

Recebido em 22 de Dezembro de 1976

Nota sobre a utilização dos Raios X para o estudo do desenvolvimento imaginal da *Lymantria dispar* L.^(*)

por

MARIA TERESA CABRAL

Engenheiro Silvicultor da Direcção-Geral dos Recursos Florestais

e

C. M. L. BAETA NEVES

Professor de Entomologia Agrícola e de Entomologia Florestal

A partir acima de tudo do trabalho de Schevchenko (1937), que utilizou os Raios X para apreciação das condições fitossanitárias de sementes de algodão, sucederam-se-lhe outros exemplos, cada vez em maior número e com objectivos mais variados, na aplicