>Cálculo do consumo alimentar das larvas</u>	81
2 - <u>INFLUENCIA DO PIRIMICARBE SOBRE O CONSUMO ALIMENTAR CUMULATIVO MÉDIO EM FUNÇÃO DO PESO</u>	83
2.1. <u>Primeira experiência</u>	83
2.2. <u>Segunda experiência</u>	85
2.3. <u>Conclusões</u>	89
3 - <u>INFLUENCIA DO PIRIMICARBE NO RENDIMENTO ALIMENTAR DAS L4 DE S.11 NOTATA</u>	90
4 - <u>INFLUENCIA DO PIRIMICARBE SOBRE A EVOLUÇÃO PONDERAL DAS L4 DE S.11 NOTATA</u>	96
4.1. <u>Efeitos do aficida sobre o aumento do peso larvar</u>	96
4.1.1. <u>Primeira experiência</u>	96
4.1.2. <u>Segunda experiência</u>	96
4.1.3. <u>Variações de peso provocadas pelo aficida nas L4 de S.11 notata</u>	97

5 -	<u>EFEITO DO PIRIMICARBE SOBRE O CONSUMO ALI- MENTAR CUMULATIVO EM FUNÇÃO DO TEMPO</u>	101
	5.1. <u>Primeira experiência</u>	102
	5.2. <u>Segunda experiência</u>	102
	5.3 <u>Conclusões</u>	102
6 -	<u>EFEITO DO PIRIMICARBE SOBRE A DURAÇÃO DO QUARTO ESTADO LARVAR E DA RESPECTIVA FASE ALIMENTAR</u>	102
7 -	<u>A MORTALIDADE</u>	107
 <u>CAPÍTULO III</u>		109
<u>EFEITOS DE UM AFICIDA SOBRE A RESPIRAÇÃO DAS LARVAS DE SEMIADALIA UNDECIMNOTATA SCHNEIDER</u>		
1 -	<u>PROTOCOLO EXPERIMENTAL</u>	109
2 -	<u>INFLUÊNCIA DO PIRIMICARBE SOBRE O CONSUMO DE OXIGÊNIO</u>	110
3 -	<u>INFLUENCIA DO PIRIMICARBE SOBRE A EXPIRA- ÇÃO DO ANIDRIDO CARBÔNICO</u>	114
	3.1. <u>Cálculo do volume de Anidrido Carbô- nico</u>	114
	3.2. <u>Evolução do volume de Anidrido Car- bônico expirado pelas larvas</u>	115
4 -	<u>INFLUENCIA DO PIRIMICARBE SOBRE O QUOCIENTE RESPIRATÓRIO</u>	119
 <u>CONCLUSÕES DA TERCEIRA PARTE</u>		124
1 -	<u>CHEILOMENES SULPHUREA</u>	124
2 -	<u>SEMIADALIA 11 NOTATA</u>	124
3 -	<u>RESPIROMETRIA</u>	125
4 -	<u>MORTALIDADE</u>	126
 QUARTA PARTE		
<u>EFEITOS DE UM AFICIDA SOBRE O RITMO CARDÍACO DAS PUPAS</u>		
 <u>GENERALIDADES</u>		128
 <u>CAPÍTULO I</u>		130

## O RITMO CARDÍACO DAS PUPAS DE CHEILOMENES SULPHUREA

- 1 - O RITMO CARDÍACO DAS PUPAS DE Cheilomenes sulphurea 130
  - 1.1. Análise quantitativa dos batimentos cardíacos 130
  - 1.2. Análise qualitativa do ritmo de batimentos cardíacos 132
- 2 - ACÇÃO DO PIRIMICARBE SOBRE O RITMO CARDÍACO DAS PUPAS DE S. 11 NOTATA 134
  - 2.1. Análise dos efeitos do pirimicarbe através dos cardiogramas 134
  - 2.2. Conclusões 139
- 3 - ACÇÃO DO PIRIMICARBE SOBRE A DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIAS DOS BATIMENTOS CARDÍACOS DAS PUPAS 139
  - 3.1. Distribuição de frequências dos batimentos cardíacos às 48 horas de ninfose 139
  - 3.2. Distribuição de frequências dos batimentos cardíacos às 72 horas de ninfose 141
  - 3.3. Conclusões 141

## CONCLUSÕES DA QUARTA PARTE 143

### QUINTA PARTE

## EFEITOS DUM AFICIDA SOBRE A POSTURA DE UM COCCINELÍDEO AFIDÍFAGO

### GENERALIDADES 146

### CAPÍTULO I 148

#### EFEITOS DO PIRIMICARBE SOBRE A DURAÇÃO DA PRÉ-OVIPOSIÇÃO

- 1 - PROTOCOLO EXPERIMENTAL 148
- 2 - INFLUENCIA DO AFICIDA NA DURAÇÃO DA PRÉ-OVIPOSIÇÃO 148
  - 2.1. Fêmeas de cultura laboratorial 148

2.2. <u>Fêmeas no início da diapausa</u>	149
2.3. <u>Fêmeas em diapausa</u>	150
2.4. <u>Fêmeas no fim da diapausa</u>	151
2.5. <u>Conclusões</u>	152
<u>CAPITULO II</u>	153
ACÇÃO DO PIRIMICARBE SOBRE A EVOLUÇÃO DAS POSTURAS	
1 - <u>ACÇÃO DO PIRIMICARBE SOBRE A POSTURA DAS FÊMEAS NO INÍCIO DA DIAPAUSA</u>	153
2 - <u>ACÇÃO DO PIRIMICARBE SOBRE AS FÊMEAS DURANTE A DIAPAUSA</u>	154
3 - <u>ACÇÃO DO PIRIMICARBE SOBRE AS FÊMEAS NO FIM DA DIAPAUSA</u>	156
4 - <u>ACÇÃO DO PIRIMICARBE SOBRE AS FÊMEAS EM ACTIVIDADE</u>	157
<u>CAPÍTULO III</u>	160
ACÇÃO DO PIRIMICARBE SOBRE A DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIAS DAS POSTURAS	
1 - <u>METODOLOGIA</u>	160
2 - <u>DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIAS DAS POSTURAS</u>	160
2.1. <u>Início da diapausa</u>	160
2.2. <u>Durante a diapausa</u>	165
2.3. <u>No fim da diapausa</u>	165
2.4. <u>Em actividade (laboratório)</u>	165
2.5. <u>Conclusões</u>	166
3 - <u>MORTALIDADE</u>	166
<u>CONCLUSÕES DA QUINTA PARTE</u>	169
1 - <u>EFEITOS DO AFICIDA SOBRE A PRÉ-OVIPOSIÇÃO</u>	169
2 - <u>EFEITOS DO AFICIDA SOBRE A EVOLUÇÃO DAS POSTURAS</u>	169
3 - <u>EFEITOS DO PIRIMICARBE SOBRE A DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIAS DAS POSTURAS</u>	171
4 - <u>MORTALIDADE</u>	172
DISCUSSÃO	173

1 - <u>ESCOLHA DAS ESPÉCIES DE COCCINELÍDEOS</u>	174
2 - <u>MATERIAL, MÉTODOS E TÉCNICAS</u>	175
3 - <u>EFEITOS DE UM AFICIDA SOBRE AS LARVAS</u>	176
4 - <u>EFEITOS DE UM AFICIDA SOBRE O RITMO CARDÍACO</u> <u>DAS PUPAS</u>	180
5 - <u>EFEITOS DE UM AFICIDA SOBRE A POSTURA</u>	181
CONCLUSÕES	184
1 - <u>A escolha do material biológico</u>	184
2 - <u>Os métodos e técnicas empregados</u>	184
3 - <u>Os efeitos do aficida sobre as larvas</u>	184
4 - <u>Efeitos do aficida sobre o ritmo cardíaco das</u> <u>pupas</u>	186
5 - <u>Efeito do aficida sobre a postura</u>	186
6 - <u>A mortalidade</u>	187
RESUMO	189
RÉSUMÉ	191
SUMMARY	193
<u>BIBLIOGRAFIA</u>	195
LISTA DE FIGURAS	201
ANEXOS	204

## P R E F Á C I O

Este trabalho começou a ser efectuado na Divisão de Entomologia do Instituto de Investigação Científica de Angola, em Luanda, a partir de 1970.

Entre Abril de 1974 e Julho de 1976, os estudos apresentados ganharam novo impulso na Estação de Luta Biológica de Antibes, do Instituto Nacional de Investigação Agronómica de França, graças a bolsas de estudo que nos foram atribuídas pela Divisão dos Assuntos Científicos da N.A.T.O. (1974-75) e do Governo Francês (1975-76).

De Julho de 1976 a Março de 1978, os trabalhos continuaram no Laboratório de Ecologia Aplicada do Instituto Universitário dos Açores.

Em Março de 1978, foi-nos novamente concedida uma bolsa pelo Governo da França que permitiu concluir as pesquisas no I.N.R.A. de Antibes (Estação de Luta Biológica) e no Laboratório de Biologia Animal B (Professor GIRARDIE) da Universidade de Bordéus I.

Ao Instituto Universitário dos Açores, na pessoa do seu Reitor Professor JOSÉ ENES, agradecemos vivamente reconhecidos todas as facilidades e o apoio Amigo que nos permitiram, enquanto realizávamos este trabalho, ir montando o Laboratório de Ecologia Aplicada, já hoje uma realidade Açoriana.

Ao Sr. Professor ADRIEN GIRARDIE que já presidiu ao júri da nossa tese de doutoramento de especialidade e sob cuja orientação atenta e Amiga foi executada a maior parte da investigação, expressamos a nossa gratidão por todo o auxílio que nos tem prestado nestes trabalhos que mais uma vez vai julgar.

Para o Sr. Professor P. JOURDHEUIL, Director da Estação de Luta Biológica de Antibes que nos acolheu e orientou sempre da

forma mais valiosa, acedendo ainda a fazer parte do júri, assim como aos restantes membros do I.N.R.A. de Antibes, com particular destaque para os investigadores G. IPERTI e A. FERRAN, em cujos laboratórios trabalhámos com prazer e Amizade durante largo tempo adquirindo conhecimentos sobre os Coccinelídeos e a Luta Biológica em geral, o nosso maior reconhecimento.

Ao Sr. Professor FERRAND DE ALMEIDA, que foi nosso Mestre de Zoologia e Ecologia Animal e ao Sr. Professor MESQUITA RODRIGUES que o foi igualmente de Ecologia Vegetal, na velha e querida Universidade de Coimbra, testemunhamos a nossa gratidão pela honra que nos dão de participar no júri, após tantos anos em que a Vida nos manteve afastados.

Ao Sr. Professor LUIS SALDANHA, da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa e ao Sr. Professor HORÁCIO DA GRAÇA, do Instituto Universitário dos Açores, agradecemos sinceramente reconhecidos terem aceite pertencer ao júri, assim como todo o auxílio que nos seus sectores de investigação estão prestando à equipa do Laboratório de Ecologia do I.U.A.

Este trabalho só foi possível graças a numerosos apoios e Amizades que não esquecemos.

Destacam-se assim os nomes dos Senhores H. DE MONTERA e MAURICE DE VINCELLES, da Embaixada de França em Lisboa, que nos permitiram e permitem as missões de apoio técnico e científico da França, em numerosos domínios, desde a entomologia agrícola à fisiologia e à biologia marinha.

Ainda em relação à França, devemos agradecer aos colegas da Universidade de Bordéus I, em especial Madame JOSIANNE GIRARDIE, Mestre-investigador do C.N.R.S., do Laboratório de Biologia Animal B e ao Sr. Doutor ROBERT MOREAU e seu técnico Sr. RAMI, assim como a Madame GOURDOUX, estes últimos do Laboratório de Fisiologia Animal, toda a valiosa colaboração prestada.

Seria ingratidão esquecer todos aqueles que, no Instituto de Investigação Científica de Angola e na Universidade de Luanda, com o seu auxílio ou o seu estímulo, permitiram este trabalho. Tal é o caso do Sr. Professor IVO SOARES, catedrático de Anatomia da Escola Superior de Medicina Veterinária de Lisboa e antigo Reitor da Universidade de Luanda, ainda hoje nos honrando com a sua Amiza

de e confiança.

É o caso também do Sr. Professor GRANDVAUX BARBOSA, que foi nosso director no Instituto de Investigação Científica de Angola, sucedendo ao nosso primeiro director e querido Amigo, Professor VIRGILIO CANNAS MARTINS, já falecido.

Aos técnicos e investigadores da Divisão de Entomologia do I.I.C.A. de Luanda, dos quais destacamos os nomes da Doutora LORETE FERREIRA, do Eng<sup>o</sup>. Técnico VITOR BERARDINELLI, do Técnico RAUL BAIÃO e do Colector DOMINGOS ANTÓNIO SIMÃO, com quem ano após ano percorremos as savanas e desertos de Angola, estudando a entomologia tropical, fica aqui expresso que não os esquecemos, nem esqueceremos.

Aos nomes destes nossos colaboradores e porque pela dedicação amiga, é como se fosse mais um membro da equipa, juntamos o de MARIE MADELEINE LARROQUE, assistente técnica do I.N.R.A. de Antibes.

Finalmente a todos os membros da nossa equipa do Laboratório de Ecologia Aplicada do Instituto Universitário dos Açores que, dedicadamente, sem horas limite de trabalho, suportando com igual serenidade as críticas e os estímulos, as horas más e felizes, estão implantando nos Açores o espírito verdadeiro e imprescindível da investigação ecológica em moldes científicos, deixamos neste momento, com toda a humildade, o nosso muito e muito obrigado. Eles sabem-no: mas, não é demais repetir que estão no nosso coração, sem excepção e sem citar nomes, porque todos deram o máximo que puderam dar.

## I N T R O D U Ç Ã O

Após o fim da Segunda Guerra Mundial, a aplicação intensiva de pesticidas com vista ao combate às pragas agrícolas vem preocupando seriamente todos aqueles que se ocupam de problemas de protecção de culturas.

A poluição do ambiente, a poluição alimentar, os fenómenos da resistência de certas pragas aos produtos fitossanitários contra elas empregues, os desequilíbrios biológicos pela destruição dos predadores e parasitas, fazem parte dum mundo complexo de problemas suscitados pelo abuso da luta química em agricultura.

Assim e retomando uma via que já fora muito antes iniciada, desenvolveram-se por todo o mundo trabalhos de pesquisa no campo da luta biológica, tendentes a substituir os agentes de combate químico pelos auxiliares biológicos.

No entanto, e porque em muitos casos não é ainda possível apenas com a luta biológica, resolver os problemas da protecção fitossanitária, originou-se um novo tipo de combate às pragas que, sem eliminar os produtos pesticidas, complementa a sua acção com métodos biológicos.

Este tipo de acção enquadra-se naquilo que se designa geralmente por luta integrada ou controlo integrado.

Mas a noção de luta integrada não é tão simples como aparenta. Foi aliás uma ideia que tem vindo a evoluir lentamente, como resultado das pesquisas de entomologia aplicada e das experiências dos agrónomos e biólogos que sobre ela se debruçaram.

O Simpósio de Luta Integrada que se realizou em 1965, sob a égide das Nações Unidas, dá a seguinte definição:

"A luta integrada é um sistema de controlo das pragas que, no contexto do ambiente associado e da dinâmica das populações das pragas, utiliza de forma compatível, todos os métodos e

técnicas praticáveis para mantê-las abaixo dos níveis que ocasionam danos económicos".

Os especialistas de luta integrada da FAO, que se reuniram em 1968, confirmaram a validade da definição anterior ( HEINRICH 1973).

Mais recentemente durante o 5º Simpósio de Luta Integrada em Pomares, realizado em Bolzano (Itália) em 1974, a que assistimos, foi feita uma aproximação ainda mais precisa do que é a luta integrada.

Trata-se, segundo a Organização Internacional de Luta Biológica, do controlo de pragas "empregando todos os métodos que atendam a exigências económicas, ecológicas e toxicológicas, dando prioridade aos factores limitantes naturais e aos níveis de danos económicos".

Nesta noção, os factores limitantes naturais são completamente explorados e só são tomadas medidas curativas quando estritamente necessárias.

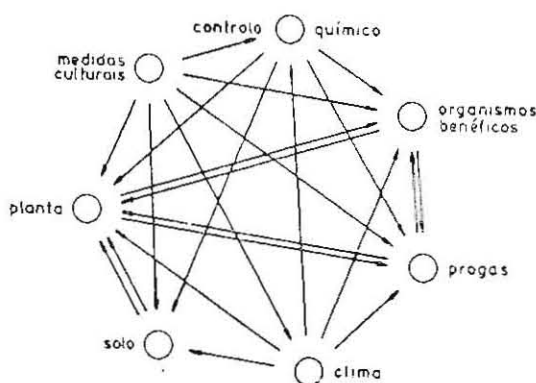
Segundo STEINER (in HEINRICH 1973), a organização geral de um agroecossistema baseia-se nos seguintes elementos principais:

- a planta, como base nutritiva dos organismos fitófagos e por consequência dos zoófagos deles dependentes, assim como fornecedora de húmus;
- os organismos prejudiciais, como parasitas da cultura e nutrição para os zoófagos;
- os zoófagos, nomeadamente os entomófagos, como inimigos naturais das pragas ou de outros auxiliares, inclusive outros zoófagos;
- o clima, e o seu efeito sobre as plantas, os animais e o solo, assim como sobre a acção dos pesticidas;
- as medidas culturais, que afectam todos os outros factores;

- o solo, suporte da planta e seu fornecedor de substâncias nutritivas;
- os pesticidas, e sua influência sobre os organismos vegetais e animais.

Estas inter-relações estão representadas no esquema que a seguir se apresenta (STETNER 1966):

Relações entre os principais elementos de um agro-ecossistema (Steiner 1966)



Deste esquema se pode concluir que a aplicação de um pesticida, num esquema de luta integrada, tem de ter em conta não só a acção que este vai exercer sobre as pragas, mas também sobre os organismos benéficos. No caso que nos interessa, estes são representados pelos predadores entomófagos da família Coccinellidae.

As pragas visadas nos nossos trabalhos e contra quem, em luta integrada, usamos os Coccinelídeos, são os Afídeos, vulgarmente conhecidos como pulgões.

Os possíveis obstáculos à adopção comercial da luta integrada são (BRADER 1975):

- a) o sistema de mercado dos produtos agrícolas exigindo produtos de excelente aparência (caracteres cosméticos).
- b) a legislação corrente dos pesticidas exigindo produ-

tos de letalidade máxima.

Ora, um pesticida polivalente de letalidade máxima é altamente nocivo pelos desequilíbrios que provoca no ecossistema.

Foi para evitar este tipo de pesticidas que o grupo "Pesticides and Beneficial Arthropods", criado no seio da Organização Internacional de Luta Biológica e reunido em Colmar (França) em 1975, propôs dar um novo impulso às investigações tendentes a determinar os efeitos de certos pesticidas, nomeadamente dos pesticidas específicos, sobre os artrópodos auxiliares do Homem na luta contra as pragas agrícolas.

O fim destes estudos é determinar métodos de avaliação dos chamados "efeitos secundários" dos pesticidas, mesmo nos casos em que a mortalidade provocada sobre os predadores ou parasitas é baixa ou até nula.

Isto porque se dão casos em que um produto não é imediatamente letal para um predador ou um parasita, mas provoca efeitos secundários na sua biologia e fisiologia que podem vir a ser fatais.

No nosso caso, fomos encarregados, no Laboratório de Coccinelídeos da Estação de Luta Biológica de Antibes, de estudar os métodos de avaliação dos efeitos de pesticidas específicos sobre predadores afidíípagos da família Coccinellidae, a cujo estudo nos dedicamos desde 1970.

Os estudos continuaram em França em 1974, nos Açores em 1976 e dos resultados destes trabalhos temos agora uma noção mais completa.

Estes resultados globais agora obtidos e alguns outros que no futuro se aprofundem, são a nossa contribuição para o grupo da O.I.L.B. já citado, cuja coordenação é feita pelo Dr. FRANZ, de Darmstadt (R.F.A.).

Assim se preparam, um pouco por toda a Europa, as novas normas que regulamentarão os pesticidas a utilizar na agricultura europeia dos anos 80.

## E S T A T I S T I C A

Durante as experimentações efectuadas, a segurança dos resultados foi verificada por meio de vários parâmetros e métodos estatísticos. Resumidamente, expõem-se a seguir os mais importantes.

### 1 - Parâmetros estatísticos

Os parâmetros mais utilizados foram:

- a média aritmética, ou simplesmente média  $\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i$
- o desvio padrão,  $S = \sqrt{\frac{\sum X_i^2 - n \bar{X}^2}{n-1}}$
- o erro padrão da média,  $S_{\bar{X}} = \frac{S_x}{\sqrt{n}}$
- o intervalo de confiança, i.c. =  $\frac{S_x}{\sqrt{n}} \times 1,96$ , para uma probabilidade de 95%.

Para pequenas amostras ( $n < 30$ ) admitiu-se que os erros seguiam a distribuição de Student. Assim, obteve-se o valor de t das tabelas compiladas por FISCHER (1958) em função do número de graus de liberdade e para uma probabilidade de 95%.

Portanto o valor médio tem 95% de probabilidades de se encontrar entre os limites:

$$\bar{X} \pm S_{\bar{X}} \cdot t \quad (1)$$

Do mesmo modo, cada dado experimental tem 95% de probabilidades de se encontrar entre os limites:

$$\bar{X} \pm S_x \cdot t \quad (2)$$

Atendendo a que  $S_x \cdot t$  dá o erro de que vem afectado um certo dado isolado, todos os dados que não pertençam ao intervalo

cujos limites são dados pela expressão (2) são desprezados, pois têm 95% de probabilidades de serem aberrantes.

## 2 - Regressão linear

### 2.1. Determinação do declive e da ordenada na origem

Usou-se o método dos mínimos quadrados para determinação da melhor recta que passa por um dado conjunto de pontos experimentais  $(X_i, Y_i)$ . Ou seja, determinou-se o declive (a) e a ordenada na origem (b) do seguinte modo:

$$a = \frac{\sum_{i=1}^n x_i y_i - \frac{\sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i}{n}}{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n x_i)^2}{n}} \quad (1);$$

$$b = \bar{y} - a\bar{x} \quad (2).$$

Considerámos assim que:

a) Havia erros experimentais nos valores de  $y_i$  mas não nos de  $x_i$ , ou melhor que os erros envolvidos nas determinações de  $x_i$  são bastante menores que os envolvidos na de  $y_i$ ;

b) Havia uma relação linear entre x e y dada por:

$$y = ax + b \quad (3).$$

Assim, se substituirmos o valor x da expressão (3) por um dado valor experimental de x ( $x_s$ ), o valor de y dado pela expressão (3) não será em geral igual a  $y_s$ , mas haverá um erro dado por:

$$(ax_s + b) - y_s \quad (4).$$

Usando o método dos mínimos quadrados, teremos então que escolher os valores de a e de b de modo que:

$$\frac{\partial \left[ \sum_{i=1}^n (ax_i + b - y_i)^2 \right]}{\partial a} = 0 \quad (5)$$

e [∂ = derivada parcial]

$$\frac{\partial \left[ \sum_{i=1}^n (ax_i + b - y_i)^2 \right]}{\partial b} = 0 \quad (6).$$

Resolvendo este sistema chegamos a que a e b são dados pelas expressões (1) e (2).

### 2.2. Coefficiente de correlação.

Um método de calcular o grau de associação entre os pontos experimentais  $(x_1, y_1), \dots, (x_n, y_n)$  é através do chamado coeficiente de correlação:

$$r = \frac{\frac{\sum x_i y_i}{n} - \bar{x} \cdot \bar{y}}{s_x \cdot s_y} \quad (7)$$

ou

$$r = \frac{a \cdot s_x}{s_y} \quad (8)$$

em que a é o declive da expressão (3). Tal como é definido, o coeficiente de correlação só pode tomar valores entre: -1 e +1. Se  $r=0$  poderemos dizer que a expressão (3) não tem realidade. Se pelo contrário  $|r|>0$ , poderemos dizer que a expressão (3) tem uma certa realidade, a qual será tanto melhor quanto |r| se aproximar de 1.

### 2.3. Segurança do coeficiente de correlação

Frequentemente tivemos que saber se um dado coeficiente de correlação era significativamente diferente de zero ou não. Para isso comparamos os valores de r obtidos com os valores de r pa-

ra uma segurança de 95%.

### 3 - Teste de "MANN-WHITNEY"

Aplica-se a duas amostragens independentes de tamanho igual ou diferente. Este teste destina-se a testar a hipótese nula entre duas populações (inexistência de diferenças significativas entre estas).

O teste define-se pelo valor de

$$U = n_1 \cdot n_2 + \frac{n_1(n_1+1)}{2} - \sum_{i=1}^{n_1} R_i$$

em que  $n_1$  e  $n_2$  são os tamanhos das duas amostragens. Seriam-se os valores de ambas as amostragens conjuntamente (como se fossem uma só amostragem) por ordem crescente de grandeza, tomando  $R_i$  ( $i=1,2, \dots, n_1$ ) os valores atribuídos teoricamente à primeira amostragem (é indiferente qual das amostragens se considera a primeira).

Quando  $n_1$  e  $n_2$  são pequenos, o teste de "MANN - WHITNEY" baseia-se na exacta distribuição de  $U$  e no valor deste em tabelas especialmente concebidas. Quando  $n_1$  e  $n_2$  são grandes (digamos, maiores que 8), então

$$Z = \frac{U - \frac{n_1 \cdot n_2}{2}}{\sqrt{n_1 \cdot n_2 (n_1 + n_2 + 1) / 12}}$$

é aproximadamente uma variável que segue a distribuição normal. O teste bilateral de nível  $\alpha$  conduz à rejeição da hipótese de identidade entre as duas amostragens sempre que

$$|Z| \geq z_{1 - \frac{\alpha}{2}}$$

ou seja, para uma segurança de 95%,

$$|Z| \geq 1,96$$

Exemplo

## AMOSTRAGEM 1

V.reais	14.9	11.3	13.2	16.6	17	14.1	15.4	13	16.9
V.teóricos	7	1	4	12	14	5	10	3	13

## AMOSTRAGEM 2

V.reais	19.4	15.2	19.8	14.7	18.3	16.2	21.2	18.9	12.2	15.3
V.teór.	17	8	18	6	15	11	19	16	2	9

$$n_1 = 9; n_2 = 10; U = 66,00 \quad |Z| = 1,71$$

$|Z| < 1,96$ , hipótese nula aceite.

NOTA: Quando aparecem valores repetidos, o seu valor é a média aritmética dos valores que teriam na série crescente.



Adulto de Cheilomenes sulphurea (OL.) ♀

Ampliado 11 vezes

PRIMEIRA PARTE

A ESCOLHA DAS ESPÉCIES DE COCCINELÍDEOS

## CAPÍTULO I

### A METODOLOGIA

#### 1 - RAZÕES DAS ESCOLHAS

Escolher um Coccinelídeo para efectuar ensaios visando a preciar a acção dum pesticida sobre as suas potencialidades biológicas, tais como a postura, o consumo alimentar, a respiração ou o ritmo cardíaco, apresenta certos problemas que tornam a decisão, por vezes, bastante difícil.

Nós escolhemos, como material biológico utilizado para a valiar os efeitos de um pesticida específico sobre a biologia dos Coccinelídeos afidípagos, duas espécies bem diferentes: Semiadalia undecimnotata SCHNEIDER e Cheilomenes sulphurea (OLIVIER). Várias razões o justificam, num caso como no outro.

a) A escolha de Semiadalia undecimnotata SCHNEIDER justifica-se porque:

- se trata de uma joaninha cuja importância agrícola está bem definida em relação à Europa em geral e em particular, ao Sudeste da França (IPERTI 1966);
- a sua biologia e a sua anatomia (externa e interna) foram já bem estudadas (TREPANIER-BLAIS 1972);
- se trata de uma espécie migradora cujas deslocações foram estudadas (IPERTI 1966 e 67; ROLLEY 1972; IPERTI e BUSCARLET 1972) e continuam a sê-lo (IPERTI, a publicar);
- é uma joaninha de que se conhecem os locais de hibernação e o mecanismo de diapausa (HODEK e CERKASOV 1958, 63 e 65; IPERTI e HODEK 1974);
- finalmente, Semiadalia ll notata SCHNEIDER é um predador que está a ser estudado com interesse a nível europeu.

b) A escolha de Cheilomenes sulphurea justifica-se porque:

- se trata de uma joaninha cuja importância agrícola está bem definida em relação à África, em particular no

- caso de Angola (DUARTE 1964; GARCIA 1972);
- a sua biologia e a sua anatomia têm sido estudadas com detalhe (MADER 1954; FURSCH 1964; GARCIA & SCHANDERL 1977);
  - trata-se duma espécie não migradora, possuindo apenas pequenas deslocações relativamente localizadas (GARCIA 1974);
  - é uma joaninha que não apresenta diapausa, sucedendo-se as várias gerações anuais, na natureza (GARCIA 1972).

Vê-se assim que, por razões diametralmente opostas, a escolha do material biológico permitiria concluir qual a espécie mais útil para o tipo de ensaios a efectuar.

No entanto, do ponto de vista da sua posição evolutiva no seio da família a que pertencem, estas espécies necessitavam de um estudo que as situasse correctamente. Só assim se poderia juntar às razões atrás expostas, uma razão que permitisse basear as escolhas nas posições ocupadas pelas espécies na escala evolutiva dos Coccinellidae afidípagos.

## 2 - A POSIÇÃO SISTEMÁTICA DE SEMIADALIA 11 NOTATA SCHNEIDER

Semiadalia (Adonia) undecimnotata SCHNEIDER é um Insecto, Coleóptero, Cucujoidea, secção Clavicornia, família Coccinellidae (IMMS, RICHARDS & DAVIES 1964). CROWSON (1955) estabeleceu as relações desta família com as famílias Corylophidae, Cerylonidae e Discolomidae.

A filogenia da família dos Coccinellidae foi objecto de um importante trabalho de SASAJI (1968 b). Trata-se de uma investigação baseada na morfologia das larvas e dos adultos.

Segundo SASAJI, consideram-se as seguintes sub-famílias:

- Sticholotinae
- Scymninae
- Chilocorinae
- Lithophilinae
- Coccidulinae
- Coccinellinae

- Epilachninae

A sub-família Coccinellinae compreende 4 tribos ( HODEK 1973);

- Coccinellini

- Psyloborini

- Tythaspini

- Bulaeini

A tribo dos Coccinellini (sensu lato), à qual pertence o género Semiadalia, foi estudada por WATSON (1956). Até à data não temos conhecimento de outros trabalhos respeitantes à filogenia dos géneros desta tribo. SASAJI desceu até à sub-família, por vezes até à tribo, mas sem ir mais além.

Esta é a razão porque tomámos como base de comparação dos géneros o trabalho de WATSON (1956), que considera os Coccinellini (sensu lato) repartidos em três sub-tribos:

- Coccinellini (sensu stricto)

- Anisostictini

- Hippodamiini

O género Semiadalia CROTCH pertence aos Hippodamiini, os quais compreendem também os seguintes géneros:

- Adonia MULSANT

- Spiladelphia SEM & DOBZH

- Hippodamia DEJEAN

- Ceratomegilla CROTCH

Esta classificação mantém assim relações estreitas entre os géneros Adonia MULS. e Semiadalia CR..

É necessário fazer notar que as diferenças entre as tribos Synonichini de KORSCHEFSKY (1932) e Coccinellini de MADER(1955) seriam, segundo SASAJI, sobretudo de ordem artificial.

Logo, os Coccinellini (sensu stricto) deveriam corresponder aos Synonichini, o que nos mostra que não há grande diferença entre a classificação dos Coccinellini (Hippodamiini, Anisostictini e Synonichini) citada por HODEK (1973) e a de WATSON (1956). O lugar de Semiadalia undecimnotata SCHNEIDER parece, por conseguinte, ficar bem estabelecido nos Hippodamiini, quer estes últimos sejam considerados como uma sub-tribo dos Coccinellini (sensu lato) ou

como uma tribo separada dos Coccinellini, os quais neste caso seriam encarados unicamente no seu sensu stricto.

### 3 - A POSIÇÃO SISTEMÁTICA DE CHEILOMENES SULPHUREA (OLIVIER)

O género Cheilomenes CHEVROLAT, a que pertence a espécie Cheilomenes sulphurea (OLIVIER), pertence à sub-tribo Synonichini de HODEK (1973). Tem portanto, dentro da tribo dos Coccinellini (sensu lato), relações estreitas com os Hippodamiini, a que pertence, como já vimos, Semiadalia ll notata.

Sendo assim, Cheilomenes sulphurea (OLIVIER) tem uma posição sistemática idêntica à de Semiadalia ll notata SCHNEIDER no que respeita à classe (Insecta), ordem (Coleoptera), super-família (Cucujoidea), secção (Clavicornia), família (Coccinellidae) e tribo (Coccinellini sensu lato).

A sistemática difere apenas ao nível da sub-tribo: Hippodamiini, para S. ll notata; Synonichini, para Cheilomenes sulphurea. Este facto torna ainda de mais interesse o estudo destas duas espécies do ponto de vista da sua posição na escala evolutiva dos Coccinelídeos afidípagos, com vista à sua utilização como material para ensaios dos efeitos biológicos de certos pesticidas específicos usados em luta integrada.

### 4 - OS MÉTODOS EM GERAL

Até ao presente, os métodos utilizados para determinar as relações filogenéticas a nível de sub-família, de tribo ou mesmo de género foram sobretudo baseados em estudos morfológicos (CROWSON 1955; WATSON 1956; KAMIYA 1965; SASAJI 1968).

Os estudos genéticos que foram feitos dizem respeito sobretudo aos cruzamentos interespecíficos (ZASLAVSKII 1967) e mesmo assim de uma forma muito limitada.

Acerca de uma espécie (Harmonia axyridis P.) houve uma série de trabalhos de KOMAI (1956). As investigações visaram sobretudo a variação individual e disseram respeito essencialmente às alterações das manchas elitrais. KOMAI manteve-se sempre, nos seus numerosos trabalhos, no quadro de uma só espécie, o que quer dizer

que, exceptuando os critérios morfológicos, nenhum outro método permanece à nossa disposição para estabelecer uma via tendente a determinar o sentido de evolução dos Coccinelídeos. Assim, para tentar compreender o grau de evolução de uma joaninha, parece necessário levar em consideração outros critérios:

- por um lado, séries de caracteres morfológicos comparados;
- por outro, séries de caracteres biológicos que possam negar ou confirmar as tendências manifestadas pelo estudo dos caracteres morfológicos.

Como escreveu WATSON, "somente uma análise de vários caracteres em relação uns com os outros permitirá uma conveniente compreensão das suas relações recíprocas". Mas, além disso, nós procurámos reconhecer os caracteres que se possam considerar mais evolucionados ou mais primitivos.

Segundo JEANNEL (1960), logo que um órgão se especialize cada vez mais, perdendo a possibilidade de se adaptar a uma nova função, a sua evolução é considerada como progressiva.

Segundo MASLIN (1952), um carácter é considerado como primitivo logo que:

- se encontre disseminado numa forma generalizada no seio de um grupo ou da maior parte dos seus elementos,
- ou se trate de um carácter de que outros possam ser considerados derivados numa sequência lógica.

Examinando com atenção as longas listas de caracteres elaboradas por WATSON e SASAJI, escolhemos aqueles que:

- ou estão ligados aos caracteres fósseis;
- ou estão em ligação com características biológicas ou ecológicas.

## 5 - OS CARACTERES FOSSEIS

O antepassado da joaninha é o género Coccinellophane, descoberto nos estratos do Jurássico Médio de Stonefield, em Eye-ford, Inglaterra (HANDLIRSCH 1908).

Representa este género o mais antigo Coccinelídeo fóssil. Mas devemos frisar que só depois do Terciário se encontraram fósseis cujo estudo não nos deixa qualquer dúvida.

Um outro género muito antigo, é o género Adalia, encontrado no Oligoceno Médio da Alemanha e nas camadas de Florissant, do Mioceno do Colorado.

O género Coccinella encontrou-se no Oligoceno Inferior e Superior da Alemanha e também nas resinas fósseis do Báltico. Onze espécies de Coccinella foram já encontradas no Mioceno Superior da Europa.

Mesmo que a evidência fóssil não seja muito abundante, um facto é verdadeiro: todos estes antepassados das joaninhas tinham a forma ovóide. Esta forma assemelha-se à do género Adalia. Mas, pessoalmente, pensamos que o facto de se ter encontrado nos primeiros fósseis um grande número de exemplares do género Coccinella, confere a este género uma grande antiguidade.

De acordo com os caracteres ligados aos fósseis, a nossa atenção foi atraída pela forma dos élitros (e duma forma geral, do corpo) e a convexidade do corpo.

E temos de concordar que encontrámos, com este critério, certas contradições em domínios em que outros autores não tinham conseguido exprimir ideias muito claras.

## 6 - OS CARACTERES BIOECOLÓGICOS

Estabeleceu-se uma relação entre o número de ovaríolos e a fertilidade média diária, expressa no número médio de ovos postos por dia. Tentou-se estabelecer um paralelismo entre estes caracteres e as variações morfológicas observadas.

A estes factos, adicionaram-se outros critérios: o tipo de voltinismo (número de gerações) de cada espécie, a distribuição por estratos vegetais, a frequência de aparecimento junto das presas (grau de atracção dos Afídeos) e a distribuição geográfica.

## CAPÍTULO II

### O LUGAR EVOLUTIVO DE SEMIADALIA UNDECIMNOTATA SCHNEIDER ENTRE ALGUNS AFIDÍFAGOS DO SUDESTE DA FRANÇA

#### 1 - MATERIAL E MÉTODOS

O primeiro problema que se nos põe é o de situar S. 11 notata SCHNEIDER no grupo de joaninhas afidífagas do Sudeste da França correntemente estudadas no Laboratório de Coccinelídeos da Estação de Luta Biológica de Antibes e no Laboratório de Ecologia Aplicada do Instituto Universitário dos Açores.

As quatro outras espécies estudadas são:

- Adalia bipunctata (LINNAEUS)
- Propylaea quatuordecimpunctata (LINNAEUS)
- Adonia variegata (GOEZE)
- Coccinella septempunctata (LINNAEUS)

Segundo os métodos já expostos, efectuámos:

- a dissecação dos adultos de cada espécie, para obter as peças anatómicas necessárias aos quadros de comparação,
- a comparação da anatomia externa das cinco espécies,
- a comparação dos dados bioecológicos destas espécies.

Utilizaram-se técnicas correntes para a dissecação e montagem das peças anatómicas que, resumidamente, vamos descrever.

#### 1. 1. As dissecações

Dissecaram-se os insectos colocando-os no interior dum vidro de relógio ou duma "cuvette" escavada de vidro, cheios de líquido de Ringer (cloreto de potássio 0,24 g; cloreto de cálcio 0,24 g; bicarbonato de sódio 0,20 g; cloreto de sódio 6,0 g e água destilada, 1 000 ml).

Os insectos a dissecar são fixos em alfinetes entomológicos num bloco de plasticina e depois mergulhados no líquido de

Ringer.

As disseccões foram feitas usando pinças de micro-dissecção "IDEALTEK" ou "DUMONT" nº 5.

As observações à lupa estereoscópica fizeram-se utilizando do lupas WILD M-3 ou M 5-A, equipadas com aumentos de 6 a 80 diâmetros. Para desenhar, utilizou-se a câmara clara WILD, adaptável a ambas as lupas indicadas.

As observações ao microscópio fizeram-se utilizando o microscópio WILD M-11 ou o microscópio LEITZ SM-Lux, este último equipado com a câmara de desenho LEITZ.

#### 1.2. Montagem dos órgãos não quitinizados

Dispuseram-se os órgãos sobre as lâminas, secando-os durante 10 minutos. Seguidamente,

- fixaram-se com uma gota de Bouin (30 segundos),
- colocou-se a preparação, durante 3 a 4 minutos, num tubo cheio de Bouin,
- passaram-se os órgãos fixados na série dos álcoois: uma vez em álcool a 40° e duas a 70°, por 3 a 4 minutos cada vez, para desidratação das peças,
- colocou-se a preparação em carbonato de lítio saturado até perder a coloração amarela que adquiriu no Bouin,
- a coloração foi feita pelo hemalúmen e a montagem em bálsamo do Canadá.

#### 1.3. Montagem dos órgãos quitinizados

Após o isolamento do órgão por disseccão, ferve-se aquele em hidróxido de potássio a 10% para desembaraçar dos tecidos moles. Desidrata-se durante 3 a 4 minutos em álcool a 70° e monta-se em bálsamo do Canadá.

#### 1.4. Os critérios de estudo

Utilizaram-se dois critérios gerais como métodos de avaliação do grau de evolução das cinco espécies estudadas:

- um critério morfológico,
- um critério bioecológico.

Compararam-se espécies duma mesma tribo entre si e depois os conjuntos de espécies de duas sub-tríbos (Coccinellini sensu stricto e Hippodamiini).

## 2 - CRITÉRIOS MORFOLÓGICOS

### 2.1. A forma dos élitros (figura 1)

Anteriormente já se sublinhou o carácter primitivo das formas ovóides e arredondadas (caso de Adalia bipunctata).

#### - COCCINELLINI:

O exame da figura 1, mostra-nos que A.2 punctata e P.14 punctata se aproximam da forma ovóide e podem ser consideradas como primitivas.

C.7 punctata, mais alongada que A.2 punctata e P.14 punctata é por consequência mais evoluída que estas e nitidamente separada dos Hippodamiini. Vê-se aqui já esboçada uma linha de evolução dos Coccinellini, tendo na base o par Propylaea-Adalia e, mais adiante, o género Coccinella.

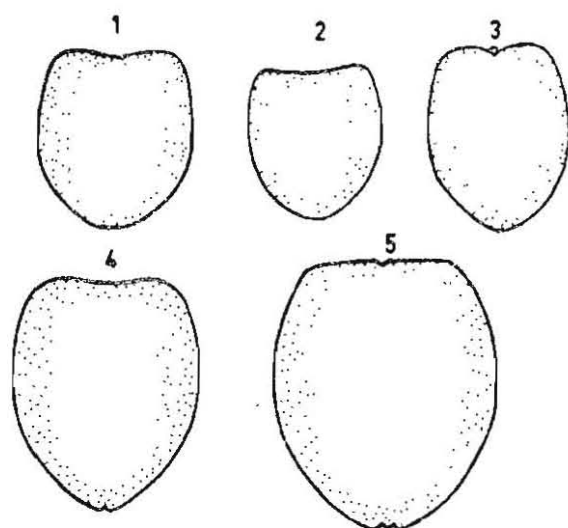
#### - HIPPODAMIINI:

O ramo A.variegata - S.11 notata, com a parte posterior dos élitros mais alongada, afasta-se do tipo primitivo. S.11 notata deverá ser considerada a mais evoluída, porque se mostra de contorno mais alongado.

### 2.2. A convexidade do corpo (figura 2)

As formas mais convexas são consideradas como as mais evoluídas (SASAJI 1968 b).

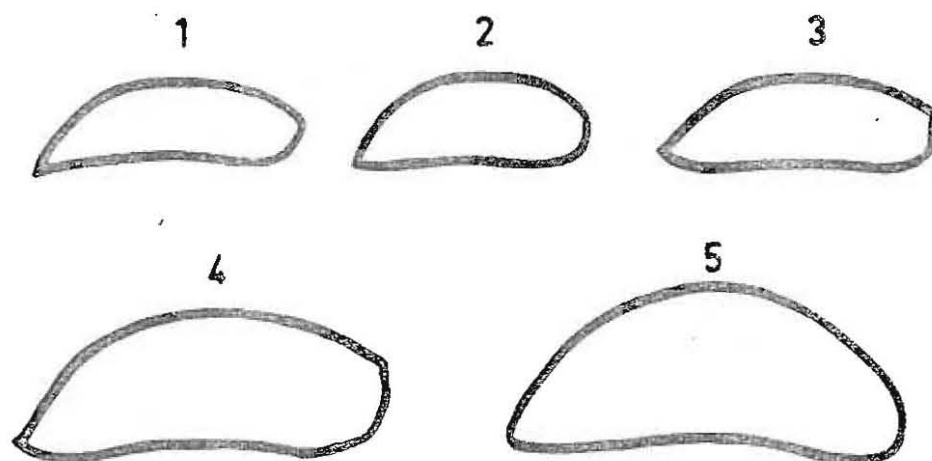
#### - COCCINELLINI:



AMPL. 6,5 X

Figura nº 1 - A forma dos élitros

- |                          |                         |
|--------------------------|-------------------------|
| 1) <u>A. 2 punctata</u>  | 4) <u>S. 11 notata</u>  |
| 2) <u>P. 14 punctata</u> | 5) <u>C. 7 punctata</u> |
| 3) <u>A. variegata</u>   |                         |



AMPL. 6,5 X

Figura nº 2 - A convexidade do corpo

- |                          |                         |
|--------------------------|-------------------------|
| 1) <u>A. 2 punctata</u>  | 4) <u>S. 11 notata</u>  |
| 2) <u>P. 14 punctata</u> | 5) <u>C. 7 punctata</u> |
| 3) <u>A. variegata</u>   |                         |

Nesta tribo, A.2 punctata, cujos élitros são bastante achatados, aparece como a mais primitiva. P.14 punctata apresenta-se como uma forma intermediária e C. 7 punctata, de corpo muito convexo, como o tipo mais evoluído.

- HIPPODAMIINI:

Nota-se um perfil muito semelhante dos élitros e um ligeiro aumento da convexidade do corpo de S.11 notata, quando comparada com A. variegata.

2.3. O edeago (figura 3)

As formas que apresentam um edeago com uma crossa curva, em forma de arco, são consideradas como as mais primitivas. Pelo contrário, um edeago fortemente flectido é um sinal de evolução. Uma apófise da crossa pouco desenvolvida é também sinal de um estado primitivo.

- COCCINELLINI:

A.2 punctata e P.14 punctata apresentam edeagos cuja crossa é curva, e cujas apófises não são extremamente desenvolvidas.

Pelo contrário, C. 7 punctata apresenta uma crossa quase direita na região apofisária, sem a curva nítida das espécies precedentes e com uma apófise cujos lobos superior e inferior estão fortemente desenvolvidos.

- HIPPODAMIINI:

Nestes, as crossas estão fortemente flectidas, quase em V.

Esta flexão é ainda mais nítida em S.11 notata que em A. variegata.

As apófises da crossa são bastante semelhantes, sem grande desenvolvimento do lobo superior e com o lobo inferior alongado.

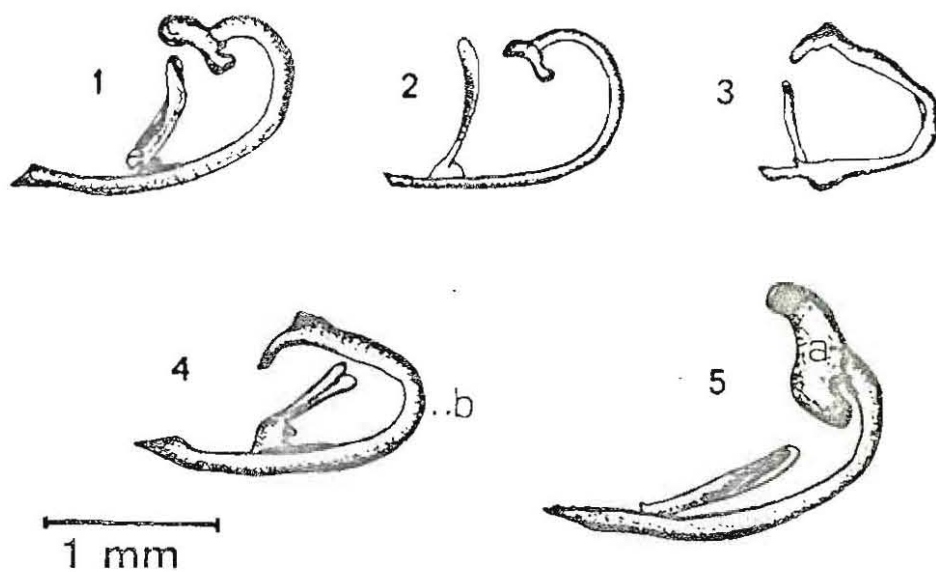


Figura nº 3 - Os edeagos

- |                          |                         |
|--------------------------|-------------------------|
| 1) <u>A. 2 punctata</u>  | 4) <u>S. 11 notata</u>  |
| 2) <u>P. 14 punctata</u> | 5) <u>C. 7 punctata</u> |
| 3) <u>A. variegata</u>   |                         |
- a - apófise                      b - crossa

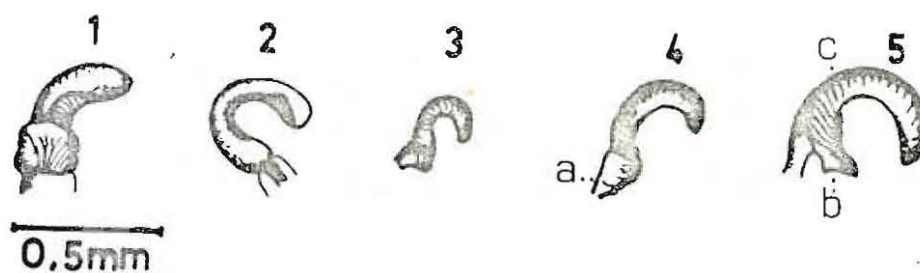


Figura nº 4 - As espermatecas

- |                          |                         |
|--------------------------|-------------------------|
| 1) <u>A. 2 punctata</u>  | 4) <u>S. 11 notata</u>  |
| 2) <u>P. 14 punctata</u> | 5) <u>C. 7 punctata</u> |
| 3) <u>A. variegata</u>   |                         |
- a - nodulus                      b - ramus                      c - corpo  
(nomenclatura segundo HODEK 1973)

Este alongamento é sobretudo evidente em S.11 notata.

#### 2.4. A espermateca (figura 4)

As espermatecas das espécies pouco evoluídas são mais simples, têm um corpo mais alongado, menos espesso e com menos anéis quitinizados, por vezes mesmo sem anéis.

##### - COCCINELLINI:

A.2 punctata e P.14 punctata possuem espermatecas pouco quitinizadas. O nodulus é bem desenvolvido em A.2 punctata, mas ausente em P.14 punctata. Nem uma, nem outra, apresentam o ramus.

C.7 punctata, ao contrário, tem um nodulus e sobretudo um ramus muito desenvolvido, formando uma verdadeira apófise muito quitinizada no ápex. Os anéis quitinizados são bem evidentes em todo o comprimento do corpo da espermateca (cornu), o qual descreve um arco completo.

##### - HIPPODAMIINI:

Entre S.11 notata e A. variegata, a única diferença reside no desenvolvimento do nodulus da primeira.

#### 2.5. As mandíbulas (figuras 5 e 6)

A adaptação mais saliente nas mandíbulas das joaninhas afidípagas aparece sem dúvida na coexistência de dentes bífidos e ponteagudos e da goteira situada ao longo do bordo interno da mandíbula e destinada a sugar as presas.

Os dentes dos afidípagos apresentam algumas pequenas variações. Na goteira mandibular, limitada pela face interna do corpo mandibular, e por uma membrana, a prostheca, observam-se alterações, sobretudo ao nível da vesícula ovale (porção terminal da goteira mandibular), cujo contorno e desenvolvimento não são sempre os mesmos.

A vesícula ovale, de funções ainda mal conhecidas, pare-

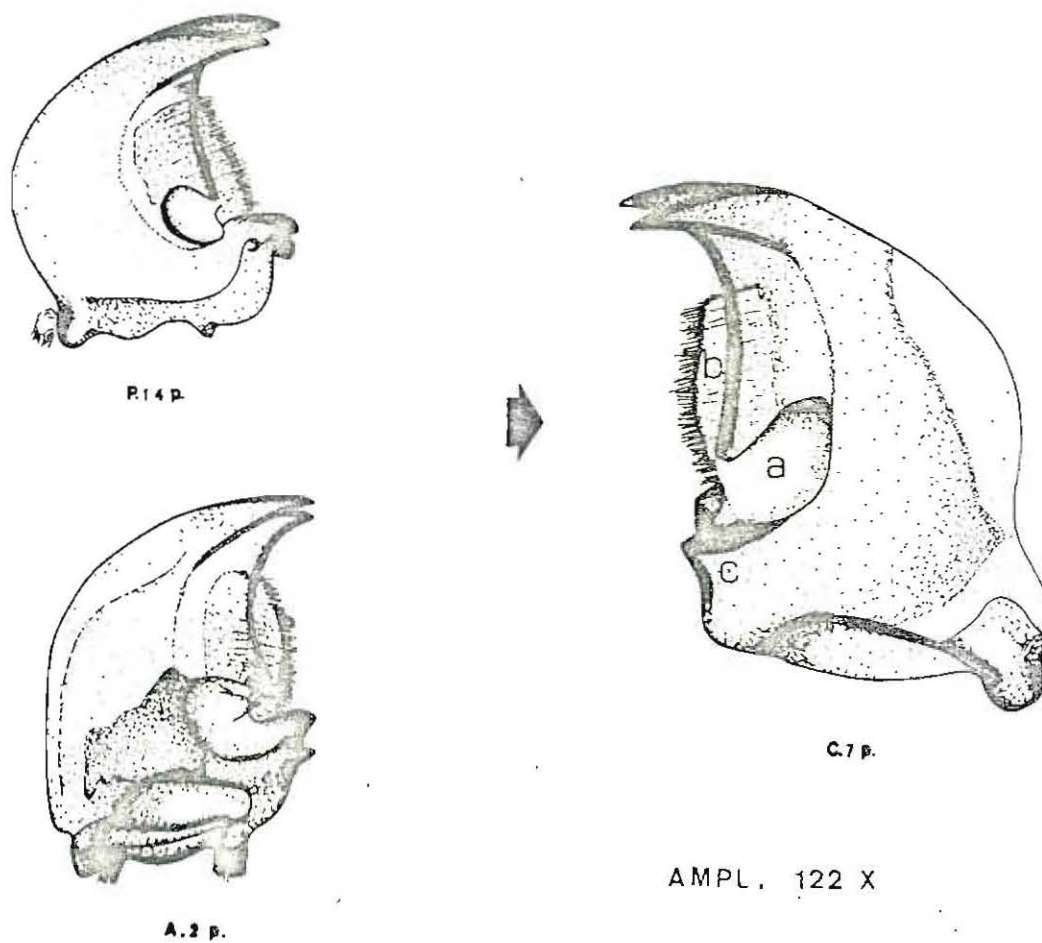


Figura nº 5 - As mandíbulas (Coccinellini)

a - vesicula ovale

b - prostheca

c - retinaculum

(nomenclatura segundo WATSON 1956)

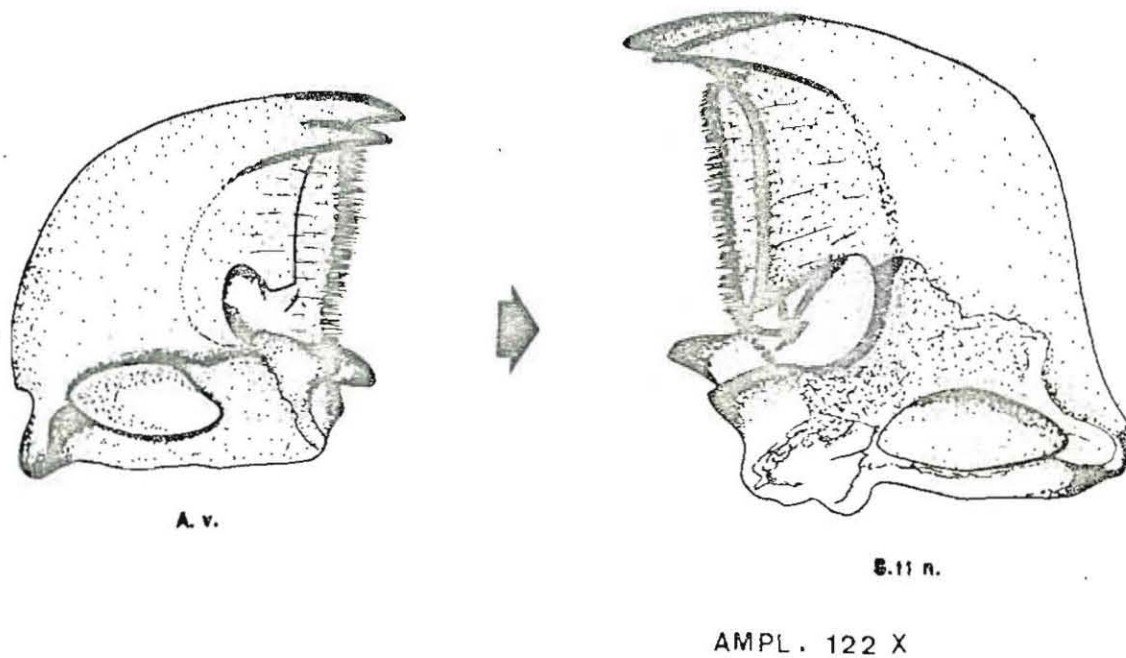


Figura nº 6 - As mandíbulas (Hippodamiini)

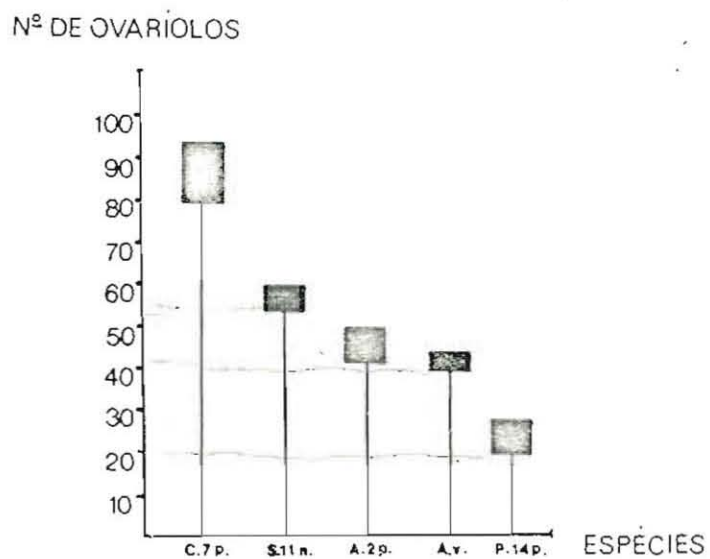


Figura nº 7 - O número de ovaríolos

ce ser adaptada à sucção e à digestão pré-oral. Esta vesícula encontra-se no ângulo do retinaculum e do bordo interno da mandíbula.

- COCCINELLINI:

Em P.14 punctata, esta vesícula é pouco profunda e a sua abertura interna de fracas dimensões. Em A.2 punctata a profundidade de aumenta e a abertura também.

Em C.7 punctata a abertura é grande, a profundidade atinge o fundo da goteira e a vesícula prolonga-se mesmo sob o bordo interno da mandíbula.

O retinaculum, nos três Coccinellini em questão, mostra-se mais desenvolvido em A.2 punctata e C.7 punctata que em P.14 punctata, principalmente no que respeita ao dente do retinaculum e à protuberância sobre a qual ele se encontra. Além disso, as mandíbulas têm um contorno mais alongado no ângulo apical.

Este alongamento acentua-se progressivamente de P.14 punctata para A.2 punctata e desta para C.7 punctata.

- HIPPODAMIINI:

A. variegata e S.11 notata mostram diferenças semelhantes.

A. variegata tem uma vesícula muito pequena, enquanto que em S.11 notata esta chega ao fundo da goteira mandibular. A mandíbula de S.11 notata é mais alongada que a de A. variegata, cujo bordo externo é muito convexo. Relativamente ao retinaculum, pelo contrário, não se observam diferenças.

### 3 - CRITÉRIOS BIOECOLÓGICOS

#### 3.1. O número de ovários (figura 7)

A dissecação das fêmeas das cinco joaninhas que estudámos, mostrou uma variação específica e mesmo intraespecífica do número de ovários. Todavia, nós conhecemos os limites precisos desta va

riação para cada espécie considerada.

O número total de ovários varia de 24 - 28 para P.14 punctata e de 80 - 94 para C.7 punctata (ver figura 7). A este respeito pudemos fazer uma série de constatações:

- os Coccinellini estudados apresentam duas espécies com menos de 50 ovários (P.14 punctata e A.2 punctata) e uma, C.7 punctata, com um número duplo desse (80 - 94 ovários).
- os Hippodamiini têm um número de ovários muito próximo (40 - 44 para A. variegata e 54 - 60 para S.11 notata).

Encontramo-nos de novo em presença de duas linhas de evolução. Sabemos (IPERTI 1971) que a fertilidade real (expressa no número de ovos por postura), está em relação directa com a fertilidade potencial, expressa pelo número de ovários. As joaninhas com um maior número de ovários estão portanto melhor adaptadas à reprodução.

### 3.2. A fertilidade média diária (figura 8)

Segundo IPERTI (1971), a fertilidade média diária das cinco espécies em estudo é a que está representada na figura 8.

Esta fertilidade foi calculada em predadores alimentados com os principais tipos alimentares conhecidos e não somente com uma dada espécie afidiana.

Podemos notar que:

- nos Coccinellini, P.14 punctata e A.2 punctata situam-se abaixo dos 20 ovos por dia, mas C.7 punctata atinge os 20 ovos por dia.
- nos Hippodamiini, A. variegata permanece abaixo de 20 ovos por dia, mas Semiadalia ultrapassa-os.

Se as possibilidades de postura duma joaninha reflectem a sua "eficácia predadora", até mesmo a sua capacidade de adaptação e sobrevivência, como acontece com os parasitas, a quem uma fertilidade excessiva permite ultrapassar condições temporariamente desfavoráveis, podemos pensar que um aumento das potencialidades de reprodução constitui um progresso evolutivo.

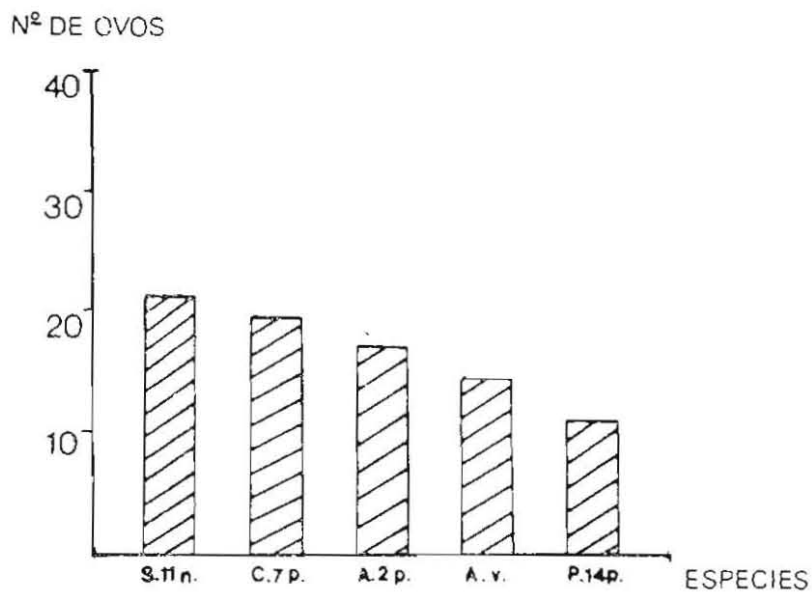


Figura nº 8 - O número de ovos

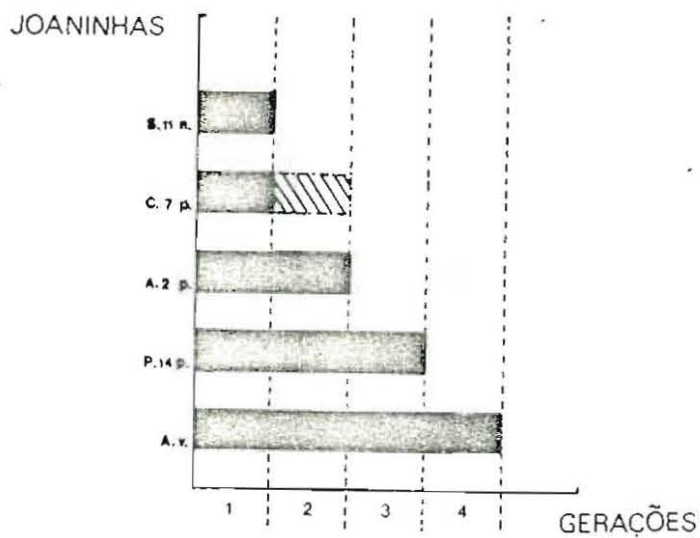


Figura nº 9 - O voltinismo

### 3.3. O voltinismo (figura 9)

As cinco joaninhas estudadas apresentam diferenças notáveis de voltinismo (número de gerações anuais).

Na figura 9 (adaptado de IPERTI 1971), tentamos mostrar que o número de gerações anuais, para o Sudeste da França, se reduz progressivamente a partir de A. variegata e P.14 punctata, tipicamente plurivoltinas, passando por A.2 punctata e C.7 punctata, espécies com tendência univoltina e chegando a S.11 notata, espécie estritamente univoltina.

Aqui, uma vez mais, devemos examinar separadamente os Coccinellini e os Hippodamiini.

Para os Hippodamiini, passa-se de A. variegata, espécie que desenvolve quatro gerações anuais, a S.11 notata, espécie univoltina.

Nos Coccinellini, o problema não se põe da mesma maneira. P.14 punctata, apresenta três gerações anuais, portanto plurivoltina. Mas A. bipunctata e C.7 punctata parecem ter diferenças mínimas. Adalia bipunctata, no Sudeste da França, desenvolve duas gerações anuais e Coccinella somente uma, mas esta última pode por vezes multiplicar-se no Outono. Nós consideramos estas duas espécies como tendo uma tendência univoltina (IPERTI 1971).

### 3.4. A influência do estrato vegetal

IPERTI (1965) definiu o termo "estrato vegetal" como "porções de espaço" onde vivem as joaninhas, sem ter em conta as espécies botânicas ou as associações vegetais.

Os biótopos ocasionais podem assim repartir-se em cinco classes, tendo em consideração a sua altura média, a sua densidade e certos tipos de cultura:

- de 0 a 50 centímetros de altura
  - + as plantas baixas espontâneas
  - + as plantas baixas cultivadas
- de 50 centímetros a 2 metros
  - + as plantas arbustivas espontâneas
  - + as plantas arbustivas cultivadas

- acima de 2 metros  
+ as árvores cultivadas ou espontâneas.

Vamos analisar as preferências das espécies afidípagas estudadas dentro de cada tribo:

- HIPPODAMIINI:  
A. variegata: arbustos espontâneos  
S.11 notata: plantas baixas cultivadas
  
- COCCINELLINI:  
A.2 punctata: árvores  
P.14 punctata: arbustos cultivados  
C.7 punctata: plantas baixas espontâneas

Note-se que A. variegata e P.14 punctata mostram uma certa "plasticidade ecológica" em relação a outros estratos.

Podemos verificar também que estas duas espécies preferem o estrato arbustivo, intermediário entre as plantas baixas e as árvores e que pode variar entre 50 centímetros e 2 metros.

S.11 notata e C.7 punctata aparecem quase sempre nas plantas baixas, quer cultivadas (a primeira) quer espontâneas (a segunda), podendo dizer-se que, do ponto de vista ecológico, estão enfeudadas a estes estratos vegetais.

### 3.5. O grau de atracção dos pulgões

O grau de atracção dos adultos de joaninhas pelas diferentes espécies de pulgões, revelado pela sua presença junto das colónias, pode-se sintetizar da seguinte forma:

- HIPPODAMIINI:  
A. variegata: presente sobre 15 espécies  
S.11 notata: presente sobre 5
  
- COCCINELLINI:  
C.7 punctata: presente sobre 12

P.14 punctata: presente sobre 11

A.2 punctata: presente sobre 9

Mas a constatação mais interessante reside no facto que, nas 5 espécies afidianas em que se regista a presença de S.11 notata, somente três exercem um forte grau de atracção (Aphis fabae SCOP., Macrosiphum artemisiae B. de F. e Myzodes persicae SULZER) e somente uma (Aphis fabae) permite um desenvolvimento larvar óptimo. Tratar-se-á de uma verdadeira especificidade de S.11 notata relativamente a Aphis fabae (IPERTI 1965).

### 3.6. A distribuição geográfica

Os cinco géneros de joaninhas a que pertencem as espécies afidípagas estudadas, mostram distribuições geográficas muito variadas. Adonia encontra-se na região Paleárctica, África Central e Índia (climas de tipo temperado, equatorial e tropical). Semiadalia é Paleárctica (clima temperado). Adalia e Coccinella são cosmopolitas fazendo face a tipos de clima muito variados. Propylaea encontra-se na região Paleárctica e na Ásia Oriental (clima temperado ou tropical de monção fria).

### 3.7. Conclusões

Os dados expostos neste capítulo mostram que, entre os Coccinelídeos afidípagos do Sudeste da França, Semiadalia 11 notata SCHNEIDER ocupa um lugar especial nas linhas evolutivas.

Do ponto de vista da sua morfologia externa (forma dos é litros, convexidade do corpo) e interna (anatomia do edeago, da es permateca e das mandíbulas) tratar-se-ia duma espécie que evoluiu no sentido de uma maior especialização.

O mesmo se verifica em relação aos critérios bioecológicos, tais como a fertilidade potencial (número de ovariolos) e a fertilidade real (postura média diária sobre dieta preferencial). Ecologicamente, notamos ainda uma especialização no seu voltinismo, pois se trata duma espécie tipicamente univoltina e no estrato vegetal preferido (plantas baixas cultivadas).

A espécie de afídeo a que S.11 notata está estreitamente ligada (Aphis fabae SCOP.) e uma distribuição geográfica que se limita a climas temperados da zona europeia da região Paleárctica, são outros tantos factores de elevada especialização desta espécie.

### CAPÍTULO III

#### COMPARAÇÃO DE DOIS AFIDÍFAGOS: CHEILOMENES SULPHUREA (OLIVIER) E SEMIADALIA UNDECIMNOTATA SCHNEIDER

Como já vimos nos capítulos anteriores, as diferenças entre Cheilomenes sulphurea e S.11 notata, do ponto de vista sistemático, iniciam-se ao nível da tribo ou da sub-tribo, conforme se considerem as classificações de HODEK (1973) ou de WATSON (1956).

S.11 notata pertence aos Hippodamiini e Cheilomenes sulphurea aos Coccinellini sensu stricto. Esta última espécie está portanto próxima dos géneros Adonia e Coccinella.

Vamos a seguir examinar os diferentes caracteres que nos permitam situar Cheilomenes sulphurea relativamente a S.11 notata, com especial incidência nas posições evolutivas, baseadas na morfologia, biologia e ecologia das duas espécies.

#### 1 - COMPARAÇÃO DAS POSIÇÕES EVOLUTIVAS DENTRO DOS COCCINELLINI SENSU LATO

Seguiremos a mesma metodologia já ensaiada para as espécies afidípagas do Sudeste da França e desenvolvida no capítulo anterior.

##### 1.1. A forma dos élitros (figura 10)

O contorno dos élitros de Cheilomenes sulphurea é arredondado, quase circular, enquanto que os élitros de S.11 notata já são mais alongados, principalmente no terço posterior. De acordo com o que vimos no capítulo anterior, a forma arredondada dos élitros é um carácter de primitivismo.

##### 1.2. A convexidade do corpo (figura 11)

O perfil dos élitros evidencia um achatamento do corpo de S.11 notata em relação a Cheilomenes sulphurea, francamente mais convexa. Cheilomenes sulphurea ocuparia assim uma posição de maior

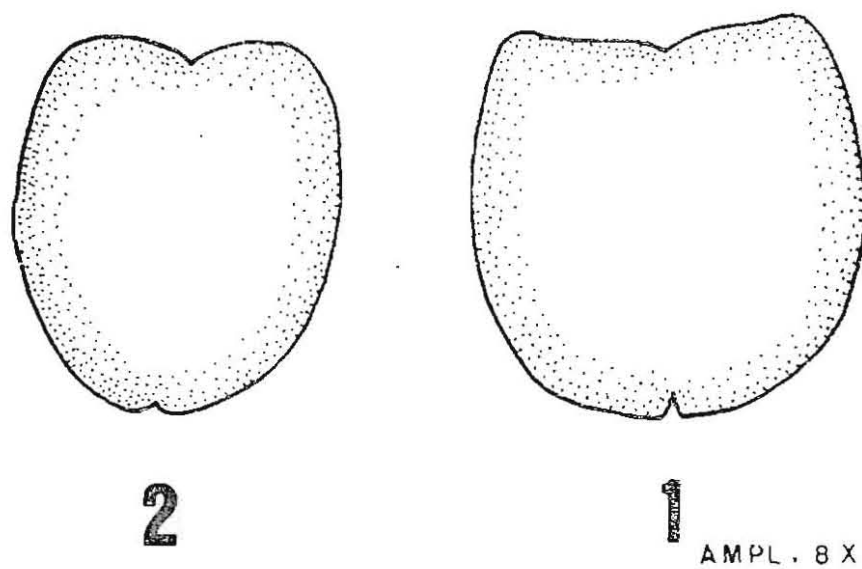


Figura nº 10 - A forma dos élitros

- 1) - Cheilomenes sulphurea
- 2) - S.11 notata

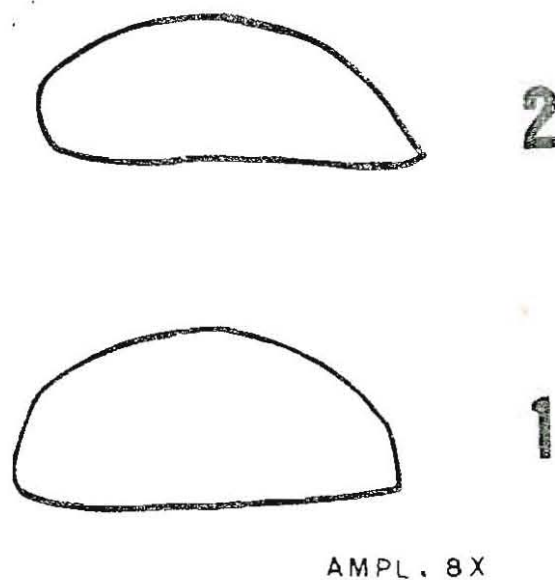


Figura nº 11 - A convexidade do corpo

- 1) - Cheilomenes sulphurea
- 2) - S.11 notata

evolução.

### 1.3. O edeago (figura 12)

A crossa flectida do edeago de S.ll notata contrasta dum modo flagrante com o edeago curvo, em forma de arco, prolongado por um longo apêndice em flagelo, característico de Cheilomenes sulphurea.

Neste caso, Cheilomenes sulphurea apresenta características de primitividade.

### 1.4. A espermateca (figura 13)

Lisa, sem estrias, de forma dilatada, a espermateca de Cheilomenes sulphurea mostra características de primitivismo relativamente à espermateca de S.ll notata.

### 1.5. As mandíbulas (figura 14)

São bastante semelhantes em ambas as espécies. No entanto, pode-se observar que a vesicula ovale de Cheilomenes sulphurea possui uma chanfradura cujo recorte é bem menos pronunciado que o de S.ll notata. No que respeita aos dentes apicais, ao perfil alongado e ao retinaculum, quase não se notam diferenças.

Pode-se portanto pensar que, estando Cheilomenes sulphurea menos adaptada à sucção das presas e à digestão pré-oral, seria mais primitiva. Este carácter, por si só, não nos parece porém suficientemente evidente.

### 1.6. O número de ovaríolos

S.ll notata, como vimos atrás, possui um número de ovaríolos que varia de 54 a 60. A dissecção de Cheilomenes sulphurea mostra-nos um número inferior, variando entre 36 e 40. A fertilidade potencial é portanto menor em Cheilomenes sulphurea, principalmente se atendermos a que é uma espécie de maiores dimensões. Ora segundo IPERTI (comunicação pessoal) as espécies maiores de Cocci-

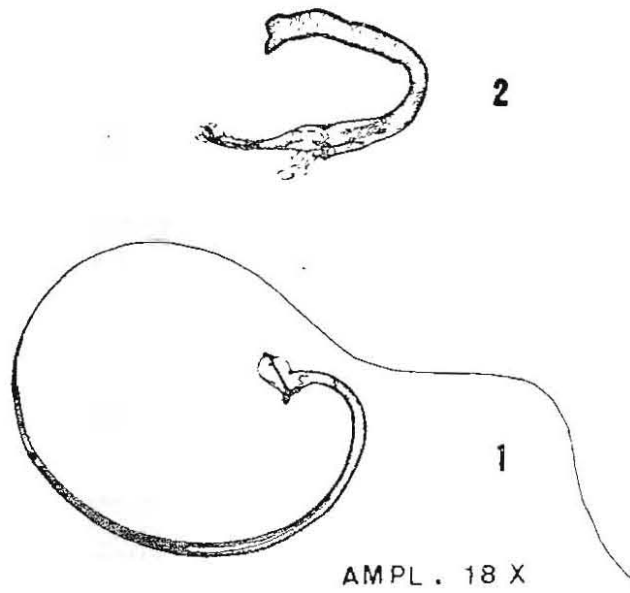


Figura nº 12 - Os eedeagos

1) - Cheilomenes sulphurea

2) - S.11 notata

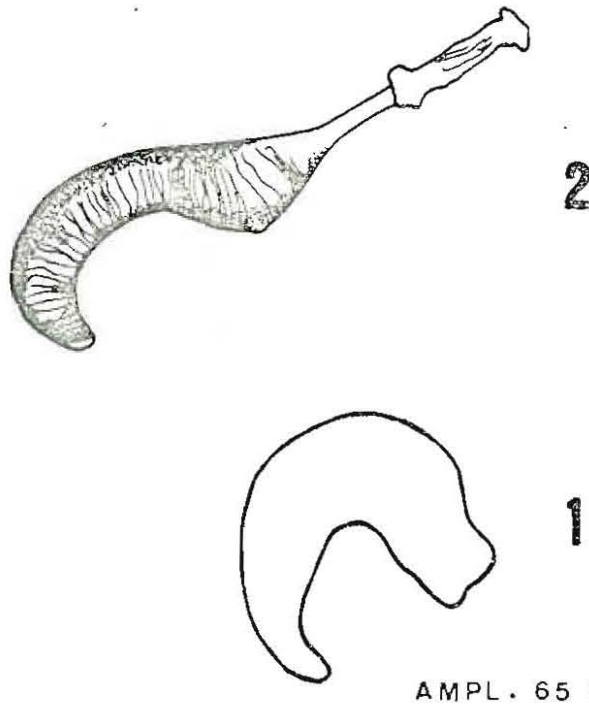
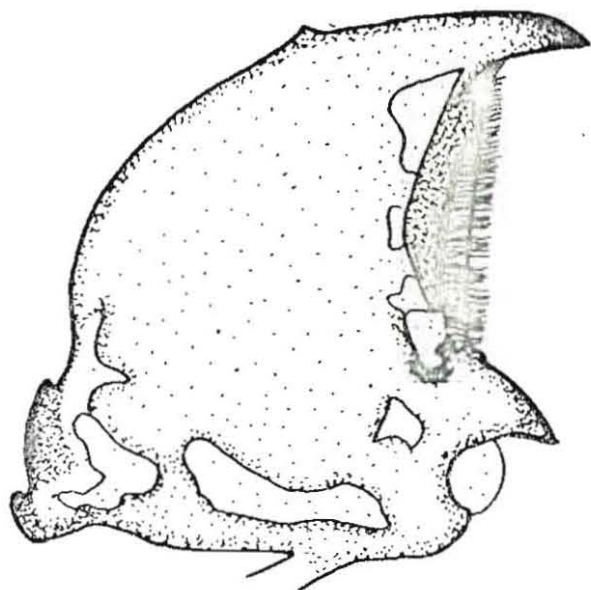


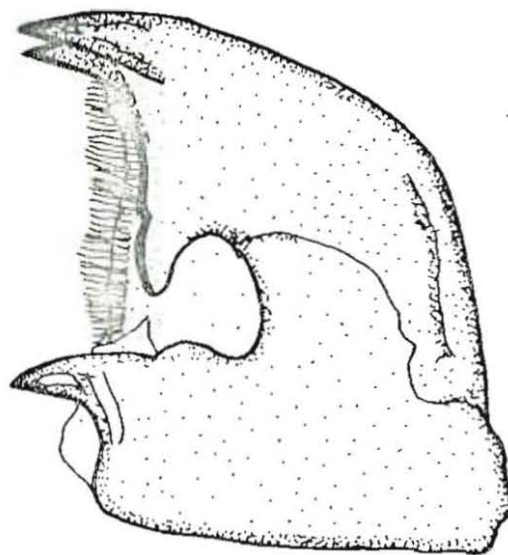
Figura nº 13 - As espermatecas

1) - Cheilomenes sulphurea

2) - S.11 notata



1



2

AMPL . 104 X

Figura nº 14 - As mandíbulas

- 1) - Cheilomenes sulphurea
- 2) - S.11 notata

nelídeos afidípagos tendem a possuir maior número de ovariolos e a possuir maior fertilidade potencial. Neste caso - S.11 notata e Ch. sulphurea - dá-se o inverso.

Pior adaptada, Cheilomenes sulphurea seria assim mais primitiva.

### 1.7. A fertilidade média

Um estudo efectuado no Laboratório de Ecologia Aplicada do Instituto Universitário dos Açores, sobre as fertilidades comparadas de S.11 notata, Adalia bipunctata e Cheilomenes sulphurea, revelou-nos que a média de ovos postos cada 48 horas foi de 28 para S.11 notata, de 25 para A.2punctata e de 22 para Ch. sulphurea (GARCIA 1978 a publicar).

Estes dados estão de acordo com os obtidos por IPERTI (1971) para S.11 notata e por nós próprios, em Angola, para Cheilomenes sulphurea (GARCIA 1973 não publicado).

Cheilomenes sulphurea teria portanto uma fertilidade real inferior a S.11 notata e seria menos evoluída do que esta sob este ponto de vista.

### 1.8. O voltinismo

Cheilomenes sulphurea é uma espécie polivoltina, tipicamente tropical, que pode apresentar até 10 gerações anuais, conforme nos foi dado observar durante vários anos de estudos de campo, nos campos da região algodoeira do Icolo e Bengo, em Angola.

S.11 notata é uma espécie monovoltina, tipicamente europeia, adaptada ao clima temperado e assim estivo-hibernante (IPERTI 1971).

O monovoltinismo estrito de S.11 notata poderá significar uma maior adaptação, para fazer face ao calor excessivo do Verão e ao frio dos Invernos alpinos. De outro modo a espécie não sobreviveria.

A capacidade de defesa de Semiadalia undecimnotata seria portanto maior, no que diz respeito às variações climáticas.

As duas espécies, do ponto de vista do voltinismo, estão

em polos opostos: Cheilomenes sulphurea, polivoltina típica e sem estivo-hibernação e S.11 notata, estivo-hibernante e monovoltina.

Parece-nos assim que estes dois últimos caracteres (monovoltinismo e estivo-hibernação) conferem a S.11 notata maior especialização, o que poderá significar maior evolução ecológica.

#### 1.9. A influência do estrato vegetal

Os biótopos ocasionais frequentados por S.11 notata são as plantas baixas cultivadas (campos de fava, de beterraba, de feijão etc.).

Cheilomenes sulphurea prefere as plantas arbustivas espontâneas, tais como a bombardeira (Calotropis procera ART., Asclepiadacea tropical) ou arbustivas cultivadas, como o algodoeiro (Gossypium hirsutum L.). Os estratos vegetais frequentados por estas 2 espécies são assim bem distintos.

O facto de Cheilomenes sulphurea aparecer facilmente em arbustos espontâneos ou cultivados, enquanto Semiadalia se adaptou às plantas cultivadas, leva-nos a crer que esta atingiu neste aspecto maior evolução.

#### 1.10. O grau de atracção dos Afídeos

Semiadalia 11 notata está praticamente enfeudada a Aphis fabae SCOP., o pulgão preto da fava. Cheilomenes sulphurea parece-nos muito menos exigente, quanto à sua dieta afidiana. De facto, da mesma constam espécies bem diferentes, como Aphis gossypii GLOVER e Aphis nerii BOYER.

No entanto, na natureza tropical, facilmente a encontramos em Myzus persicae SULZER. Em laboratório nutre-se com excelente resultado de Aphis fabae (GARCIA 1972; GARCIA 1978 a publicar).

Aqui também, a especialização trófica de S.11 notata é sinal da sua evolução e consequentemente, da sua fragilidade ecológica.

#### 1.11. A distribuição geográfica

S.11 notata é uma espécie Paleártica, adaptada à Europa e aos climas temperados, nomeadamente de invernos frios (clima alpino). Cheilomenes sulphurea é uma espécie Etiópica, tropical, muito comum na África ao Sul do Sahara.

A adaptação das duas espécies a zonas zoogeográficas totalmente diferentes não nos permitem concluir qual delas ocuparia posição mais especializada.

## CONCLUSÕES DA PRIMEIRA PARTE

A análise dos diferentes dados examinados nos capítulos precedentes, mostra a existência de uma especialização progressiva das linhas de Coccinelídeos afidífagos. Esta transformação põe problemas de dependência em relação ao meio natural.

Retoma-se assim a ideia de direcção evolutiva ou ortogénica de JEANNEL (1960). No caso de S.11 notata, pode-se pensar que está condenada a desaparecer, ou a evoluir à medida que diminuem na natureza as condições favoráveis à expressão das suas potencialidades biológicas, já muito especializadas.

Sem dúvida que, entre os cinco predadores afidífagos do Sudeste da França que foram estudados, S.11 notata apresenta a particularidade de estar orientada numa direcção ortogénica precisa. É uma espécie:

- evoluída, pela sua morfologia,
- especializada, pela sua biologia e ecologia.

S.11 notata torna-se assim uma espécie vulnerável às alterações ecológicas e por conseguinte um excelente material para estudo da acção dum factor limitante do meio sobre as potencialidades biológicas, entendendo-se a aplicação de um pesticida como um factor limitante do meio natural.

Por outro lado, o seu univoltinismo, permite-nos estudar um parâmetro importante, a fase de reactivação que se segue à ruptura da estivo-hibernação.

Entre os afidífagos estudados, Coccinella septempunctata nas espécies europeias, poderia parecer reunir iguais condições.

Mas, a sua ortogénese bioecológica mostra características de não-especialização, tais como a sua presença sobre muitas espécies de Afídeos, a sua adaptação a vários climas e grande antiguidade paleontológica, o que nos parece em oposição clara com a sua ortogénese morfológica.

No que se refere a Cheilomenes sulphurea e com excepção de dois caracteres morfológicos (élitros e mandíbulas) em que os caracteres de primitivismo são menos evidentes, ressalta claramen-

te que as suas ortogéneses morfológica e bioecológica estão orientadas no mesmo sentido, mostrando uma e outra caracteres de não especialização.

O facto de Cheilomenes sulphurea ser ainda uma espécie africana e tipicamente polivoltina, cuja resistência em culturas laboratoriais é excepcional, levou-nos a encarar esta espécie como a alternativa a opor a S.11 notata para os ensaios de pesticidas a realizar.

Pensámos nós que duas ortogéneses tão evidentemente inversas (S.11 notata, especializada e evoluída; Cheilomenes sulphurea, não especializada e primitiva) poderiam fornecer-nos conclusões ecológicas interessantes, quando submetidas à acção dum mesmo factor limitante do meio natural, como é o caso dum aficida correntemente utilizado em luta integrada.

SEGUNDA PARTE

MATERIAL, MÉTODOS E TÉCNICAS

## MATERIAL, MÉTODOS E TÉCNICAS

### GENERALIDADES

Num tipo de investigação como o que efectuamos, são muito importantes os materiais, a metodologia e as técnicas utilizadas.

A maior parte das vezes, o equipamento a utilizar é relativamente simples, noutros casos porém, foi necessário recorrer a aparelhagem mais complexa e delicada.

O mesmo se passa com o material biológico. Só um laboratório capaz de produzir regularmente, em condições de ambiente controlado, um número importante de predadores pode fornecer as condições de trabalho exigidas.

Quer em Antibes, quer em Ponta Delgada, as unidades de produção maciça de Coccinelídeos permitiram-nos trabalhar à vontade, em qualquer época do ano.

Num campo de pesquisas em que são raros os trabalhos efectuados, pois as técnicas correntes de ensaios de pesticidas versam quase sempre estudos de mortalidade, pouco se preocupando com os efeitos secundários não letais, tivemos muitas vezes que procurar novas técnicas.

De resto, os efeitos secundários não letais sobre predadores são pouco estudados. De um modo errado, em nossa opinião, pois um pesticida pode poupar um predador ou um parasita, mas vir a afectá-lo profundamente na sua fisiologia.

Daí a importância que adquirem neste trabalho as técnicas utilizadas e o modo como delas se pode tirar um rendimento prático.

## CAPÍTULO I

### MATERIAIS E MÉTODOS

#### 1 - MÉTODOS DE CULTURA DOS PREDADORES DE AFÍDEOS

##### 1.1. A cultura do suporte vegetal

Os pulgões normalmente produzidos nos laboratórios de Cocinelídeos de Antibes e de Ponta Delgada, são multiplicados tendo como suporte vegetal a faveira (Vicia faba L.). A metodologia seguida em França e nos Açores foi idêntica.

Existem, no entanto, diferenças: em Ponta Delgada, usamos fava comum (Vicia faba major) enquanto que em Antibes usamos favica (Vicia faba minor)

No laboratório de nutrição de predadores da Estação de Luta Biológica de Antibes (Eng<sup>o</sup>. FERRAN), o suporte vegetal utilizado para multiplicar os Afídeos é a ervilheira, Pisum sativum L.

##### 1.1.1. Material

Em Antibes, quer a faveira quer a ervilheira, cultivam-se num substrato constituído por aparas de pinheiro húmidas. Em Ponta Delgada, usa-se vulgar terra de cultivo. A cultura das plantas faz-se em caixas de matéria plástica transparente (MINO-GAILLARD referência 3290), de 28×27,5×8,5 centímetros.

Utiliza-se uma rede com malhas de 1 centímetro de lado para apertar as aparas em que se colocam as favas ou as ervilhas (ver figuras 15 e 16). Depois da germinação, efectuada em local sombrio e logo que as plântulas atingem cerca de 5 centímetros, faz-se a infestação com Afídeos. Colocam-se então as caixas em gaiolas de rede de musselina de malha fina, com cerca de 1/8 de m<sup>3</sup>, erguidas sobre uma armação metálica de arame grosso de 5 milímetros de diâmetro e com um pavimento de madeira prensada, tipo "Tabopan".

Estas gaiolas, de forma cúbica e com 45-50 centímetros de lado, encerram facilmente uma caixa de cultura do tipo já indicado. A rede metálica que cobre as caixas plásticas pode ser manti

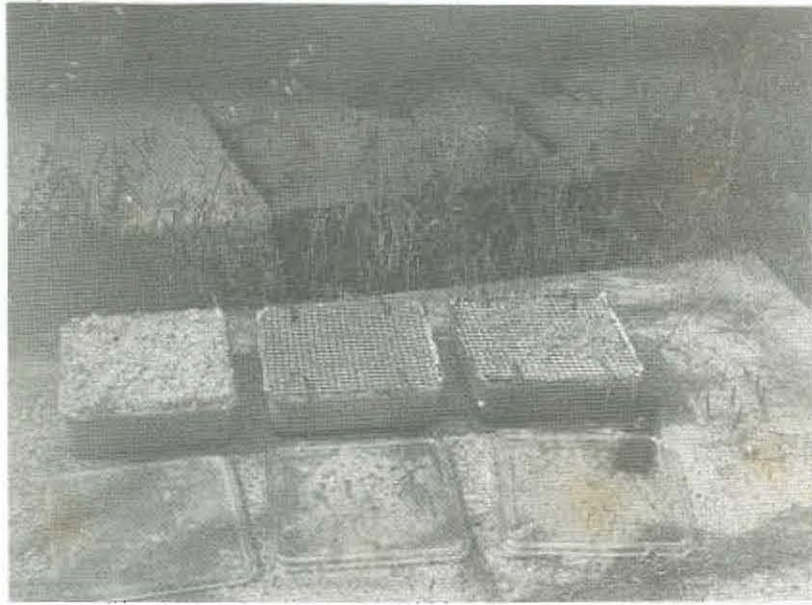


Figura nº 15 - Caixas plásticas com plântulas

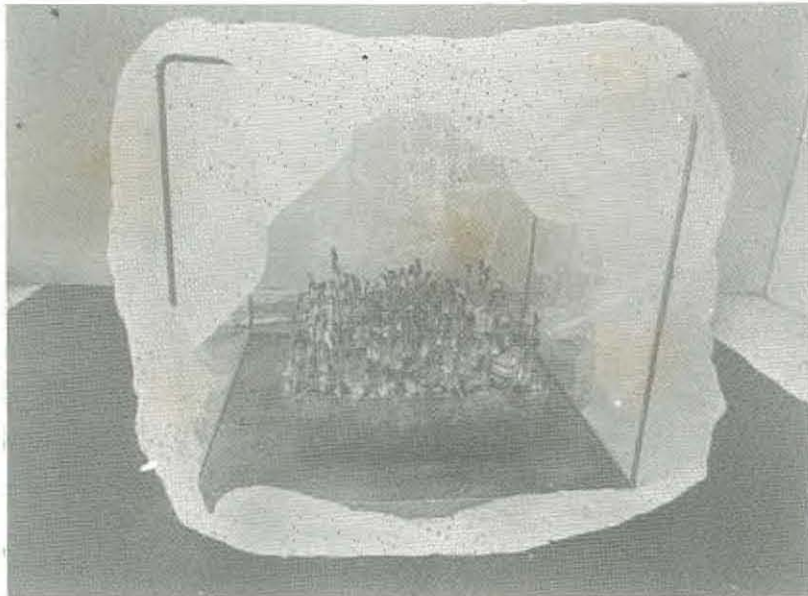


Figura nº 16 - Gaiola de rede de musselina

da no seu lugar por dois estribos de arame do mesmo tipo do utilizado na armação, pois durante a germinação, o aumento de volume das aparas e das sementes faria transbordar o conteúdo.

### 1.1.2. As técnicas e as condições de ambiente

Provoca-se a germinação das sementes deixando-as encharcar em água durante 24 horas, à temperatura ambiente.

Em seguida, encharcam-se também as aparas de pinho e enchem-se com estas as caixas, até cerca de 2 a 3 centímetros da borda, tendo o cuidado de previamente fazer escorrer o excesso de água. Normalmente, o fundo das caixas contém sempre 1-2 centímetros de altura de água, mas não mais. Esta humidade é suficiente para assegurar a germinação e o início do crescimento das plântulas.

Por cima das aparas húmidas, espalha-se uma camada delgada de aparas. O conjunto é depois comprimido ligeiramente, antes de se cobrir com papel de filtro e apertar com a malha de rede fixa pelos dois estribos de arame (figura 15). O fim desta cobertura com papel de filtro é impedir que as aparas caiam quando da manipulação das caixas, sobretudo no momento da recolha dos Afídeos, assim como evitar o aparecimento de moscas (Drosophilidae).

As caixas assim preparadas são mantidas numa zona onde a temperatura ambiente ronde os 20°C., sombria mas sem fotoperíodo controlado.

Cerca de sete dias depois, as plântulas atingem 4 a 5 cm de altura e são infestadas de Afídeos, conforme dissemos no parágrafo anterior. É preciso atenção na infestação: se é feita muito cedo o excesso de Afídeos mata a plântula. Se a fizermos demasiado tarde, poderão existir duas consequências:

- ou os Afídeos não se desenvolvem em boas condições (as plântulas são demasiado velhas);
- ou a massa vegetal é demasiada e as plântulas apodrecem cedo, desenvolvendo vapores amoniacais nocivos às larvas e aos adultos.

A nossa experiência mostrou-nos que a utilização de ter-

ra de cultivo melhora a cultura e evita bastante os acidentes acima descritos.

## 1.2. A multiplicação dos Afídeos

A cultura de Afídeos tendo em vista a nutrição de joaninhas, realizou-se fundamentalmente à custa de três espécies:

- Aphis fabae SCOP.,
- Acyrtosiphon pisum HARRIS
- e
- Myzodes persicae SULZER.

Nos Açores, ensaiámos também Aphis solanella THEOBALD, multiplicado sobre Solanum nigrum L., mas apenas para nutrição de recurso ou para ensaios de preferência alimentar.

Familiarizámo-nos com as técnicas de utilização de pulgões para nutrir joaninhas a partir de 1970, em Angola. Começámos, nessa altura, por recolher Aphis nerii BOYER em frutos e flores de Calotropis procera ART., ou então Aphis gossypii GLOVER em folhas de algodoeiro. Esta técnica era primitiva.

Mais tarde, a partir de 1974 e em Antibes, aprendemos a ficar independentes dos fornecimentos dados pela natureza, usando unidades de produção climatizadas. A técnica de recolha de pulgões é diferente consoante:

- se deseje obter uma recolha de Afídeos desprovida de a paras ou serradura;
- ou favorecer uma multiplicação maciça de Afídeos.

Se desejarmos obter exclusivamente pulgões, sacodem-se à mão as plântulas das caixas de multiplicação bem infestadas, fazendo-os cair sobre uma rede com malhas de cerca de 3 milímetros de lado, que faz de peneiro e retém os pedaços de vegetal, deixando passar os Afídeos.

Os Afídeos são recolhidos num recipiente situado por baixo do peneiro.

Esta colheita de Afídeos é limpa e permite uma óptima contaminação, recolhendo-se os pulgões com uma colher. Esta técnica permite ainda alimentar individualmente larvas e adultos sem ser preciso existir suporte vegetal.

Numa cultura maciça, é preferível infestar as caixas de cultura com ramos de faveira ou ervilheira cortados à tesoura e bem contaminados. Disseminam-se também na cultura algumas plantas contaminadas, próximas das jovens plântulas, o que permite a migração dos estados jovens de Afídeos dumas para as outras e uma mais rápida infestação.

Uma vez infestadas, as caixas de cultura são colocadas em câmaras ou laboratórios climatizados, nas seguintes condições:

- temperatura  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  (laboratório de Antibes) ou  $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  (unidade climatizada dos Açores). Quanto mais elevada for a temperatura, maior é a velocidade de multiplicação dos Afídeos, sendo o limiar a partir do qual se torna prejudicial de  $25^{\circ}\text{C}$ ;
- higrometria: 80% H.R.;
- fotoperíodo: 16 horas de fotofase, 8 horas de scotofase.

A recolha óptima, efectua-se ao fim de 5 a 6 dias de cultura, segundo a higrometria absoluta do substrato em que as plantas são cultivadas.

Uma higrometria muito elevada provoca uma exsudação foliar que favorece uma agregação dos Afídeos em bolas, de difícil utilização.

O ritmo das diferentes operações indispensáveis à produção de pulgões estabelece-se assim:

- encharcamento das sementes: 1 dia,
- duração da germinação até à plântula: 6 a 7 dias,
- duração do desenvolvimento dos pulgões até à recolha: 5 a 6 dias.

As condições da unidade de produção parecem ideais à volta dos  $22^{\circ}\text{C}$  podendo situar-se entre este limite e os  $25^{\circ}\text{C}$ .

É óbvio que nem todas as espécies afidianas têm o mesmo nível térmico óptimo, mas nas condições indicadas pode contar-se entre 12 a 14 dias até se poder utilizar uma contaminação de pulgões.

### 1.3. A criação de joaninhas

A cultura de joaninhas afidífagas compreende várias fases, embora estas variem conforme a espécie e a época de recolha dos adultos obtidos na natureza.

Assim, no caso de espécie estivo-hibernante recolhida durante a sua diapausa imaginal, tal como Semiadalia undecimnotata, as fases são:

- reactivação dos adultos,
- postura e incubação dos ovos,
- desenvolvimento larvar e ninfose,
- e uma fase de conservação dos adultos obtidos.

Tratando-se de uma espécie sem diapausa, como Cheilomenes sulphurea, a fase de reactivação dos adultos, ou seja, o tempo que vai desde a recolha na natureza até à primeira postura não existe, como é evidente. A obtenção da primeira postura depende apenas do estado de maturação dos ovários das fêmeas e da maturação sexual dos machos.

### 1.3.1. A fase de reactivação dos adultos

Os adultos imaturos nascidos em laboratório ou aqueles que são recuperados em lugares de estivo-hibernação, são colocados aos casais em cilindros plásticos de 10 centímetros de altura e de 5 centímetros de diâmetro. Estes cilindros são fechados em cima por rede fina de cobre e encaixam numa base redonda (tampa plástica) perfurada no centro por um orifício com 1 centímetro de diâmetro. Neste orifício, introduz-se um pequeno tubo plástico para entalar as pequenas hastes de vegetal infestadas de pulgões (3 a 4 hastes por tubo).

As bases destes cilindros encaixam em orifícios preparados previamente nas tampas de caixas plásticas de 2 litros (MINO - GAILLARD referência 3013), ficando estas caixas cheias de água.

Nos tubos da base dos cilindros, as hastes de vegetal são entaladas com mechas de algodão, que mergulham na água.

Cada caixa plástica suporta, por este processo, 8 cilindros plásticos que funcionam como câmaras de reprodução para um total de 8 casais isolados de joaninhas (figuras 17 e 18).

Diariamente ou dia sim, dia não, muda-se o suporte ali-

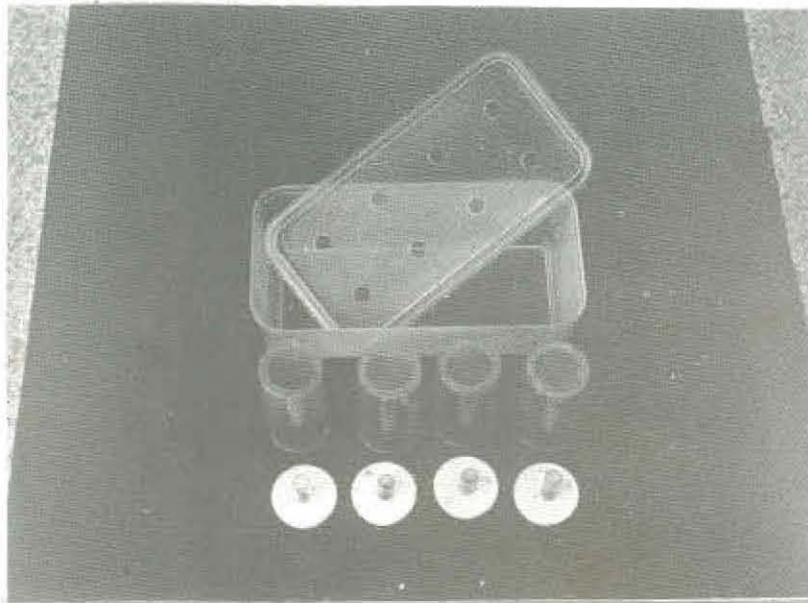


Figura nº 17 - Composição de um conjunto de cilindros para estudo de casais isolados

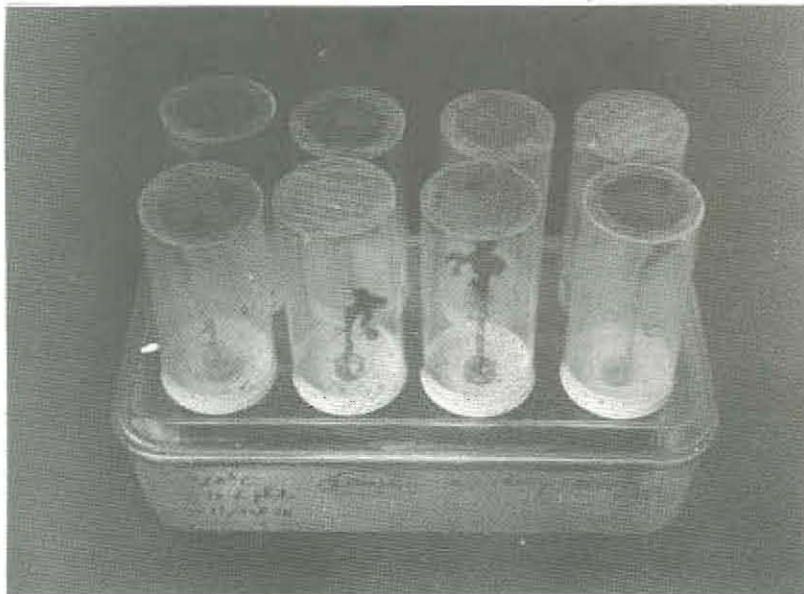


Figura nº 18 - Cilindros de reprodução de casais isolados em funcionamento

mentar, a mecha de algodão e limpa-se o conjunto.

### 1.3.2. A fase de postura e de incubação dos ovos

Logo que a postura começa, os cilindros plásticos contendo os ovos são substituídos e guardados. Por este método, é fácil controlar a postura de cada casal e contar os ovos e as larvas desde a eclosão. Esta verifica-se ao fim de 4 dias, em média, conforme a espécie e as condições de experimentação. A manipulação é fácil mas é sempre preciso ter pronta uma reserva suficiente de cilindros plásticos prestes a serem utilizados, para mudar de caixa os adultos, ao mesmo tempo que se procede aos controlos de postura, limpeza e aprovisionamento alimentar.

### 1.3.3. A fase de cultura das larvas

O desenvolvimento pré-pupal dos Coccinelídeos estudados comporta 4 estados larvares. A duração destes estados varia com a espécie estudada e as condições de ambiente e nutrição, pelo que trataremos este assunto com mais detalhe, ao fazermos a comparação dos ciclos biológicos de Cheilomenes sulphurea e S.11 notata.

De um modo geral, no entanto, pode-se dizer que em condições óptimas pode ser de 2 semanas e em condições adversas pode ir até 3 semanas ou mais, isto para a mesma espécie (GARCIA & SCHANDERL 1977).

Depois da eclosão, as larvas ficam imóveis algumas horas. Se são recuperadas muito cedo, o risco de mortalidade, devido à manipulação ou à pulverização, aumenta. Por meio de um pincel fino de pêlo de marta número 1, pode-se então retirar do local de eclosão e submeter às operações necessárias aos ensaios (pesagem, tratamento, etc.). As larvas são então isoladas em pequenas caixas redondas de plástico transparente, com um orifício central fechado por rede de cobre fina, de três centímetros de diâmetro e um centímetro de altura.

Nestes pequenos recipientes, as larvas completam o seu desenvolvimento e efectuam as três mudas. A alimentação em pulgões (Aphis fabae, Myzodes persicae e Acyrtosiphon pisum) efectua-se to

dos os dias à mesma hora, no momento em que as larvas são pesadas, para evitar o aumento do número de manipulações. As condições de ambiente são as mesmas das que já foram indicadas para os Afídeos.

#### 1.3.4. A fase de cultura dos adultos

Os adultos podem ser criados isoladamente nos cilindros de reprodução atrás descritos para a recolha dos ovos, ou em caixas plásticas circulares e transparentes de 10 centímetros de diâmetro e 2,5 centímetros de altura, com tampa em rede fina de cobre (MINO-GAILLARD referência 2936).

Em período de actividade, a vida dos adultos dura em média 8 semanas, podendo no entanto ultrapassar 12 semanas e até nalguns casos e espécies, atingir 16 semanas.

A alimentação em Afídeos deve mudar-se todos os dias. Esta alimentação fica sobre os fragmentos cortados da planta e no caso dos cilindros de reprodução usados, a técnica permite manter um estado de frescura alimentar satisfatório durante o tempo necessário à sua substituição.

Nestes cilindros ou caixas, como vimos, os adultos são isolados por casais. A temperatura e humidade são registados permanentemente. A fotofase é, normalmente, de 16 horas. No entanto, a utilização em Antibes, em 1976, duma fotofase de 24 horas, não mostrou ter grande influência nos ensaios de controlo de postura.

## 2 - COMPARAÇÃO DOS CICLOS BIOLÓGICOS

A execução deste trabalho baseou-se num conhecimento bastante completo dos ciclos de vida das duas espécies estudadas.

O quadro I dá-nos as durações comparadas dos ciclos biológicos de Cheilomenes sulphurea e Semiadalia undecimnotata.

Para maior facilidade, passaremos a apresentar as duas espécies nas figuras, quadros e tabelas, pelas abreviaturas Ch.s e S.11.n. e por W, L1, L2, L3, L4, PN, N e A, respectivamente, os ovos, as larvas dos quatro estados, as pré-ninfas, as ninfas e os adultos.

## QUADRO I

## DURAÇÃO MÉDIA (EM DIAS) DOS CICLOS BIOLÓGICOS

	W	L1	L2	L3	L4	PN	N	Nutrição
<u>Ch. s.</u>	4	4	3	3	3	1	5	<u>A. fabae</u>
<u>S.11 n.</u>	4	4	3	3	5	2	7	<u>M. persicae</u>

Devemos notar que, no quadro acima exposto, as condições de cultura para Cheilomenes sulphurea foram:

- temperatura:  $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ,
- humidade relativa: 80%,
- fotofase: 16 horas.

Para Semiadalia undecimnotata, as condições de ambiente foram:

- temperatura:  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ,
- humidade relativa: 60-70%,
- fotofase: 16 horas.

A duração de vida dos adultos é muito diferente. No caso de Semiadalia undecimnotata, temos de considerar dois períodos de vida:

- um período de actividade,
- um período de repouso.

O período de actividade tem uma duração média de três meses. O período de repouso atinge cerca de nove meses e é caracterizado por uma estivo-hibernação, a que já fizemos referência. Este período de repouso é considerado uma diapausa imaginal facultativa, pois os adultos em repouso, podem facilmente ser reactivados em laboratório, como veremos adiante.

Cheilomenes sulphurea tem uma duração média de vida imaginal que oscila entre os 3 e os 4 meses. Sendo uma espécie polivoltina tropical, as gerações sucedem-se todo o ano.

Para terminar estas breves considerações sobre os ciclos biológicos destes dois predadores, juntamos alguns dados experimentais sobre a distribuição das posturas no espaço e seus factores

de influência. Os dispositivos utilizados vêm exemplificados na figura 19.

IPERTI (1965) utilizou caixas de plástico em forma de tronco de cilindro, com cerca de 1/2 litro de capacidade e tampa de rede de cobre. No fundo, sobre papel de filtro que assentava numa base perfurada, encaixada num recipiente com água, colocou batatas em germinação, contaminadas com Myzodes persicae, para nutrição de S.11 notata.

Nós utilizámos em Angola, em 1973, para estudar a distribuição das posturas de Cheilomenes sulphurea, chaminés de candeeiro, de vidro, com tampa de rede de musselina, invertidas sobre caixas de Petri com papel de filtro. No papel de filtro, assentavam frutos de Calotropis procera ART., contaminados com Aphis nerii.

Nos Açores, utilizámos caixas plásticas circulares de 10 centímetros de diâmetro (MINO-GAILLARD referência 2936), com tampa de rede de cobre e fundo coberto de papel de filtro. Sobre o papel de filtro colocámos pequenos ramos de faveira infestados com Aphis fabae, para alimentação de S.11 notata.

A técnica de avaliação da distribuição espacial das posturas e seus factores de influência é simples. Basta contar a cada controlo o número de ovos postos na tampa das caixas, nas paredes laterais, nos pedaços de vegetal com Afídeos ou no papel de filtro do fundo.

Os resultados estão expressos na figura 20. A sua interpretação revela-nos que S.11 notata é sensível aos factores de ventilação e gravidade, por um lado agrupando os seus ovos na parte superior das caixas (geotropismo negativo) e junto das aberturas em rede (maior arejamento). Por outro lado, é também sensível à humidade e à presença das presas (higrotropismo e tigmotactismo alimentar).

Cheilomenes sulphurea mostra grande sensibilidade à luz (fototropismo positivo) e é influenciada fortemente pela humidade e presença das presas.

Podemos concluir que a presença de Afídeos e a humidade são factores influentes da oviposição comuns às duas espécies.

A luz e a força da gravidade parecem ter influências diferentes nas duas joaninhas em estudo.

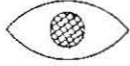








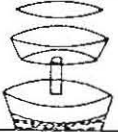
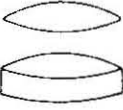

	IPERTI 1965	GARCIA 1973	LEA 1977
Tampa			
Lados			
Vegetal			
Fundo			

Figura nº 19  
Material utilizado nos estudos de distribuição das  
posturas no espaço

Espécie	<u>S.11 n.</u>	<u>S.11 n.</u>	<u>Ch.s.</u>	Factores de influência
Autor	IPERTI 1965	GARCIA 1977	GARCIA 1973	
Tampa	26%	56%	1%	Gravidade Ventilação
Lados	19%	14%	46%	Luz
Vegetal	43%	28%	35%	Humidade Alimento
Fundo	12%	2%	18%	Contacto

Figura nº 20  
Distribuição das posturas no espaço

## CAPÍTULO II

### AS TÉCNICAS UTILIZADAS

A maior parte das técnicas utilizadas obedeceram a critérios de rigor e originalidade que nos permitiram poder avaliar com segurança os efeitos dum pesticida específico sobre a biologia e fisiologia dos predadores estudados.

Pensou-se também sempre em utilizar técnicas que pudessem, desde que possível, ser adaptadas a outros grupos de entomófagos. Nestes casos, como é óbvio, teriam de ser feitas as necessárias modificações e adaptações, pois cada grupo de entomófagos tem as suas características.

#### 1 - O CONTROLO PONDERAL

Trata-se duma operação que exige material muito sensível.

É necessário utilizarem-se micro-balanças para pesar os estados larvares dos Coccinelídeos e para se pesarem os Afídeos, nos controlos de consumo alimentar.

As micro-balanças utilizadas foram de dois tipos:

- em Antibes, no laboratório de nutrição de entomófagos (Eng. FERRAN), usou-se uma SETARAM  $\gamma$ - 21 N (sensibilidade 1 milésimo do miligrama).
- nos Açores, no Laboratório de Ecologia, usou-se uma METTLER ME 30 electrónica (sensibilidade 1 milésimo do miligrama).

A micro-balança usada nos Açores tem a vantagem de possuir taragem automática o que simplificou as operações.

No Laboratório de Biologia Animal B da Universidade de Bordéus (Professor GIRARDIE), as pesagens das larvas do último estado de S.11 notata para os ensaios de respirometria, foram efectuadas com uma semi-micro-balança METTLER M 30 electrónica, também de taragem automática (sensibilidade de 1 décimo do miligrama).

Para impedir as larvas de se escaparem durante a pesagem usaram-se cápsulas plásticas muito leves, do tipo usado para certos medicamentos (capacidade 0,70 e 0,95 ml).

## 2 - O CONTROLO DO ESTADO FISIOLÓGICO DAS FÊMEAS

Neste tipo de ensaios, uma das dificuldades consiste no estabelecimento de um lote homogêneo de fêmeas que constituam o material biológico apropriado. Para tal, recolhem-se 12 fêmeas em cada lote de joaninhas destinado aos testes. Os insectos são dissecados e anota-se o seu estado fisiológico.

As fêmeas destinadas a servirem de material de estudo deverão:

- ou não apresentar actividade ovárica (ovários imaturos ou atrofiados),
- ou apresentar uma fase de plena actividade ovárica.

Em qualquer dos casos a idade dos insectos a ensaiar deve ser a mesma e a quantidade de reservas do tecido adiposo deve ser comparável.

Os controlos efectuaram-se sobre adultos provenientes da natureza e de culturas em laboratório.

O quadro II mostra um exemplo dos resultados obtidos durante um controlo de fêmeas de S.11 notata em fim de repouso hiberna.

## 3 - A PULVERIZAÇÃO DO PESTICIDA

O controlo das aplicações de pesticida pressupõe o estabelecimento de uma técnica correcta e tão rigorosa quanto possível.

Como nos interessamos sobretudo pela aplicação sob a forma de pulverização, adaptámos às nossas necessidades um método usado na Estação de Fitofarmácia do Centro Nacional de Investigações Agronómicas (C.N.R.A.) do I.N.R.A. de Versailles.

Após um estágio de uma semana na Estação citada (Eng. COLON), escolhemos uma técnica empregada para testar pesticidas sobre os Ácaros e transformámo-la para a adaptar às nossas necessidades.

O material essencial para esta técnica é o que se apresenta a seguir.

- a) Uma instalação para a aplicação dos tratamentos pesticidas,  
formada por:

## QUADRO II

CONTROLO DO ESTADO FISIOLÓGICO DE FÊMEAS DE S.11 NOTATA  
RECOLHIDAS NO FIM DA DIAPAUSA

Nº. DE ORDEM DAS FÊMEAS	RESERVAS* (% RELATIVA)	TUBO DIGESTIVO	OVÁRIOS	ESPERMATECA
1	MUITO FRACA	VAZIO	ATROFIADOS (corpos de regressão)	CHEIA
2	FRACA	VAZIO	ATROFIADOS	CHEIA
3	FRACA	VAZIO	ATROFIADOS	CHEIA
4	FRACA	VAZIO	ATROFIADOS	CHEIA
5	FRACA	VAZIO	ATROFIADOS	VAZIA
6	FRACA	VAZIO	ATROFIADOS (corpos de regressão)	VAZIA
7	MÉDIA	VAZIO	ATROFIADOS	VAZIA
8	MÉDIA	VAZIO	ATROFIADOS	CHEIA
9	FORTE	VAZIO	ATROFIADOS (corpos de regressão)	CHEIA
10	MÉDIA	VAZIO	ATROFIADOS	VAZIA
11	MÉDIA	VAZIO	ATROFIADOS	VAZIA
12	FORTE	VAZIO	ATROFIADOS	VAZIA

\* Muito Fraca = até 20%; Fraca = 20-40%; Média = 40-60%; Forte = 60-100%.

- uma torre em "DEXION" em forma de tronco de pirâmide, com cerca de 1 metro de lado na base e 1,50 metros de altura, cujo aspecto geral descrevemos em trabalho anterior (GARCIA 1976). Sobre esta torre, dispõe-se um suporte metálico, regulável em direcção e altura, para fixação do pulverizador,
- e, de um pulverizador eléctrico, tipo pistola de pintura, modelo ROYAL SPRAY WAGNER, de jacto regulável.

b) Dispositivos de pesagem do pesticida,

formados por:

- uma balança METTLER H 10 ou outra, de sensibilidade igual ou superior a 0,1 miligramas,
- uma espátula vibrante METTLER LV 2, para dosear com rigor a pesagem do produto.

c) Outros materiais acessórios,

tais como:

- um cronómetro "OMEGA",
- quadrados de papel de filtro de 16 centímetros quadrados,
- caixas plásticas de 2 litros (referência MINO-GAILLARD 3013),
- pinças "IDEALTEK" ou "DUMONT nº 5",
- pequenas caixas plásticas redondas, de 3 centímetros de diâmetro, para apoio do papel de filtro durante as pulverizações.

É preciso atenção durante a pulverização. As joaninhas, especialmente os adultos, têm tendência a abrigar-se sob os quadrados de papel de filtro, recebendo uma pulverização menos intensa. Estas pulverizações foram por isso sempre feitas por um operador e um cronometrista-controlador.

A utilização do pulverizador eléctrico, cujo reservatório tem boa capacidade (500 centímetros cúbicos) facilita a realização das operações e permite uma regulação precisa do débito do líquido nebulizado. O regulador do jacto é colocado na sua abertu-

ra máxima, para obter uma nuvem tão espalhada quanto possível. O diâmetro das microgotas assim obtidas parece suficientemente homogêneo, quando observado à lupa. No entanto, no princípio de cada ensaio, constata-se irregularidades na pulverização. Fazendo funcionar o aparelho 3 a 4 vezes, antes de cada ensaio, obtém-se uma maior regularidade.

Cada pulverização é cronometrada durante 10 segundos, o que corresponde em média a 15 centímetros cúbicos de solução. O suporte do pulverizador, regulável em altura e em direcção, é colocado a 1 metro do solo e afastado 1 metro da caixa que encerra os insectos a tratar. Esta disposição permite a queda vertical da nuvem emitida pelo pulverizador sobre as superfícies a tratar.

Apresentamos seguidamente e a título de exemplo, (quadro III), os resultados de alguns ensaios preliminares efectuados, pulverizando água sobre quadrados de papel de filtro com 16 centímetros quadrados:

QUADRO III

Pesos médios (miligramas)

	Papéis secos	Papéis pulverizados
LOTE A	105,50 (sx= 1,96)	143,20 (sx= 6,102)
LOTE B	105,84 (sx= 2,17)	144,50 (sx= 3,50)

sx= desvio-padrão

O número de pesagens em cada lote foi de 25.

O protocolo experimental foi o seguinte:

- a) Colocaram-se joaninhas no fundo duma caixa plástica aberta de 2 litros de capacidade. Habitualmente, o número de larvas ou de adultos tratados eleva-se a 25.

- b) De um lado e do outro do fundo da caixa colocam-se 2 suportes sobre cada um dos quais repousa um quadrado de papel de filtro de peso determinado, com o fim de os impedir de se embeberem na solução que se acumula no fundo dos recipientes, o que falsearia as pesagens.
- c) Depois efectua-se a pulverização durante 10 segundos, cronometrados.
- d) Pesam-se em seguida os papéis de filtro. Se o desvio em relação à média de pesos é superior a 10%, o ensaio é rejeitado. A balança deve estar o mais próximo possível do local das pulverizações, o que permite reduzir consideravelmente os erros de medida devidos à evaporação dos papéis de filtro durante a sua transferência até ao posto de pesagem.
- e) Finalmente, isolam-se os insectos pulverizados nas respectivas caixas.

Somente as fêmeas recebem um tratamento de água para as testemunhas e de pesticida para os insectos submetidos aos ensaios. Os machos, os suportes vegetais e a alimentação afidiana não recebem qualquer tratamento.

Constata-se desde o princípio do tratamento e mesmo um pouco depois, que as larvas e os adultos ficam imóveis, o que facilita a sua manipulação.

A quantidade de solução assim projectada varia muito pouco durante as pulverizações sucessivas. Em dois lotes de 25 quadrados de papel de filtro de 16 centímetros quadrados, achámos em média  $38,22 \pm 0,63$  miligramas de solução, o que corresponde a  $2,4 \pm 0,16$  miligramas de líquido por centímetro quadrado (ver quadro III).

Estas normas equivalem aos depósitos obtidos sobre uma superfície foliar de quatro hectares, tratadas à razão de 1000 litros de emulsão por hectare de terra cultivada. Escolhemos este valor de 4 hectares para termos em conta um valor médio de superfície foliar a proteger. Segundo DUVIGNEAUD (1974), ela pode variar, com efeito, de 1 hectare por hectare para as gramíneas até 8 hectares por hectare de terra para as árvores ou até mais, desde que se admita apenas que se trata da superfície superior da folhagem.

O pesticida utilizado - pirimicarbe - foi escolhido pelo facto de ser largamente utilizado como aficida em luta integrada, sendo indicado como poupando os predadores da família Coccinellidae.

Segundo a A.C.T.A. (Association de Coordination Technique Agricole), "as larvas e os adultos de joaninhas são insensíveis a este insecticida" (A.C.T.A. 1978). Quimicamente, é um N-N - dimetil carbamato de dimetilamino-2 dimetil-5,6 pirimidinilo - 4 ( $C_{11}H_{18}N_4O_2$ ). Pertencente ao grupo dos carbamatos, é de origem inglesa (Imperial Chemical Industries) e age fundamentalmente por contacto e por vapor sobre Afídeos de diferentes culturas, mesmo os resistentes aos insecticidas organo-fosforados, como é o caso do conhecido pulgão lanífero, Eriosoma lanigerum HAUSMANN.

Ainda segundo a A.C.T.A. (1978), é um pesticida selectivo em relação a numerosos predadores: além dos Coccinelídeos, também os Sirfídeos e os Himenópteros (como as Abelhas) são poupados pela sua acção.

Nas aplicações, a concentração comercial recomendada é de 37,5 a 50 gramas de matéria activa por hectolitro de água. Foi com estas concentrações que trabalhámos, usando pó molhável, com 50% de matéria activa.

## 5 - A RESPIROMETRIA DAS LARVAS

Durante o estágio que, em Junho de 1978, fizemos nos Laboratórios de Biologia Animal B (Professor GIRARDIE) e de Fisiologia Geral (Doutor MOREAU) da Universidade de Bordéus I, pusemos em prática o projecto concebido em 1976, quando verificámos que os efeitos do pirimicarbe sobre as larvas não podiam ser seguramente evidenciados por técnicas clássicas (GARCIA 1976).

A técnica que imaginámos, partiu do princípio que os derivados do ácido carbâmico ou carbamatos, grupo a que pertence o pirimicarbe, deveriam ter efeitos sobre certas potencialidades biológicas, tais como a respiração ou o ritmo cardíaco.

Os resultados que obtivemos em Antibes (GARCIA 1976), relativamente à influência do pirimicarbe sobre o crescimento ponderal das larvas, não foram significativos. No entanto, pareceu ma-

nifestar-se uma certa influência sobre a duração dos estados larvares.

Por isso escolhemos uma nova via de análise dos efeitos do aficida. Mas só aplicámos as técnicas de respirometria depois de nos podermos basear numa técnica segura de determinação do consumo alimentar das larvas (FERRAN & LARROQUE 1977). Depois de termos verificado que o pirimicarbe afectava o consumo alimentar das larvas do quarto estado, pudemos aplicar a técnica respirométrica.

Actualmente e após aquisição de um respirómetro diferencial de pressão constante, estes estudos continuam no Laboratório de Ecologia Aplicada, nos Açores.

### 5.1. Material

As técnicas respirométricas exigem material muito sensível. Nós utilizámos o seguinte:

- respirómetro diferencial GILSON, modelo GR8. Este respirómetro tem grandes vantagens sobre os clássicos aparelhos de WARBURG. Além de ser mais preciso, permite efectuar medidas diferenciais de pressão independentemente da variação da pressão atmosférica e da temperatura do banho.

Os oito volumómetros de leitura directa em microlitros permitem uma medida imediata dos consumos de oxigénio ou das libertações de anidrido carbónico. Estas operações fazem-se com restabelecimento da pressão de origem em cada medida, o que permite operar a pressão constante durante toda a experimentação. O aparelho vem equipado com banho termostaticado, com aquecimento e refrigeração, além de agitador de banho. Actualmente, usamos nos Açores um aparelho semelhante, embora mais simples, pois possui apenas 4 volumómetros (figura 21).

- uma balança METTLER M 30, electrónica e de taragem automática, para controlo ponderal das larvas. A sensibilidade desta balança é de 0,1 miligramas.
- uma estufa de secagem de vidraria e variado material de vidro e plástico.

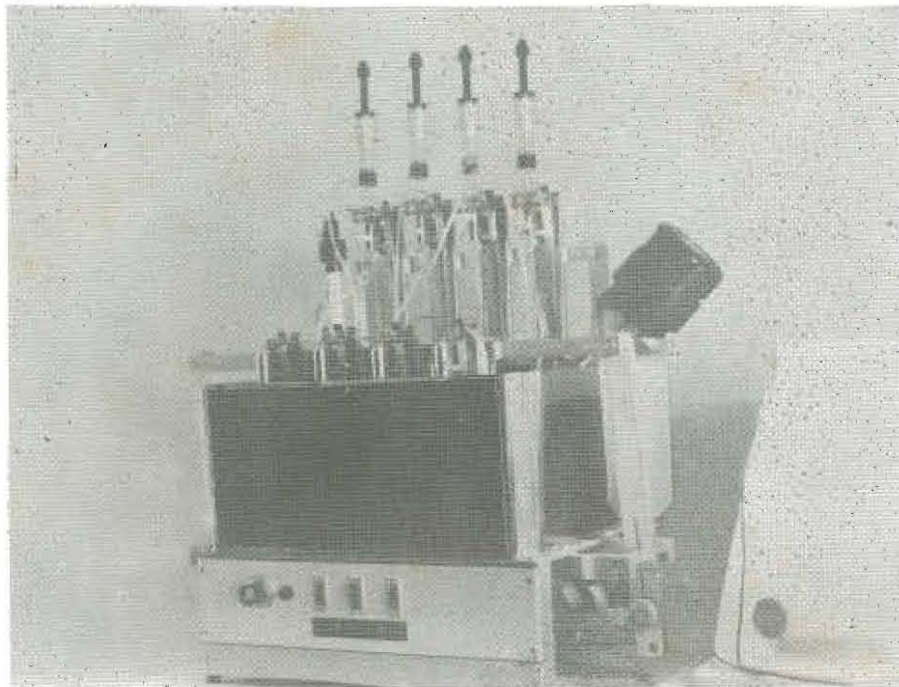


Figura nº 21 - Respirómetro TP 4

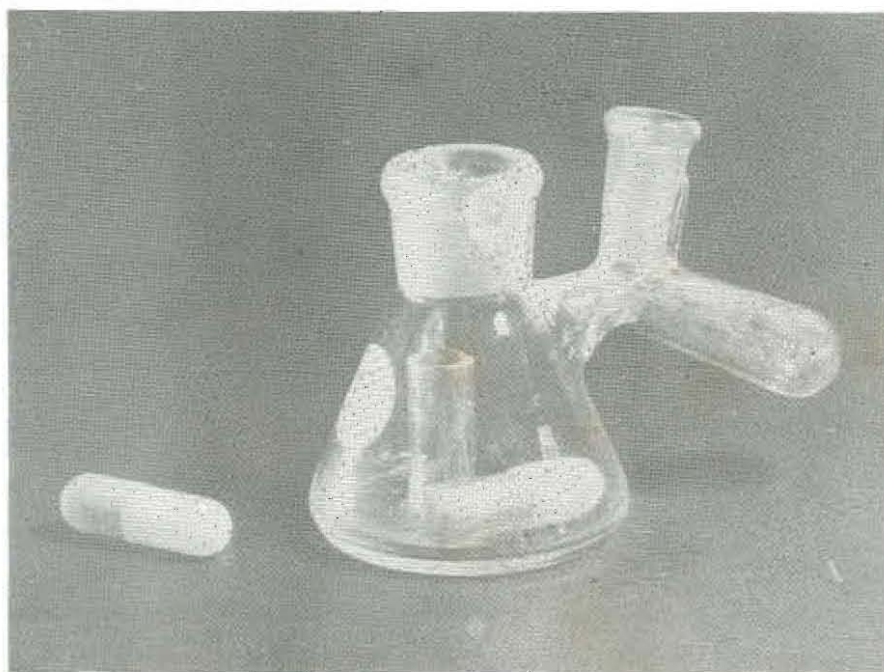


Figura nº 22 - Frasco GILSON com cápsula no interior

Foi necessário ainda montar em Bordéus, numa câmara climatizada a  $15^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , uma mini-unidade de produção de Myzodes persicae sobre ervilheira, para nutrição de S.11 notata. Todo este material proveio de Antibes (Estação de Luta Biológica) e foi preciso mantê-lo em condições durante a viagem de 800 quilómetros, sob sol de Verão.

## 5.2. Métodos

Para além da necessidade de montar a unidade de produção de entomófagos, capaz de fornecer larvas do quarto estado (L4) de S.11 notata, a técnica respirométrica exigiu um protocolo preciso.

### 5.2.1. Condições de experimentação

O banho termostático do respirómetro GR8 foi regulado para  $25^{\circ}\text{C}$ . Assim, as larvas tratadas com pirimicarbe e as suas testemunhas, foram submetidas sempre à mesma temperatura, durante a série de medidas de  $\text{O}_2$  e  $\text{CO}_2$ .

### 5.2.2. Nutrição, pesagem das larvas e protocolo experimental

As larvas do quarto estado foram nutridas com Myzodes persicae em abundância. Após a terceira muda, as jovens L4 que mudavam durante a tarde eram mantidas em jejum toda a noite. Seguiu-se depois o protocolo que apresentamos:

- pesagem dos L4 na balança de precisão,
- colocação no respirómetro,
- retiradas do respirómetro, as L4 eram colocadas nas caixas individuais, em presença de alimentação abundante de Myzodes persicae, até ao dia seguinte.

Com estes dados, era sempre possível estabelecer uma relação entre as medidas de  $\text{O}_2$  consumido e  $\text{CO}_2$  expelido por um lado, e o peso vivo das larvas, por outro.

### 5.2.3. Particularidades do método respirométrico

A medição do consumo de oxigénio pelas L4 de S.11 notata exigiu uma técnica especial.

Os frascos de vidro do respirómetro, com um volume de 15 mililitros, possuem um poço central, onde se coloca uma mecha de papel de filtro embebida em KOH a 10%, com o fim de fixar o CO<sub>2</sub> e permitir assim apenas a medida do O<sub>2</sub> consumido pelas larvas.

Ora, várias tentativas por nós efectuadas mostraram que as larvas, muito móveis, tocavam por vezes na potassa cáustica e vinham a morrer, ou a apresentar perturbações. Viemos a isolá-las em cápsulas farmacêuticas de plástico de 0,95 mililitros. Estas cápsulas eram previamente perfuradas com uma agulha, ficando com numerosos orifícios. Isto permitia as trocas gasosas e isolava as larvas, limitando-lhes os movimentos, o que era favorável do ponto de vista fisiológico (figura 22).

Anteriormente, tínhamos verificado que as L4 de S.11 notata, muito activas, seriam um problema, até porque umas se moveriam mais do que outras e as trocas gasosas viriam assim alteradas. A limitação das larvas às cápsulas deu excelente resultado.

As larvas assim condicionadas, eram submetidas a medidas de consumo gasoso por períodos de 10 minutos (três a quatro medidas por larva). Entre as medidas sucessivas, as torneiras do respirómetro eram abertas, sendo portanto as observações independentes umas das outras.

Normalmente, cada manhã, antes de se proceder às medidas gasosas, o respirómetro era estabilizado durante 10 minutos, com os frascos contendo as larvas já imersas no banho termostático.

O isolamento dos frascos foi feito com gel-silicone "Rho dorsil". Este produto adere ao tegumento larvar e afecta profundamente os Coccinelídeos, mas a colocação das larvas em cápsulas eliminou também este obstáculo.

## 6 - A CARDIOMETRIA DAS PUPAS

Desde que pensámos em testar o pirimicarbe sobre as pupas de Coccinelídeos, duas vias pareciam possíveis para este estudo:

- um método respirométrico



Figura nº 23 - Pupa de Cheilomenes sulphurea (a seta indica a zona de observação dos batimentos cardíacos).

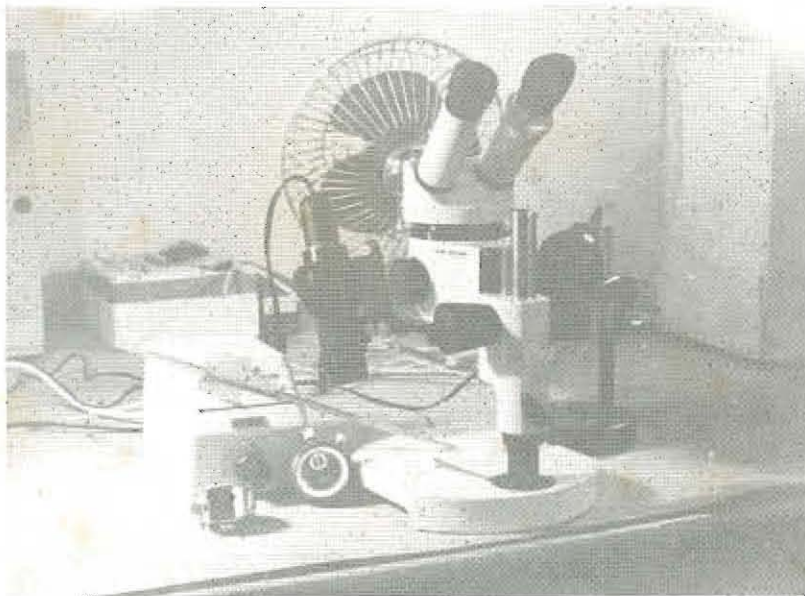


Figura nº 24 - Instalação para observação do ritmo cardíaco das pupas.

- um método cardiométrico.

Ora, na altura que iniciámos o estudo das potencialidades biológicas das pupas, não possuíamos ainda nos Açores o respirometro diferencial. Por outro lado e porque pensámos efectuar a respirometria sobre as larvas, afigurou-se-nos interessante experimentar uma nova técnica no que respeita às pupas.

### 6.1. As pupas observadas

Utilizámos as pupas de Cheilomenes sulphurea para verificar se a técnica era possível, devido ao facto do seu tegumento, de cor amarela e translúcido, permitir uma melhor observação à lupa das pulsações do vaso dorsal ou "coração".

Posteriormente e uma vez que chegámos à conclusão que a técnica era aplicável, usámos as pupas de Semiadalia ll notata.

As observações dos batimentos cardíacos foram sempre feitas numa zona anatómica bem definida, a linha média da face dorsal do terceiro anel abdominal.

Esta zona foi escolhida por ser aquela em que a visão das pulsações é em geral mais nítida (figura 23).

Interessou-nos de início obter uma ideia geral acerca da existência dum ritmo cardíaco e se as variações individuais permitiriam ou não analisar os efeitos do aficida sobre indivíduos diferentes.

As pupas submetidas à observação eram da mesma idade e os registos de batimentos cardíacos foram feitos 48 horas, 72 horas e 96 horas após o começo da ninfose.

As pupas recebiam a pulverização com o aficida no dia seguinte ao início da ninfose.

### 6.2. A técnica utilizada

Quando preparámos a técnica cardiométrica, pensámos que fosse necessário vir a utilizar a electrocardiografia. No entanto, a escolha de um método mais simples acabou por se impôr, não só por razões financeiras e técnicas, mas também porque a electrocar-

diografia tem desvantagens do ponto de vista biológico. Além de que os erros cometidos na contagem visual não têm importância (CARNARD & QUEINNEC 1971).

### 6.3. Material

Utilizámos o seguinte material:

- lupa estereoscópica WILD M-3, com ampliação de 40 diâmetros,
- um contador mecânico ("Tally counter" referência WARD! S 15 W 2640),
- um cronómetro OMEGA, precisão 1/10 do segundo,
- uma ventoinha KDK tipo 20 PKL; para refrigerar a zona óptica da lupa, evitando o aquecimento devido aos aparelhos de iluminação,
- um termómetro.

Foram sempre necessários dois observadores, um à lupa, como observador e contador dos batimentos cardíacos e outro actuando como registador e cronometrista. Cada minuto, eram registados os batimentos efectuados, assim como a duração das respectivas pausas. Os resultados eram depois convertidos em pulsações médias por minuto. A figura 24 mostra-nos um aspecto geral da instalação utilizada para observação do ritmo cardíaco das pupas.

## CONCLUSÕES DA SEGUNDA PARTE

O estudo dos efeitos de um pesticida sobre as potencialidades biológicas dos Coccinelídeos afidípagos exige meios técnicos importantes e um conjunto de métodos que exigem bastante imaginação da parte do investigador. Poderemos mesmo dizer que, não existe uma técnica ou um método, mas um conjunto de métodos e técnicas adaptados às espécies em estudo e, dentro das espécies, às diferentes fases das suas metamorfoses.

Podemos concluir para já que:

a) Só um laboratório dispendo das condições técnicas para a produção permanente dos predadores, seja qual for a época do ano, estará em condições de assegurar este tipo de pesquisas.

b) É necessário um bom conhecimento dos ciclos biológicos e da ecologia dos Coccinelídeos em estudo, quer no que diz respeito às suas condições de vida na natureza, quer às condições de vida no laboratório.

c) É necessário possuir-se aparelhagem sensível para efectuar certas pesagens, tais como as que se efectuam nos controlos ponderais da evolução larvar e nas aplicações das pulverizações pesticidas.

d) É preciso possuírem-se técnicas para avaliar o grau de homogeneidade fisiológica dos insectos a utilizar nos ensaios, assim como dispositivos seguros para a aplicação, sob controlo, das soluções de pesticida.

e) O produto pesticida utilizado em ensaios deste tipo deve ser tão específico quanto possível, afectando a praga a que é destinado, mas possuindo fraca ou nula acção sobre a mortalidade dos predadores. Tal facto permite a análise dos efeitos secundários não letais, mesmo se estes não são evidentes, pois encontrar métodos sensíveis para por em evidência estes efeitos "escondidos" é precisamente o fim do nosso estudo.

f) O estudo dos efeitos do pirimicarbe sobre a voracidade larvar levou ao estudo duma técnica de avaliação dos efeitos deste pesticida sobre o consumo alimentar que permitisse obter conclusões, precisas. Com base nestas conclusões, pôs-se em prática uma técnica respirométrica que exige alguns meios técnicos dos quais

o mais importante é um respirómetro diferencial de pressão constante e leitura directa dos volumes gasosos. Os antigos aparelhos WARBURG deixam de ter interesse nesta técnica, por serem mais complicados, mais frágeis e menos precisos.

g) O estudo dos efeitos do pirimicarbe sobre as pupas exigiu uma técnica cardiométrica, usando meios simples. Esta técnica parece mais segura do que as técnicas de electrocardiografia.

Por último, devemos dizer que não incluímos nesta parte do nosso estudo as técnicas de avaliação da voracidade larvar e do consumo alimentar das larvas, pois pensamos que as devemos incluir a seguir, quando descrevermos os efeitos do pirimicarbe sobre as larvas dos dois predadores estudados.

TERCEIRA PARTE

EFEITOS DE UM AFICIDA SOBRE AS LARVAS

## EFEITOS DE UM AFICIDA SOBRE AS LARVAS

### GENERALIDADES

Primeiramente, tornou-se necessário saber qual ou quais os parâmetros biológicos das larvas que seriam escolhidos para estudo dos efeitos do pirimicarbe.

Ora nós sabemos que, de todas as potencialidades biológicas das larvas predadoras, a que mais nos interessa em luta biológica ou integrada é a voracidade.

As investigações realizadas por TREPANIER-BLAIS (1972) mostram que deveria ser necessário aprofundar mais os estudos sobre voracidade. De facto BERARDINELLI (1976) mostrou que é importante adquirir-se um conhecimento perfeito da modificação qualitativa do valor alimentar dos Afídeos segundo a sua idade.

FERRAN & LARROQUE (1977) deram uma contribuição fundamental aos estudos de voracidade larvar dos Coccinelídeos, ao estudarem em detalhe o consumo e a utilização do Afídeo Myzus persicae pelos diferentes estados larvares de Semiadalia ll notata.

Estes autores demonstraram que a evolução do consumo alimentar em função do peso se traduz, para cada estado larvar, por relações lineares.

Mostraram ainda que, para se avaliar a eficácia predadora de uma joaninha, é importante a noção de rendimento alimentar, o qual se traduz por uma razão multiplicada por 100, entre o aumento de peso vivo larvar durante um certo período e o consumo correspondente de peso vivo de pulgão.

Nós demos, por estas razões, prioridade à análise dos efeitos do pirimicarbe sobre a voracidade e o consumo alimentar das larvas. Convém distinguir entre estas duas noções, a maior parte das vezes confusamente interpretadas por alguns autores.

Voracidade é por nós entendido como a destruição de um certo número de Afídeos por um Coccinelídeo, durante um certo espaço de tempo. Esta noção corresponde aproximadamente à "feeding-rate" dos autores saxónicos.

Consumo alimentar é uma noção mais complexa e mais precisa.

Entende-se como uma razão entre o peso vivo de Afídeos consumidos (estes pertencentes a um estado preciso) e o seu número, multiplicados por um coeficiente de utilização de cada Afídeo pelo seu predador (FERRAN & LARROQUE 1977).

Tratámos primeiro dos problemas dos efeitos do pirimicarbe sobre a voracidade, utilizando como material biológico Cheilomenes sulphurea. Seguimos assim uma sequência lógica em relação aos trabalhos iniciados em Angola (GARCIA 1972). Depois, analisámos a acção do aficida sobre o consumo alimentar das larvas do 4º estado de Semiadalia ll notata. Com o fim de verificarmos se poderíamos confirmar estes efeitos sobre o consumo alimentar, utilizámos a respirometria.

Assim, analisámos os efeitos do pirimicarbe sobre o consumo do oxigénio, a libertação de anidrido carbónico e por conseguinte, o quociente respiratório das larvas do 4º estado de S.ll notata.

Estes resultados são apresentados nos capítulos seguintes. Devemos ainda salientar que, nas experiências sobre consumo alimentar e variações ponderais, usámos o termo "meio dia" como correspondendo nos controlos da manhã a um período de 16 horas e nos da tarde a um período de 8 horas.

## CAPITULO I

### INFLUENCIA DO PIRIMICARBE SOBRE A VORACIDADE LARVAR DE CHEILOMENES SULPHUREA

#### 1 - MATERIAL E METODOS

Vamos expor apenas algumas particularidades dos métodos seguidos e do material biológico utilizado, pois na generalidade, estes já foram descritos na segunda parte deste trabalho.

As larvas utilizadas pertencem aos quatro estados larvares de Cheilomenes sulphurea. Os ensaios de pulverização de pirimicarbe sobre cada um dos estados foram efectuados separadamente, sendo as testemunhas pulverizadas com água. O contacto com as soluções pulverizadas manteve-se durante 15 minutos.

Escolheram-se para os ensaios larvas do primeiro estado (L1) que eclodiam à tarde. No dia seguinte de manhã, eram tratadas com o pirimicarbe e isoladas, oferecendo-se-lhes a primeira refeição de 40 Afídeos. O controlo seguinte efectuava-se 24 horas depois, anotando-se os Afídeos que restavam vivos. Para os outros estados (L2, L3 e L4) a sequência foi idêntica, isolando-se as larvas após a muda, na tarde da véspera do tratamento com pirimicarbe.

Os registos de voracidade efectuaram-se diariamente, durante cada estado larvar, até à muda seguinte. No quarto estado, os controlos duram até que a larva deixasse de se alimentar, entrando em pré-ninfore. A espécie de Afídeo utilizada como alimento foi Aphis fabae. Escolheram-se apenas as larvas dos primeiros estados do Afídeo (L1 e L2) como alimento dos primeiros estados (L1 e L2) das larvas de Cheilomenes sulphurea. Aos últimos estados larvares desta joaninha (L3 e L4), ofereceram-se como alimento larvas dos últimos estados (L3 e L4) de Aphis fabae.

As condições de ambiente foram as seguintes:

- temperatura de  $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ,
- humidade relativa de  $80\% \pm 10\%$ ,
- fotofase de 16 horas.

#### 2 - INFLUENCIA DO PIRIMICARBE SOBRE A VORACIDADE LARVAR DE CHEILO-

## MENES SULPHUREA

Os efeitos do pirimicarbe sobre a voracidade larvar de Cheilomenes sulphurea estão representados no gráfico da figura 25. Analisando o mesmo, verificamos:

- que os insectos tratados com o pesticida apresentam, ao longo do tempo da sua fase larvar, uma voracidade inferior à dos insectos testemunhas,
- que essa diferença é menor a partir do primeiro dia do terceiro estado larvar.

O número total de larvas de joaninhas submetidas à experimentação foi de 396, assim distribuídas:

- 1º estado - 79 tratadas e 79 testemunhas;
- 2º estado - 66 tratadas e 66 testemunhas;
- 3º estado - 39 tratadas e 39 testemunhas;
- 4º estado - 14 tratadas e 14 testemunhas;

Os valores da voracidade larvar média diária por estados larvares, expressa em número de Afídeos consumidos por dia, estão expressos no quadro IV. Neste quadro estão ainda representados os desvios padrões das médias, os coeficientes de correlação e as equações que traduzem a regressão linear. As rectas de regressão apresentam uma segurança superior a 95% e vêm representadas na figura 26.

A análise das rectas de regressão confirma-nos que a voracidade larvar média diária de Cheilomenes sulphurea em relação a Aphis fabae é sempre diminuída pela aplicação do pirimicarbe, seja qual for o estado larvar.

### 3 - INFLUÊNCIA DO PIRIMICARBE SOBRE A MORTALIDADE LARVAR

Durante os ensaios verificámos que a mortalidade larvar provocada pelo pirimicarbe atingia principalmente o primeiro estado larvar de Cheilomenes sulphurea (30,58%). No segundo estado, a mortalidade descia para 16,66% e era nula no 3º e 4º estados. Nas testemunhas, a mortalidade foi nula. Os resultados constam do gráfico da figura 27.

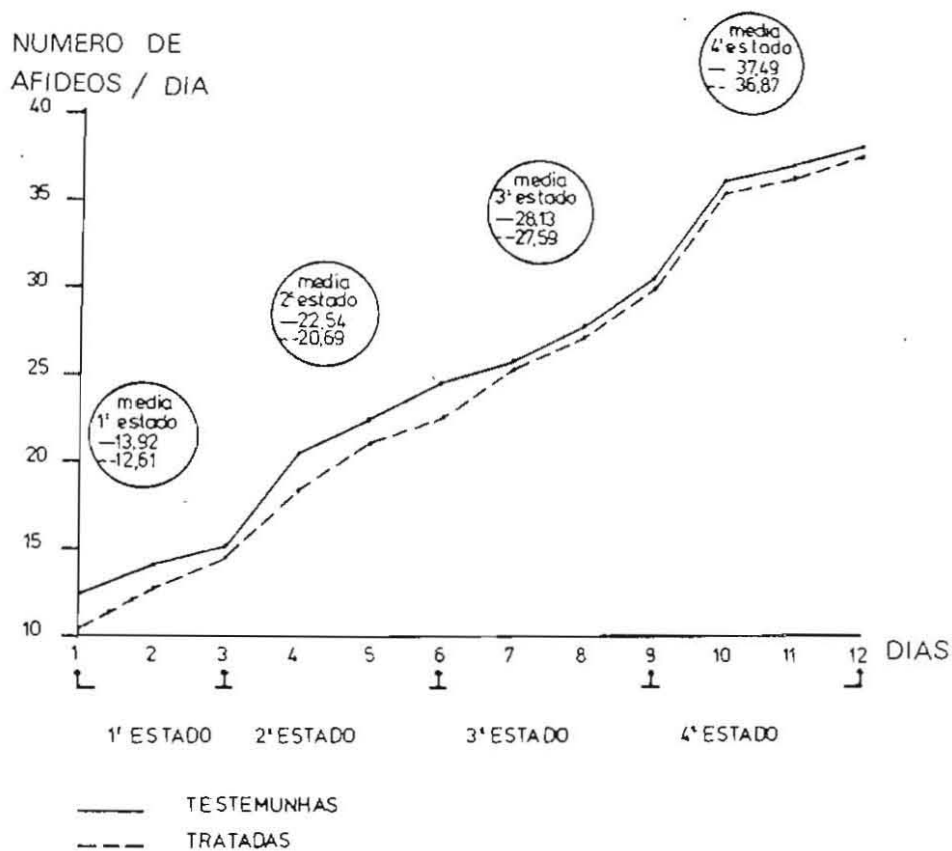


Figura nº 25 - Voracidade larvar de Cheilomenes sulphurea (alimentação com Aphis fabae).

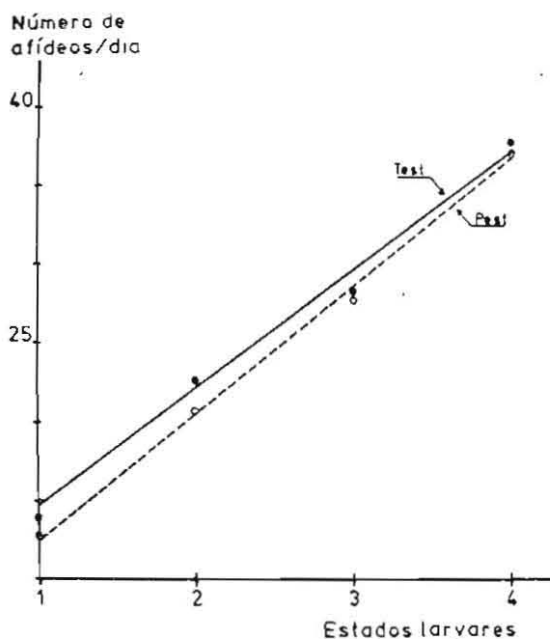


Figura nº 26 - Rectas de regressão representando a voracidade larvar média diária por estados de Cheilomenes sulphurea (nutrição: Aphis fabae).

Verificámos assim que o pirimicarbe eliminou, nos ensaios que descrevemos cerca de  $1/3$  das larvas do 1º estado. Até ao fim do 2º estado larvar, quase metade das larvas foram eliminadas pelo aficida (47,24%).

QUADRO IV

VALORES MÉDIOS DA VORACIDADE LARVAR DIÁRIA POR ESTADOS DE  
Cheilomenes sulphurea

		L1	L2	L3	L4
PESTICIDA	$\bar{X}$	12,61	20,69	27,59	36,87
	Sx	0,24	0,35	0,18	1,16
TESTEMUNHAS	$\bar{X}$	13,92	22,54	28,13	37,49
	Sx	0,81	0,44	0,26	0,94

$\bar{X}$  = Número médio de Afídeos consumidos diariamente.

Sx = Desvio padrão.

PESTICIDA:  $r = 1 > 0,75 \rightarrow r 95\%$ (significativo)

Coefficiente de correlação

TESTEMUNHAS:  $r = 0,99 > 0,95 \rightarrow r 95\%$ (significativo)

PESTICIDA:  $y = 7,97 x + 4,53$

Rectas de regressão

TESTEMUNHAS:  $y = 7,63 x + 6,45$

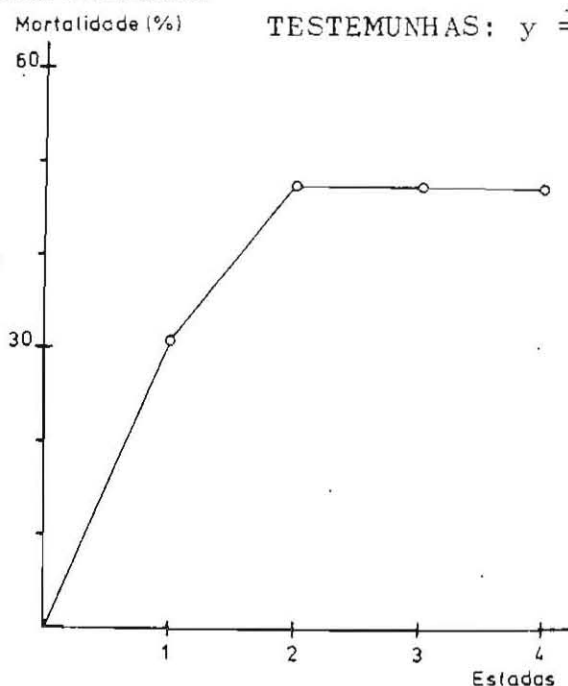


Figura nº 27

Mortalidade larvar cumulativa de Cheilomenes sulphurea provocada pelo pirimicarbe.

## CAPÍTULO II

### EFEITOS DO PIRIMICARBE SOBRE O CONSUMO ALIMENTAR DAS LARVAS DE SEMIADALIA 11 NOTATA

Os ensaios acerca dos efeitos do pirimicarbe sobre as larvas de S.11 notata foram efectuados apenas sobre o último estado larvar ou seja o quarto estado. A razão reside no facto do quarto estado larvar de S.11 notata representar cerca de 82% do consumo larvar total (FERRAN & LARROQUE 1977).

Foram realizadas duas experiências, envolvendo um total de 42 larvas tratadas com pirimicarbe e 36 testemunhas. Na primeira experiência, estudaram-se os efeitos do pirimicarbe sobre 27 larvas tratadas e 26 testemunhas. A repetição realizou-se três meses depois da primeira experiência, embora rigorosamente nas mesmas condições.

#### 1 - MATERIAL E MÉTODOS

A maior parte do material foi já descrito na segunda parte deste trabalho. As experiências foram realizadas nas seguintes condições de ambiente:

- temperatura:  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ,
- humidade relativa:  $70\% \pm 10\%$ ,
- fotofase de 16 horas.

Os métodos especiais que utilizámos para avaliar o consumo alimentar das L4 de S.11 notata vão ser resumidamente descritos. Podemos dizer que constam de:

- um método de determinação do coeficiente de utilização alimentar de uma fêmea áptera de pulgão por uma larva do quarto estado de S.11 notata,
- um método para o cálculo do consumo alimentar das larvas de S.11 notata.

Vamos expôr sucessivamente estes métodos.

#### 1.1. Coeficiente de utilização alimentar

Este coeficiente obtem-se do seguinte modo (FERRAN & LARROQUE 1977):

- pesa-se uma fêmea áptera L4 de Myzus persicae, obtendo-se  $P_o$ ;
- oferece-se esta fêmea de peso  $P_o$  como alimentação a uma L4 de S.11 notata, previamente submetida a 24 horas de jejum;
- pesa-se o que resta do Afídeo após a refeição da larva de S.11 notata ( $P_1$ );
- mantém-se, durante toda a operação e nas mesmas condições, uma fêmea áptera de Myzus persicae, a qual é pesada no início e no fim da operação, com o fim de avaliar a perda de água por desidratação ( $P_d$ ).

O peso da fêmea áptera consumido, em miligramas, ou seja a quantidade consumida  $Q$ , é dado por:

$$Q = (P_o - P_1) - P_d$$

O coeficiente de utilização é a razão entre a quantidade consumida e o peso vivo inicial oferecido, ou seja  $Q/P_o$ . Expresso em percentagem, virá  $(Q/P_o) \times 100$ .

O valor deste coeficiente, para as fêmeas ápteras de Myzus persicae oferecidas às L4 de S.11 notata é de 0,9743 ou seja 97,43% (FERRAN & LARROQUE 1977).

Multiplicando este valor pelo peso de um Afídeo, obtem-se a percentagem real de utilização da presa pelo predador.

## 1.2. Cálculo do consumo alimentar das larvas

O protocolo experimental seguido para este cálculo é extremamente preciso, mas bastante complexo. Vamos resumir as operações de manipulação, por ordem cronológica.

- a) Na véspera do ensaio e logo após a muda, isolaram-se as larvas do quarto estado. Estas larvas são mantidas em jejum até ao dia seguinte.

- b) De manhã, efectua-se a pesagem da L4 de S.11 notata. Seguidamente, pesam-se 30 fêmeas ápteras de Myzus persicae, as quais são oferecidas à larva, constituindo a sua refeição até ao fim da tarde.
- c) De tarde, contam-se os Afídeos que ficaram vivos, os que foram sugados pela larva da joaninha e os que morreram por outras causas. Efectua-se a pesagem da larva predadora, a quem se oferece uma nova refeição, composta por 40 fêmeas ápteras de Myzus persicae, cujo peso total também foi determinado.
- d) Na manhã seguinte, pesa-se novamente a larva do predador, a quem se oferece uma nova refeição de 30 Afídeos e assim sucessivamente, até à fixação da pré-ninfa.

O esquema de um dia de manipulação consta do quadro que seguidamente apresentamos:

QUADRO V

Larvas	Peso dos afídeos (mg)	NÚMERO DE AFÍDEOS				PESO DAS L4	
		Inicial	Vivos	Mortos	Sugados	Po (mg)	Pl (mg)
A	13,65	30	11	0	19	22,50	26,40
B	16,20	30	13	1	16	14,30	20,10

A partir do número total de pulgões sugados e do peso vivo dos pulgões oferecidos às larvas cada manhã e cada tarde, obtemos, tomando como exemplo a larva A do quadro V:

$$\frac{\text{Peso vivo total dos pulgões (13,65 mg)}}{\text{N}^{\circ} \text{ total de pulgões oferecidos (30)}}$$

o que nos dá o peso vivo médio de cada pulgão oferecido à larva A (0,455 mg). Este peso vivo médio, multiplicado pelo coeficiente de utilização, permite-nos calcular a percentagem de peso vivo médio que é utilizado em cada pulgão, ou seja, neste caso,

$$0,45 \text{ mg} \times 0,9743 = 0,443 \text{ mg}$$

Como o número de pulgões sugados (portanto, consumidos) foi de 19, teremos:

$$0,443 \times 19 = 8,417 \text{ mg}$$

peso que representa a quantidade média, em termos de peso vivo de Myzus persicae que foi utilizado pela larva A durante a aquela manhã do ensaio.

Por outro lado, a diferença entre os valores de  $P_1$  e  $P_0$  dá-nos o correspondente aumento de peso da larva A. Esse aumento foi, neste caso de 3,90 mg (26, 40-22, 50).

## 2 - INFLUÊNCIA DO PIRIMICARBE SOBRE O CONSUMO ALIMENTAR CUMULATIVO MÉDIO EM FUNÇÃO DO PESO

### 2.1. Primeira experiência

Para exprimir correctamente a evolução do consumo alimentar das L4 de S.11 notata, utilizámos valores cumulativos médios, expressos em função do peso larvar médio.

Obtidos os valores do consumo alimentar cumulativo médio  $C$ , registados em cada meio-dia de observação (de manhã e à tarde), estes são indicados em ordenadas (variável  $y$ ). Em abcissas (variável  $x$ ) marcámos os valores correspondentes do peso médio larvar  $P$  (ver quadro VI).

Os valores obtidos correspondem aos consumos alimentares médios de 27 larvas do quarto estado de S.11 notata, alimentadas com fêmeas ápteras de Myzus persicae e que foram tratadas com pirimicarbe, nas condições já indicadas na segunda parte deste trabalho. Procedeu-se paralelamente em relação a 26 larvas testemunhas,

QUADRO VI

VALORES MÉDIOS DO CONSUMO ALIMENTAR CUMULATIVO  
E DOS PESOS LARVARES CORRESPONDENTES (em miligramas)

(Espécie: S.11 notata)

		DIA 1		DIA 2		DIA 3		DIA 4		DIA 5	
		MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE
PESTI- CIDA	C(y)	0,0	10,864	16,302	31,416	38,846	57,627	66,976	78,841	80,719	
	P(x)	7,980	10,966	13,020	18,341	21,493	27,178	30,444	32,296	32,574	
TESTE- MUNHAS	C(y)	0,8	14,025	20,357	36,131	45,898	63,814	71,303	78,397		
	P(x)	8,113	14,573	17,573	22,827	26,977	31,858	33,846	33,958		

Coefficiente de correlação

Pesticida:  $r = 0,996 > 0,80 \rightarrow r$  99%  
n=9

muito  
significativo

Testemunhas:  $r = 0,99 > 0,83 \rightarrow r$  99%  
n=8

muito  
significativo

Rectas de regressão

Pesticida: C = 3,138 P - 25,394

Testemunhas: C = 2,937 P - 28,416

que receberam apenas uma pulverização com água. O contacto dos insectos com as soluções pulverizadas foi mantido durante 15 minutos.

O gráfico da figura 28, mostra-nos as rectas de regressão correspondentes aos valores obtidos. De notar que os coeficientes de correlação apresentam uma segurança superior a 99%, sendo os resultados portanto bastante significativos.

Assim, depreende-se da figura 28:

- que as larvas tratadas com o pesticida apresentam ao longo de toda a duração do quarto estado, um consumo alimentar cumulativo médio em função do peso, superior ao das larvas testemunhas,
- que o consumo médio das larvas tratadas (42,36 miligramas) em função do respectivo peso médio (21,59 miligramas) é superior ao consumo médio das testemunhas (41,24 miligramas) em função do seu peso médio (23,72 miligramas)

## 2.2. Segunda experiência

Esta segunda experiência constitui uma repetição da anterior e foi efectuada três meses depois. Foram observadas as mesmas condições, quer no que respeita às espécies utilizadas (larvas do quarto estado de S.11 notata alimentadas com fêmeas ápteras de Myzus persicae), quer em relação às condições de ambiente, protocolo experimental e outros detalhes. O fim desta repetição foi obter dados que pudessem confirmar ou negar os resultados anteriores.

Apenas variou o número de larvas submetidas aos ensaios, o qual foi de 15 larvas tratadas com pirimicarbe e 10 larvas pulverizadas com água. O tempo de contacto após as pulverizações foi o mesmo (15 minutos).

No quadro VII, estão indicados os valores obtidos para os consumos alimentares cumulativos médios das L4 de S.11 notata e os correspondentes valores dos pesos médios.

Neste mesmo quadro, encontram-se também representados os valores dos coeficientes de correlação e as equações das rectas de regressão.

Estas estão traçadas no gráfico da figura 29.

# Experiência 1

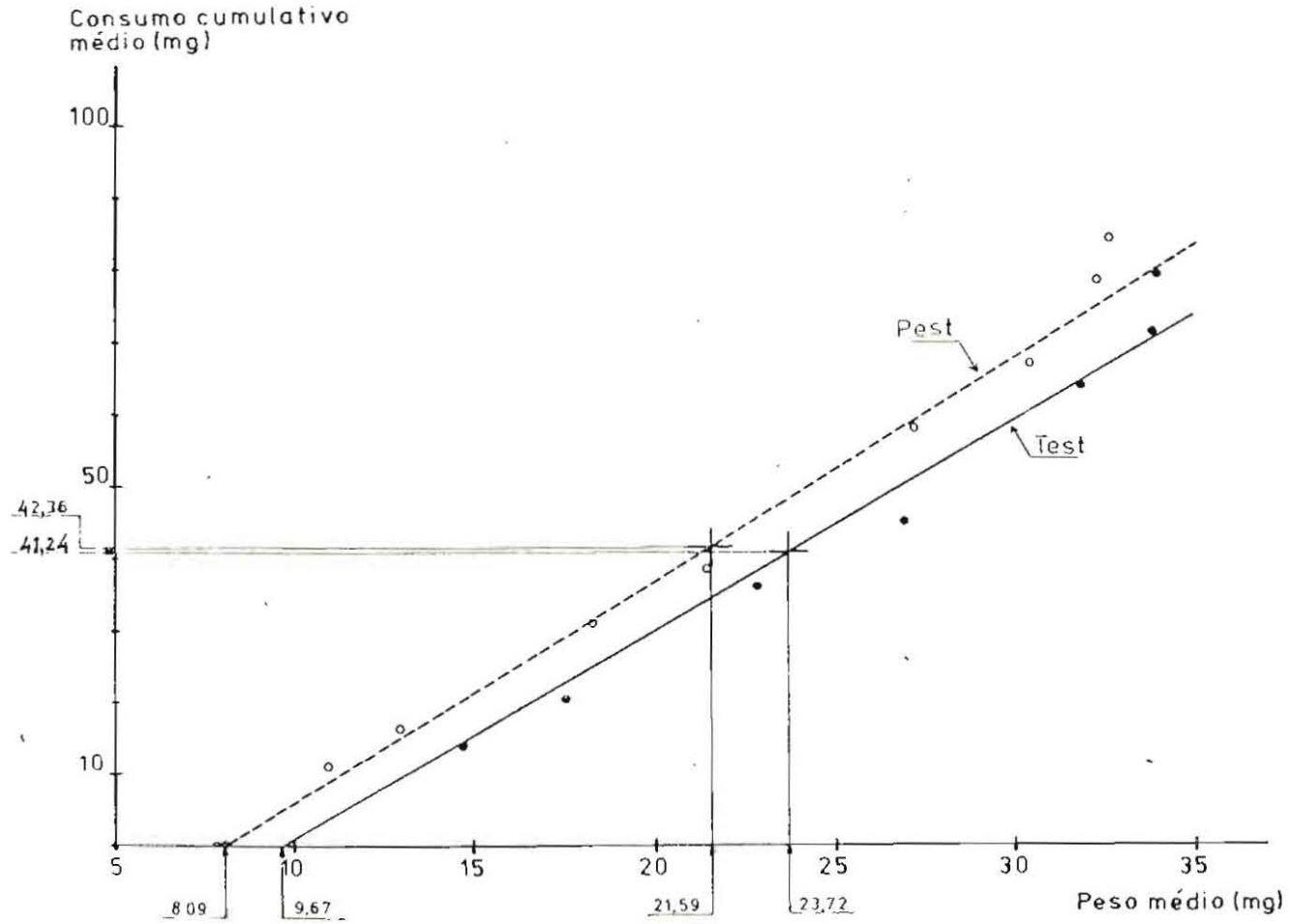


Figura nº 28 - Correlações entre o consumo alimentar cumulativo médio e o peso médio do 4º estado larvar de S.l. notata (1ª experiência)

QUADRO VII

VALORES MÉDIOS DO CONSUMO ALIMENTAR CUMULATIVO  
E DOS PESOS LARVARES CUMULATIVOS ( em miligramas )

(Espécie: S.11 notata)

		DIA 1		DIA 2		DIA 3		DIA 4		DIA 5	
		MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE
PESTI- CIDA	C(y)	0,0	3,717	12,270	19,374	32,832	42,743	57,045	64,477	74,389	80,364
	P(x)	8,363	9,701	12,707	15,220	20,367	24,480	28,613	30,453	32,653	33,867
TESTE- MUNHAS	C(y)	0,0	7,792	17,604	28,356	41,817	53,035	66,450	71,317	73,861	
	P(x)	8,616	13,120	17,320	21,190	26,210	30,300	33,790	34,920	34,480	

Coefficiente de correlação

Pesticida:  $r = 0,99 > 0,76 \rightarrow r$  99%  
n=10

• muito  
significativo

Testemunhas:  $r = 0,99 > 0,80 \rightarrow r$  99%  
n=9

• muito  
significativo

Pesticida: C = 3,034 P - 26,932

Rectas de regressão

Testemunhas: C = 2,825 P - 29,001

## Experiência 2

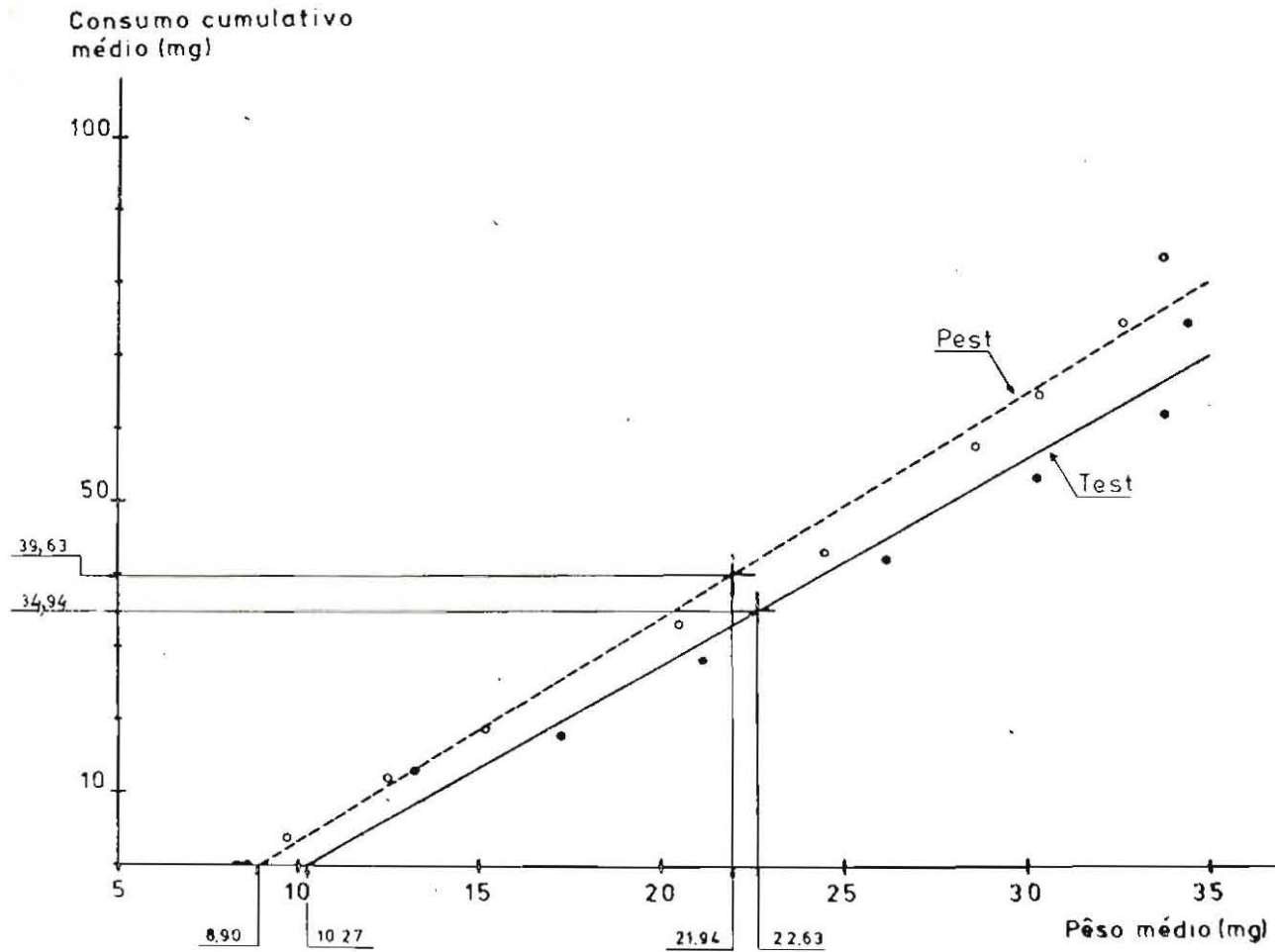


Figura nº 29 - Correlações entre o consumo alimentar cumulativo médio e o peso médio das L4 de S.11 notata (2ª experiência)

Tal como na primeira experiência, esta repetição mostra-nos que os coeficientes de correlação apresentam uma segurança superior a 99%, sendo portanto muito significativos.

Assim, depreende-se da figura 29:

- que as larvas tratadas com o pesticida apresentam, ao longo de toda a duração do quarto estado, um consumo alimentar cumulativo médio em função do peso, superior ao das larvas testemunhas.
- que o consumo médio das larvas tratadas (39,63 miligramas) em função do respectivo peso médio (21,94 miligramas) é superior ao consumo médio das testemunhas (34,94 miligramas) em função do seu peso médio (22,63 miligramas)

### 2.3. Conclusões

Concluimos assim que duas larvas de S.11 notata, alimentadas com fêmeas ápteras de Myzus persicae, nas condições das experiências descritas, obedecerão às seguintes condições:

- se tiverem pesos iguais, terão diferentes consumos alimentares, sendo superior o da larva tratada com pirimicarbe;
- se tiverem iguais consumos, o peso da larva tratada é inferior ao da larva testemunha.

Este facto levou-nos a pensar que seria necessário verificar se este aumento de consumo alimentar resultava de um processo fisiológico em que o pesticida provocaria alterações metabólicas, pois dificilmente se poderá considerar normal o efeito de um produto que faz aumentar o consumo alimentar sem um correspondente aumento do peso dos predadores.

3 - INFLUÊNCIA DO PIRIMICARBE NO RENDIMENTO ALIMENTAR DAS L4 DE S. 11 NOTATA

O rendimento alimentar pode traduzir-se por uma razão entre o aumento do peso larvar durante um certo período e o consumo correspondente de peso vivo de pulgão. Multiplicando-se esta razão por 100, exprime-se o rendimento alimentar em percentagem.

Teremos assim:

$$\text{Rendimento alimentar} = \frac{\Delta P}{C} \times 100,$$

com  $\Delta P$  = aumento de peso num certo tempo e C = consumo alimentar no mesmo tempo.

Das experiências descritas nos parágrafos anteriores obtivemos os aumentos de peso de 42 larvas do quarto estado de S.11 notata tratadas com pirimicarbe e de 36 larvas testemunhas, durante cada meio-dia. Igualmente obtivemos os correspondentes consumos alimentares. Estes valores vêm expressos nos anexos finais A e B, que resumem os principais elementos experimentais necessários para os cálculos.

Os valores médios dos rendimentos alimentares por cada manhã ou tarde das experiências vêm expressos no quadro VIII. O gráfico da figura 30 mostra-nos que:

- nas primeiras 36 horas após a aplicação do pirimicarbe, o rendimento alimentar das L4 de S.11 notata tratadas com o pesticida, foi inferior ao das L4 testemunhas;
- na tarde do segundo dia dos ensaios, os rendimentos alimentares das larvas pulverizadas com pesticida e das testemunhas, ficavam sensivelmente equilibrados;
- após a manhã do terceiro dia de ensaios e até ao fim do quarto estado larvar, os rendimentos alimentares das larvas tratadas revelaram-se superiores aos das testemunhas.

Podemos assim deduzir que o pirimicarbe tem uma acção imediata que se manifesta algumas horas após o tratamento. A fisiologia das larvas é afectada e dá-se uma quebra sensível dos rendi-

QUADRO VIII

VALORES MÉDIOS DOS RENDIMENTOS ALIMENTARES  
DAS LARVAS DO QUARTO ESTADO DE S.11 notata

		DIA 1		DIA 2		DIA 3		DIA 4		DIA 5	
		MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE
PESTICIDA	$\bar{X}$	0,00	31,42	37,54	35,55	40,77	35,31	32,64	23,13	31,95	27,50
	Sx	-	12,25	11,16	7,32	6,69	9,11	11,71	9,72	14,38	11,19
	i.c.	-	3,80	3,37	2,21	2,02	2,76	3,68	3,21	5,76	7,31
TESTEMUNHAS	$\bar{X}$	0,00	50,83	43,99	36,98	40,85	31,66	27,70	22,76	11,20	
	Sx	-	10,76	12,15	8,39	10,72	12,66	10,30	12,68	6,56	
	i.c.	-	3,51	4,08	2,78	3,51	4,19	3,51	5,86	7,43	

$\bar{X}$  = média ; Sx = desvio padrão ; i.c. = intervalo de confiança

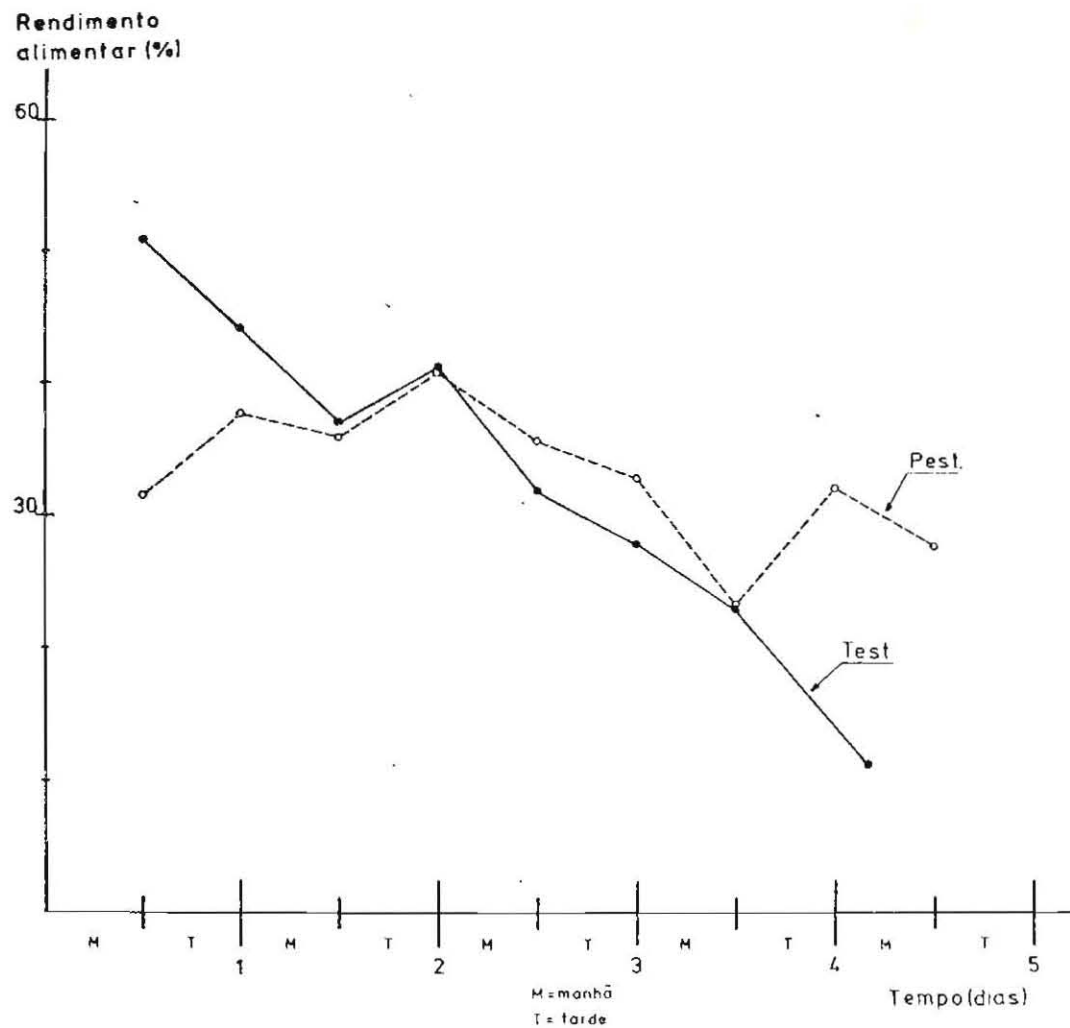


Figura nº 30 - Evolução do rendimento alimentar das larvas do 4º estado de S.11 notata.

mentos alimentares durante as 36 horas seguintes ao tratamento.

Por alturas do primeiro controlo, na tarde do primeiro dia (tendo o tratamento sido efectuado na manhã desse mesmo dia), o rendimento alimentar médio das larvas tratadas é de 31,42%, contra 50,83% das larvas testemunhas. Progressivamente, o desnível entre estes rendimentos alimentares vai-se atenuando, igualando-se ambos na manhã do terceiro dia. Isto significa que as L4 de S.11 notata possuem um mecanismo fisiológico de desintoxicação ou de eliminação dos efeitos do carbamato que é muito rápido e activo.

Por último, nos últimos dois dias e meio do quarto estado larvar, dá-se um fenómeno de compensação, passando os rendimentos alimentares das larvas tratadas a serem superiores aos das larvas testemunhas. É especialmente interessante verificar (figura 30) que na manhã do quinto dia larvar, há uma queda brusca do rendimento alimentar das larvas testemunhas (11,20%) contra um último aumento das tratadas (31,95%).

Verifica-se ainda que a fase alimentar das L4 tratadas se prolongou em média por mais meio dia, com um valor importante do rendimento alimentar (27,50%).

QUADRO IX

EVOLUÇÃO DOS PESOS MÉDIOS DAS L4 DE *S.11* notata (em miligramas)

Primeira experiência

		DIA 1		DIA 2		DIA 3		DIA 4		DIA 5		DIA 6	
		MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE
PESTICIDA	n	27	27	27	27	27	27	27	27	27	25	12	2
	$\bar{X}$	7,98	10,97	13,02	18,34	21,49	27,18	30,44	32,30	32,57	31,17	$\bar{X}$ 30,78	
	i.c.	0,43	0,80	1,05	1,57	1,69	2,01	2,07	1,77	1,53	1,32	2,52	
TESTEMUNHAS	n	26	26	26	26	26	26	26	26	25	19	2	2
	$\bar{X}$	8,11	14,57	17,57	22,83	26,98	31,86	33,85	33,96	33,30	$\bar{X}$ 30,59		
	i.c.	0,41	0,89	1,11	1,44	1,76	1,67	1,63	1,36	1,54	3,86		

n = número de indivíduos ;  $\bar{X}$  = média ; i.c. = intervalo de confiança (95%) ;  $\bar{X}$  \_ peso final

### Experiência 1

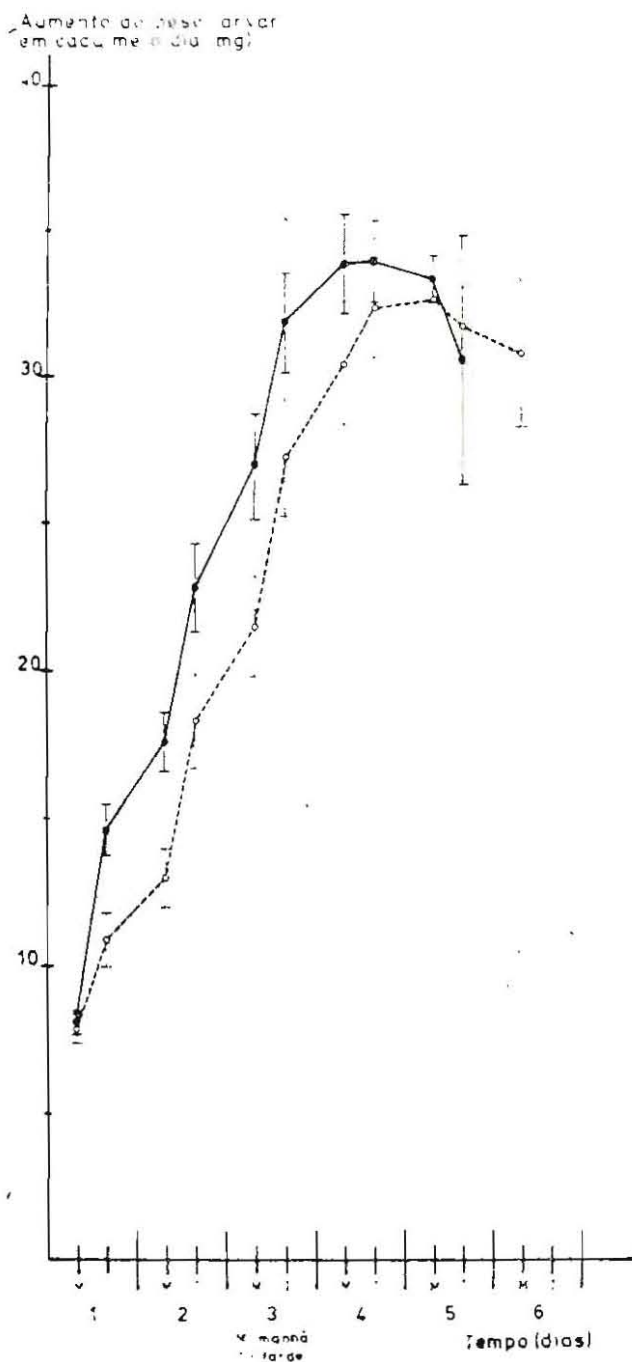


Figura nº 31 - Efeito do pirimicarbe sobre o aumento do peso das L4 de S.11 notata (1ª experiência).

———— TESTEMUNHA    - - - - - PESTICIDA

#### 4 - INFLUÊNCIA DO PIRIMICARBE SOBRE A EVOLUÇÃO PONDERAL DAS L4 DE S.11 notata

Um dos parâmetros susceptíveis de nos fornecer indicações importantes sobre o efeito do pesticida é o aumento de peso das larvas e a sua variação em função do tempo. A análise da evolução ponderal das L4 de S.11 notata foi feita a partir dos dados recolhidos durante as duas experiências já referidas.

Para complementar este estudo da evolução dos pesos larvares, fez-se uma comparação entre os aumentos dos pesos médios larvares em cada meio-dia nas duas experiências efectuadas, de modo a pôr em evidência os ganhos ou perdas de peso que o aficida provoca ao longo da duração do quarto estado larvar.

##### 4.1. Efeito do aficida sobre o aumento do peso larvar

###### 4.1.1. Primeira experiência

Seguindo os protocolos indicados, obtivemos os valores dos pesos médios larvares registados em cada meio-dia (quadro IX) que serviram para a elaboração do gráfico da figura 31.

Deste gráfico podemos concluir que:

- os pesos médios das larvas testemunhas mantiveram-se superiores aos pesos médios das larvas tratadas, desde o primeiro controlo ponderal (tarde do primeiro dia) até ao oitavo controlo (manhã do quinto dia);
- a partir da tarde do quinto dia, (nono controlo) o peso das larvas tratadas mostra-se superior, atingindo as larvas tratadas, na manhã do sexto dia, (décimo controlo) um peso médio final idêntico ao das testemunhas (30,8 contra 30,6 miligramas).

Deste gráfico podemos ainda concluir que o último estado larvar se prolonga por mais meio-dia nos insectos tratados.

###### 4.1.2. Segunda experiência

De modo idêntico ao da experiência anterior e baseando-

-nos nos valores dos pesos médios larvares registados em cada meio-dia (quadro X), elaborámos o gráfico da figura 32. Os resultados obtidos nesta repetição foram praticamente coincidentes com os da experiência anterior, a qual, conforme indicámos no início deste capítulo, se realizara três meses antes.

Assim, podemos concluir (figura 32):

- que os pesos médios das larvas testemunhas se mantiveram superiores aos pesos médios das larvas tratadas, desde o primeiro controlo ponderal (tarde do primeiro dia) até ao oitavo controlo (manhã do quinto dia);
- a partir da tarde do quinto dia, (nono controlo) o peso das larvas tratadas mostra-se superior, atingindo as mesmas na tarde do sexto dia, (décimo controlo) um peso final idêntico ao das testemunhas (31,9 contra 32,3 miligramas).

Tal como no caso anterior, a pré-ninforese começa ligeiramente mais cedo nas testemunhas (manhã do sexto dia). Nas larvas tratadas, a pré-ninforese começa na tarde do sexto dia.

#### 4.1.3. Variações de peso provocadas pelo aficida nas L4 de S. ll notata

O gráfico da figura 33 representa os aumentos dos pesos médios das L4 de S. ll notata em cada meio-dia das experiências efectuadas, assim como as diferenças (df) para mais ou para menos que as larvas tratadas apresentaram em relação às testemunhas. Os valores apresentados foram obtidos a partir dos elementos dos quadros IX e X.

Conclui-se que:

- nas primeiras 36 horas após a aplicação do pesticida, os pesos médios das larvas tratadas são sensivelmente inferiores aos correspondentes pesos médios das larvas testemunhas. Os valores são de -3,474 e -3,166 miligramas no primeiro controlo das duas experiências, -0,964 e -1,194 miligramas no segundo controlo e -1,357 miligramas no terceiro controlo da segunda experiência (nesse último controlo e para a primeira experiência, a di

QUADRO X

EVOLUÇÃO DOS PESOS MÉDIOS DAS L4 DE S.11 notata (em miligramas)

Segunda experiência

		DIA 1		DIA 2		DIA 3		DIA 4		DIA 5		DIA 6	
		MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE
PESTICIDA	n	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	13
	$\bar{X}$	8,36	9,70	12,71	15,22	20,37	24,48	28,61	30,45	32,65	33,87	32,65	$\Sigma$ 31,86
	i.c.	0,37	1,15	0,99	1,72	1,76	2,37	2,07	2,23	2,31	2,17	2,31	4,99
TESTEMUNHAS	n	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	3
	$\bar{X}$	8,62	13,12	17,32	21,19	26,21	30,30	33,79	34,92	34,48	33,00	$\Sigma$ 32,26	
	Sx	0,37	0,96	1,31	1,94	2,07	2,31	2,43	2,03	1,80	1,90	1,76	

n = número de indivíduos ;  $\bar{X}$  = média ; i.c. = intervalo de confiança ;  $\Sigma$  \_\_\_\_\_ peso final

### Experiência 2

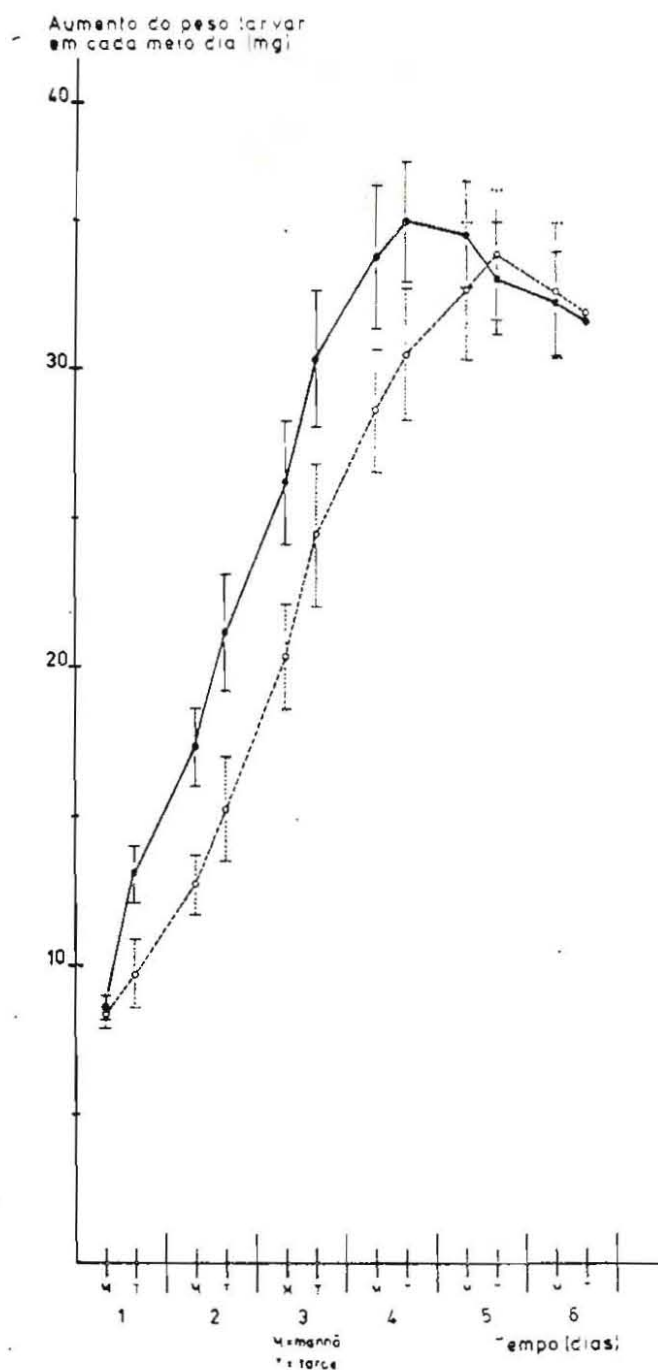


Figura nº 32 - Efeito do pirimicarbe sobre o aumento do peso médio das L4 de S.l1 notata (2ª experiência).

———— TESTEMUNHA    - - - - - PESTICIDA

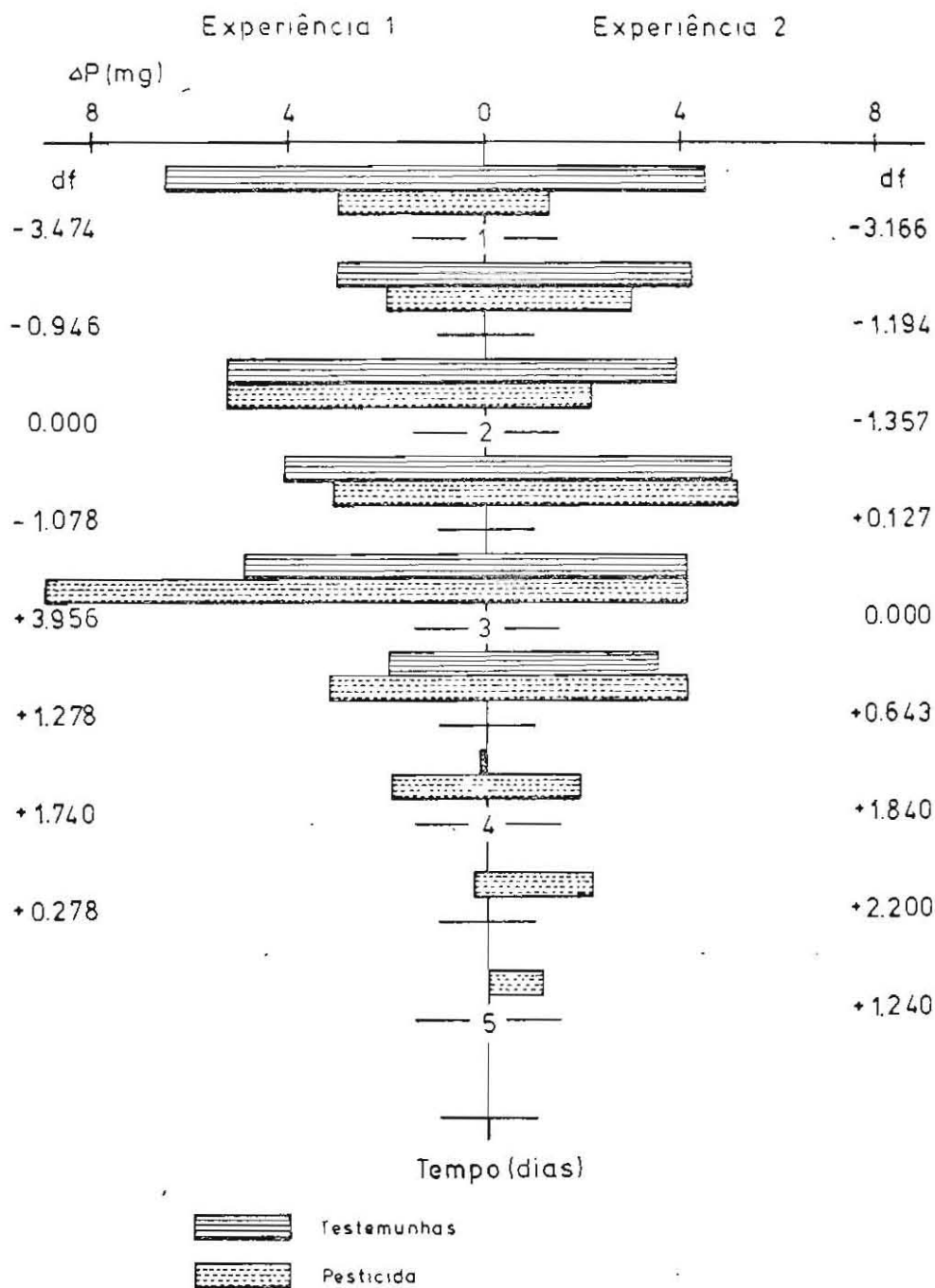


Figura nº 33 - Variações de peso médio provocadas pelo aficida nas L4 de S.11 notata.

- ferença é de 0,023 miligramas, logo praticamente nula);
- no terceiro dia de manhã, os valores têm diferenças mínimas, o que mostra equilíbrios nos pesos entre as larvas tratadas e as testemunhas;
  - a partir do terceiro dia à tarde, inicia-se como que uma recuperação ponderal dos insectos tratados (na primeira experiência, há um aumento a favor das L4 tratadas de 3,956 miligramas, mas na segunda experiência ainda há equilíbrio de valores);
  - a partir do quarto dia de manhã, as larvas tratadas apresentam diferenças ponderais que lhes são sempre favoráveis, principalmente a partir da tarde do quarto dia, em que os pesos larvares das testemunhas não revelam qualquer aumento, continuando as larvas tratadas a aumentar de peso até à manhã do quinto dia.

Podemos deduzir que o pirimicarbe age rapidamente sobre o aumento do peso larvar durante as primeiras 36 horas após o tratamento. Depois, há uma estabilização dos pesos, devido provavelmente a um mecanismo de eliminação dos efeitos do pesticida.

Este efeito de compensação traduz-se, a partir da tarde do terceiro dia por um aumento de peso exclusivamente favorável às larvas tratadas.

No último dia, o aumento ponderal das larvas tratadas na segunda experiência é ainda importante (+2,2 e + 1,24 miligramas). Este facto pressupõe alterações metabólicas devidas ao aficida que o insecto procura compensar antes de entrar em pré-ninose.

##### 5 - EFEITO DO PIRIMICARBE SOBRE O CONSUMO ALIMENTAR CUMULATIVO EM FUNÇÃO DO TEMPO

Encontrámos um efeito do pirimicarbe sobre a voracidade larvar de Cheilomenes sulphurea, ao longo da duração dos diferentes estados larvares (capítulo anterior). Interessou-nos portanto saber em que medida o pirimicarbe afectou o consumo alimentar de S. 11 notata.

Apresentamos seguidamente a interpretação dos dados obtidos nas experiências:

### 5.1. Primeira experiência

No quadro XI estão representados os valores do consumo alimentar cumulativo médio por cada meio-dia. O gráfico da figura 34 exprime a evolução desses valores ao longo de todo o quarto estado larvar de Semiadalia undecimnotata.

Deduzimos assim que:

- o pirimicarbe reduz o consumo alimentar das L4 de S.11 notata ao longo de toda a duração do estado,
- o pirimicarbe provoca um alongamento da fase alimentar das larvas, a qual dura mais meio-dia.

### 5.2. Segunda experiência

Os valores obtidos vêm expressos no quadro XII e no gráfico da figura 35. A sua interpretação confirma as deduções da experiência anterior.

### 5.3. Conclusões

Os resultados obtidos nas duas experiências são coincidentes. Salienta-se ainda que no caso de Cheilomenes sulphurea, também obtivemos uma redução sensível da voracidade larvar, ao longo não só do quarto estado larvar, mas também dos três primeiros estados.

A redução agora verificada no consumo alimentar médio de S.11 notata, empregando uma metodologia totalmente diferente e mais exacta do que a utilizada nos ensaios com Cheilomenes sulphurea, confirma as experiências anteriores. Podemos concluir que estas reduções de voracidade e de consumo alimentar resultam de alterações metabólicas. Estas ocasionam também reduções significativas do peso das larvas tratadas.

## 6 - EFEITO DO PIRIMICARBE SOBRE A DURAÇÃO DO QUARTO ESTADO LARVAR E DA RESPECTIVA FASE ALIMENTAR

Durante os ensaios efectuados determinámos como o pirimi

QUADRO XI

VALORES MÉDIOS DO CONSUMO ALIMENTAR CUMULATIVO DE S.11 notata EM  
FUNÇÃO DO TEMPO (em miligramas)

Primeira experiência

		DIA 1		DIA 2		DIA 3		DIA 4		DIA 5		DIA 6	
		MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE
PESTICIDA	n	27	27	27	27	27	27	27	27	27	25	2	
	$\bar{X}$	0,0	10,86	16,30	31,15	38,85	57,63	66,98	78,48	80,72	83,91	70,77	
	i.c		1,61	1,91	3,39	3,44	4,76	5,41	4,74	4,26	4,10		
TESTEMUNHAS	n	26	26	26	26	26	26	26	26	7			
	$\bar{X}$	0,0	14,03	20,36	36,13	45,90	63,81	71,30	78,40	76,30			
	i.c		1,71	2,11	3,48	3,82	4,50	4,35	3,98	9,56			

n = número de indivíduos ;  $\bar{X}$  = média ; i.c. = intervalo de confiança

### Experiência 1

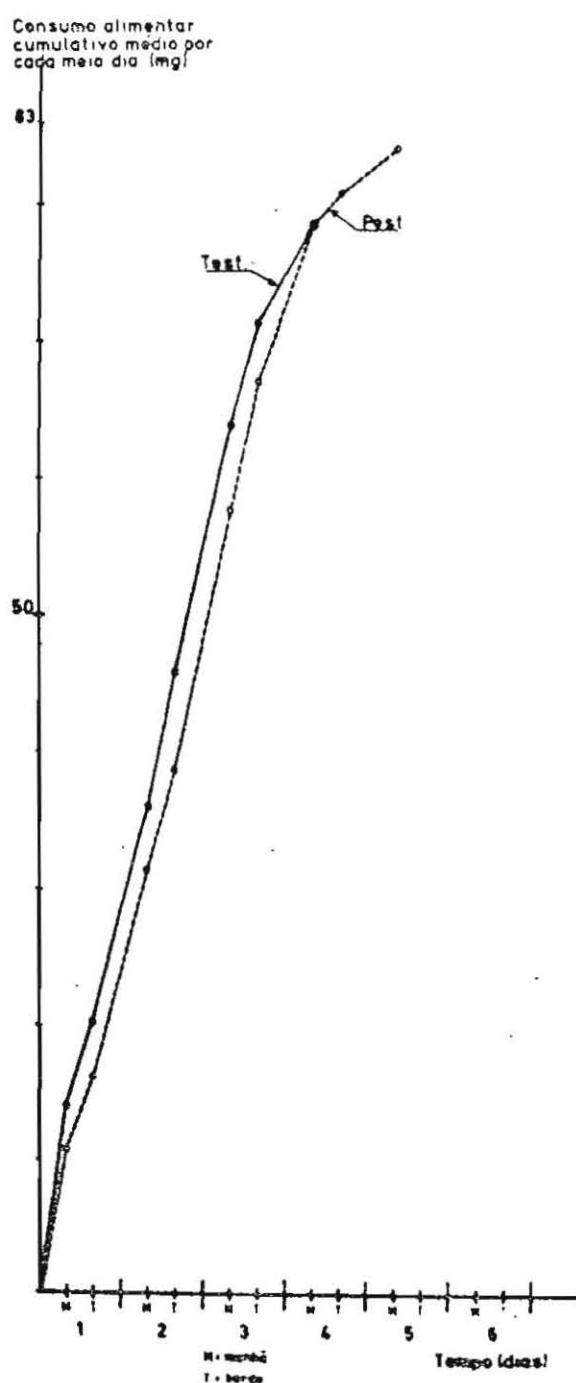


Figura nº 34 - Consumo alimentar cumulativo das L4 de S.11 notata em função do tempo (1ª experiência).

QUADRO XII

VALORES MÉDIOS DO CONSUMO ALIMENTAR CUMULATIVO DE S.11 notata EM  
FUNÇÃO DO TEMPO (em miligramas)

Segunda experiência

		DIA 1		DIA 2		DIA 3		DIA 4		DIA 5		DIA 6	
		MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE	MANHÃ	TARDE
PESTICIDA	n	15	15	15	15	15	15	15	15	14	12	2	
	$\bar{X}$	0,0	3,72	12,14	19,37	32,83	42,74	57,09	64,48	74,38	81,26	85,54	
	i.c		1,45	1,69	4,02	3,41	5,80	4,82	6,10	5,25	6,33	4,16	
TESTEMUNHAS	n	10	10	10	10	10	10	10	10	8			
	$\bar{X}$	0,0	7,79	17,60	28,36	41,81	53,04	66,45	71,32	74,21			
	i.c		2,23	1,72	4,86	3,74	6,29	5,78	6,15	8,76			

n = número de indivíduos ;  $\bar{X}$  = média ; i.c. = intervalo de confiança

### Experiência 2

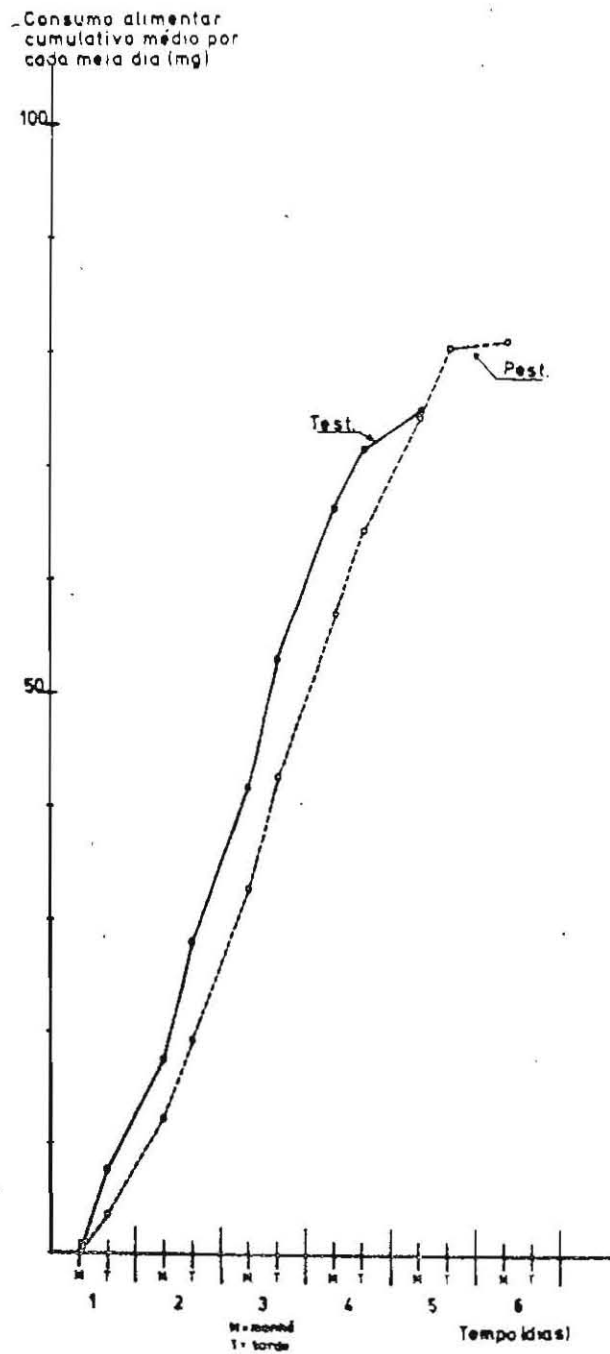


Figura nº 35 - Consumo alimentar cumulativo das L4 de S.11 notata em função do tempo (2ª experiência).

carbe afectou a duração do quarto estado larvar de S. ll notata. Registámos também a duração da fase alimentar, pois as larvas deixaram de se alimentar antes de se fixarem pelo último segmento abdominal ao substrato (início da pré-ninfose).

Os resultados obtidos foram os seguintes:

QUADRO XIII

DURAÇÃO DAS L4 (em dias)

		ESTADO	FASE ALIMENTAR
PESTICIDA	n	42	42
	$\bar{X}$	5,38	4,70
	Sx	0,33	0,54
	i.c.	0,098	0,156
TESTEMUNHAS	n	36	36
	$\bar{X}$	4,86	4,21
	Sx	0,50	0,50
	i.c.	0,156	0,156

n = número de indivíduos ;  $\bar{X}$  = média ; Sx = desvio padrão ; i.c. = intervalo de confiança.

O exame deste quadro mostra-nos que:

- o quarto estado larvar de S. ll notata é prolongado em média por mais 0,52 dias (12,48 horas) nas larvas tratadas com pirimicarbe,
- a fase alimentar do quarto estado larvar de S. ll notata é prolongada por mais 0,49 dias (11,76 horas) nas larvas tratadas com o aficida.

Concluimos assim que o desenvolvimento larvar do quarto estado de S. ll notata é retardado de meio-dia pela aplicação do pirimicarbe.

Durante as experiências que descrevemos neste capítulo, fomos registrando a mortalidade verificada nas larvas tratadas e nas testemunhas.

A primeira experiência, que envolveu um total de 40 larvas do quarto estado tratadas e 34 testemunhas, revelou-nos a mortalidade seguinte:

- larvas tratadas; 17,5% ;
- larvas testemunhas; 5,8% .

Na segunda experiência, que envolveu 15 larvas tratadas e 10 testemunhas, a mortalidade foi nula. Nestes valores de mortalidade não estão incluídas as larvas que tiveram de ser eliminadas devido a acidentes de manipulação (6 larvas eliminadas no lote das tratadas e 6 nas testemunhas).

### CAPÍTULO III

#### EFEITOS DE UM AFICIDA SOBRE A RESPIRAÇÃO DAS LARVAS DE SEMIADALIA UNDECIMNOTATA SCHNEIDER

As técnicas e o material usado para a avaliação dos efeitos do pirimicarbe sobre o metabolismo respiratório foram já descritos na sua generalidade na segunda parte deste trabalho. Vamos pois limitar-nos a indicar certas particularidades que se nos afiguram importantes.

#### 1 - PROTOCOLO EXPERIMENTAL

O respirómetro diferencial GILSON GR 8 usado, dispunha de 8 frascos de 15 mililitros de capacidade. Cada frasco estava ligado a um volumómetro graduado em microlitros. Destes 8 frascos, 4 foram sempre utilizados para os controlos de respiração das larvas tratadas com pirimicarbe e 4 para as testemunhas.

Em cada um destes frascos colocámos sempre mais do que uma larva. Normalmente, usámos 3 larvas do quarto estado de S. 11 notata. A razão deste procedimento reside no facto dos volumómetros só poderem ser utilizados com rigor quando o peso vivo utilizado era superior a 20 miligramas, o que viemos a descobrir no decorrer dos ensaios preliminares. Utilizámos nos ensaios experimentais 32 L4 de S. 11 notata tratadas com pirimicarbe e 32 testemunhas. Estas 32 larvas foram distribuídas por 11 repetições (as 10 primeiras com 3 larvas em cada frasco do respirómetro e a última com 2).

Eis o protocolo seguido:

- na véspera do ensaio, à tarde, isolaram-se as L4, após as mudas sendo mantidas em jejum até ao dia seguinte;
- no dia seguinte de manhã as L4 eram pesadas, após o que recebiam a pulverização com o pirimicarbe, nos moldes indicados na segunda parte deste trabalho. Eram mantidas ao contacto com a pulverização durante 15 minutos;
- seguidamente as L4 eram colocadas no respirómetro e

submetidas a um mínimo de 3 controlos da respiração de 10 minutos cada um;

- após os controlos, as L4 eram de novo isoladas e recebiam alimentação abundante em Myzus persicae, até ao controlo do dia seguinte.

O protocolo experimental para as L4 testemunhas foi idêntico, diferindo apenas no facto da pulverização ser constituída por água.

Os valores obtidos para o consumo do oxigénio e do anidrido carbónico expirado eram convertidos em microlitros por hora e por miligrama de peso vivo.

A respiração das larvas foi controlada diariamente durante toda a duração do quarto estado larvar.

## 2 - INFLUENCIA DO PIRIMICARBE SOBRE O CONSUMO DE OXIGÊNIO

Para verificarmos o consumo de oxigénio pelas larvas do 4º estado de S.11 notata foi necessário colocar no poço central dos frascos do respirómetro uma pequena porção de papel de filtro embebida em KOH a 10%.

A finalidade desta é a fixação do anidrido carbónico expirado pelas larvas, a fim de que as leituras dos volumómetros indiquem apenas as variações devidas ao consumo de oxigénio. Os volumómetros eram colocados em zero e as leituras feitas ao fim de cada dez minutos, sendo feitas no mínimo três leituras para obtenção do valor médio.

Os resultados, expressos em microlitros por hora e por miligramas de peso vivo, constam dos quadros XIV e XV, respectivamente para as larvas tratadas com pirimicarbe e para as testemunhas. A partir destes dados, foi elaborado o gráfico da figura 36. Deste gráfico conclui-se que:

- a evolução do consumo de oxigénio pelos insectos tratados umenta progressivamente até atingir o máximo entre o terceiro e o quarto dias do último estado larvar, caindo bruscamente no quinto dia;
- a evolução do consumo de oxigénio pelas testemunhas diminui progressivamente do primeiro ao último dia do úl

QUADRO XIV  
VALORES MÉDIOS DO CONSUMO DE OXIGÊNIO  
 (larvas tratadas)

R \ D	1	2	3	4	5
1	1,21	1,32	1,56	2,16	1,31
2	0,90	1,86	1,81	3,04	1,24
3	1,66	1,30	1,41	2,66	0,73
4	1,35	1,96	1,54	1,86	1,33
5	1,18	2,12	2,18	1,81	1,09
6	2,23	1,02	1,70	1,86	1,33
7	1,81	2,06	1,93	1,85	0,56
8	1,96	1,29	1,81	2,73	
9	1,31	1,92	1,78	0,84	
10	1,41	1,77	1,62	1,12	
11	1,47			1,13	

μl/h/mg vivo

V \ D	1	2	3	4	5
n	11	10	10	11	7
t	2,23	2,26	2,26	2,23	2,45
sy	0,39	0,39	0,22	0,70	0,32
s $\bar{y}$	0,12	0,12	0,07	0,21	0,12
$\bar{y}$	1,50	1,66	1,73	1,91	1,08
$\bar{y}+tsy$	2,37	2,54	2,23	3,47	1,86
$\bar{y}-tsy$	0,63	0,78	1,23	0,35	0,30
$\bar{y}+ts\bar{y}$	1,77	1,93	1,89	2,38	1,37
$\bar{y}-ts\bar{y}$	1,23	1,39	1,57	1,44	0,79

D = dias ; R = repetições ; V = variáveis

Regressão linear					
a	b	r <sub>o</sub>	r(95%)	r(99%)	y = a sen 1,34 x+b
- 0,23	1,62	0,33	0,28	0,36	y = -0,23 sen 1,34 x+1,62

QUADRO XV  
VALORES MÉDIOS DO CONSUMO DE OXIGENIO  
 (larvas testemunhas)

R \ D	1	2	3	4	5
1	1,83	1,68	0,55	1,36	0,82
2	1,51	1,37	0,55	1,98	1,47
3	1,34	1,60	0,99	1,61	1,41
4	1,40	2,05	0,99	1,21	1,33
5	1,64	2,48	1,20	1,09	0,87
6	1,23	2,22	1,13	1,89	0,56
7	1,08	2,17	1,92	1,83	0,85
8	2,00	1,73	1,48	1,29	0,66
9	2,01	2,22	1,44	1,70	
10					
11					

μl/h/mg vivo

V \ D	1	2	3	4	5
n	9	9	9	9	8
t	2,31	2,31	2,31	2,31	2,36
sy	0,33	0,37	0,44	0,32	0,35
s $\bar{y}$	0,11	0,12	0,15	0,11	0,12
$\bar{y}$	1,56	1,95	1,14	1,55	1,00
$\bar{y}+tsy$	2,32	2,80	2,16	2,29	1,83
$\bar{y}-tsy$	0,80	1,10	0,12	0,81	0,17
$\bar{y}+ts\bar{y}$	1,81	2,23	1,49	1,80	1,28
$\bar{y}-ts\bar{y}$	1,31	1,67	0,79	1,30	0,72

D = dias ; R = repetições ; V = variáveis

Regressão linear					
a	b	r <sub>o</sub>	r(95%)	r(99%)	y=a x+b
-0,15	1,89	0,44	0,30	0,39	y= -0,15x+1,89

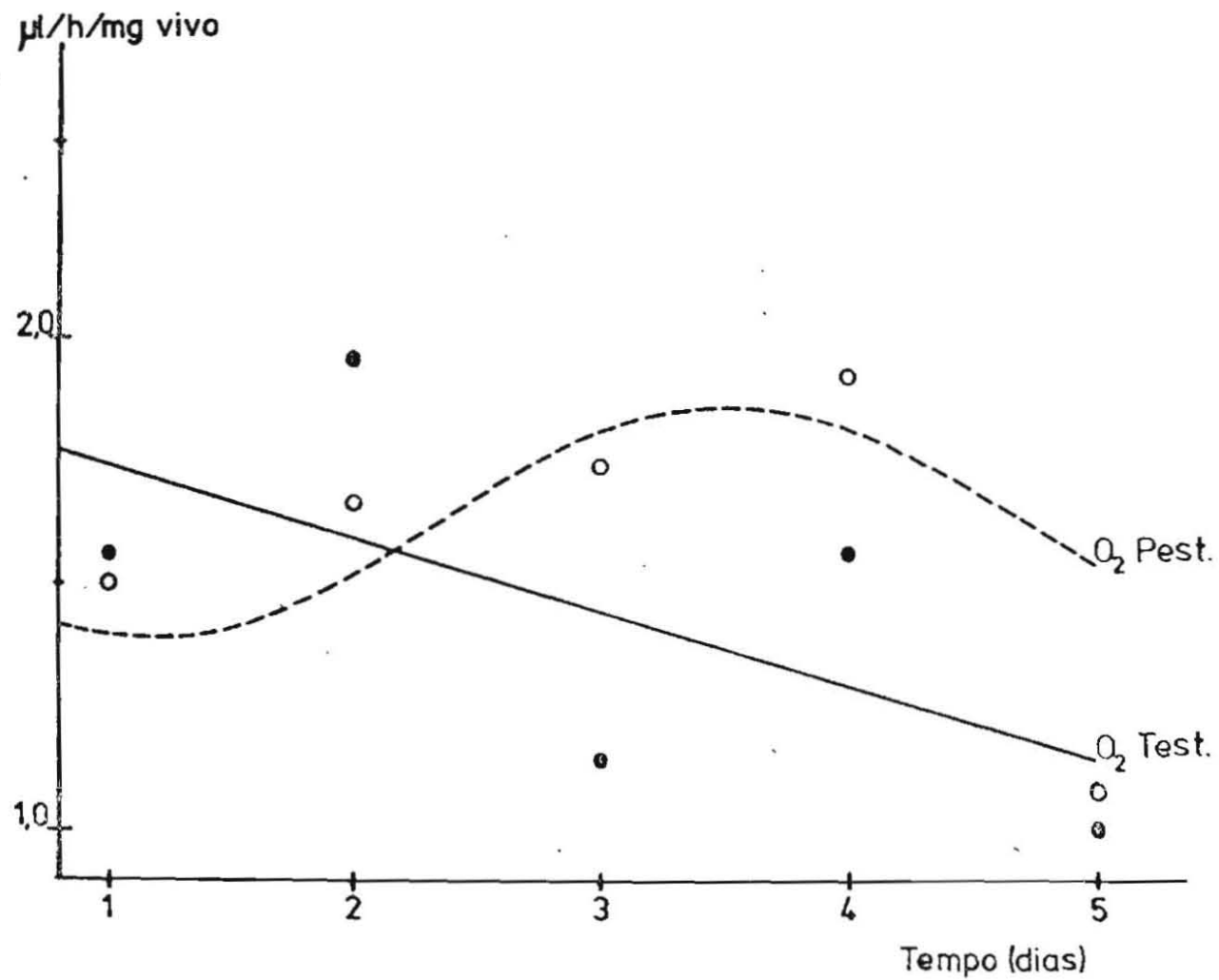


Figura nº 36 - Influência do pirimicarbe sobre o consumo de  $O_2$  pelas L4 de S.11 notata. ● TESTEMUNHA ○ PESTICIDA

timo estado larvar;

- foi possível encontrar, para o consumo de oxigénio pelas larvas tratadas, uma curva teórica de expressão  $y = -0,23 \text{ sen}X + 1,62$ , cuja segurança é superior a 95% (quadro XIV);
- foi possível traduzir o consumo de oxigénio pelas testemunhas por uma recta de regressão de expressão  $y = -0,15X + 1,89$ , cuja segurança é superior a 99% (quadro XV).

Os valores teóricos daquelas recta e curva, mostram que o consumo de oxigénio pelas larvas tratadas é no 1º dia, de 1,42  $\mu\text{l}$ /h/mg vivo, sobe até 1,85  $\mu\text{l}$  entre o 3º e 4º dias e diminui para 1,53 microlitros no 5º dia. Nas testemunhas a variação é uniforme e decrescente, passando de 1,77  $\mu\text{l}$ /h/mg. vivo no 1º dia para 1,14 microlitros no último dia.

Estas diferenças mostram-nos que o aficida provocou uma estimulação do consumo de oxigénio pelas L4 de S.11 notata e que essa estimulação é sobretudo evidente entre o segundo e o quarto dia de vida das larvas.

### 3 - INFLUENCIA DO PIRIMICARBE SOBRE A EXPIRAÇÃO DO ANIDRIDO CARBÓNICO

#### 3.1. Cálculo do volume de Anidrido Carbónico

Para avaliarmos o volume de anidrido carbónico expirado pelas L4 de S.11 notata, baseámo-nos na diferença, em valor absoluto, entre os volumes de oxigénio consumido e de anidrido carbónico expelido,  $|\text{CO}_2 - \text{O}_2|$ . Como o volume de oxigénio consumido foi dado pelas medições descritas anteriormente, bastou adicionar ou subtrair a este valor, o valor  $|\text{CO}_2 - \text{O}_2|$  para se ter o anidrido carbónico expelido.

Assim, temos:

$$|\text{CO}_2 - \text{O}_2| = df$$

O valor df foi obtido marcando o valor 100 para valor i-

nicial das escalas digitais dos volumómetros. Em seguida, se na altura da leitura o valor obtido era superior a 100, df era positivo e adicionava-se ao volume de  $O_2$ . Se o valor obtido era inferior a 100, df era negativo e subtraía-se ao volume de  $O_2$ .

Exemplificando:

- a) Se a leitura fosse de 110, df =  $110-100=+10$  e adicionava-se este resultado ao valor de  $O_2$ .
- b) Se a leitura fosse de 90, df =  $100-90 = -10$  e subtraía-se este número ao valor de  $O_2$ .

Os volumes de  $CO_2$  expelidos foram portanto umas vezes superiores aos valores de  $O_2$  (df positivo) outras vezes inferiores (df negativo).

Tal como para o consumo de oxigénio, cada observação constou de um mínimo de três medições, das quais utilizámos os valores médios.

### 3.2. Evolução do volume de Anidrido Carbónico expirado pelas larvas

Os quadros XVI e XVII indicam-nos os valores médios encontrados para o anidrido carbónico expirado ao longo dos cinco dias do último estado larvar de S.11 notata.

Com base nestes dados efectuámos o gráfico da figura 37, do qual deduzimos:

- que o volume de  $CO_2$  expelido pelas larvas tratadas com pirimicarbe diminui no primeiro e segundo dias do 4º estado larvar, umentando em seguida durante o 3º e 4º dias, para diminuir de novo no 5º dia;
- que o volume de  $CO_2$  expelido pelas larvas testemunhas diminui progressivamente entre o primeiro e o último dias do quarto estado larvar;
- que foi possível encontrar uma curva teórica de expressão  $y=0,34 \text{ sen } 2x+ 1,53$  para traduzir a evolução dos valores de  $CO_2$  das larvas tratadas, com uma segurança superior a 99% (quadro XVI);
- que foi possível encontrar uma recta de regressão de expressão  $y= -0,20x + 1,98$  para traduzir a evolução

QUADRO XVI  
 VALORES MÉDIOS DO ANIDRIDO CARBÔNICO EXPIRADO  
 (larvas tratadas)

R \ D	1	2	3	4	5
1	1,95	1,18	1,13	2,49	1,54
2	1,29	1,80	1,42	3,31	1,67
3	1,90	1,00	1,05	2,88	0,77
4	1,83	1,18	1,20	2,01	1,71
5	1,09	1,57	1,28	1,92	1,11
6	2,00	0,59	1,15	1,98	1,53
7	1,60	1,53	1,66	2,50	0,82
8	1,86	0,94	1,74	2,92	
9	1,36	1,78	2,05	0,77	
10	0,97	1,30	1,95	1,16	
11	1,29			1,39	

μl/h/mg vivo

V \ D	1	2	3	4	5
n	11	10	10	11	7
t	2,23	2,26	2,26	2,23	2,45
sy	0,39	0,39	0,36	0,79	0,40
s $\bar{y}$	0,11	0,12	0,11	0,24	0,15
$\bar{y}$	1,56	1,29	1,46	2,12	1,31
$\bar{y}+tsy$	2,39	2,17	2,27	3,88	2,29
$\bar{y}-tsy$	0,73	0,41	0,65	0,36	0,33
$\bar{y}+ts\bar{y}$	1,81	1,56	1,71	2,66	1,68
$\bar{y}-ts\bar{y}$	1,31	1,02	1,21	1,58	0,94

D = dias ; R = repetições ; V = variáveis

Regressão linear					
a	b	r <sub>o</sub>	r(95%)	r(99%)	y=a sen 2x+b
0,36	1,53	0,45	0,28	0,36	y=0,34 sen 2x+1,53

QUADRO XVII  
VALORES MÉDIOS DO ANIDRIDO CARBÔNICO EXPIRADO  
 (larvas testemunhas)

R \ D	1	2	3	4	5
1	2,06	0,97	0,37	1,36	0,82
2	0,97	0,57	0,60	2,25	1,28
3	1,66	1,08	0,71	1,22	0,93
4	1,26	1,33	1,87	0,93	0,76
5	1,95	2,92	0,97	1,05	0,67
6	1,13	2,44	2,15	1,83	0,53
7	1,50	2,44	2,15	1,83	0,53
8	2,22	1,83	1,11	1,26	0,44
9	2,15	2,45	1,44	1,65	
10					
11					

μl/h/mg vivo

V \ D	1	2	3	4	5
n	9	9	9	9	8
t	2,31	2,31	2,31	2,31	2,36
sy	0,47	0,80	0,62	0,50	0,29
s $\bar{y}$	0,16	0,27	0,21	0,17	0,10
$\bar{y}$	1,66	1,73	1,24	1,54	0,73
$\bar{y}+tsy$	2,75	3,58	2,67	2,69	1,42
$\bar{y}-tsy$	0,57	-0,12	-0,19	0,38	0,04
$\bar{y}+ts\bar{y}$	2,03	2,35	1,73	1,93	0,97
$\bar{y}-ts\bar{y}$	1,29	1,11	0,75	1,15	0,49

D = dias ; R = repetições ; V = variáveis

Regressão linear					
a	b	r <sub>o</sub>	r(95%)	r(99%)	y=ax+b
-0,20	1,98	-0,44	0,30	0,39	y= -0,20x+1,98

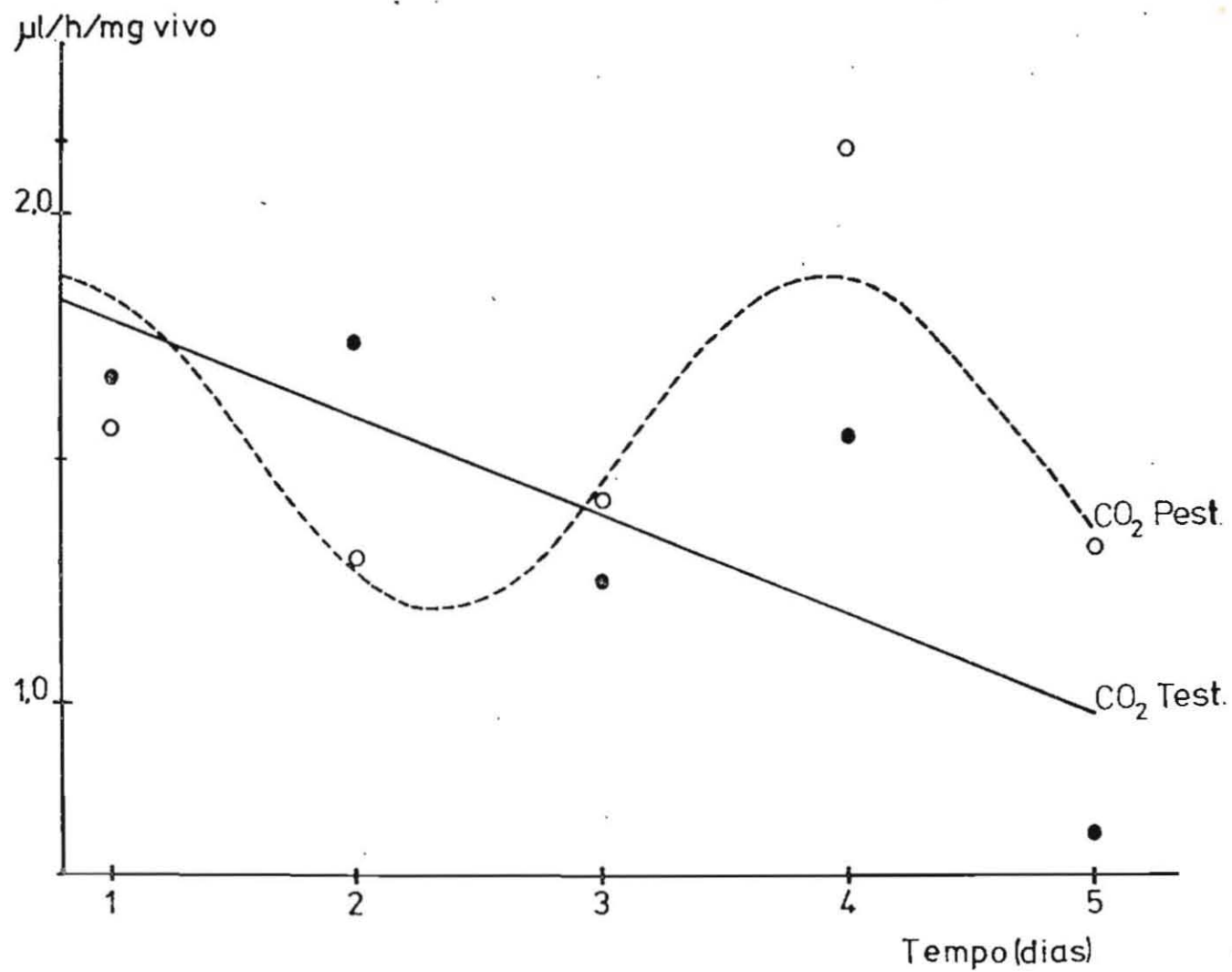


Figura nº 37 - Evolução do CO<sub>2</sub> expirado pelas larvas do 4º estado de S.l.l notata

● TESTEMUNHA      ○ PESTICIDA

- dos valores de  $\text{CO}_2$  das testemunhas, com uma segurança superior a 99% (quadro XVII);
- que os valores teóricos iniciais do  $\text{CO}_2$  expelido (figura 37) são idênticos nos insectos tratados e nas testemunhas (respectivamente, 1,88  $\mu\text{l}$  e 1,82  $\mu\text{l/h/mg}$  vivo), mas os valores teóricos finais são diferentes (respectivamente 1,36  $\mu\text{l}$  e 1,02  $\mu\text{l/h/mg}$  vivo).
  - que a partir do 3º dia do quarto estado larvar o valor do  $\text{CO}_2$  expelido é sempre maior nas larvas tratadas, atingindo novamente um valor teórico máximo (1,87  $\mu\text{l}$ ) no 4º dia (figura 37).

Nas testemunhas, vemos que o  $\text{CO}_2$  diminui progressivamente à medida que as L4 se aproximam da pré-ninfore. Nas larvas que receberam a pulverização com pirimicarbe, há um desequilíbrio metabólico que é evidenciado pelo aspecto sinusoidal apresentado pela curva de variação do  $\text{CO}_2$ . É notória a queda do  $\text{CO}_2$  expirado nas primeiras 48 horas, assim como a sua recuperação nas 48 horas seguintes. É natural a queda do  $\text{CO}_2$  expirado durante o último dia do estado larvar: este fenómeno está relacionado com a diminuição metabólica devido à imobilização da larva, indicação da pré-ninfore.

#### 4 - INFLUÊNCIA DO PIRIMICARBE SOBRE O QUOCIENTE RESPIRATÓRIO

O quociente respiratório QR é a relação entre o volume de  $\text{CO}_2$  produzido e o correspondente volume de  $\text{O}_2$  utilizado,  $\text{QR} = \frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ .

A quantidade de oxigénio consumida e a quantidade de anidrido carbónico eliminada durante a respiração são muitas vezes usadas para medir o grau de oxidação dos lípidos, glicídios e proteínas animais.

Neste sentido, pareceu-nos importante analisar a influência do aficida estudado sobre o quociente respiratório das larvas do último estado de Semiadalia ll notata.

Uma vez que estudámos os valores médios de consumo de  $\text{O}_2$  e de libertação de  $\text{CO}_2$  pelas L4 de S.ll notata, obtivemos consequentemente os valores médios respectivos QR, tanto para os insectos tratados com pirimicarbe, como para as testemunhas. Estes valo

res constam dos quadros XVIII e XIX.

A partir dos valores QR, traçaram-se as rectas de regressão, que nos são dadas pelas equações;

- $y=0,06x + 0,83$  para as larvas tratadas com pirimicarbe, com uma segurança superior a 99%;
- $y= -0,05x + 1,10$  para as larvas testemunhas, com uma segurança de 90%.

Examinando o gráfico da figura 38, onde estão representadas as rectas de regressão citadas, verificamos:

- que os QR, quer dos insectos tratados, quer das testemunhas, oscilam entre 0,85 e 1,1 durante todo o quarto estado larvar;
- que os QR das larvas testemunhas têm tendência a serem inferiores a 1, a partir do terceiro dia do quarto estado larvar;
- que os QR das larvas tratadas, pelo contrário tendem a ser superiores a 1, a partir do terceiro dia do quarto estado larvar.

Interpretando a tendência representada pela recta de regressão das larvas tratadas, cuja segurança é muito significativa, podemos concluir que o pesticida agiu no sentido de activar a formação de lípidos a partir de hidratos de carbono, após o terceiro dia do último estado larvar de S.11 notata, pois o quociente respiratório passa a ser superior à unidade (WOOD 1973).

QUADRO XVIII  
VALORES MÉDIOS DO QUOCIENTE RESPIRATÓRIO (QR)  
 (larvas tratadas)

R \ D	1	2	3	4	5
1	1,61	0,89	0,72	1,15	1,18
2	1,43	0,63	0,77	1,09	1,35
3	1,14	0,77	0,74	1,08	1,05
4	1,36	0,60	0,78	1,08	1,29
5	0,92	0,74	0,59	1,06	1,02
6	0,90	0,57	0,68	1,06	1,15
7	0,88	0,74	0,86	1,35	1,46
8	0,95	0,73	0,96	1,07	
9	1,03	0,93	1,15	0,92	
10	0,69	0,73	1,20	1,03	
11	0,88			1,23	

V \ D	1	2	3	4	5
n	11	10	10	11	7
t	2,23	2,26	2,26	2,23	2,45
sy	0,28	0,12	0,20	0,11	0,16
$s\bar{y}$	0,08	0,04	0,06	0,03	0,06
$\bar{y}$	1,07	0,73	0,84	1,11	1,21
$\bar{y}+tsy$	1,69	1,00	1,29	1,36	1,60
$\bar{y}-tsy$	0,45	0,46	0,39	0,86	0,82
$\bar{y}+ts\bar{y}$	1,25	0,82	0,98	1,18	1,36
$\bar{y}-ts\bar{y}$	0,89	0,64	0,70	1,04	1,06

D = dias ; R = repetições ; V = variáveis

Regressão linear		$r_0$	r(95%)	r(99%)	$y=ax+b$
a	b				
0,06	0,83	0,43	0,28	0,36	$y=0,06x+0,83$

QUADRO XIX  
VALORES MÉDIOS DO QUOCIENTE RESPIRATÓRIO (QR)  
 (larvas testemunhas)

R \ D	1	2	3	4	5
1	1,13	0,58	0,67	1,00	1,00
2	0,64	0,39	1,09	1,14	0,87
3	1,24	0,68	0,80	0,76	0,66
4	0,90	0,65	1,89	0,77	0,57
5	1,19	1,18	0,81	0,96	0,77
6	0,92	0,91	1,62	1,21	0,73
7	1,39	1,12	1,12	1,00	0,62
8	1,11	1,06	0,75	0,98	0,67
9	1,07	1,10	1,31	0,97	
10					
11					

v \ D	1	2	3	4	5
n	9	9	9	9	8
t	2,31	2,31	2,31	2,31	2,36
sy	0,22	0,28	0,42	0,15	0,14
s $\bar{y}$	0,07	0,09	0,14	0,05	0,05
$\bar{y}$	1,07	0,85	1,12	0,98	0,74
$\bar{y}+t_{sy}$	1,58	1,50	2,09	1,33	1,07
$\bar{y}-t_{sy}$	0,56	0,20	0,15	0,63	0,41
$\bar{y}+t_{s\bar{y}}$	1,23	1,06	1,44	1,10	0,76
$\bar{y}-t_{s\bar{y}}$	0,91	0,64	0,80	0,83	0,62

D = dias ; R = repetições ; V = variáveis

Regressão linear		$r_0$	r(95%)	r(99%)	$y=ax+b$
a	b				
-0,05	1,10	-0,24	0,30	0,39	$y=-0,05x+1,10$

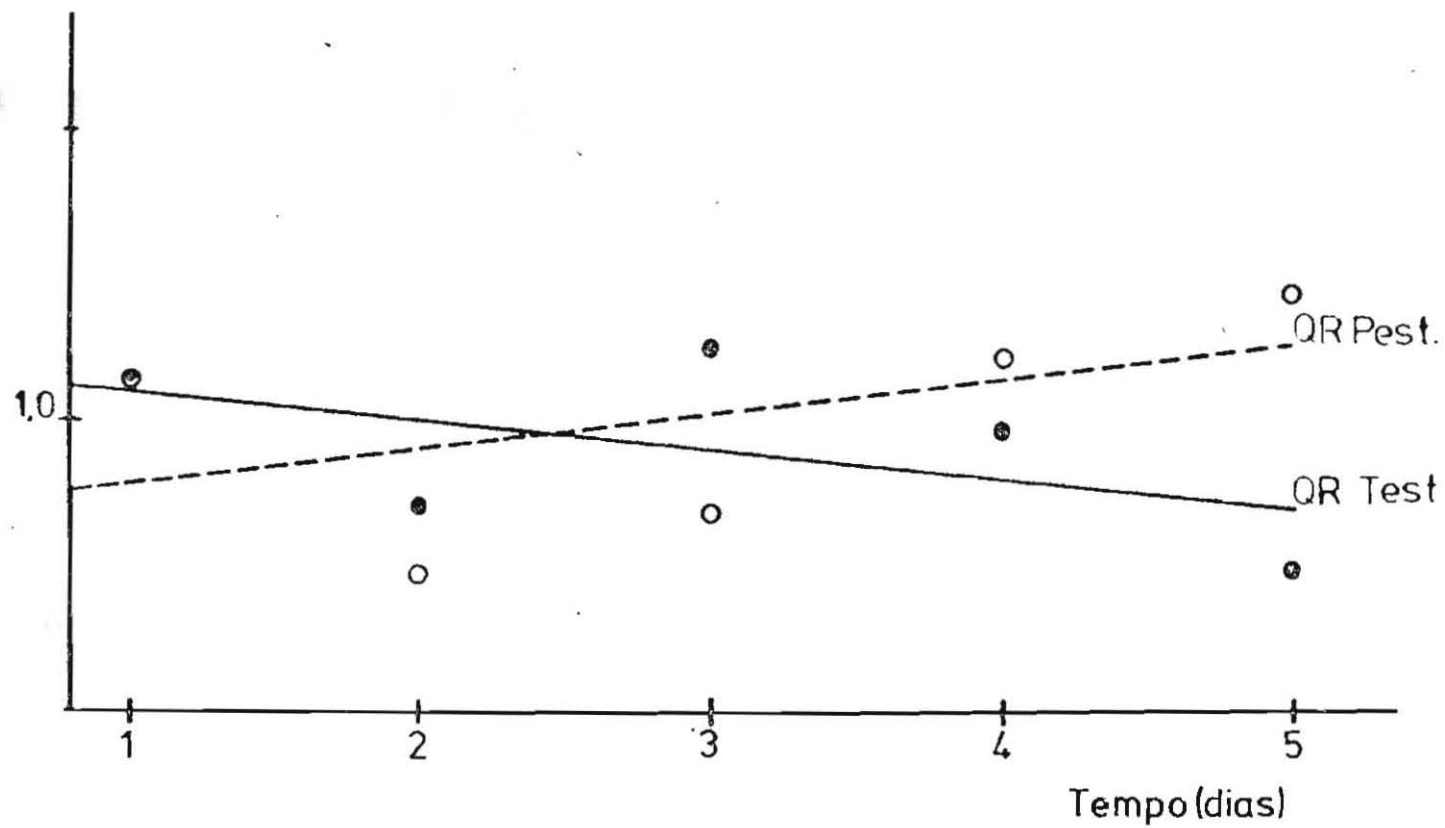


Figura nº 38 - Regressão linear dos QR das larvas do 4º estado de S.11 notata

● TESTEMUNHA    ○ PESTICIDA

### CONCLUSÕES DA TERCEIRA PARTE

Os elementos de estudo recolhidos permitem-nos formular as seguintes conclusões:

#### 1 - CHEILOMENES SULPHUREA

- a) A voracidade larvar média diária de Cheilomenes sulphurea é alterada pelo pirimicarbe que provoca uma diminuição significativa do seu valor, seja qual for o seu estado larvar.
- b) O pirimicarbe provoca uma mortalidade relativamente importante no primeiro e segundo estados larvares de Cheilomenes sulphurea, respectivamente de 30,58% e 16,66%. Sobre o terceiro e quarto estados a mortalidade é nula.

#### 2 - SEMIADALIA 11 NOTATA

Os métodos de avaliação do consumo alimentar (FERRAN & LARROQUE 1977) revelaram-se muito precisos e permitiram-nos obter conclusões originais. Assim:

- a) O pirimicarbe diminui simultâneamente o peso larvar e o consumo alimentar. Nas larvas tratadas, e até ao último dia do quarto estado, tanto o peso como o consumo alimentar recuperam substancialmente, atingindo-se na pré-ninforese pesos idênticos aos das testemunhas (sensivelmente 30 miligramas).
- b) A análise do consumo alimentar médio em função do peso mostrou-nos ser o método mais eficaz, para estudar os efeitos do aficida. De facto, o estudo isolado do consumo alimentar ou da evolução ponderal não nos permite tirar as conclusões que este método evidencia. Estas são:

- duas larvas de peso igual, sendo uma tratada com pirimicarbe e outra testemunha, terão diferentes consumos alimentares, sendo superior o da larva tratada;
  - duas larvas de iguais consumos alimentares, sendo uma tratada com pirimicarbe e outra testemunha, terão pesos diferentes, sendo inferior o da larva tratada.
- c) O rendimento alimentar é fortemente afectado pelo pesticida logo nas primeiras horas após a pulverização das larvas, mas existe nestas um mecanismo fisiológico de compensação muito activo que equilibra os rendimentos cerca de 48 horas após o tratamento.
- d) O rendimento alimentar das larvas tratadas sofre uma recuperação na parte final da fase larvar, traduzindo-se este fenómeno de duas maneiras:
- à entrada da pré-ninfore, as larvas tratadas apresentam um rendimento alimentar de 27,50%, contra 11,20% das testemunhas;
  - o estado larvar e a fase alimentar são prolongados por mais meio-dia.
- e) Uma larva tratada tem, para peso igual ao da testemunha, consumo alimentar superior. Isto indica um desequilíbrio metabólico cujas vias possíveis tentámos determinar pelo método respirométrico.

### 3 - RESPIROMETRIA

O método respirométrico permitiu-nos determinar que os quocientes respiratórios das L4 tratadas se tornam superiores a 1 a partir do terceiro dia e se mantêm assim até à pré-ninfore. Este facto poderá estar relacionado com um metabolismo de formação de gorduras a partir de hidratos de carbono, que seria estimulado pela acção do aficida (WOOD 1973).

Segundo ROUSSEL (1963) e MOREAU (1973) o consumo de oxigénio nos insectos diminui substancialmente após a última muda lar

var, atingindo o seu nível mais baixo durante a ninfose. Foi também esta a conclusão a que chegámos nas larvas testemunhas. No entanto, verificámos que nas larvas tratadas, pelo contrário, há um forte aumento do consumo de oxigénio, que atinge mesmo o seu máximo entre o terceiro e o quarto dia do estado larvar, só então caindo bruscamente.

MOREAU (1973) demonstrou ainda que o  $\text{CO}_2$  expirado também decresce progressivamente no último estado larvar de Pieris brassicae L. . Foi este o resultado que nós obtivemos nos insectos testemunhas. Mas nos insectos tratados deu-se o contrário e houve uma estimulação da expiração de  $\text{CO}_2$  antes da ninfose (3º e 4º dias do último estado larvar, ou seja dois dias após o tratamento).

Verificámos também que o quociente respiratório das larvas tratadas passa de 0,83 (início do último estado larvar) para 1,125 no início da pré-ninfose (um aumento de 73,8%). MOREAU et al . (1975) estudando os efeitos de um pesticida sobre as larvas do quarto estado de dois lepidópteros, encontraram um aumento do QR de 10% entre o 1º e o 2º dias após a terceira muda.

#### 4 - MORTALIDADE

O pirimicarbe não teve acção letal importante sobre as L4 de S.11 notata.

Estas conclusões demonstram que o efeito do pirimicarbe sobre as larvas dos dois predadores estudados, se traduz por um conjunto de fenómenos complexos, afectando:

- a voracidade,
- a mortalidade do 1º e 2º estados larvares,
- o consumo alimentar médio,
- a evolução ponderal,
- o rendimento alimentar,
- e o metabolismo respiratório.

QUARTA PARTE

EFEITOS DE UM AFICIDA SOBRE O RITMO CARDÍACO DAS PUPAS

## EFEITOS DE UM AFICIDA SOBRE O RITMO CARDÍACO DAS PUPAS

### GENERALIDADES

O aparelho circulatório dos Insectos é aberto, havendo a penas um órgão fechado, o vaso dorsal.

O vaso dorsal localiza-se na linha média dorsal do corpo, estendendo-se da cabeça à extremidade posterior do abdómen. Podemos considerar no vaso dorsal duas zonas:

- uma anterior, torácica e condutora, a aorta;
- outra posterior, abdominal e contráctil, o coração.

O coração é formado por um conjunto de câmaras, correspondendo a outras tantas constricções. Através duma série par de orifícios, os ostíolos, o coração comunica com o seio pericardíaco.

A hemolinfa entra no coração pelos ostíolos e é impulsinada detrás para diante, saindo para a cavidade geral pela abertura da aorta, ao nível do cérebro. Da região cefálica espalha-se por todo o corpo e volta a entrar no coração. Este movimento da hemolinfa é produzido por contracções rítmicas do tipo sistole e diástole (IMMS et al. 1964). O coração bate a um ritmo que é constante para um mesmo estado fisiológico de uma dada espécie. Os valores obtidos para os batimentos cardíacos oscilam entre zero (pupas de insectos em diapausa) a mais de 300 batimentos por minuto (mosca do género Calliphora).

ROUSSEL (1971) efectuou um trabalho exaustivo sobre o ritmo cardíaco do gafanhoto migrador Locusta migratoria L., pondo em evidência o seu ritmo cardíaco, a inervação do coração e o papel do sistema nervoso no controlo do ritmo cardíaco. Estudou ainda o controlo endócrino e a acção de factores externos sobre o ritmo cardíaco. A nós, interessou-nos sobretudo o estudo do ritmo cardíaco e o papel do sistema nervoso no controlo desse ritmo.

A razão desta nossa orientação residiu no facto de sabermos que os pesticidas do grupo dos carbamatos agem principalmente por inibição da acetilcolinesterase (ACE), enzima responsável pela inibição da acetilcolina, transmissor químico do influxo nervoso (MELNIKOV 1971 ; HUFFAKER et al. 1976).

Procurámos assim saber em que medida o controlo nervoso

dos batimentos cardíacos era alterado pela acção do pirimicarbe, o que nos permitiria avaliar um aspecto pouco explorado dos efeitos fisiológicos dos carbamatos.

Este facto é tanto mais importante quando se sabe (METCALF 1971, in HUFFAKER et al. 1976) que "é evidente depois de 40 a nos de estudos intensivos, que temos apenas uma compreensão limita da das forças e reacções envolvidas na inibição da acetilcolinesterase pelos carbamatos e organofosforados".

## CAPÍTULO I

### O RITMO CARDÍACO DAS PUPAS DE CHEILOMENES SULPHUREA

As primeiras observações por nós feitas acerca do ritmo cardíaco das pupas de joaninhas afidífagas, destinaram-se a verificar a existência de um ritmo cardíaco cujas características permitissem avaliar os efeitos de um produto pesticida. Para maior facilidade de observação, utilizámos nestas observações preliminares - efectuadas segundo as técnicas descritas na segunda parte deste trabalho - as pupas de Cheilomenes sulphurea, cujo tegumento é de cor clara e muito transparente, facilitando a visão das pulsações do vaso dorsal.

#### 1 - O RITMO CARDÍACO DAS PUPAS DE Cheilomenes sulphurea

Utilizámos nestas observações nove pupas de Cheilomenes sulphurea escolhidas ao acaso. As observações duraram 1 hora para cada pupa.

##### 1.1. Análise quantitativa dos batimentos cardíacos

Durante as observações, registaram-se os batimentos das 9 pupas durante cada hora, convertendo-se depois os resultados em pulsações por minuto. Os valores médios obtidos constam do quadro XX.

Analisando este quadro, verificamos que as médias das pulsações por minuto não sofrem grandes oscilações, mantendo-se entre um mínimo de 40 e um máximo de 65 por minuto. O valor médio foi de 49,9 pulsações por minuto (desvio padrão de 8,59).

A título comparativo, apresentamos seguidamente os valores dos batimentos cardíacos das ninfas de alguns insectos (QUADRO XXI) obtidos por vários autores (ROUSSEL 1971).

Os valores destes batimentos médios são portanto muito variáveis de espécie para espécie, mas mostram que cada espécie possui um ritmo determinado. Isto abriu-nos perspectivas para a a-

QUADRO XX  
BATIMENTOS CARDÍACOS DAS PUPAS DE *Cheilomenes sulphurea*  
(VALORES MÉDIOS EM PULSAÇÕES/MINUTO)

	PUPA 1	PUPA 2	PUPA 3	PUPA 4	PUPA 5	PUPA 6	PUPA 7	PUPA 8	PUPA 9
$\bar{X}$	45,57	50,38	40,76	41,75	59,90	64,72	40,88	51	54,35
n	57	18	50	8	22	11	9	4	20
Sx	8,47	15,90	17,67	13,62	19,36	27,75	14,58	13,71	14,72

$\bar{X}$  = média; n = número de observações; Sx = desvio padrão.

-nálise qualitativa do ritmo ninfal das espécies em estudo.

QUADRO XXI

AUTOR	NEWPORT	MASERA	JONES	SOANS & SOANS
Ano	1837	1933	1954	1968
Espécie	<u>Sphinx</u> <u>lingustri</u>	<u>Bombyx</u> <u>mori</u>	<u>Anopheles</u> <u>quadrima-</u> <u>culatus</u>	<u>Cicindela</u> <u>cancellata</u>
Pulsa - ções mé dias p/ minuto.	15	30	109	19
Máxima	20	30	-	28
Mínima	10	30	-	10

### 1.2. Análise qualitativa do ritmo de batimentos cardíacos

Para fazermos o estudo qualitativo do ritmo cardíaco de Cheilonenes sulphurea usámos a representação gráfica apresentada na figura 39, que relaciona a amplitude média das pulsações, expressa em batimentos cardíacos por minuto, com o tempo de observação.

Deste modo, ficam também representados os períodos de pausa.

Os três cardiogramas da figura 39 representam os três tipos básicos de ritmo cardíaco que encontramos nas pupas estudadas.

No cardiograma 1, verificamos que a actividade cardíaca é grande, não havendo praticamente interrupções do ritmo.

No cardiograma 2, existe uma grande predominância das pausas, intercaladas entre curtos períodos de actividade cardíaca.

No cardiograma 3, que podemos considerar de tipo intermédio, a actividade cardíaca é interrompida por pausas que se sucedem a intervalos regulares.

Os resultados obtidos mostraram-nos que é possível esta-

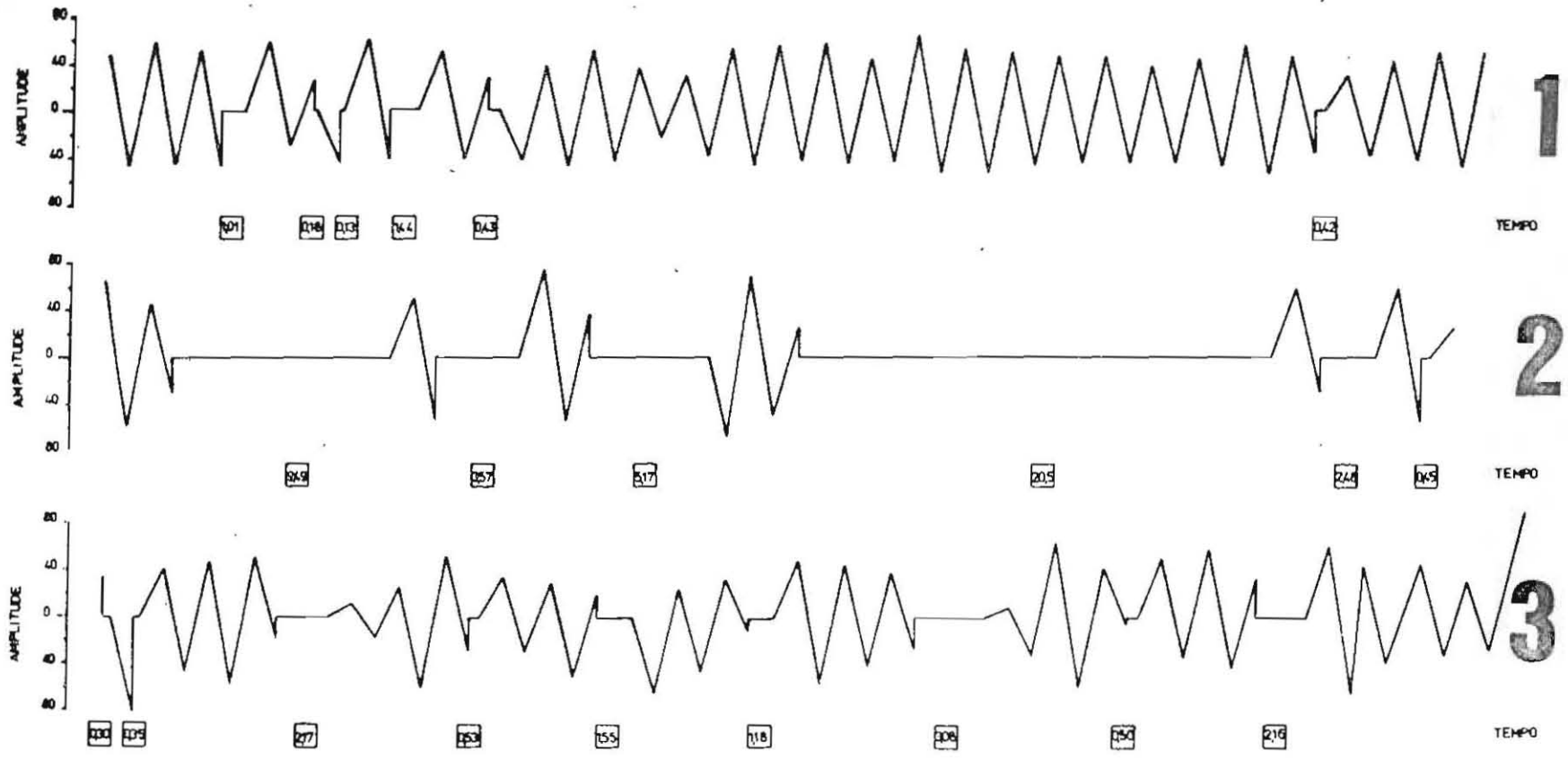


Figura nº 39 - Tipos de cardiogramas de Cheilomenes sulphurea.

belecer um ritmo cardíaco das pupas. Pôs-se o problema de saber se os três tipos base de cardiogramas correspondem a fases diferentes de diferenciação morfo-fisiológica das pupas, visto que, como atrás dissemos as pupas estudadas foram escolhidas ao acaso.

## 2 - ACÇÃO DO PIRIMICARBE SOBRE O RITMO CARDÍACO DAS PUPAS DE S.11 notata.

Tendo as observações sobre o consumo alimentar e a respirometria larvares sido efectuadas sobre S.11 notata, resolvemos examinar a acção do aficida também sobre esta espécie, com o fim de podermos interpretar os efeitos fisiológicos no seu conjunto.

### 2.1. Análise dos efeitos do pirimicarbe através dos cardiogramas

O ritmo cardíaco das pupas de S.11 notata foi interpretado através dos cardiogramas de 3 pupas tratadas com aficida e três testemunhas. Cada um destes cardiogramas foi obtido 48 e 72 horas após a entrada em ninfose. Conforme já dissemos na segunda parte deste trabalho as pupas eram tratadas no dia seguinte após o começo da ninfose. O cardiograma das 48 horas apresenta portanto os efeitos do aficida 24 horas após a pulverização e o das 72 horas, os efeitos do aficida 48 horas após a pulverização. As testemunhas foram pulverizadas com água.

Na figura 40 está representado o gráfico do primeiro teste (pupa tratada e testemunha). Podemos verificar que:

- 48 horas após o início da ninfose, o cardiograma da pupa tratada mostra fraca actividade cardíaca com numerosas pausas interrompendo o ritmo dos batimentos cardíacos;
- o cardiograma da testemunha apresenta grande actividade cardíaca, com fracos períodos de pausa;
- 72 horas após o início da ninfose, o cardiograma da pupa tratada apresenta aumento da actividade cardíaca e

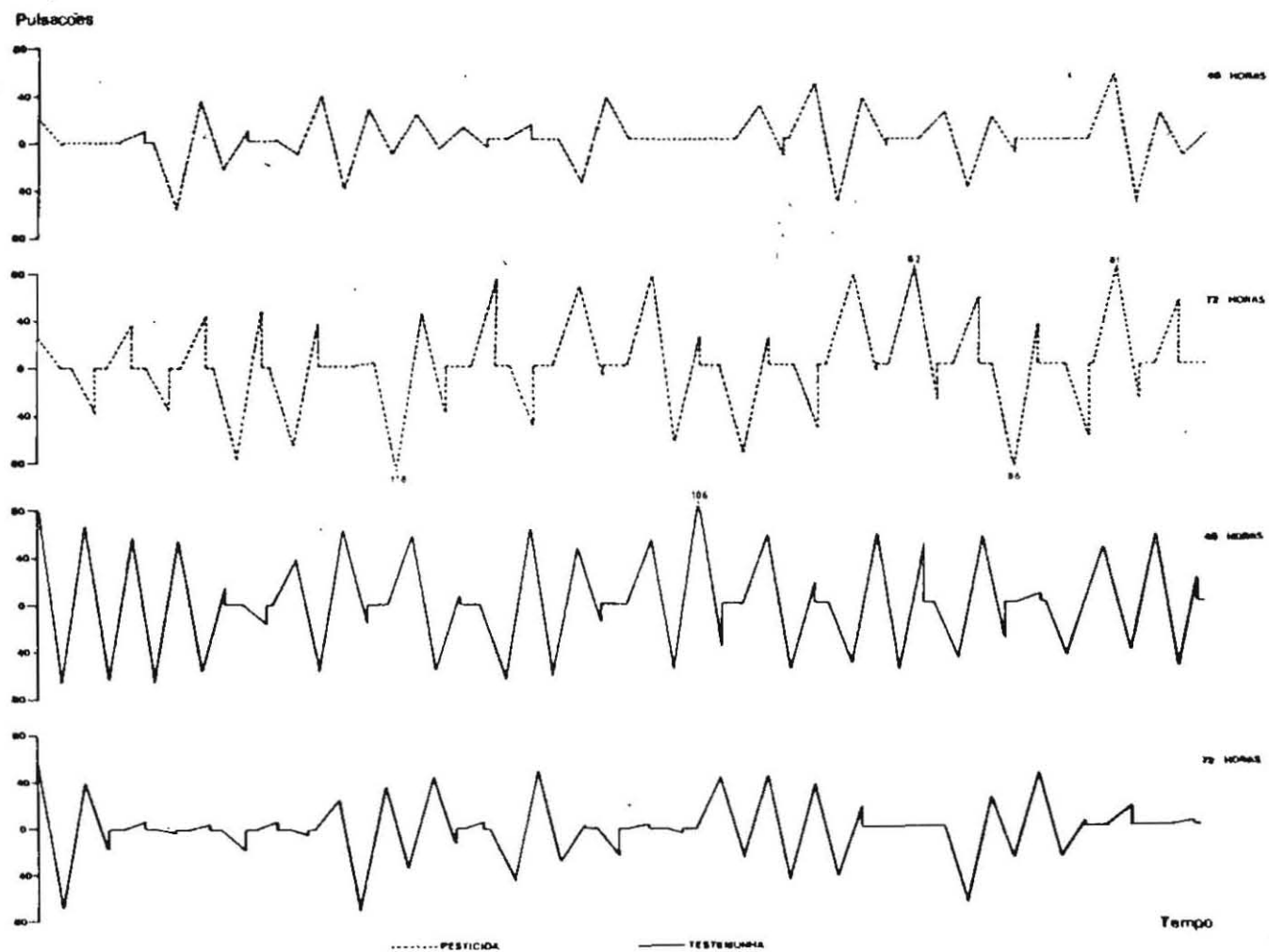


Figura nº 40 - Cardiogramas das pupas de S.11 notata (1º teste).

Amplitude = pulsações/minuto ; tempo = 1 hora.

diminuição dos períodos de pausa;

- o cardiograma da testemunha apresenta uma diminuição da actividade cardíaca, com diminuição do número de batimentos por minuto e aumento das pausas.

No gráfico da figura 41, estão representados os cardiogramas do segundo teste (uma pupa tratada e outra testemunha). Verificamos o seguinte:

- 48 horas após o início da ninfose, a pupa tratada apresenta um cardiograma revelador de muito fraca actividade cardíaca, com longas pausas;
- a pupa testemunha possui um cardiograma revelador de actividade cardíaca importante;
- 72 horas após o início da ninfose, a pupa tratada aumentou a sua actividade, aumentando as frequências de batimentos cardíacos e diminuindo as pausas;
- a testemunha diminui a sua actividade cardíaca, apresentando pausas longas.

Na figura 42, estão representados os cardiogramas do terceiro teste (pupa tratada e outra testemunha). Notamos que:

- 48 horas após o início da ninfose, a actividade cardíaca é intensa e as pausas pouco importantes, no que respeita à pupa tratada;
- a actividade cardíaca da testemunha é quase idêntica, a penas um pouco menor;
- 72 horas após o início da ninfose, a actividade cardíaca da pupa tratada diminui muito, com pausas muito importantes;

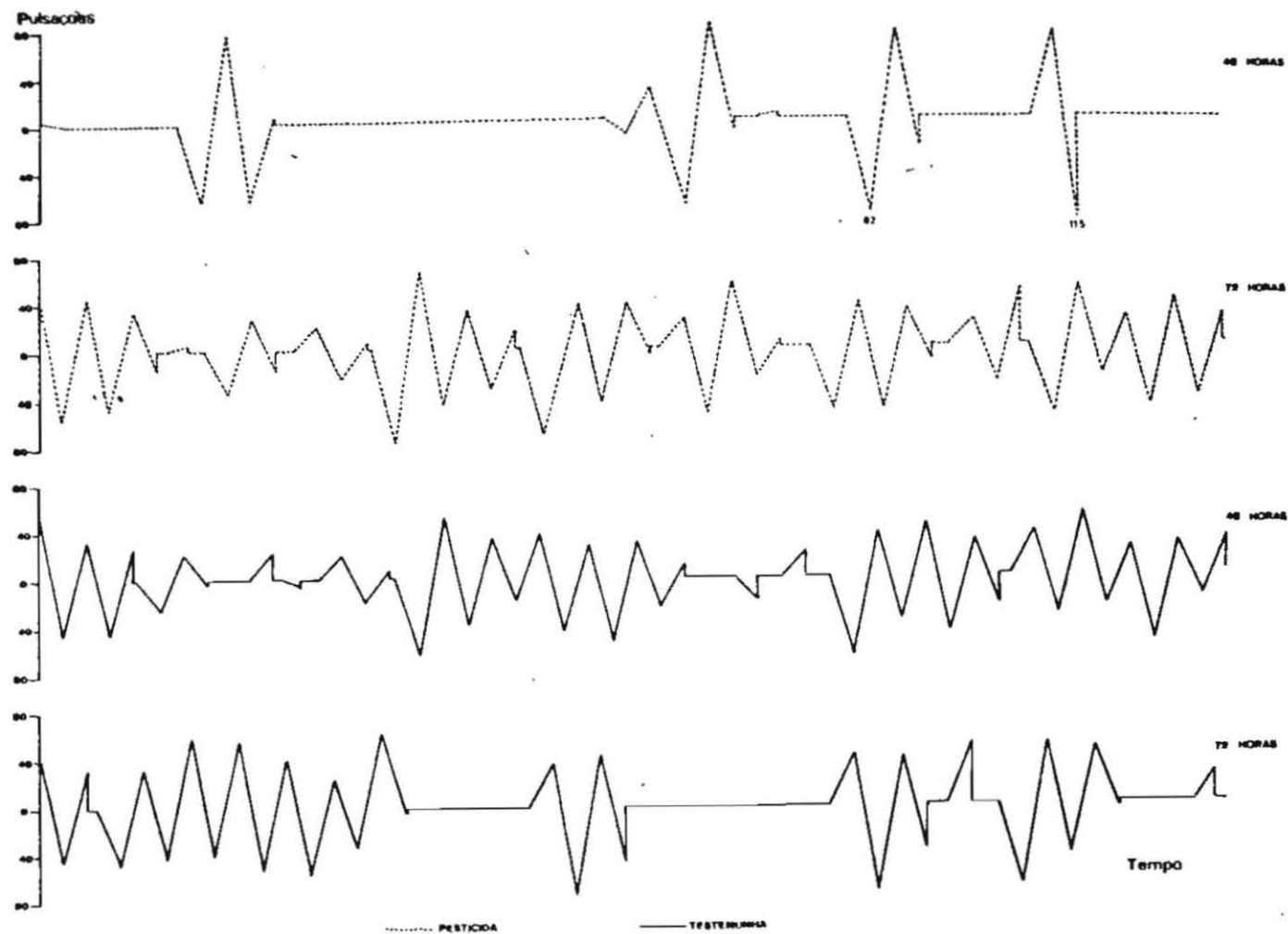


Figura nº 41 - Cardiogramas das pupas de S.l.l notata (2º teste).  
 Amplitude = pulsações/minuto ; tempo = 1 hora.

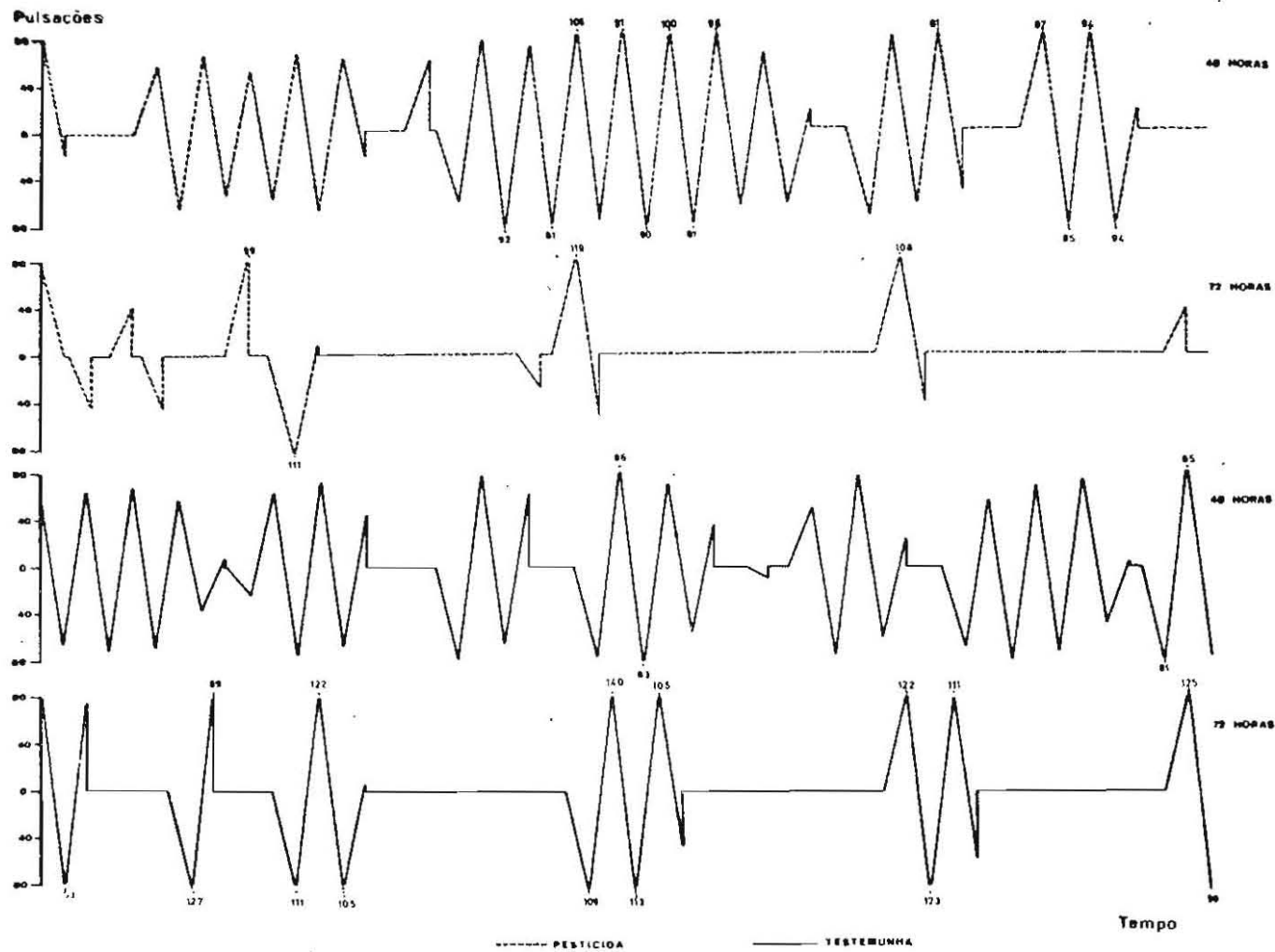


Figura nº 42 - Cardiogramas das pupas de S.11 notata (3º teste).  
 Amplitude = pulsações/minuto ; tempo = 1 hora.

- na pupa testemunha a actividade cardíaca diminui também muito, com pausas igualmente importantes.

## 2.2. Conclusões

Os testes um e dois mostraram que às 48 horas de ninfose as pupas tratadas apresentavam menor actividade cardíaca que as testemunhas. Às 72 horas, essa actividade aumentava sensivelmente nas larvas tratadas e diminuía nas testemunhas. Tudo se passou como se o pirimicarbe diminuísse a actividade cardíaca nas primeiras 24 horas após o tratamento e tivesse havido uma recuperação no terceiro dia de ninfose. Este mecanismo de recuperação ou eliminação dos efeitos do pirimicarbe (a partir de 36 horas após o tratamento) foi por nós encontrado no estudo dos efeitos do aficida sobre as L4 de S.11 notata.

No terceiro teste, as fases de maior e menor actividade cardíaca são coincidentes e tudo se passa como se o aficida não tivesse produzido qualquer efeito. Este facto levou-nos a procurar analisar os efeitos do pirimicarbe sobre o ritmo cardíaco das pupas segundo um outro método.

## 3 - ACÇÃO DO PIRIMICARBE SOBRE A DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIAS DOS BATIMENTOS CARDÍACOS DAS PUPAS

Agrupando as frequências de batimentos cardíacos por classes de frequência, procurámos clarificar o problema da determinação dos efeitos do pirimicarbe sobre o ritmo cardíaco das pupas de S.11 notata. Baseado nos dados recolhidos durante a observação do ritmo cardíaco (parágrafo anterior), agrupámos as frequências por classes: em abcissas, marcámos as classes de batimentos cardíacos, de intervalo igual a 10 e em ordenadas, as suas frequências.

### 3.1. Distribuição de frequências dos batimentos cardíacos às 48 horas de ninfose

A análise do gráfico da figura 43, mostra-nos que:  
- a frequência de batimentos cardíacos é superior nas tes-

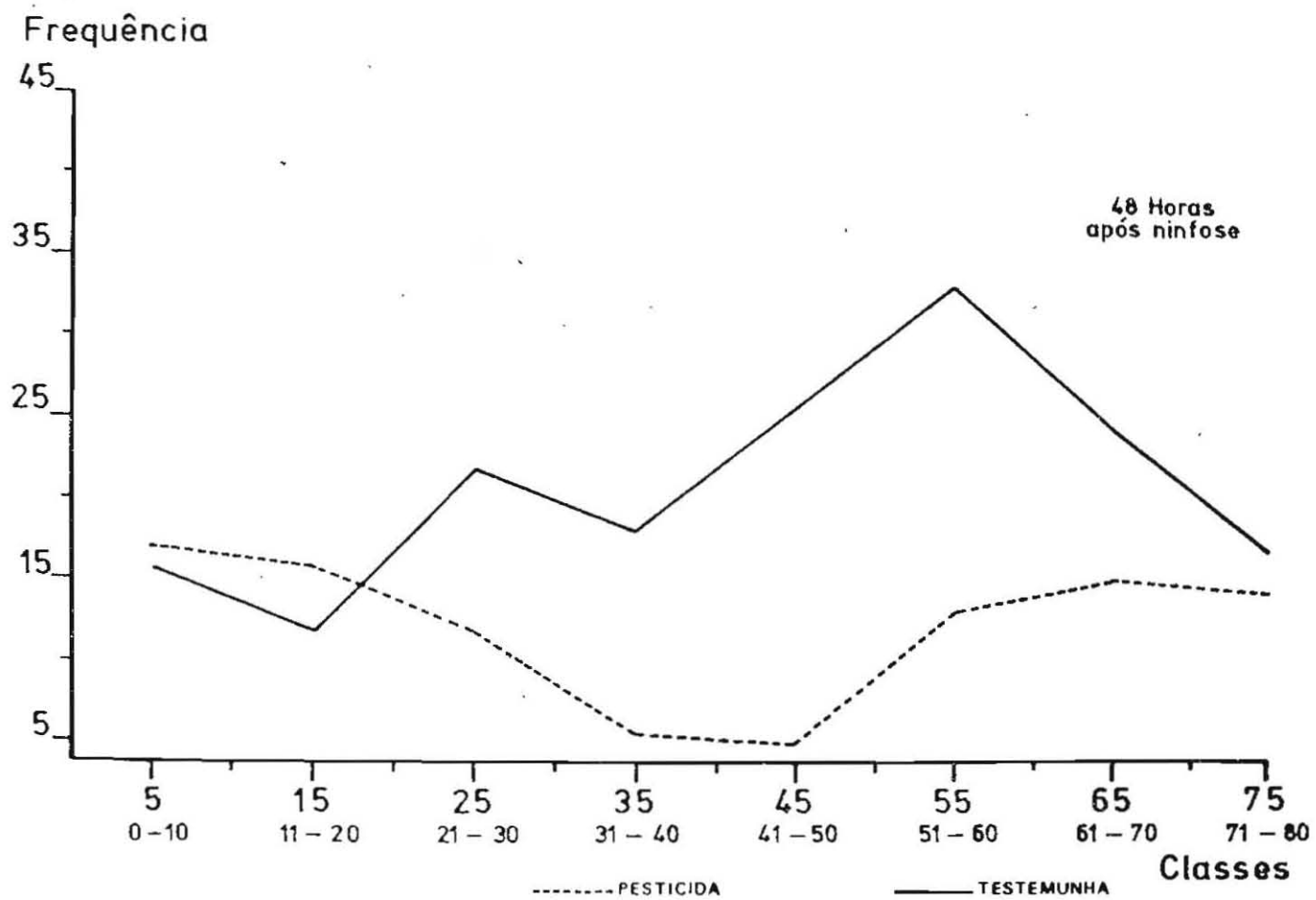


Figura nº 43 - Distribuição de frequências dos batimentos cardíacos das pupas de S.l. notata

temunhas nas classes cujo centro é superior a 25 inclusive;

- as pupas tratadas apresentam uma frequência superior à das testemunhas nas classes de mais baixa gama, de centros 5 e 15.

Para verificarmos a segurança dos resultados, empregámos um teste de MANN-WHITNEY: O valor de  $|Z| = 2,57 > 1,96$ , mostra que os resultados são significativos para nível de segurança superior a 95%, pelo que podemos concluir que houve uma diminuição das frequências dos batimentos cardíacos provocada pelo pirimicarbe, nas primeiras 24 horas após o tratamento.

### 3.2. Distribuição de frequências dos batimentos cardíacos às 72 horas de ninfose

No gráfico da figura 44 verificámos uma grande coincidência entre as pupas que receberam o aficida e as testemunhas.

Aplicado o teste estatístico de "MANN-WHITNEY", o valor de  $|Z| = 0,53 < 1,96$  mostra que não se atinge um nível de segurança de 95%.

O pirimicarbe não parece assim ter tido qualquer acção neste ensaio.

### 3.3. Conclusões

As observações respeitantes à distribuição de frequências por classes, mostraram que o pirimicarbe influi sobre a actividade cardíaca das pupas de S.11 notata. Essa influência traduziu-se por uma diminuição das frequências de batimentos.

Também se verificou que a acção depressora do pirimicarbe sobre a actividade cardíaca só existe nas primeiras 24 horas após o tratamento. Este facto confirma que deve existir um mecanismo fisiológico de inibição dos efeitos negativos do aficida que actua rapidamente.

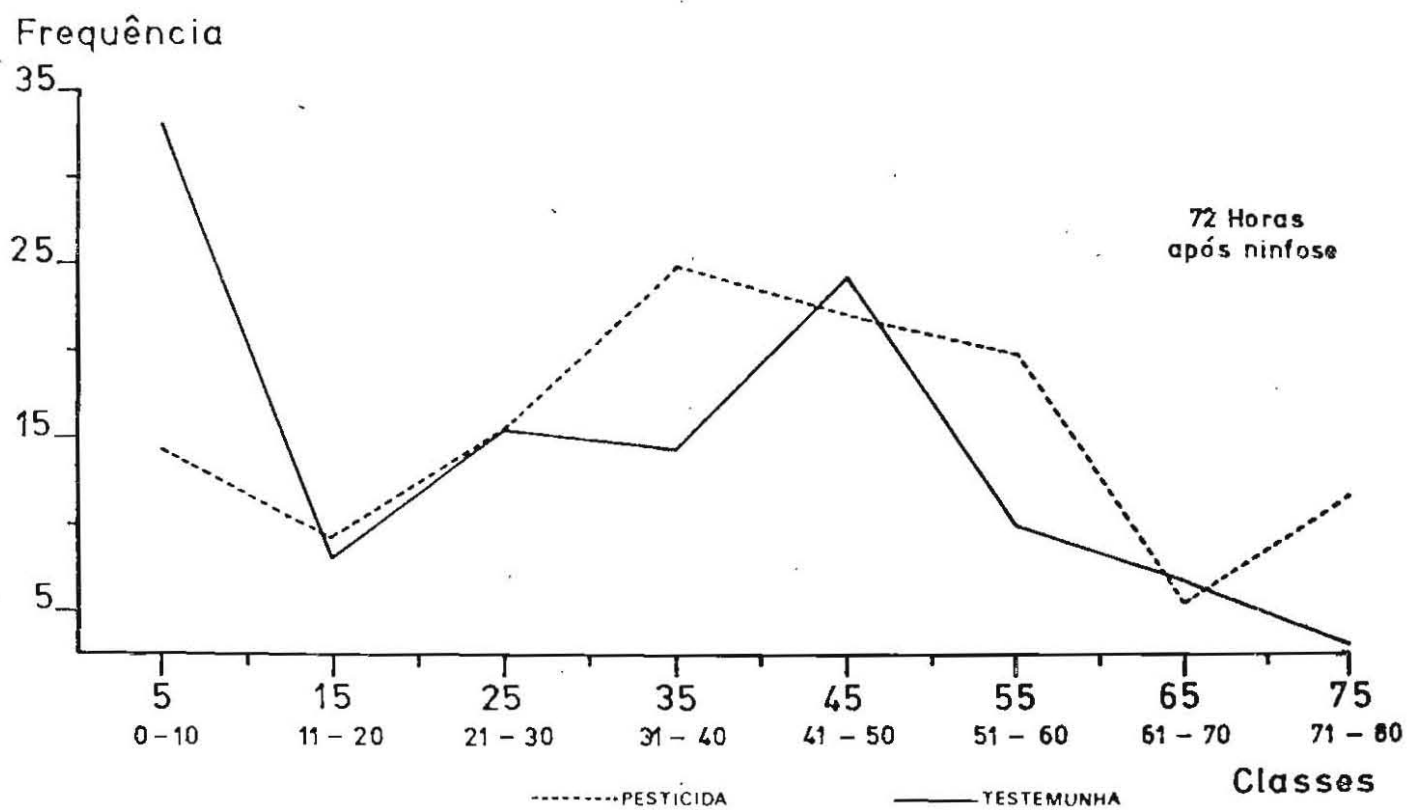


Figura nº 44 - Distribuição de frequências dos batimentos cardíacos das pupas de S.l.l notata

CONCLUSÕES DA QUARTA PARTE

O estudo do ritmo cardíaco das pupas dos Coccinelídeos revelou-se importante para avaliar a acção de um pesticida específico com as características do pirimicarbe. Este produto químico, como todos os alquil-carbamatos, age sobre a acetilcolinesterase, inibindo a sua acção (MELNIKOV 1971) e bloqueando a transmissão do influxo nervoso.

Partindo deste princípio, pensámos que o controlo nervoso do ritmo cardíaco seria afectado. Para o avaliar, procurámos:

- estabelecer um processo de elaboração de mecanocardiogramas, utilizando as pupas de Cheilomenes sulphurea;
- adaptar esta técnica ao estudo dos efeitos do pirimicarbe sobre o ritmo cardíaco das pupas de S.11 notata;
- verificar os efeitos do pirimicarbe sobre a distribuição das frequências de batimentos cardíacos por classes.

a) A técnica dos mecanocardiogramas é eficaz e permite avaliar o ritmo cardíaco das pupas dos Coccinelídeos, com certas vantagens sobre os métodos electrofisiológicos (CANARD & QUEINNEC 1971).

b) A avaliação dos efeitos do aficida sobre o ritmo cardíaco pela mecanocardiografia pareceu-nos revelar que o produto reduzia a actividade cardíaca nas 24 horas após o tratamento.

c) A avaliação dos efeitos do pirimicarbe através da distribuição de frequência dos batimentos cardíacos por classes obteve resultados significativos e confirmou que nas 24 horas que se seguem ao tratamento a actividade cardíaca das pupas de S.11 notata diminui. Por outro lado, demonstrou que 48 horas após o tratamento, os efeitos do aficida sobre a actividade cardíaca já não são evidentes.

A última conclusão mostra que é possível existir um mecanismo fisiológico que compensa a acção anticolinesterásica do pirimicarbe ou provoca a degradação do pesticida.

QUINTA PARTE

EFEITOS DUM AFICIDA SOBRE A POSTURA DE UM COCCINELÍDEO AFÍDIFAGO

## EFEITOS DE UM AFICIDA SOBRE A POSTURA DE UM COCCINELIDEO AFIDÍFAGO

### GENERALIDADES

A escolha de um dos dois Coccinelídeos afidípagos estudados, para modelo de estudo da acção do pirimicarbe sobre a postura impôs-se naturalmente, dada a existência dum período de diapausa imaginal muito longo (cerca de 9 meses) em Semiadalia undecimnotata.

É possível, graças à existência de uma fase de estivo-hiбернаção, determinar os efeitos do pirimicarbe sobre as fêmeas em diferentes estados ecofisiológicos (princípio da diapausa, durante esta, fim da diapausa e em actividade).

A outra espécie que estudámos (Cheilomenes sulphurea) como qualquer outra espécie polivoltina sem diapausa, não nos oferece essas possibilidades biológicas.

Estudámos assim os efeitos do pirimicarbe sobre os seguintes parâmetros biológicos de Semiadalia ll notata:

- a duração da pré-oviposição,
- a evolução das posturas em função do tempo,
- a distribuição das frequências de postura por classes.

Em cada um destes casos, as observações incidiram sempre sobre fêmeas adultas nos quatro estados ecofisiológicos que atrás referimos.

Este procedimento permite-nos comparar ao mesmo tempo o valor dos métodos de análise utilizados e obter dados que permitam um melhor conhecimento dos diferentes estados ecofisiológicos dos Coccinelídeos.

Os Coccinelídeos estivo-hibernantes procuram abrigos variados para se protegerem durante a diapausa. Nos Alpes Franceses, S.ll notata abriga-se normalmente debaixo de montes de pedra, fendas de rochedos ou formando cachos de indivíduos nos ângulos axilares dos ramos de algumas plantas, nomeadamente o buxo (Buxus sp.). Na ilha de Santa Maria, nos Açores, encontrámos adultos de Coccinella undecipunctata L. estivo-hibernando nos abrigos meteorológicos colocados junto às pistas do aeroporto.

As capturas de insectos para este tipo de estudos fizeram-se nos locais de estivo-hibernação. Para os estudos sobre os insectos em fase de actividade, utilizámos apenas adultos provenientes de culturas laboratoriais.

CAPÍTULO I

EFEITOS DO PIRIMICARBE SOBRE A DURAÇÃO DA PRÉ-OVIPOSIÇÃO

1 - PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Como as condições ambientais de cada ensaio não foram sempre as mesmas, estas são especificadas para cada um deles.

A nutrição dos casais submetidos aos ensaios foi constituída por Aphis fabae. As fêmeas dos lotes de casais de S.11 notata foram submetidas à pulverização com pirimicarbe nas condições descritas na segunda parte deste trabalho. As fêmeas testemunhas receberam uma pulverização com água. Depois das pulverizações os casais de joaninhas foram isolados nas caixas de cultura. Diariamente, ao substituir-se a alimentação, efectuavam-se os controlos das posturas, anotando-se para cada fêmea a data da primeira postura. A duração da pré-oviposição conta-se desde a eclosão da fêmea no laboratório (ou da sua reactivação em laboratório, quando trazida da diapausa na natureza) até à data da primeira postura.

2 - INFLUENCIA DO AFICIDA NA DURAÇÃO DA PRÉ-OVIPOSIÇÃO

2.1. Fêmeas de cultura laboratorial

Utilisaram-se neste ensaio 60 fêmeas de S.11 notata nascidas no laboratório, 30 das quais tratadas com o aficida e 30 testemunhas.

Os resultados vêm expressos no quadro XXII.

QUADRO XXII

		LOTE I	LOTE II
PESTICIDA	Dias	10,10	7,27
	n	19	11
	Sx	3,16	3,85

QUADRO XXII (continuação)

		LOTE I	LOTE II
TESTEMUNHAS	Dias	10,70	7,50
	n	20	10
	Sx	2,99	2,07

n = número de fêmeas ; Sx = desvio padrão

Analisando o quadro anterior, verifica-se que o pirimicarbe não exerce qualquer acção sobre a duração da pré-oviposição nas fêmeas de cultura laboratorial. Neste caso, a pré-oviposição é constituída pelo tempo de maturação ovárica necessária para a primeira postura.

As condições ambientais deste ensaio foram:

- temperatura:  $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ;
- humidade relativa:  $80\% \pm 10\%$ ;
- fotofase: 24 horas.

## 2.2. Fêmeas no início da diapausa

Para realizar este ensaio utilizámos casais de S.11 notata recolhidos do seu local de estivo-hibernação, no cimo do Pico D'Oise (Alpes da Alta Provença, a 1 139 metros de altitude).

A captura destas joaninhas fez-se no mês de Julho, imediatamente após o voo migrador que as levou da planície para o cimo da montanha. A reactivação foi feita no laboratório, nas seguintes condições:

- temperatura:  $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ ;
- humidade relativa:  $80\% \pm 10\%$ ;
- fotofase: 24 horas.

Utilizámos um total de 79 fêmeas de S.11 notata, sendo

35 tratadas com pirimicarbe e 44 testemunhas.

A duração da pré-oviposição revelou-se muito longa, conforme consta do quadro XXIII.

QUADRO XXIII

PESTICIDA	Dias	34,47
	n	35
	Sx	11,60
TESTEMUNHAS	Dias	38,55
	n	44
	Sx	12,11

n = número de fêmeas ; Sx = desvio padrão

Quer no caso das fêmeas tratadas, quer das testemunhas, a pré-oviposição durou mais de um mês.

Para analisar a significância destes resultados, usamos o teste estatístico de "MAN-WHITNEY".

O valor de  $Z = -1,43$  mostra que  $|Z| = |-1,43| < 1,96$ . A hipótese nula é aceite, o que significa que as diferenças registadas não são significativas. Concluimos assim que o tratamento pelo pirimicarbe não teve qualquer efeito sobre a duração da pré-oviposição nas joaninhas capturadas no início da diapausa.

### 2.3. Fêmeas em diapausa

As fêmeas utilizadas neste ensaio foram capturadas na natureza no mês de Novembro, no Pico d'Oise (Digne, França). A reactivação fez-se nas condições laboratoriais que a seguir indicamos:

- temperatura:  $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ;
- humidade relativa:  $80\% \pm 10\%$ ;

- fotofase: 24 horas.

O número de fêmeas foi de 31 tratadas e 25 testemunhas. Os resultados da duração média da pré-oviposição vêm resumidos no quadro XXIV.

QUADRO XXIV

	PESTICIDA	TESTEMUNHA
Dias	17,61	17,56
n	31	25
Sx	3,56	4,05

n = número de fêmeas ; Sx = desvio padrão

Se compararmos os resultados das duas amostras pelo teste de "MANN-WHITNEY", verificamos que  $|Z| = 1,88 < 1,96$ , pelo que se aceita a hipótese nula. Por conseguinte o tratamento com o pirimicarbe não teve qualquer influência sobre a duração da pré-oviposição das joaninhas capturadas durante a diapausa imaginal.

#### 2.4. Fêmeas no fim da diapausa

Sobre o mesmo Pico d'Oise (Digne) capturaram-se no mês de Abril as joaninhas necessárias à realização deste ensaio.

No momento da captura, os adultos estavam a começar a abandonar os seus locais de estivo-hibernação, começando a dar sinais de entrada em actividade. A reactivação foi efectuada no laboratório, nas seguintes condições:

- temperatura:  $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ;
- humidade relativa:  $80\% \pm 10\%$ ;
- fotofase: 16 horas.

O número de fêmeas tratadas foi de 38 e o de testemunhas de 39.

Os resultados vêm no quadro XXV.

QUADRO XXV

	PESTICIDA	TESTEMUNHAS
Dias	11,7	9,9
n	38	39
Sx	3,54	2,85

n = número de fêmeas ; Sx = desvio padrão

Submetemos os resultados ao teste estatístico de "MANN-WHITNEY". Obteve-se  $Z = 2,57 > 1,96$ , donde se conclui a rejeição da hipótese nula, com uma segurança de 95%.

Concluimos que o pirimicarbe provocou um atraso de dois dias na duração da pré-oviposição das fêmeas de S.11 notata capturadas no fim da diapausa.

### 2.5. Conclusões

A acção do pirimicarbe sobre a duração da pré-oviposição parece ser pouco importante. Dos ensaios realizados sobre os 4 estados ecofisiológicos das fêmeas adultas de S.11 notata, verificamos que só houve um efeito (retardamento na oviposição de 2 dias) sobre as fêmeas capturadas na natureza no fim da diapausa.

Isto talvez se explique pela grande sensibilidade das joaninhas à saída da diapausa, devido a estarem enfraquecidas pela longa estivo-hibernação.

## CAPITULO II

### ACÇÃO DO PIRIMICARBE SOBRE A EVOLUÇÃO DAS POSTURAS

Neste capítulo analisam-se de forma aprofundada os efeitos do pirimicarbe sobre a evolução das posturas em função do tempo. Notemos que a postura, pela sua importância ecológica, é considerada como a potencialidade biológica mais apta para indicar a importância de um entomófago.

#### PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Para realizar as experiências, procedemos do seguinte modo:

- em dias alternados (portanto, cada 48 horas) renovava-se a alimentação afidiana (Aphis fabae) e limpavam-se as caixas onde estavam isolados os casais de adultos de S.11 notata;
- ao mesmo tempo que se renovava a alimentação, contavam-se os ovos postos desde o controlo precedente;
- e, registava-se a mortalidade verificada.

A manipulação e as observações prosseguiram durante cerca de um mês e meio, a partir do começo das posturas. Nos casos em que o tempo de reactivação das joaninhas era longo, os ensaios prolongavam-se igualmente, chegando a durar dois meses e meio (um mês de reactivação, mais um mês e meio de controlo da postura).

As condições de ambiente foram as utilizadas no capítulo anterior, para cada um dos diferentes estados ecofisiológicos (no início, durante a diapausa imaginal, no seu final e em actividade).

A fim de evitarmos os choques térmicos provocados pela mudança dos insectos da natureza para o laboratório, escolhemos para condições de ambiente das culturas aquelas que se aproximavam tanto quanto possível das da natureza aquando das capturas.

#### 1 - ACÇÃO DO PIRIMICARBE SOBRE A POSTURA DAS FEMEAS NO INÍCIO DA DIAPAUSA

As condições ambientais de experimentação foram as seguintes:

- temperatura:  $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ ;
- humidade relativa:  $80\% \pm 10\%$ ;
- fotofase: 24 horas.

Este ensaio iniciou-se no mês de Agosto com joaninhas que começavam a entrar em diapausa. As observações foram efectuadas sobre 30 fêmeas tratadas com pirimicarbe e 25 fêmeas pulverizadas com água.

Os resultados obtidos estão representados no gráfico da figura 45 (Agosto).

Vê-se nitidamente que as médias das posturas obtidas nos insectos tratados seguem sensivelmente as obtidas nas joaninhas testemunhas. Interessa saber se existem diferenças significativas.

O teste não paramétrico de "MANN-WHITNEY" aplicado às 2 séries de médias (tratadas e testemunhas) dá-nos  $|Z| = 0,62 < 1,96$ . A hipótese nula é aceite e há identidade entre as duas séries. O pirimicarbe não exerceu qualquer efeito sobre a evolução das posturas médias.

Determinámos que a reactivação dos adultos de S.11 notata capturadas no mês de Agosto durava um pouco mais de um mês, o que nos pode explicar a redução ou mesmo a eliminação da acção do aficida.

## 2 - ACÇÃO DO PIRIMICARBE SOBRE AS FÊMEAS DURANTE A DIAPAUSA

As condições ambientais da experimentação foram as seguintes:

- temperatura:  $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ;
- humidade relativa;  $80\% \pm 10\%$ ;
- fotofase: 24 horas.

O ensaio começou no mês de Novembro, com fêmeas de S.11 notata capturadas nos locais de hibernação. Os controlos foram efec

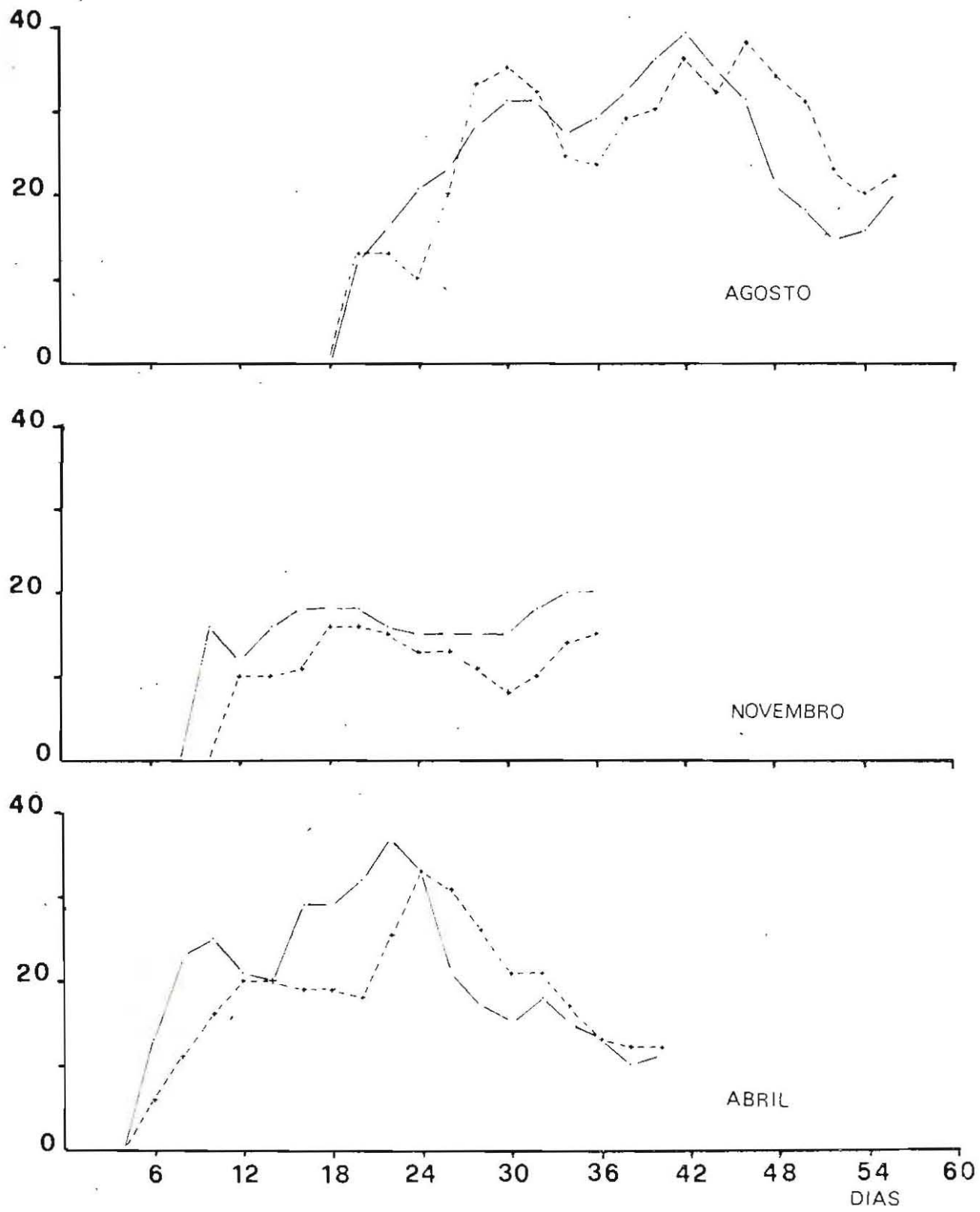


Figura 45: Evolução das posturas  
(AGOSTO=início da diapausa; NOVEMBRO=durante a diapausa;  
ABRIL = fim da diapausa

- . - . - . - . Testemunhas - x - x - x Pesticida

tuados sobre 31 fêmeas tratadas com pirimicarbe e sobre 25 insectos testemunhas pulverizados com água.

Os resultados estão expressos no gráfico da figura 45 (Novembro). Verificámos que a média das posturas obtidas é sempre superior nas fêmeas testemunhas. Este facto pareceu-nos bastante significativo, sobretudo se acentuarmos que as durações de pré-oviposição são idênticas (17 dias) em ambos os casos (tratadas e testemunhas). Este intervalo de tempo superior a duas semanas parece ser no entanto suficientemente pequeno para permitir ao aficida agir sobre a fisiologia da postura.

O teste de "MANN-WHITNEY" aplicado às duas séries de posturas (tratadas e testemunhas) deu um valor de  $|Z| = 3,32 > 1,96$ . A hipótese nula é rejeitada com uma segurança de 95%. As séries de postura em presença são completamente diferentes e podemos concluir que o aficida diminuiu significativamente as posturas de S. ll notata, durante toda a duração do ensaio.

Estes resultados são tanto mais seguros quanto é certo que, fisiologicamente, as fêmeas hibernantes reactivadas em Novembro, constituíam lotes muito homogêneos, (IPERTI 1976). Também é de salientar que, a sensibilidade das joaninhas hibernantes aos factores limitantes do meio é muito grande, como o demonstra a mortalidade elevada observada no meio natural, quando se verificam epizootias provocadas pelo fungo Beauveria bassiana (BAL. VUILL.).

### 3 - ACÇÃO DO PIRIMICARBE SOBRE AS FEMEAS NO FIM DA DIAPAUSA

As condições ambientais foram as seguintes:

- temperatura:  $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ;
- humidade relativa:  $80\% \pm 10\%$ ;
- fotofase: 16 horas.

O número de indivíduos foi de 33 fêmeas tratadas com o aficida e 37 testemunhas. Os resultados vêm expressos no gráfico da figura 45 (Abril). Observando este gráfico, vemos que as médias de postura das joaninhas testemunhas aumentam mais rapidamente que as médias de postura dos insectos tratados, durante as três primeiras

semanas do ensaio (de 13 a 37 ovos nas fêmeas testemunhas e de 6 a 26 ovos nos predadores tratados). A partir do 24º dia o processo inverte-se e as posturas das joaninhas tratadas atingem um nível superior. Seguidamente dá-se uma diminuição progressiva das médias de postura, tanto na série tratada como na testemunha, atingindo ambas, valor idêntico no fim do ensaio (12 ovos).

Aplicando o teste de "MANN-WHITNEY" às duas amostragens, resulta que:

- se o teste for aplicado à duração total do ensaio, teremos  $|Z| = 0,73 < 1,96$  e a hipótese nula é aceite. Não há diferenças entre as séries;
- se o teste for aplicado às médias de postura das três primeiras semanas (até ao 22º dia), vem  $|Z| = 2,65 > 1,96$  e a hipótese nula é rejeitada com uma segurança de 95%. As duas séries são diferentes até ao 22º dia.

Deduz-se que o aficida age durante as três primeiras semanas de postura, baixando significativamente as médias das posturas. Após este período, existe um fenómeno de compensação, que torna idênticas as duas séries.

#### 4 - ACÇÃO DO PIRIMICARBE SOBRE AS FÊMEAS EM ACTIVIDADE

As fêmeas utilizadas neste ensaio foram provenientes de culturas laboratoriais. As condições de ambiente foram:

- temperatura:  $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ;
- humidade relativa:  $80\% \pm 10\%$ ;
- fotofase: 24 horas.

O número de indivíduos foi de 30 para as fêmeas tratadas e de 30 para as testemunhas. Os resultados permitiram elaborar o gráfico da figura 46.

Os efeitos provocados pelo pirimicarbe sobre as fêmeas em actividade são semelhantes aos produzidos sobre as fêmeas captu

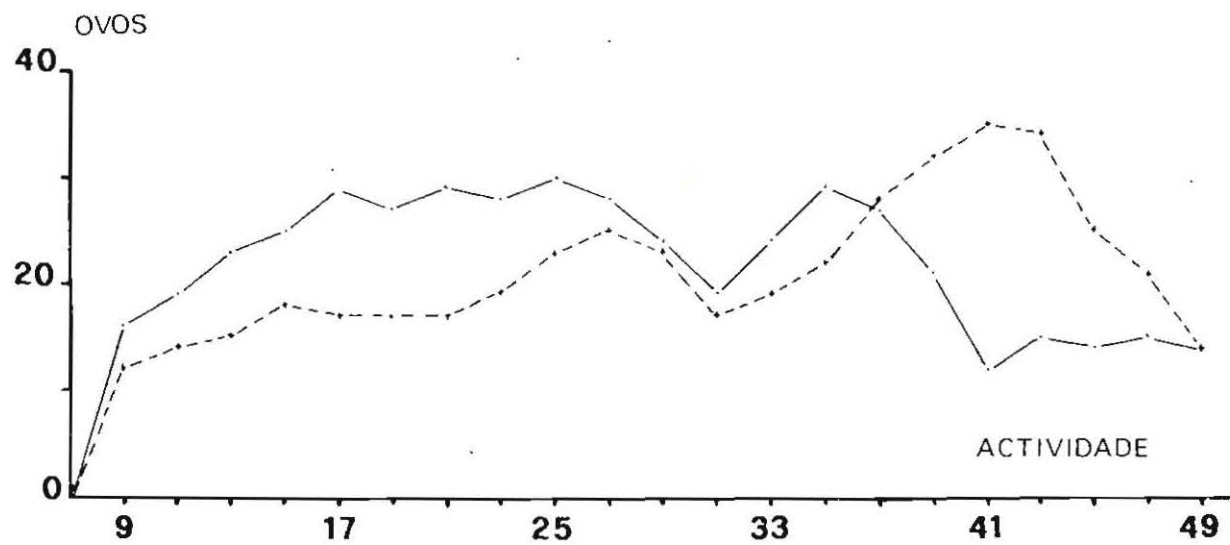


Figura nº 46 - Evolução das posturas (fase de actividade)

. - . - . Testemunhas ; - x - x - x Pesticida

radas na natureza no mês de Abril, ou seja, no início da fase de actividade.

No início do ensaio e até ao 35º dia, as posturas dos insectos testemunhas aumentaram progressivamente de 16 até 30 ovos. As joaninhas tratadas aumentaram mais lentamente, de 12 a 25 ovos. Durante os primeiros 35 dias de postura, as fêmeas testemunhas apresentaram níveis de fertilidade sempre superiores às das fêmeas tratadas com pirimicarbe. Tendo existido uma diminuição da nutrição afidiana (ataque de Braconídeos na cultura de Afídeos) que provocou um abaixamento nas médias de postura, verificou-se mesmo assim que o número de ovos postos pelas testemunhas foi sempre superior.

O teste de "MANN-WHITNEY" aplicado ao conjunto dos resultados deste ensaio deu um valor de  $|Z| = 0,74 < 1,96$ . A hipótese nula é portanto aceite e não existem no conjunto, diferenças significativas entre a série tratada e a série testemunha.

Aplicando o teste unicamente aos dados relativos aos primeiros 35 dias do ensaio, vem  $|Z| = 2,16 > 1,96$  e a hipótese nula é rejeitada com uma segurança superior a 95%. As diferenças registadas nas posturas neste período inicial, revelam-se muito significativas. Isto permite-nos concluir que o pirimicarbe reduz o nível das posturas das joaninhas activas durante as três ou quatro primeiras semanas. Existe em seguida um fenómeno de compensação na fase final das posturas. Este facto é evidenciado pelos valores de  $|Z| = 2,56$  e  $2,16$ , encontrados respectivamente na análise estatística das primeiras semanas de postura dos insectos capturados no campo em Abril (início da actividade) e na cultura de laboratório. A concordância destes valores, obtidos em ensaios efectuados com um ano de intervalo, confirma-nos que o pirimicarbe provoca uma diminuição das posturas das primeiras semanas das fêmeas de S.11 notata em actividade.

### CAPÍTULO III

## ACÇÃO DO PIRIMICARBE SOBRE A DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIAS DAS POSTURAS

### 1 - METODOLOGIA

Desde o início deste tipo de trabalhos pensámos que a análise das modalidades de postura, poderia conduzir a resultados interessantes, caso se efectuasse um exame da sua distribuição em classes. Com este objectivo, distribuimos as posturas segundo o número de ovos, e repartimo-las por classes de grandeza 10.

Efectuámos esta distribuição a partir das posturas obtidas em cada um dos ensaios que descrevemos no capítulo anterior, tanto para as fêmeas de S.11 notata tratadas com pirimicarbe, como para as testemunhas. Os gráficos das figuras 47, 48, 49 e 50, resumem os resultados obtidos a partir de ensaios efectuados respectivamente sobre fêmeas de joaninhas capturadas no início, durante e no fim da diapausa e ainda sobre os predadores provenientes de culturas de laboratório.

### 2 - DISTRIBUIÇÕES DE FREQUÊNCIAS DAS POSTURAS

Vamos examinar estas distribuições em cada um dos estados ecofisiológicos da vida imaginal de S.11 notata.

#### 2.1. Início da diapausa

A figura 47 mostra-nos que a distribuição de frequências apresenta dois máximos, um ao nível das pequenas posturas (o maior) e outro nas grandes posturas (o menor). A distribuição é igual nos insectos tratados e nas testemunhas, o que pressupõe que o aficida não fez efeito. Este facto deverá estar relacionado com as longas reactivações das fêmeas que ultrapassando um mês permitem que o pesticida perca a sua acção. Verificámos, aliás, um fenómeno semelhante de eliminação dos efeitos do aficida nesta fase, quando do estudo da evolução das posturas.

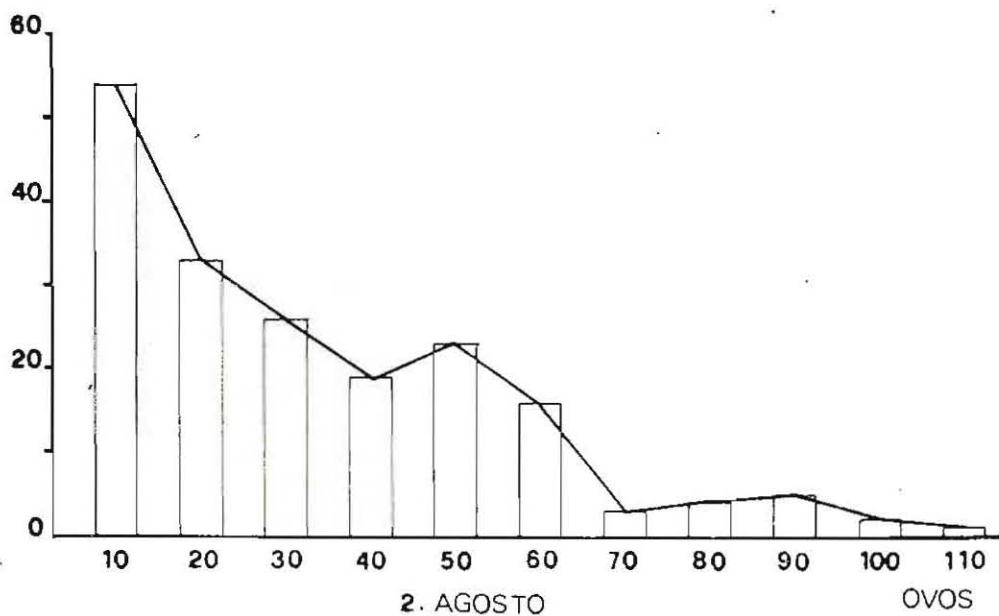
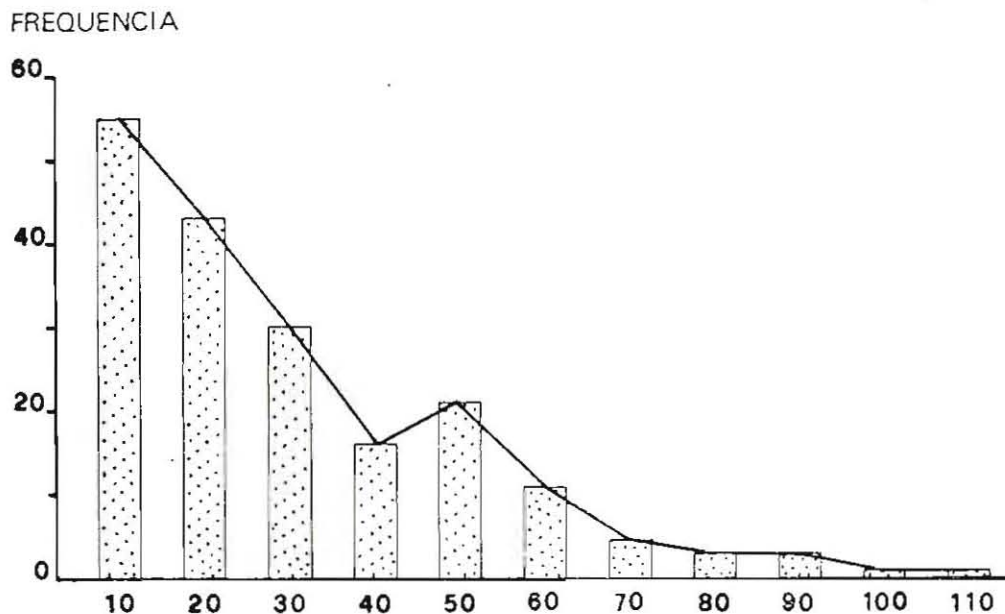




Figura nº 47 - Distribuição de frequências das posturas. AGOSTO = início da diapausa.

-  - Testemunhas
-  - Pesticida

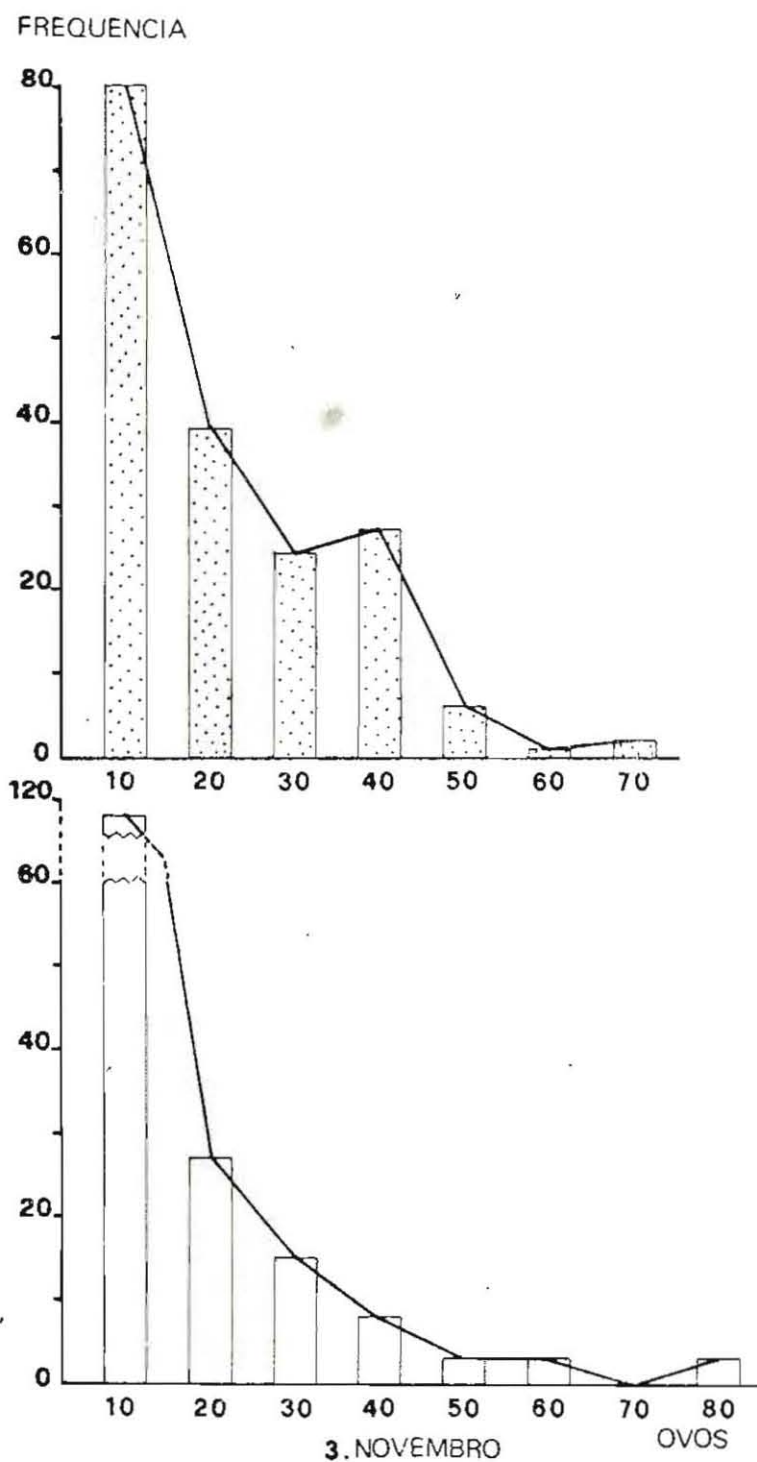




Figura nº 48 - Distribuições de frequências das posturas. NOVEMBRO = durante a diapausa.

-  - Testemunhas
-  - Pesticida

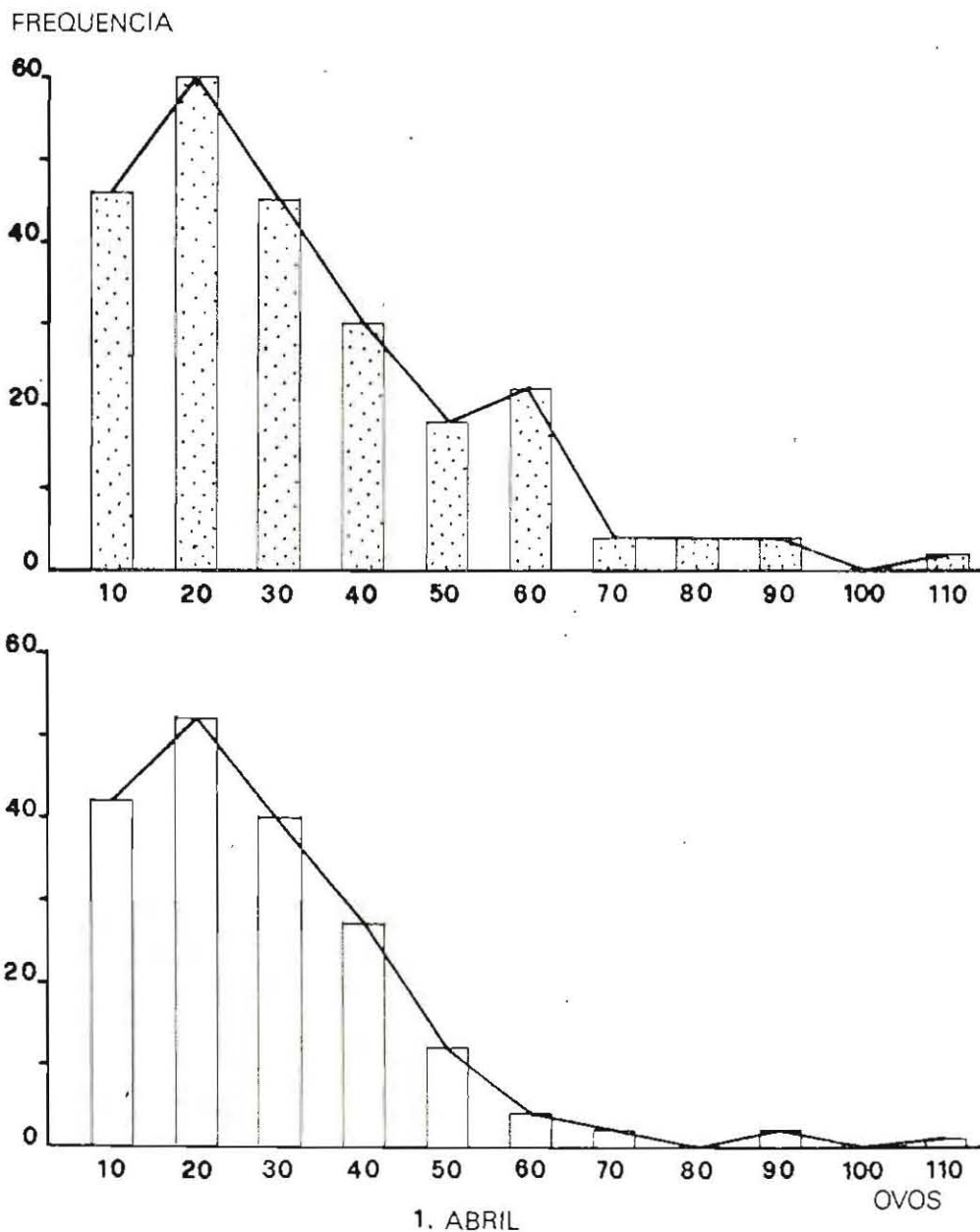




Figura nº 49 - Distribuições de frequências das posturas. ABRIL = fim da diapausa.

-  - Testemunhas
-  - Pesticida

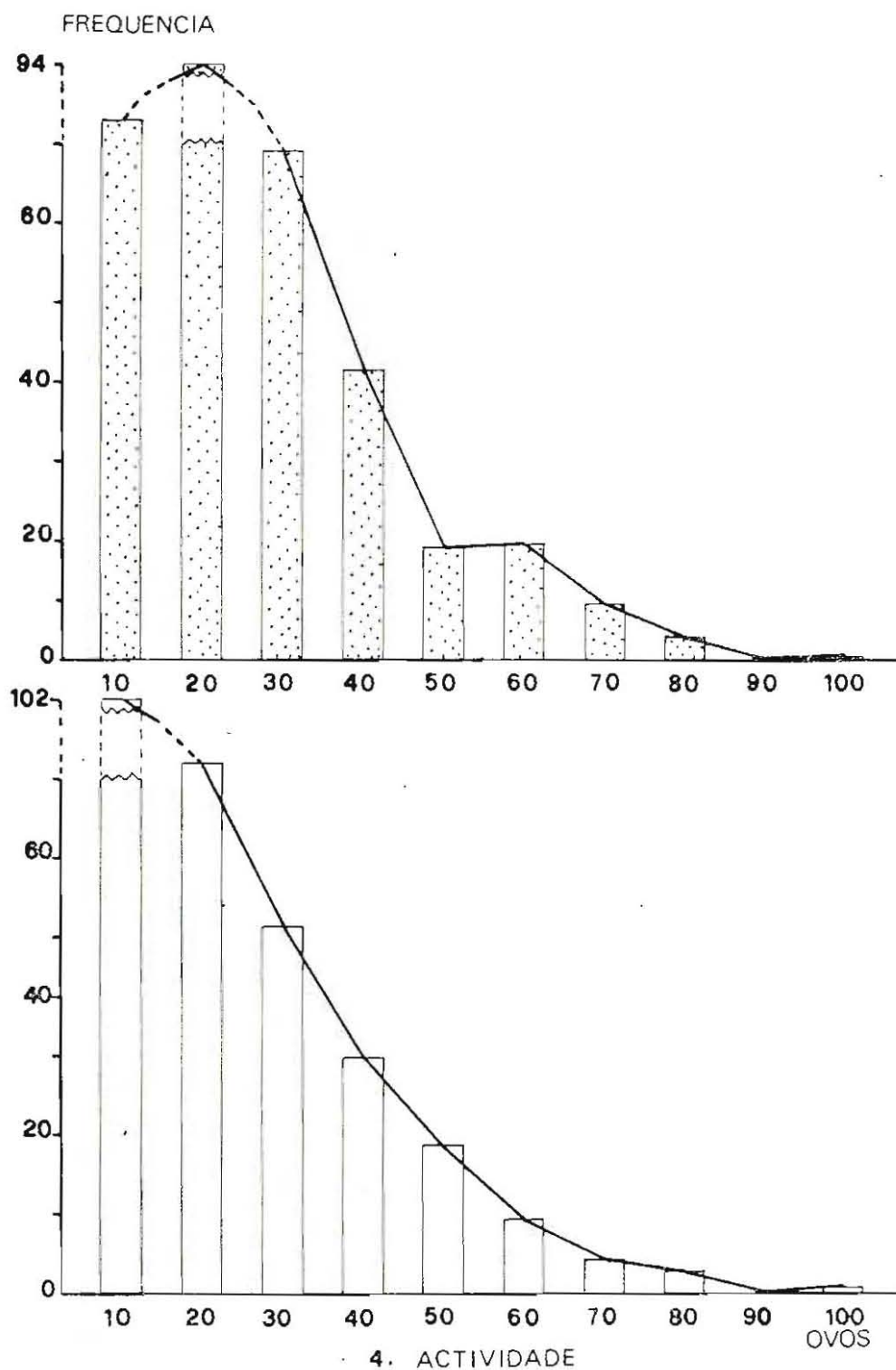




Figura nº 50 - Distribuições de frequências das posturas (Actividade).

-  - Testemunhas
-  - Pesticida

## 2.2. Durante a diapausa

A distribuição de frequências das posturas (figura 48) mostra-nos que enquanto nas testemunhas se mantêm os dois máximos já encontrados anteriormente nas baixas e altas gamas; nos insectos tratados este último máximo praticamente desaparece (acima da classe de 30 ovos as frequências são muito pequenas). Pode pensar-se num efeito do carbamato sobre o mecanismo fisiológico ovariano, já que neste estado ecofisiológico as joaninhas cuja diapausa é interrompida são muito sensíveis aos factores limitantes do meio.

## 2.3. No fim da diapausa

A figura 49, apresenta-nos duas distribuições de frequências bem diferentes:

- a das testemunhas, com valores importantes nas gamas altas (50 a 60 ovos);
- a das fêmeas tratadas com aficida, em que as frequências nas classes de 50 a 60 ovos são pequenas.

Este facto leva-nos a crer que uma certa influência tenha sido exercida pelo aficida, dada a sensibilidade dos insectos à saída da diapausa, enfraquecidos pela estivo-hibernação.

## 2.4. Em actividade (laboratório)

A figura 50 permite-nos observar duas distribuições semelhantes:

- a das testemunhas, com o máximo de frequências numa classe de baixa gama e também com uma certa importância nas classes de 50 a 60 ovos, embora muito menor;
- e os insectos tratados, também com um máximo numa classe de baixa gama (10 ovos) e uma frequência idêntica

na classe de 50 ovos.

Não parece importante a acção do pirimicarbe sobre a distribuição de frequências de posturas das fêmeas de cultura laboratorial. Este facto poderá estar relacionado com o mecanismo de compenção fisiológica da oviposição que já notámos quando da análise da evolução das posturas nos insectos provenientes de cultura laboratorial (capítulo anterior).

## 2.5. Conclusões

Tudo leva a crer que um período de reactivação longo (3 semanas ou mais) permita às fêmeas reactivadas a eliminação dos efeitos do pirimicarbe. Pelo contrário, um período de reactivação curto afectará a distribuição de frequências das posturas nos vários estados ecofisiológicos.

Exceptuam-se os insectos de cultura laboratorial em que o efeito não é tão evidente, possivelmente devido à sua menor sensibilidade aos factores limitantes do meio.

Concluimos ainda que:

- as posturas mais afectadas parecem ser as das classes mais altas (a partir de 40 ovos);
- as posturas das gamas altas não parecem afectadas quando a duração da pré-oviposição ultrapassa 3 semanas.

## 3 - A MORTALIDADE

Durante os ensaios dos efeitos do pirimicarbe sobre a postura, prestamos especial atenção à mortalidade. De facto, uma observação de conjunto sobre a mortalidade (figura 51) permite-nos constatar que:

- durante os ensaios sobre fêmeas no início e durante a diapausa, as joaninhas tratadas com o pirimicarbe, apresentaram uma mortalidade mais elevada;

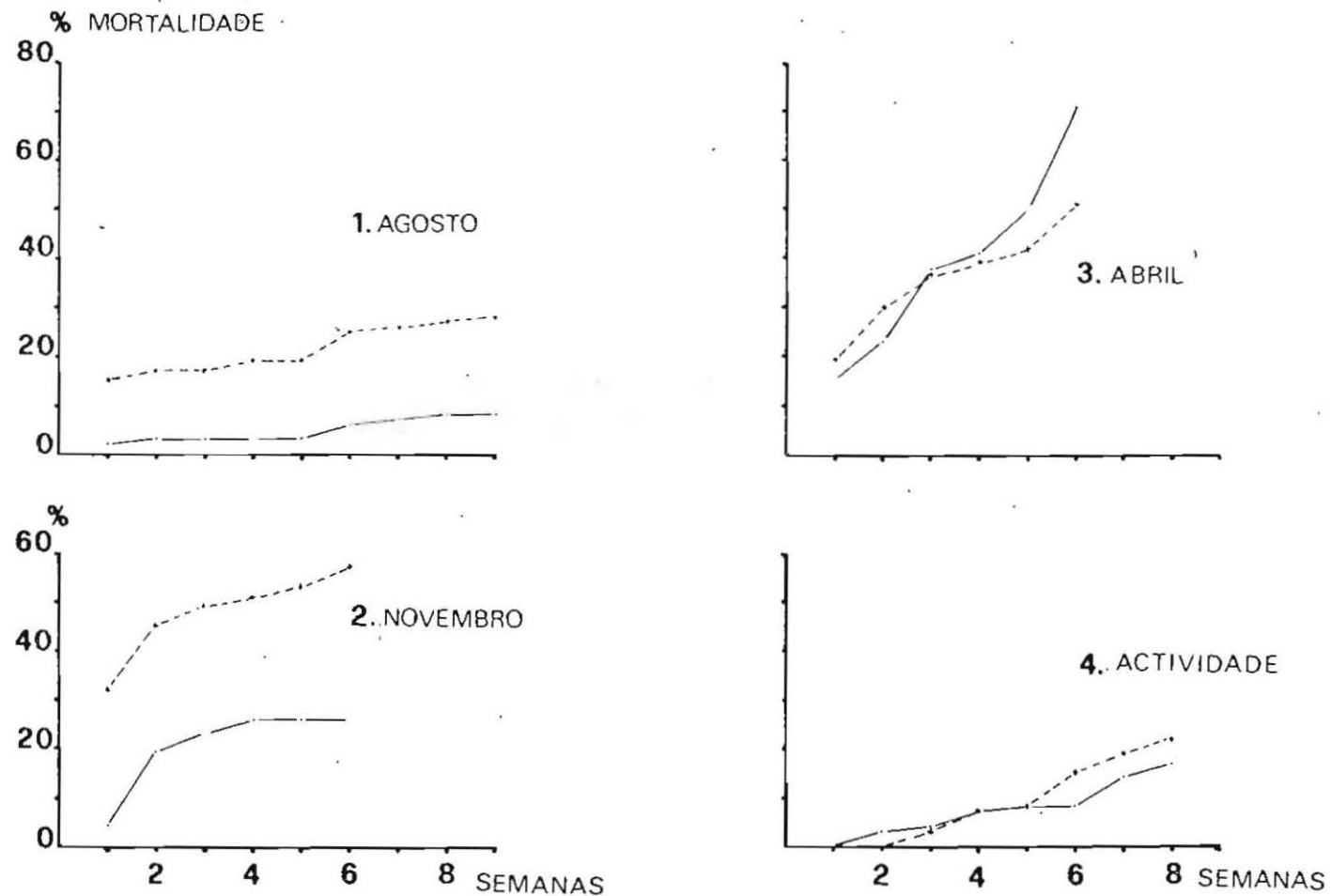


Figura nº 51 - Evolução cumulativa da mortalidade.

(AGOSTO = início da diapausa; NOVEMBRO = durante a diapausa; ABRIL = fim da diapausa; ACTIVIDADE).

- . - . - . Testemunhas ; -- X -- X -- X Pesticida

- durante os ensaios sobre fêmeas em início de actividade ou activas, as percentagens de mortalidade foram idênticas nas testemunhas e tratadas.

Segundo IPERTI (1976), durante a reactivação dos adultos, a percentagem de mortalidade pode atingir valores entre 40 a 50%. A causa principal parece ser o choque térmico sofrido pelos insectos ao passarem do campo para o laboratório. Se juntarmos a isto a acção dum pesticida, podemos esperar aumentos grandes da percentagem de mortalidade, em insectos que já se encontram fisiologicamente perturbados.

Nos insectos no início de actividade ou em actividade, as diferenças entre os que receberam o pirimicarbe e as testemunhas são praticamente inexistentes (figura 51).

## CONCLUSÕES DA QUINTA PARTE

### 1 - EFEITOS DO AFICIDA SOBRE A PRÉ-OVIPOSIÇÃO

Os efeitos do pirimicarbe sobre a duração da pré-oviposição de S.11 notata mostraram que:

- o aficida não teve qualquer efeito sobre as fêmeas capturadas no campo no início e no fim da diapausa, assim como sobre as fêmeas de cultura laboratorial;
- o pirimicarbe aumentou de dois dias a duração da pré-oviposição das joaninhas recolhidas no fim da diapausa.

No campo, na altura em que saem da diapausa, as joaninhas estivo-hibernantes diminuem consideravelmente a duração da pré-oviposição que passa a ser de cerca de 7 dias (IPERTI & HODEK 1976). A figura 52 permite seguir a evolução das durações da pré-oviposição segundo o estado ecofisiológico dos insectos capturados. Se compararmos estes resultados com os resultados que obtivemos, teremos de atribuir a diferença de dois dias à acção do pirimicarbe. Sob o ponto de vista ecológico, um atraso de dois dias nas primeiras posturas dos predadores, numa altura (início da Primavera) em que as populações afidianas se desenvolvem sobre as culturas pode perturbar a sincronização espaço-temporal entre o predador e a presa e provocar um desequilíbrio a favor do fitófago.

### 2 - EFEITOS DO AFICIDA SOBRE A EVOLUÇÃO DAS POSTURAS

Verificou-se que existiu um efeito sobre as posturas das joaninhas tratadas com pirimicarbe durante, no fim da diapausa e em actividade. Verificou-se mesmo uma grande semelhança nos resultados obtidos, entre os ensaios efectuados com insectos estivo-hibernantes no fim da diapausa (portanto, em fase de activação) e insectos em fase de actividade.

O aficida apenas mostrou não exercer qualquer acção sobre os insectos reactivados no início da diapausa.



Uma conclusão importante que se retirou destes ensaios, foi a introdução da noção de tempo mínimo de acção do aficida sobre a postura, segundo o estado fisiológico dos indivíduos sobre os quais se executaram os tratamentos.

Este tempo mínimo de influência do pesticida encontrou -se nas joaninhas tratadas no fim da diapausa e nos insectos provenientes de culturas laboratoriais, ou seja, em actividade. Nos primeiros, o tempo de acção foi de três semanas; nos segundos, de quatro semanas. Nas joaninhas capturadas no campo durante a diapausa, o tempo de acção do pesticida prolongou-se por todo o ensaio.

O tempo mínimo de acção do aficida é evidenciado por um fenómeno de compensação das posturas. Este tipo de recuperação fisiológica dos insectos tratados, que já verificámos também nas larvas e nas pupas (rendimento alimentar, respiração e ritmo cardíaco) traduz-se nos adultos por uma inversão das médias de postura; as fêmeas tratadas, que durante o tempo de acção do pesticida põem menos que as testemunhas, passam depois a ter médias de postura superiores. Esta tendência para "recuperar o atraso" manifestada pelos insectos tratados parece ser uma das consequências mais salientes de todos os ensaios deste trabalho.

### 3 - EFEITOS DO PIRIMICARBE SOBRE A DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIAS DAS POSTURAS

O estudo da distribuição de frequências das posturas evidenciou:

- resultados idênticos nas fêmeas testemunhas, seja qual for o estado ecofisiológico em que foram submetidas ao tratamento aficida;
- resultados idênticos entre as fêmeas tratadas no início da diapausa e as suas testemunhas (ausência de efeito do aficida);
- resultados semelhantes entre os insectos tratados capturados no campo durante e no fim da diapausa e as fê-

meas tratadas provenientes de culturas laboratoriais.

A representação gráfica das distribuições de frequências das posturas das fêmeas testemunhas permite-nos verificar a existência de dois máximos (distribuição bi-modal) de frequência: um máximo incidindo sobre as posturas de baixa gama e outro sobre as posturas de alta gama, sendo este último muito menos acentuado.

Nas fêmeas tratadas, nota-se uma acção do aficida sobre as posturas de alta gama, que são praticamente eliminadas, passando a distribuição a ser uni-modal, com uma assimetria à esquerda (próximo da origem).

O desaparecimento das posturas de alta gama nas joaninhas submetidas à acção do pirimicarbe, provém da redução do rendimento dos ovaríolos dos predadores, incapazes de exprimir as suas potencialidades. Relacionando este facto com o que estudámos anteriormente sobre a acção metabólica deste pesticida, podemos supor que o menor rendimento da produção ovariólica seja devido a uma utilização glucídica excessiva que diminui as possibilidades de formação das reservas ováricas. Esta utilização excessiva está, como já vimos, relacionada com a intensa actividade metabólica provocada pela aplicação do carbamato.

#### 4 - MORTALIDADE

O pirimicarbe revelou ser um pesticida específico, tendo provocado fraca mortalidade, sobretudo nos insectos em actividade, onde esta atingiu apenas 20%, ao fim de 8 semanas de postura. Do ponto de vista da luta integrada, é um aficida eficaz, pois o que se pretende em primeiro lugar é um produto que provoque mortalidade nas pragas a que é dirigido, sem ser letal para os entomófagos.

## DISCUSSÃO

O objectivo deste trabalho foi determinar o conjunto de métodos que permitissem, tão seguramente quanto possível, avaliar os efeitos dos pesticidas específicos sobre os Coccinelídeos afidí-fagos.

Estes efeitos podem ser muito variados, o que obrigou a procurar novas técnicas e métodos. Dividimos as pesquisas em cinco partes, a saber:

### 1ª PARTE - A ESCOLHA DAS ESPÉCIES DE COCCINELÍDEOS

Destinou-se a determinar o tipo de Coccinelídeo que reunisse as melhores condições morfológicas e ecológicas para este tipo de pesquisas. Efectuámos para isso um estudo baseado nas linhas evolutivas de várias espécies nomeadamente em Cheilomenes sulphurea e S.11 notata.

### 2ª PARTE - MATERIAL, MÉTODOS E TÉCNICAS

A maior parte dos métodos e técnicas empregadas são originais ou não o sendo, foram grandemente modificadas e adaptadas ao tipo específico de trabalho. O mesmo se passou quanto ao material utilizado, o qual não sendo muito sofisticado, exigiu que dele se tirasse o máximo rendimento. Achamos por isso importante dedicar um lugar especial a esta parte, que constituiu a base de todo o trabalho de pesquisa.

### 3ª PARTE - EFEITOS DE UM AFICIDA SOBRE AS LARVAS

Em trabalho anterior, efectuado com o mesmo fim (GARCIA 1976) verificámos que o estudo das potencialidades biológicas das larvas de Coccinelídeos submetidas à acção de produtos fitossanitários exigiu uma análise mais aprofundada. Foi o que fizemos agora, usando três técnicas diferentes:

- uma clássica, utilizando a voracidade;
- outra recente, usando o consumo alimentar;

- outra que nos parece ser pela primeira vez utilizada nos Coccinelídeos, o método respirométrico.

#### 4ª PARTE - EFEITOS DO AFICIDA SOBRE O RITMO CARDÍACO DAS PUPAS

Procurando novas metodologias, ensaiámos os efeitos do aficida estudado sobre o ritmo cardíaco das pupas de S.11 notata após aperfeiçoamento de um método experimentado antes sobre as pupas de Cheilomenes sulphurea.

#### 5ª PARTE - EFEITOS DO AFICIDA SOBRE A POSTURA DE UM COCCINELÍDEO AFIDÍFAGO

Tratou-se nesta parte do estudo, de abordar sob um ângulo ecológico, os efeitos do pirimicarbe sobre a postura de S.11 notata. Não nos limitámos só à análise da evolução da postura sob o efeito do pesticida, mas procurámos relacionar esse efeito com o estudo ecofisiológico dos insectos, a fim de podermos extrair conclusões mais precisas sobre os efeitos metabólicos dos produtos pesticidas.

#### 1 - ESCOLHA DAS ESPÉCIES DE COCCINELÍDEOS

Os estudos desenvolvidos nesta parte do nosso trabalho basearam-se no conceito de direcção evolutiva ou ortogénese de JEANNEL (1960). A existência de espécies cuja especialização é progressiva, como no caso das linhas de Coccinelídeos estudados, torna cada vez mais evidente a dependência dessas espécies em relação ao meio ambiente. Demonstrámos assim que, pela sua evolução, S.11 notata é uma espécie vulnerável às alterações ecológicas e portanto um excelente material para estudos da acção dum factor limitante do meio, como são os pesticidas.

É devido à sua especialização que podemos estudar os efeitos do pirimicarbe sobre os vários estados ecofisiológicos, re-

sultantes de ser univoltina e estivo-hibernante.

No caso de Cheilomenes sulphurea, passa-se exactamente o inverso: polivoltina, pouco especializada e muito resistente às variações dos factores externos, pode ser encarada como a antítese e ecológica de S.11 notata. No entanto, pensamos que precisamente pelas suas características de rusticidade, Cheilomenes sulphurea deverá ser melhor estudada, com vista à sua produção maciça para utilização em luta integrada, principalmente em climas tropicais.

## 2 - MATERIAL, MÉTODOS E TÉCNICAS

As técnicas e os métodos utilizados no estudo da influência de certos pesticidas específicos não podem ser julgados isoladamente mas apreciados num todo. Algumas técnicas e métodos, revelaram-se melhor adaptadas a S.11 notata outras em Cheilomenes sulphurea. Dentro de cada uma das espécies, podemos ainda dizer que a metodologia deve ser adaptada à fase do ciclo biológico. É o caso das pupas estudadas, onde verificámos que a técnica cardiométrica, obteve resultados complementares dos ensaios que (com outras técnicas) realizámos sobre as larvas.

Podemos resumir dizendo que, para este tipo de investigações, é necessário:

- possuir técnicas e instalações laboratoriais de produção de predadores em funcionamento durante todo o ano;
- um conhecimento aprofundado da biologia e ecologia da espécie estudada, no campo e no laboratório;
- possuírem-se meios sensíveis para os controlos ponderais das larvas e dos pesticidas;
- um conhecimento do produto pesticida, que deve ser tão específico que não afecte grandemente a mortalidade dos predadores a estudar (caso do produto empregado, pirimicarbe);
- uma técnica de estudo da voracidade larvar e do consumo alimentar das larvas, se possível complementada com técnicas de avaliação de certos efeitos fisiológicos, principalmente sobre a respiração.

### 3 - EFEITOS DE UM AFICIDA SOBRE AS LARVAS

Durante os ensaios da acção do pirimicarbe sobre as larvas, procedemos primeiro à avaliação dos efeitos sobre Cheilomenes sulphurea e depois sobre S.11 notata. Podemos dizer que os efeitos encontrados em Cheilomenes sulphurea nos permitiram adaptar e melhorar a técnica que foi usada sobre S.11 notata. Assim, verificámos que o pirimicarbe provocava a diminuição da voracidade em todos os estados larvares de Cheilomenes. Mas as percentagens de mortalidade no 1º e 2º estados larvares de Cheilomenes sulphurea e o facto das larvas do 4º estado dos Coccinelídeos contribuírem com a maior parte do consumo alimentar (TREPANIER-BLAIS 1972 ; FERRAN & LARROQUE 1977), levaram-nos a efectuar os ensaios do pirimicarbe sobre o consumo alimentar larvar somente sobre as L4 de Semiadalia undecimnotata. Os efeitos do pirimicarbe sobre o último estado larvar de S.11 notata revelaram-se através de alterações:

- do consumo alimentar;
- da evolução ponderal;
- do rendimento alimentar;
- da duração do estado larvar e da fase alimentar.

Estas potencialidades biológicas deram-nos em conjunto uma ideia precisa da acção do pesticida, a qual se pode sintetizar dizendo que o metabolismo das L4 foi profundamente alterado.

O pesticida provocou diminuições significativas do consumo alimentar e dos pesos médios larvares. Saliente-se no entanto que para um mesmo peso, as larvas tratadas consomem mais alimento: isto indica um desperdício de energia provocado pelo pesticida.

O rendimento alimentar (expresso em percentagem) é a razão entre o aumento de peso num dado intervalo de tempo e o consumo alimentar correspondente. Este parâmetro revelou-se muito importante: nas primeiras 36 horas após o tratamento com o pirimicarbe, existe uma diminuição importante do rendimento alimentar das larvas (-19,41% no primeiro controlo, -6,45% no segundo controlo e -1,43% no terceiro controlo). A partir das 48 horas que se seguem ao tratamento, os rendimentos alimentares das larvas tratadas passam a ser superiores, como se tivessem necessidade de recuperar o atraso. O 5º, 6º, 7º e 8º controlos correspondentes aos últimos 2

dias do 4º estado larvar, mostram rendimentos alimentares favoráveis às larvas tratadas (respectivamente +3,65%, +4,94%, +0,37% e +20,75%). À entrada da pré-ninfa as larvas tratadas apresentam um rendimento alimentar 16,30% superior às testemunhas.

As alterações metabólicas que o aficida produz são certamente responsáveis por estas duas anomalias essenciais que encontramos:

- perdas de peso das larvas tratadas com pirimicarbe, para consumos alimentares iguais aos das testemunhas (logo, desperdício energético);
- rendimento alimentar após o tratamento com o aficida menor que o das testemunhas, logo seguido de recuperação do rendimento, o que significa que existe um mecanismo de desintoxicação ou de eliminação (possivelmente por via degradativa) dos efeitos do pesticida.

Utilisámos a respirometria para esclarecer este aspecto. Verificámos que existiam duas alterações no metabolismo respiratório provocadas pelo pirimicarbe:

- aumento do consumo de  $O_2$ ;
- uma diminuição muito acentuada seguida de aumento do  $CO_2$  expirado.

Ora, depois dos trabalhos de MOREAU (1973) sabemos que o consumo de oxigénio e a expiração do anidrido carbónico nas larvas do último estado decrescem progressivamente. Também nós, nas larvas testemunhas, encontramos um decréscimo progressivo dos valores de  $O_2$  consumido e  $CO_2$  expirado (figura 53).

No que respeita ao quociente respiratório (QR) das larvas tratadas verificámos um aumento de 73,8% entre o início e o fim do último estado larvar. Este resultado coincide com o obtido por MOREAU et al. (1975) que encontraram igual efeito sobre os QR das larvas do quarto estado de dois Lepidópteros (Pieris brassicae L., Thaumetopoea pityocampa S.) ao testar um pesticida que agia por inibição da síntese da quitina, provocando o bloqueamento da muda,

Resultados semelhantes foram também obtidos com o DDT (HARVEY & BROWN 1951) tendo-se provado que a injeção de DDT em diferentes insectos provocava acelerações imediatas no consumo de  $O_2$  de cerca de 70%. Em seguida dava-se uma depressão que conduzia

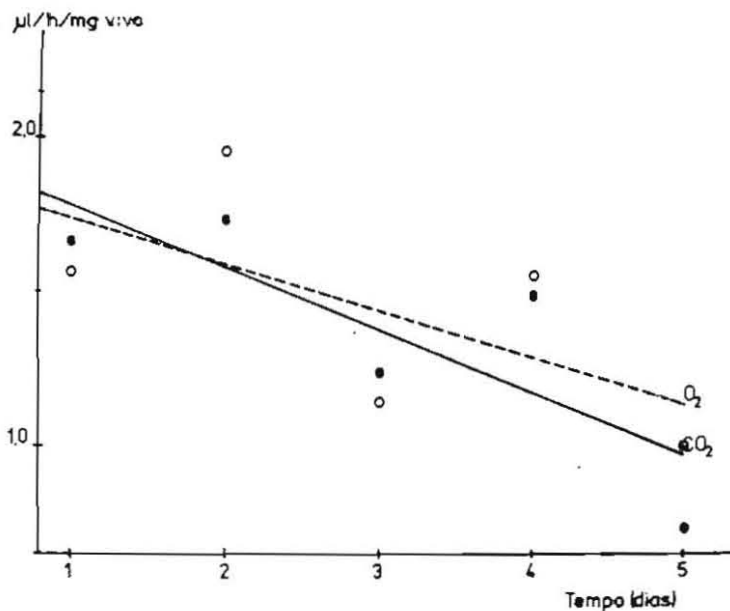


Figura nº 53 -  $\text{O}_2$  consumido e  $\text{CO}_2$  expirado em larvas testemunhas do 4º estado de S.11 notata.

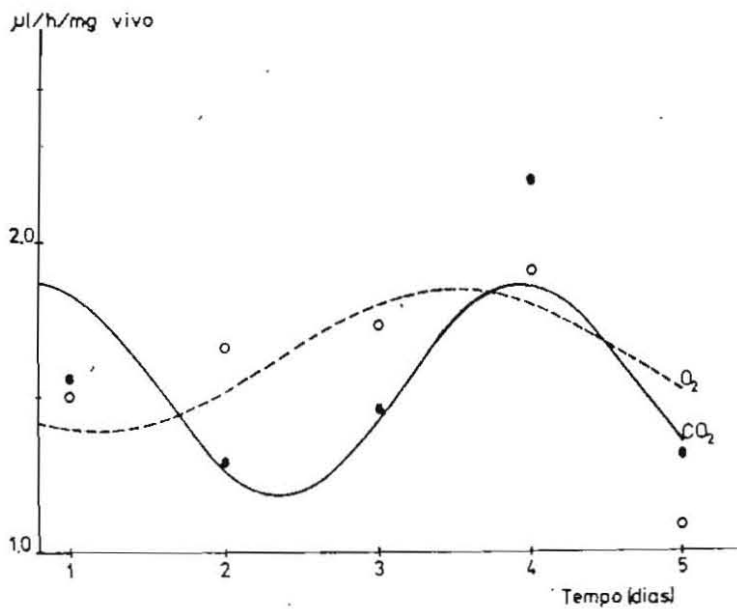


Figura nº 54 -  $\text{O}_2$  consumido e  $\text{CO}_2$  expirado em larvas tratadas do 4º estado de S.11 notata.

à morte dos insectos nalgumas horas.

Com as L4 de S.11 notata dava-se também uma aceleração do consumo de  $O_2$  após a aplicação do pirimicarbe, mas esta aceleração é progressiva e no último dia do estado larvar diminui, sem provocar a morte das larvas. No que respeita ao  $CO_2$  expirado, verificamos que diminuía acentuadamente nas primeiras 48 horas após a aplicação do pirimicarbe, fenómeno que confirma a acção imediata do pesticida. Os QR são, nesta fase, menores que 1. Dá-se depois uma subida de  $CO_2$  expirado, acompanhando e até ultrapassando o  $O_2$  e os QR passam a ser superiores a 1 (figura 47).

O comportamento de  $O_2$  e do  $CO_2$  das L4 de S.11 notata sob a acção do carbamato empregado leva-nos à mesma conclusão que obtivemos ao examinar a sua acção sobre o rendimento alimentar.

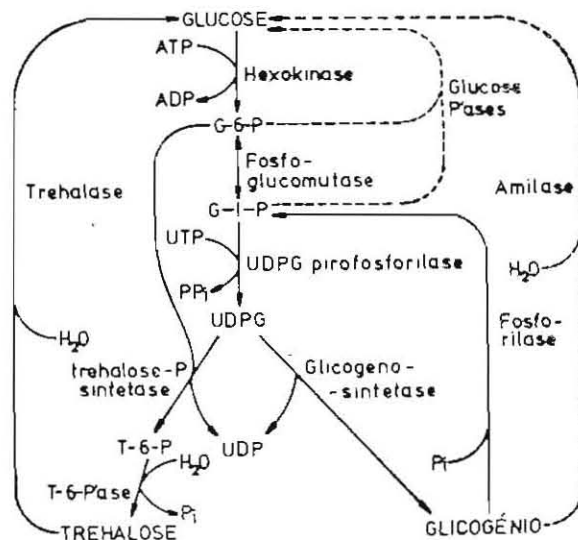
Há primeiro (nos dois dias seguintes ao tratamento) uma acção imediata que neste caso se traduz por uma diminuição de  $CO_2$ , com o consumo de  $O_2$  estacionário (figura 54). Consequentemente o QR é menor que 1 o que se pode interpretar dum modo global como sendo o resultado da formação de glúcidos a partir de lípidos (WOOD 1973). Depois, dá-se um fenómeno de recuperação, com aumento de  $CO_2$  e do  $O_2$  (mais rapidamente aquele do que este) e o QR passa a ser superior a 1. Esta fase corresponderia a uma formação de lípidos a partir dos glúcidos.

Sabemos que nos insectos as reservas glucídicas são sobretudo armazenadas no tecido adiposo ou "corpos gordos". Este tecido funcionaria assim como o tecido hepático e armazenaria os glúcidos sob a forma de glicogénio (MOREAU 1973).

A trehalose constituiria uma reserva circulante, característica dos insectos (WYATT & KALF 1956 in MOREAU 1973). O glicogénio e a trehalose são utilizáveis graças a duas enzimas, a fosforilase para o primeiro e a trehalase para a segunda.

Estas enzimas transformam aqueles compostos em glucose, segundo o esquema que se apresenta na página seguinte.

Durante o último estado larvar dos insectos holometabólicos, como os Coccinelídeos, há sempre um armazenamento de glicogénio e de trehalose. Ora, sabemos (MOREAU 1973) que um alto grau de utilização de trehalose é o sinal dum intensa actividade metabólica em que o catabolismo é superior à síntese.



Ligações metabólicas entre a Glucose, o Glicogénio e a Trehalose

A manutenção duma tal actividade pode conduzir à morte do insecto. Uma intensificação do metabolismo respiratório como a que encontramos nos nossos trabalhos leva-nos a crer que o pesticida agiu deste modo, intensificando a utilização das reservas circulantes de trehalose.

Qual a via metabólica de utilização das reservas provocada pelo aficida, eis uma questão importante que surge a seguir. Possivelmente, o uso de moléculas de glucose marcadas com carbono radioactivo (MOREAU 1973) resolverá o problema e poderemos então entender qual a acção metabólica do aficida e qual o mecanismo fisiológico que as larvas do 4º estado de S.11 notata possivelmente utilizam para contrariar as acções negativas do pesticida sobre o metabolismo respiratório dos predadores. Esta técnica de marcação da glucose pelos radioelementos exige a utilização de um radiopirómetro e é nossa intenção pô-la em prática em colaboração com a Universidade de Bordéus.

#### 4 - EFEITOS DE UM AFICIDA SOBRE O RITMO CARDÍACO DAS PUPAS

O pirimicarbe é um N,N - dimetilcarbamato. Segundo MELNIKOV (1971) os ésteres dos ácidos N - alquil - carbâmicos têm propriedades insecticidas, provocando a inibição da colinesterase. Os fenil-metil carbamatos deprimem a actividade colinesterásica tanto mais quanto maior for a resistência do composto à hidrólise. Por outro lado, os ésteres fenílicos do ácido N - metil carbâmico têm ordens de grandeza diferentes para a inibição da colinesterase e

as relações das suas propriedades insecticidas com a sua actividade anticolinesterásica têm uma natureza muito complexa, ainda não suficientemente estudada (MELNIKOV 1971; HUFFAKER et al. 1976).

A técnica mecanocardiográfica que utilizámos mostrou-nos que o pirimicarbe reduzia a actividade cardíaca nas 24 horas após o tratamento. Demonstrou-se ainda que 48 horas após o tratamento, os efeitos do aficida sobre a actividade cardíaca desaparecem.

Sabemos que a substância transmissora do influxo nervoso em Coccinella septempunctata é a acetilcolina (SINGH & RAI 1976) que é hidrolizada pela acetilcolinesterase, transformando-se em ácido acético e colina. Este processo repete-se cada vez que um impulso chega aos terminais pré-sinápticos (NASON & DEHAN 1973). Como os carbamatos inibem a acetilcolinesterase, a acetilcolina não é degradada e acumula-se nas sinapses nervosas ou nas placas motoras das junções mioneurais, bloqueando a transmissão do influxo nervoso.

Como sabemos que a inibição da acetilcolinesterase pelos carbamatos é gradativa, casos haverá em que parte da acetilcolina não é degradada e bloqueará parcialmente o influxo nervoso.

Isto explicaria o facto do pirimicarbe agir sobre o ritmo cardíaco das pupas estudadas, diminuindo-o, sem ser no entanto letal. Poder-se-á mesmo explicar a acção aficida do pirimicarbe e a sua fraca acção insecticida sobre os Coccinelídeos (à dose pulverizada) pelo facto da inibição da acetilcolinesterase ser mais intensa nos Afídeos que nos Coccinelídeos. Também ficou evidente que a acção do carbamato desaparece 48 horas depois da sua aplicação, o que nos permite pensar que existe nas pupas estudadas um mecanismo de degradação do pirimicarbe ou de eliminação dos seus efeitos anticolinesterásicos. As técnicas cardiométricas abrem-nos assim perspectivas no estudo futuro dos efeitos dos carbamatos sobre a transmissão do influxo nervoso.

## 5 - EFEITOS DUM AFICIDA SOBRE A POSTURA

Resumem-se em três aspectos principais: a pré-oviposição, a evolução da postura e a distribuição desta em classes de frequência.

### Pré-oviposição

Exceptuando o caso dos insectos reactivados no fim da diapausa, em que a pré-oviposição foi prolongada dois dias, não houve qualquer outro efeito especial. Este alongamento de 2 dias pode ser devido à extrema fragilidade das fêmeas quando saem da estivo-hibernação, ficando muito sensíveis às alterações do meio.

No entanto, relacionando a duração da pré-oviposição nos predadores reactivados em início de diapausa, com a evolução das respectivas posturas e a sua distribuição de frequências, verificámos que é este o único caso em que o pesticida não fez efeito sobre a postura. A explicação poderá estar no facto das reactivações serem muito longas nos insectos em início de diapausa (superiores a um mês) permitindo assim a degradação do pesticida. Por outro lado, é possível que o efeito anticolinesterásico seja praticamente nulo devido à quase ausência de actividade do predador.

### Evolução das posturas

Dois fenómenos se evidenciaram durante as observações: a existência de um tempo mínimo de acção do aficida e o fenómeno de compensação. O tempo mínimo de acção são as três semanas iniciais em que as posturas dos insectos tratados são inferiores às das testemunhas.

Salienta-se a semelhança entre este comportamento na postura (uma fase inicial depressiva, seguida de recuperação) e os outros efeitos já encontrados sob o efeito do pirimicarbe (rendimento alimentar, respiração e ritmo cardíaco). Durante 3 semanas, no mínimo, o aficida provocou em todos os estados ecofisiológicos de S.11 notata, um abaixamento das posturas médias. Seguidamente - e também em todos os casos em que o pesticida fez efeito - houve recuperação, na qual as posturas dos animais tratados excederam as das testemunhas.

### Distribuição das frequências de postura

A distribuição das frequências de postura de S.11 nota-

ta é normalmente do tipo bi-modal. Quando tratadas com o pirimicarbe verifica-se a eliminação de um dos seus máximos, o das altas gamas.

A única excepção surgiu no caso das fêmeas do início da diapausa, em que a longa reactivação eliminou, segundo nos parece, os efeitos do pesticida, fazendo reaparecer as altas gamas de postura nos animais tratados.

A explicação da eliminação das posturas de alta gama nos predadores tratados deve atribuir-se, em nossa opinião, a uma diminuição do rendimento ovárico. Sendo assim, será difícil aos ovaríolos possuírem um ritmo normal de produção de óvulos, uma vez que os circuitos metabólicos de utilização das reservas glucídicas são afectados.

#### O problema da mortalidade

Sempre que realizámos uma experiência, tomámos em especial atenção a mortalidade que o aficida provocava sobre os predadores. Para este tipo de trabalhos, só nos interessa ensaiar pesticidas cujo impacto ecológico seja aceitável, pois o que se pretende é estudar métodos de estudo dos efeitos não letais dos produtos. É evidente que um pesticida que se pretenda específico e que afecte o equilíbrio biológico do agro-ecossistema, agindo também sobre os inimigos naturais das pragas, terá de ser posto de lado à partida.

O pirimicarbe revelou-se do ponto de vista biológico e ecológico ao longo dos cinco anos que o estudámos, um dos melhores aficidas que até este momento conhecemos. Pensamos que, devido aos seus mecanismos de acção fisiológica, este tipo de pesticidas pode vir a ter grande futuro em luta integrada, desde que os seus efeitos negativos sejam cada vez melhor estudados e evitados.

Parece-nos, no entanto, que os valores de mortalidade provocados pelo pirimicarbe sobre os primeiros estados larvares deverão ser reduzidos. Acreditamos que, prosseguindo os estudos no campo da ecofisiologia, os efeitos negativos sobre a mortalidade dos primeiros estados dos predadores poderão ser eliminados.

## CONCLUSÕES

Os trabalhos de investigação concernentes à obtenção de novos métodos de avaliação dos efeitos dos pesticidas específicos sobre os predadores afidípagos da família dos Coccinelídeos, deverão ter em consideração que:

### 1 - A escolha do material biológico

Deve efectuar-se através dum estudo aprofundado das linhas de evolução morfológica, biológica e ecológica dos predadores. A comparação entre vários Coccinelídeos, incidiu especialmente entre Cheilomenes sulphurea e Semiadalia undecimnotata, mostrando-se preferencial a utilização desta última. Os resultados obtidos confirmaram-nos a escolha, pela variedade de potencialidades biológicas disponíveis e pela alta sensibilidade revelada à acção do pesticida escolhido.

### 2 - Os métodos e técnicas empregados

Exigem um laboratório possuidor duma unidade de produção permanente de predadores que esteja operacional em qualquer época do ano. O material usado deve possibilitar ensaios de controlo alimentar, ponderal, cardiométrico e respirométrico. O pesticida a usar nos testes deve ser tão específico quanto possível, como é o caso do pirimicarbe. Os métodos de controlo ponderal da aplicação do pesticida deverão ter um rigor mínimo de 0,01 miligramas. A técnica de aplicação do pesticida revelou-se eficaz.

### 3 - Os efeitos do aficida sobre as larvas

Puderam ser perfeitamente avaliadas por intermédio de:

a) Controlo do consumo alimentar médio em função do peso médio, que se revelou um método muito positivo pois permite-nos afirmar que:

- duas larvas de peso médio igual, sendo uma tratada e

- outra testemunha, apresentam consumos diferentes, sendo superior o da larva tratada;
- duas larvas de iguais consumos alimentares, sendo uma tratada e outra testemunha, têm pesos diferentes, sendo inferior o da larva tratada.

Estas afirmações permitem-nos concluir que os organismos dos animais tratados, tendo necessidades energéticas superiores e sendo esta energia despendida por um metabolismo alterado apresentam valores diferentes de peso e consumo alimentares, relativamente às testemunhas.

b) Rendimento alimentar é a razão entre o aumento de peso num certo tempo e o consumo alimentar nesse tempo, expresso em percentagem. Concluiu-se que o rendimento alimentar atravessa três fases:

- uma primeira fase, que dura as 36 horas seguintes ao tratamento pesticida, em que os rendimentos das larvas tratadas são inferiores aos das testemunhas (fase depressiva);
- uma segunda fase, 48 horas após o tratamento, em que os rendimentos se equilibram (fase de equilíbrio);
- uma terceira fase iniciada na manhã do quinto dia após o tratamento em que as larvas têm rendimentos alimentares superiores aos das testemunhas e que dura até à pré-ninfore, altura em que os pesos finais das larvas tratadas e das testemunhas se tornam iguais (fase de recuperação).

c) Método respirométrico, em que a influência do pirimicarbe é posta em evidência pela análise experimental do consumo de  $O_2$ , do volume de  $CO_2$  expirado e do QR (quociente respiratório). Determinou-se que:

- existe uma estimulação do consumo de  $O_2$  após a aplicação do aficida. Este aumento é evidente a partir do 2º dia após o tratamento (acção imediata do aficida);
- o  $CO_2$  expirado sofre inicialmente (primeiras 36 horas após o tratamento) uma queda muito sensível, aumentan-

do depois rapidamente e ultrapassando os valores de  $O_2$  (fase de recuperação);

- o QR é inicialmente inferior a um (fase logo após o tratamento aficida) tornando-se superior à unidade a partir da manhã do 3º dia após o tratamento;
- nas larvas testemunhas o consumo de  $O_2$ , a expiração do  $CO_2$  e os QR são progressivamente decrescentes durante todo o 4º estado larvar de S.li notata.

Concluimos que o metabolismo respiratório dos predadores é profundamente alterado pela acção do pirimicarbe, notando-se 2 fases diferentes. A primeira, em que o quociente respiratório das larvas tratadas é inferior a 1, deverá corresponder a uma fase de utilização excessiva de glúcidos, particularmente de trehalose. A segunda, deve corresponder ao inverso, ou seja a um armazenamento de reservas glucídicas nos "corpos gordos".

d) Duração do último estado larvar, em que se verificou em média um prolongamento por mais 12 horas nas larvas tratadas. Verificou-se também um aumento na duração da fase alimentar das larvas tratadas por igual período de tempo.

#### 4 - Efeitos do aficida sobre o ritmo cardíaco das pupas

O método cardiométrico revelou-nos que a acção anticolinesterásica do carbamato utilizado se pode evidenciar através do estudo da actividade cardíaca das pupas. É particularmente eficaz neste tipo de estudos a avaliação da distribuição de batimentos cardíacos por classes, que nos permitiu concluir que o pirimicarbe reduzia a actividade cardíaca nas 24 horas após o tratamento. Também ficou demonstrado que a acção do carbamato sobre a actividade cardíaca desaparece 48 horas depois da sua aplicação, o que mostra que os insectos possuem mecanismos de degradação do pirimicarbe ou de inibição dos seus efeitos anticolinesterásicos.

#### 5 - Efeito do aficida sobre a postura

Notaram-se efeitos sobre a postura a 3 níveis:

- a pré-oviposição, em que a conclusão principal consiste na evidência da eliminação dos efeitos do aficida sempre que a duração da pré-oviposição ultrapasse três semanas (fêmeas em plena diapausa);
- a evolução das posturas, em que se verificou uma acção sobre a fisiologia das fêmeas, sendo as médias dos ovos postos pelos insectos tratados, pelo menos durante três semanas, inferiores às das testemunhas;
- a distribuição de frequências das posturas que, tendo normalmente um número importante de posturas de alta gama (de 40 a 60 ovos), vê essas posturas muito reduzidas nos insectos tratados.

#### 6 - A mortalidade

O pirimicarbe revelou-se um bom pesticida específico, com mortalidade praticamente nula no último estado larvar. As pulverizações com o produto provocam no entanto mortalidade importante nas larvas jovens (1º e 2º estados) o que pode reduzir o impacto ecológico do predador em quase 50%. Este aspecto negativo deverá ser eliminado pela procura de nova formulação química ou pela redução de doses, desde que se mantenham no entanto as boas qualidades aficidas do produto.



Para finalizar, podemos resumir que os métodos utilizados deram resultados que em nossa opinião, correspondem em grande parte, aos objectivos que o grupo "Pesticides and Beneficial Arthropods" da Organização Internacional da Luta Biológica se propôs a atingir, relativamente aos ensaios de pesticidas sobre os Coccinelídeos.

Podemos dizer que esta metodologia é funcional e deu re-

sultados práticos, cuja segurança foi estudada estatisticamente. Os testes de pesticidas específicos sobre Coccinelídeos poderão no futuro, segundo pensamos, ter em conta as vantagens oferecidas. Isto permitirá possivelmente uma maior facilidade na análise dos efeitos dos pesticidas específicos usados em Luta Integrada.

Abrem-se novas perspectivas sobretudo no campo da ecofisiologia, para todos aqueles que se dedicam a preparar, dentro de normas ecológicas, as novas gerações de pesticidas e as regras adequadas para a sua utilização.



Adulto de Semiadalia undecimnotata SCHN. ♂

Ampliado 13 vezes

## RESUMO

Este trabalho teve como objectivo determinar uma metodologia de avaliação dos efeitos de certos pesticidas específicos utilizados em luta integrada sobre os predadores afidípagos da família Coccinellidae.

A escolha dos predadores obedeceu a critérios de evolução morfológica, biológica e ecológica. Os métodos, as técnicas e o material foram escolhidos com a finalidade de evidenciar os efeitos não letais de um aficida (o pirimicarbe), abrindo assim perspectivas para o melhoramento das qualidades dos pesticidas específicos e das técnicas de luta biológica e luta integrada.

Um dos métodos de avaliação dos efeitos do pirimicarbe incidiu sobre a voracidade larvar de Cheilomenes sulphurea (OLIVIER) e outro sobre o consumo alimentar das larvas do último estado de Semiadalia undecimnotata SCHNEIDER. Verificou-se que a voracidade larvar de Ch. sulphurea foi menor em todos os estados larvares, após o tratamento com o aficida. Constatou-se que em Semiadalia undecimnotata, os efeitos do pesticida se traduziram por:

- uma diminuição do consumo alimentar,
- uma diminuição do aumento do peso larvar,
- uma diminuição do rendimento alimentar,
- um prolongamento da duração do último estado larvar e da fase alimentar por mais doze horas.

Os efeitos metabólicos estudados pelo método respirométrico, provaram que o pirimicarbe causou um aumento muito sensível do  $O_2$  consumido e uma queda seguida de uma subida no  $CO_2$  expirado. Os valores do QR nas larvas tratadas foram assim, primeiro inferiores a 1 (utilização das reservas glucídicas) e depois superiores a 1 (acumulação de glúcidos).

O método cardiométrico mostrou que o pirimicarbe reduz a actividade cardíaca das pupas nas 24 horas após o tratamento, havendo depois uma recuperação (48 horas após o tratamento, os ritmos cardíacos estavam equilibrados).

Na postura, as consequências mais importantes revelaram-

-se nas médias dos ovos postos. Estas eram inferiores nas testemunhas durante pelo menos 3 semanas. Na distribuição de frequências das posturas, as de alta gama (entre os 40 e 60 ovos) eram sempre reduzidas nos insectos tratados. Passado este período de efeito do aficida notou-se um fenómeno de recuperação e as posturas dos insectos tratados excediam as testemunhas.

A mortalidade foi sempre pouco importante, excepto nos primeiros estados larvares (quase 50% em Cheilomenes sulphurea).

Estas técnicas permitiram a avaliação qualitativa e quantitativa dos efeitos do pirimicarbe e evidenciaram que os Coccinélidos possuem um mecanismo de desintoxicação ou de eliminação dos efeitos do pesticida rápido e activo.

## RÉSUMÉ

Ce travail a eu comme finalité la détermination d'une méthodologie pour l'évaluation des effets de certains pesticides spécifiques utilisés en lutte intégrée sur les prédateurs aphidiphages de la famille Coccinellidae.

Le choix des prédateurs à été fait compte tenu des critères d'évolution morphologique, biologique et écologique. Les méthodes, les techniques et le matériel ont été choisis pour mettre en évidence les effets non léthaux d'un aficide (le pirimicarbe) apportant de ce fait des perspectives nouvelles pour l'amélioration des qualités des pesticides spécifiques et des techniques de lutte biologique et intégrée.

Une des méthodes d'évaluation de l'influence du pirimicarbe a concerné la voracité larvaire de Cheilomenes sulphurea et l'autre la consommation alimentaire des larves du dernier stade de Semiadalia undecimnotata SCHNEIDER. On a vérifié que le traitement au pirimicarbe réduit la voracité de tous les stades larvaires de Cheilomenes. On a constaté aussi que, chez Semiadalia undecimnotata, les effets du pesticide se sont traduits par:

- une diminution de la consommation alimentaire,
- une diminution de l'augmentation du poids larvaire,
- une diminution du rendement alimentaire,
- un prolongement du dernier stade larvaire et de sa phase alimentaire, lesquels ont été au augmentés de douze heures.

Les effets métaboliques étudiés par la méthode respirométrique, ont prouvé que le pirimicarbe provoque une augmentation sensible de l'O<sub>2</sub> consommé et une chute suivie d'une remontée rapide du CO<sub>2</sub> expiré. Les valeurs des QR des larves traités ont été d'abord inférieures à 1 (utilisation des réserves glucidiques) et après supérieures à 1 (acummulation de glucides).

La méthode cardiométrique a montré que le pirimicarbe réduit l'activité cardiaque des nymphes dans les 24 heures qui suivent le traitement. On assiste après à une récupération, car 48

heures après le traitement aphicide les rythmes cardiaques étaient équilibrés.

Sur la ponte, les conséquences les plus importantes ont été mises en évidence par le nombre moyen d'oeufs déposés.

Ce nombre moyen était inférieur chez les témoins, au moins pendant trois semaines. Sur les distributions de fréquences des pontes, celles des hautes gammes (40 à 60 oeufs) ont toujours été réduites chez les insectes traités. Une fois passée cette période d'action du pesticide, on a assisté à une récupération et les pontes des insectes traités dépassaient celles des témoins.

La mortalité a toujours été peu importante, excepté durant les premiers stades larvaires (près de 50% chez Cheilomenes sulphurea).

Ces techniques ont permis l'évaluation qualitative et quantitative de l'influence du pirimicarbe sur les performances biologiques des prédateurs. Elles ont aussi mis en évidence que les Coccinelles ont un mécanisme de détoxication et d'élimination des effets du pesticide qui s'avère rapide et actif.

## SUMMARY

This work deals with evaluation methods of certain specific pesticide effects on aphidophagous predators of the family Coccinellidae.

The predator's choice was based on morphological, biological and ecological criteria.

Methods, techniques and equipment used have shown evidence of non-mortal effects of an aphicide (pirimicarb) and given a new approach to the qualities of a selective pesticide, its use in and improvement of biological and integrated control.

One method concerns the influence of pirimicarb on larval voracity of Cheilomenes sulphurea (OLIVIER) and another method food consumption of the last larval stage of Semiadalia undecimnotata SCHNEIDER.

We verified that aphicide treatment diminishes all-stage voracity of Cheilomenes sulphurea. Concerning Semiadalia undecimnotata, we have stated that certain biological performances were negatively affected:

- food consumption,
- weight increase,
- feeding rate,
- larval stage and feeding phase durations (which lasted for 12 hours longer than normal).

Metabolic effects were studied using respirometry. Pirimicarb causes an increase of  $O_2$  intake and simultaneously a fall, followed by a fast increase of  $CO_2$  output.

RQ of treated larvae are at first inferior to 1 (utilisation of glucose) and then superior to 1 (accumulation of glucose).

Cardiometric methods have shown us that pirimicarb reduces heart activity during the first 24 hours after pesticide treatment. Afterwards, heart activity becomes normal (48 hours later).

Consequences on egg-laying can be seen through average number of eggs. For three weeks after treatment, average egg-laying was significantly inferior on treated females. Frequency distribu-

tion of egg-laying rates shows an elimination of abundant egg-laying (40-60 eggs) on treated lady-birds. When pesticide action is over, egg-laying of treated insects becomes superior.

Mortality was always low, except on first larval stages of Cheilomenes sulphurea (up to 50%).

These techniques allowed us to evaluate the influence of pirimicarb on a qualitative and quantitative basis. There was also evidence that Coccinellids have a physiological mechanism able to detoxicate and eliminate rapidly and efficiently the pesticide effects.

B I B L I O G R A F I A

- ASSOCIATION DE COORDINATION TECHNIQUE AGRICOLE, 1978 - Index des produits phytosanitaires. 14<sup>ème</sup>. édition, Paris, 400 pp.
- BERARDINELLI V. E., 1976 - Caractéristiques biologiques d'un puceron (Myzus persicae SULZ.) et d'une coccinelle prédatrice (Semiadalia 11 notata SCHN.). Mémoire de Dipl. d'Et. Sup. Uni. Provence, 30 pp.
- BRADER L., 1975 - Integrated control, a new approach in crop protection. C.R. 5<sup>ème</sup>. Symp. Lutte intégrée en vergers. O. I.L.B./S.R.O.P., 9-16.
- CANARD M. , QUEINNEC Y., 1971 - Modification du rythme cardiaque au cours de la diapause de Chrysopa perla (L.) (Insectes, Névroptères). C. R. Acad. Sc. Paris, 273, 1960-1963.
- CROWSON R. A., 1955 - The natural classification of the families of Coleoptera. London, 187 pp.
- DUARTE A. J., 1964 - Elementos de entomologia agrícola para Angola. IICA, Luanda, 177 pp.
- DUVIGNEAUD P., 1974 - La synthèse écologique. Doin, Paris, 296 pp.
- FERRAN A., LARROQUE M., 1977 - Étude des relations hôte-prédateur: la consommation et l'utilisation d'un puceron Myzus persicae SULZ. par les différents stades larvaires de la coccinelle Semiadalia undecimnotata SCHN. (Col., Coccinellidae). Ann. Zool. - Écol anim., 9 (4), 665-691.
- FISHER R. A., YATES F., 1958 - Statistical tables for Biological , Agricultural an Medical Research. 5<sup>th</sup>ed., Oliver & Boyd, Edimburgh.
- FURSCH H., 1964 - Cheilomenes sulphurea sulphurea (OL.). Ent. Arb., 15, 98.
- GARCIA V., 1972 - Os estados imaturos de Cheilomenes sulphurea(OL.) - Coleoptera, Coccinellidae. Sep. do Bol. Inst. Invest .

Cient. Ang., 9 (2), 1-71.

GARCIA V., 1974 - A preferência afidífaga de Cheilomenes sulphurea (OL.) - Coleoptera, Coccinellidae - na região de Luanda. Relatórios e Comunicações do Inst. Invest. Cient. Ang., 31, 13 pp.

GARCIA V., 1976 - Influence de trois produits phytosanitaires sur les performances biologiques d'une coccinelle aphidiphage (Semiadalia undecimnotata SCHNEIDER). Thèse de doctorat de spécialité en Sciences Biologiques, Faculté des Sciences de l'Université de Provence (Aix-Marseille I), 114 pp.

GARCIA V., SCHANDERL H., 1977 - Biologia de um Coccinélídeo afidífago Cheilomenes sulphurea (OL.). Relatórios e Comunicações do Laboratório de Ecologia Aplicada do Instituto Universitário dos Açores, Ponta Delgada, 23 pp.

HANLIRSCH A., 1908 - Die fossilen Insekten. 2 vol., Leipzig.

HARVEY G. T., BROWN A. W. A., 1951 - The effect of insecticides on the rate of oxygen consumption in Blatella. Com. J.Zool., 29, 42-53.

HEINRICH W. O., 1973 - Controlo integrado: Idéias que se concretizam. O Biológico, 39 (4), 85-92.

HODEK I., 1973 - Biology of Coccinellidae. Dr. W. JUNK N. V., Haia, 260 pp.

HODEK I., CERKASOV J., 1958 - A study of the imaginal hibernation of Semiadalia undecimnotata SCHN. in the open. I. Acta Soc. Zool. Bohemoslov., 22, 180-192.

HODEK I., CERKASOV J., 1963 - Imaginal dormancy in Semiadalia undecimnotata SCHN. II. Changes in Water, fat and glycongen content. Acta. Soc. Zool. Bohemoslov., 27, 298-318.

- HODEK I., CERKASOV J., 1965 - Several types of induction and completion of adult diapause. Proc. 12<sup>th</sup> Int. Cong. Ent. London, 431-432.
- HUFFAKER C. B. et al., 1976 - Theory and practice of biological control. Academic Press, New York, 788 pp.
- IMMS A. D., RICHARDS O. W., DAVIES R. G., 1964 - A General Textbook of Entomology. Methuen and Co, London, 886 pp.
- IPERTI G., 1965 - Perspective d'utilisation rationnelle des coccinelles aphidiphages de la protection des cultures. 90<sup>ème</sup> Congrès des Soc. Sav. Nice, 2, 544-555.
- IPERTI G., 1966 - Migration of A.11 notata in South Eastern France. Ecology of Aphidophagous Insects, Academia, Prague, 137-138.
- IPERTI G., 1967 - La migration chez les coccinelles. Ann. Epiphyties, 18 (1), 118-119.
- IPERTI G., 1971 - L'emploi des coccinelles dans la lutte contre le puceron noir de betterave (Aphis fabae SCOP.) - Parasitica, 27, 94-102.
- IPERTI G., 1976 - La diapause imaginaire chez les Coccinellidae. Ann. Zool.-Écol. anim., 8 (3), 381-388.
- IPERTI G., BUSCARLET L., 1972 - Contribution à l'étude d'une migration d'A.11 notata SCHN. (Col., Coccinellidae) par marquage avec l'Iridium 191 stable. Ann. Zool.-Écol. anim., 4 (2), 249-254.
- IPERTI G., HODEK I., 1976 - Développement de la diapause chez les femelles de Semiadalia undecimnotata SCHN.. Ann. Zool.-Écol. anim., 8 (1), 17-24

- IPERTI G., HODEK I., 1974 - Induction alimentaire de la dormance imaginale chez Semiadalia undecimnotata SCHN. Ann. Zool.-Écol. anim., 6 (1), 41-51.
- JEANNEL R., 1960 - Introduction à l'Entomologie. III. Paléontologie et peuplement de la terre. Boubée, Paris, 101 pp.
- KAMYIA H., 1965 - A revision of the tribe Coccinellini of Japan, with special reference to the tribal phylogeny of the family (Coleoptera, Coccinellidae). Mem. Fac. Lit. Arts Fukui Univ., 2 (14), 83-100.
- KOMAI T., 1956 - Genetics of lady-beetles. Adv. Genet., 8, 155-185.
- KORSCHESKY R., 1932 - Coleopterorum catalogus, pars 20, Coccinellidae II, Berlin, 435 pp.
- LAZAR P., SCHWARTTZ D., 1967 - Éléments de probabilités et statistique. 3<sup>ème</sup> édition, Flammarion, Paris, 163 pp.
- MADER L., 1954 - Exploration du Parc National Albert - Mission G. F. de Witte: Fasc. 80, Coccinellidae, Bruxelles.
- MADER L., 1955 - Evidenz der palaearktischen Coccinelliden und ihrer Aberrationen in wort und Bild, II Teil. Entom. Arb. Mus. G. FREY, 6, 764-1035, pl. 1.
- MASLIN T., 1952 - Morphological criteria of phyletic relationships. Syst. Zool., 1, 4970.
- MELNIKOV N. N., 1971 - Chemistry of pesticides. Residue reviews, 36, Springer - Verlag, New-York, 479 pp.
- METCALF R. L., 1971 - Structure activity relationships for insecticidal carbamates. Bull. WHO, 44, 43-78.
- MOREAU R., 1973 - Recherches sur quelques aspects des phénomènes

physiques, métaboliques et physiologiques qui accompagnent ou conditionnent l'expansion des ailes des Lépidoptères. Thèse de Doctorat ès Sciences Naturelles, Université de Bordeaux I, 144 pp.

MOREAU R. et al., 1975 - Examen préliminaire de quelques aspects des effets métaboliques d'un nouvel insecticide de synthèse chez deux insectes nuisibles: Pieris brassicae L. et Thaumetopoea pityocampa S. (Lépidoptères) Ann. Zool.-Écol. anim., 7 (2), 161-170.

NASON A., DEHAN R. L., 1973 - The Biological World. John Wiley and Sons, Inc., New-York.

ROHLF F. J., SOKAL R. R., 1969 - Statistical tables. Freeman and Co, San Francisco, 253 pp.

ROUSSEL J. P., 1963 - Étude de la consommation d'oxygène chez Locusta migratoria. J. Insect Physiol., 9, 349.

ROUSSEL J. P., 1971 - Le rythme cardiaque de Locusta migratoria L. (Insecte, Orthoptère). Thèse de Doctorat ès Sciences Naturelles, Université Louis Pasteur, Strasbourg, 233 pp.

SASAJI, 1968b - Phylogeny of the family Coccinellidae. Etizenia, 35, 37 pp.

SINGH H. N., RAI L., 1976 - Properties of cholin esterase in herbivorous and carnivorous insects and its implications in developing specific insecticides. Indian J. Entomol., 38 (4), 305-312.

STEINER H., 1966 - General techniques of integration. Symposium on integrated pest control (FAO) 2, 13-20.

TREPANIER-BLAIS N., 1972 - Étude quantitative et qualitative des besoins alimentaires chez un prédateur aphidiphage: A.11

notata SCHN. (Col., Coccinellidae). Thèse de Doctorat d'  
Université, Nice, 147 pp.

WYATT G. R., KALF G. R., 1956 - The trehalose in insects. Fed. proc.,  
abstract 1269, 15, 288 pp.

WATSON Y., 1956 - A study of the phylogeny of the genera of the  
tribe Coccinellini. Contr. Roy. Ontario Mus. Zool. Palaeont., 42, 1-52.

WOOD D. W., 1973 - Princípios de Fisiologia Animal. Editora Polígono,  
Universidade de S. Paulo, 366 pp.

ZASLAVSKII V. A., 1967 - Reproductive self destruction as the ecological factor (ecological effect of genetic interaction of population). Zh. obshch. Biol., 28, 3-11.

\*\*\*\*\*

LISTA DE FIGURAS

- Figura nº 1 - A forma dos élitros.
- Figura nº 2 - A convexidade do corpo.
- Figura nº 3 - Os edeagos.
- Figura nº 4 - As espermatecas.
- Figura nº 5 - As mandíbulas (Coccinellini).
- Figura nº 6 - As mandíbulas (Hippodamiini).
- Figura nº 7 - O número de ovaríolos.
- Figura nº 8 - O número de ovos.
- Figura nº 9 - O voltinismo.
- Figura nº 10 - A forma dos élitros.
- Figura nº 11 - A convexidade do corpo.
- Figura nº 12 - Os edeagos.
- Figura nº 13 - As espermatecas.
- Figura nº 14 - As mandíbulas.
- Figura nº 15 - Caixas plásticas com plântulas.
- Figura nº 16 - Gaiola de rede de musselina.
- Figura nº 17 - Composição de um conjunto de cilindros para estudo de casais isolados.
- Figura nº 18 - Cilindros de reprodução de casais isolados em funcionamento.
- Figura nº 19 - Material utilizado nos estudos de distribuição das posturas no espaço.
- Figura nº 20 - Distribuição das posturas no espaço.
- Figura nº 21 - Respirómetro TP 4.
- Figura nº 22 - Frasco GILSON com cápsula no interior.
- Figura nº 23 - Pupa de Cheilomenes sulphurea (a seta indica a zona de observação dos batimentos cardíacos).
- Figura nº 24 - Instalação para observação do ritmo cardíaco das pupas.
- Figura nº 25 - Voracidade larvar de Cheilomenes sulphurea (alimentação com Aphis fabae).
- Figura nº 26 - Rectas de regressão representando a voracidade larvar média diária por estados de Cheilomenes sulphurea (nutrição: Aphis fabae).
- Figura nº 27 - Mortalidade larvar cumulativa de Cheilomenes sul-

phurea provocada pelo pirimicarbe.

- Figura nº 28 - Correlações entre o consumo alimentar cumulativo médio e o peso médio do 4º estado larvar de S. ll notata (1ª experiência).
- Figura nº 29 - Correlações entre o consumo alimentar cumulativo médio e o peso médio das L4 de S. ll notata (2ª experiência).
- Figura nº 30 - Evolução do rendimento alimentar das larvas do 4º estado de S. ll notata.
- Figura nº 31 - Efeito do pirimicarbe sobre o aumento do peso das L4 de S. ll notata (1ª experiência).
- Figura nº 32 - Efeito do pirimicarbe sobre o aumento do peso médio das L4 de S. ll notata (2ª experiência).
- Figura nº 33 - Variações de peso médio provocadas pelo aficida nas L4 de S. ll notata.
- Figura nº 34 - Consumo alimentar cumulativo das L4 de S. ll notata em função do tempo (1ª experiência).
- Figura nº 35 - Consumo alimentar cumulativo das L4 de S. ll notata em função do tempo (2ª experiência).
- Figura nº 36 - Influência do pirimicarbe sobre o consumo de O<sub>2</sub> pelas L4 de S. ll notata.
- Figura nº 37 - Evolução do CO<sub>2</sub> expirado pelas larvas do 4º estado de S. ll notata.
- Figura nº 38 - Regressão linear dos QR das larvas do 4º estado de S. ll notata.
- Figura nº 39 - Tipos de cardiogramas de Cheilomenes sulphurea.
- Figura nº 40 - Cardiogramas das pupas de S. ll notata (1º teste).
- Figura nº 41 - Cardiogramas das pupas de S. ll notata (2º teste).
- Figura nº 42 - Cardiogramas das pupas de S. ll notata (3º teste).
- Figura nº 43 - Distribuição de frequências dos batimentos cardíacos das pupas de S. ll notata.
- Figura nº 44 - Distribuição de frequências dos batimentos cardíacos das pupas de S. ll notata.
- Figura nº 45 - Evolução das posturas (AGOSTO=início da diapausa; NO VEMBRO=durante a diapausa; ABRIL=fim da diapausa).
- Figura nº 46 - Evolução das posturas (fase de actividade).
- Figura nº 47 - Distribuição de frequências das posturas. AGOSTO=iní-

cio da diapausa.

- Figura nº 48 - Distribuições de frequências das posturas. NOVEMBRO = durante a diapausa.
- Figura nº 49 - Distribuições de frequências das posturas. ABRIL = fim da diapausa.
- Figura nº 50 - Distribuições de frequências das posturas (Actividade).
- Figura nº 51 - Evolução cumulativa da mortalidade. (AGOSTO = início da diapausa; NOVEMBRO = durante a diapausa; ABRIL = fim da diapausa; ACTIVIDADE).
- Figura nº 52 - Comparação da reactivação das fêmeas de S. ll notata Sudeste de França e no Norte da Boémia (IPERTI & HODEK 1976).  
Círculos negros = França; Círculos brancos = Boémia  
Círculos menores = indivíduos; Círculos maiores = médias. A linha \_\_\_\_\_ significa o tempo necessário para a maturação "normal" das fêmeas.
- Figura nº 53 -  $O_2$  consumido e  $CO_2$  expirado em larvas testemunhas do 4º estado de S. ll notata.
- Figura nº 54 -  $O_2$  consumido e  $CO_2$  expirado em larvas tratadas do 4º estado de S. ll notata.

ANEXO FINAL A

Valores dos consumos cumulativos médios e dos correspondentes pesos médios larvares

1ª experiência: larvas 1 a 26

2ª experiência: larvas 27 a 36

Dias n.º	Testemunhas											
	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	
1	3.896	17.401	7.794	23.675	11.709	10.428	1.567	—	—	—	—	—
	18.88	12.10	18.20	22.10	28.40	35.00	38.90	38.00	37.20	28.80	—	—
2	28.165	8.258	22.774	7.91	22.053	5.378	—	—	—	—	—	—
	8.30	16.20	18.80	27.70	30.10	35.40	38.40	34.30	—	—	—	—
3	18.652	10.873	20.131	10.172	23.540	8.566	—	—	—	—	—	—
	9.30	17.80	21.80	27.80	32.50	38.90	48.10	37.40	37.30	34.90	—	—
4	20.948	7.980	18.908	13.361	23.417	9.904	3.854	—	—	—	—	—
	8.20	18.80	19.80	22.80	28.50	34.70	37.10	35.90	35.50	34.20	—	—
5	18.234	9.363	18.878	10.898	21.405	8.525	4.228	—	—	—	—	—
	7.82	18.30	19.20	22.40	28.90	30.70	33.10	33.30	31.80	31.10	—	—
6	18.437	8.800	21.435	9.033	17.720	8.834	7.584	—	—	—	—	—
	8.13	17.30	21.40	28.10	32.80	37.80	40.90	41.40	41.40	40.80	—	—
7	10.725	3.438	12.780	8.470	18.045	9.930	7.283	—	—	—	—	—
	8.80	12.90	14.80	20.60	25.70	31.30	35.30	33.50	31.50	30.00	—	—
8	12.148	3.956	14.484	9.275	14.523	5.984	4.780	0.430	—	—	—	—
	8.80	14.80	17.40	22.20	28.90	33.00	35.40	34.00	33.80	33.20	—	—
9	8.750	5.829	15.688	12.824	10.318	16.880	3.084	—	—	—	—	—
	8.18	13.70	20.20	26.80	33.30	34.70	36.70	34.60	34.70	—	—	—
10	14.371	5.638	13.474	11.357	17.101	17.177	16.502	—	—	—	—	—
	8.30	18.80	18.30	20.80	26.80	30.50	33.80	37.80	37.80	36.20	35.40	33.80
11	10.835	4.825	11.487	8.871	15.328	15.440	15.554	0.898	3.358	2.507	8.570	3.787
	8.80	14.00	18.50	22.90	27.20	32.70	36.70	38.70	40.80	41.70	43.10	44.30
12	11.284	5.157	8.834	10.794	17.282	4.547	3.912	0.428	—	—	—	—
	8.80	13.50	17.40	20.80	25.40	31.10	33.10	30.70	30.20	29.00	—	—
13	17.576	8.882	20.106	10.830	18.872	2.988	1.418	—	—	—	—	—
	7.88	14.20	18.30	25.00	30.00	33.70	33.90	31.60	30.90	—	—	—
14	18.784	7.478	18.873	13.678	20.675	5.886	2.642	—	—	—	—	—
	8.12	18.80	22.10	28.40	35.10	38.40	38.60	37.50	37.10	—	—	—
15	18.786	8.884	18.385	12.108	20.285	6.438	4.518	—	—	—	—	—
	7.22	14.50	18.80	24.80	30.70	35.50	37.00	36.50	35.50	—	—	—
16	18.851	5.684	18.373	18.407	12.873	2.273	—	—	—	—	—	—
	8.88	17.40	20.40	28.20	28.80	30.40	30.00	28.00	27.80	—	—	—
17	18.089	4.495	18.073	8.430	18.804	8.444	7.065	1.848	—	—	—	—
	8.46	11.90	13.90	18.20	21.30	24.10	29.90	34.20	33.40	31.30	—	—
18	14.878	8.180	15.857	8.423	20.899	14.030	18.105	15.25	—	—	—	—
	7.83	14.40	17.10	22.50	26.40	28.10	33.50	35.80	34.50	33.70	—	—
19	10.845	3.834	17.908	8.418	11.789	11.224	11.081	—	—	—	—	—
	6.47	10.80	12.40	14.30	20.10	23.40	26.80	28.80	27.90	26.50	—	—

8 Consumo alimentar  
88 Peso



ANEXO FINAL C

DADOS PARA OS TESTES DE "MANN-WHITNEY"

DURAÇÃO DA PRÉ-OVIPOSIÇÃO

QUADRO XXII				QUADRO XXIII				QUADRO XXIV				QUADRO XXV			
PRIMICARBE		TESTEMUNHA		PRIMICARBE		TESTEMUNHA		PRIMICARBE		TESTEMUNHA		PRIMICARBE		TESTEMUNHA	
D	F	D	F	D	F	D	F	D	F	D	F	D	F	D	F
8	12	7	6	14	1	12	1	12	2	10	2	5	2	5	1
12	4	9	2	20	3	18	2	13	3	12	1	6	1	6	1
14	1	11	4	22	2	23	3	16	12	13	2	7	1	7	2
16	1	13	3	23	3	26	3	18	4	14	2	8	2	8	10
18	1	15	3	26	4	28	1	20	4	16	4	9	6	9	10
5	4	5	2	30	2	30	3	21	1	18	4	10	6	10	4
4	2	5	7	32	3	32	2	23	4	20	1	12	5	11	1
7	1	9	2	36	1	36	8	26	1	21	7	14	8	12	3
8	2	12	1	37	3	38	1			24	1	16	5	14	6
14	1			40	3	40	2			26	1	20	2	16	1
15	1			41	2	41	3								
				44	2	44	1								
				50	3	48	3								
				53	1	50	3								
				57	1	53	1								
				60	1	55	3								
						57	2								
						60	2								

D = Dias; F = Frequências

ANEXO FINAL D

DADOS PARA OS TESTES DE "MANN-WHITNEY"

EVOLUÇÃO DAS POSTURAS

AGOSTO		NOVEMBRO		ABRIL		ACTIVIDADE	
P	T	P	T	P	T	P	T
13	12	10	16	6	13	12	16
13	16	10	12	11	23	14	19
10	21	12	16	16	25	15	23
20	23	16	18	20	21	18	25
38	28	16	18	20	20	17	29
35	31	15	18	19	29	17	27
32	37	13	16	19	29	17	29
24	27	13	15	18	32	19	28
23	29	11	15	26	37	23	30
29	32	8	15	33	33	25	28
30	36	10	15	31	21	23	24
36	39	14	18	26	17	17	19
32	34	15	20	15	15	19	24
38	31		20	21	18	22	29
34	21			21	15	28	27
31	18			17	13	32	21
23	14			13	10	35	12
20	16			12	11	34	15
22	20			12		25	14
						21	15
						14	14

P = Pesticida; T = Testemunhas

WPRS/IOBC W.Gr. "Pesticides and Beneficial Arthropods", Colmar,  
March 1975

List of specifications for the development of standardized  
laboratory test methods (cp. also Circular Letter 5/74)

Specification for test conditions	yes	no	not considered
! Reproducibility of all conditions			
I <u>Test arthropods</u>			
From permanent rearing (mortality < 10%)	X		
Mobile instars	X		
Same age of all individuals	X		
Even distribution of sexes	X		
Pre-exposition period (>24 <sup>h</sup> )	X		
Food before test		X	
Untreated food during test	X		
Untreated hosts during test (for parasites)			
(Life-) long lasting test (> 1 week)	X		
II <u>Pesticide</u> (commercial preparation)	X		
Application on inert surface	X		
Application on standardized leaf		X	
1-3 hour for drying up of residue after application		X	
Defined dosage for contact residue		X	
Concentration of spray as registered	X		
Diameter of <sup>spray</sup> droplets known			X
Almost (total) contamination of zones in which test insects move	X		

ANEXO FINAL E

Specification for test conditions	yes	no	not considered
<u>III Conditions of test</u>			
Defined for total duration of test:			
light rhythm	X		
light intensity	X		
air temperature	X		
relative humidity	X		
intensity of (forced) ventilation		X	
<u>IV Persistence</u>			
Weathering of residue under defined laboratory conditions			X
Several repetitions of test	X		
Comparable results from residues on identical surface in the field are available			X
Half-effective time calculated			X
<u>V Evaluation</u>			
<u>Parasites</u>			
Capacity of parasitization measured: (a) untreated check			
" : (b) in experiment			
<u>Predators</u>			
Capacity of intake of prey measured: (a) untreated check	X		
" : (b) in experiment	X		
Production of offspring measured = viable eggs: (a) in check	X		
" : (b) in experiment	X		
Total evaluation expressed as percent beneficial capacity	X		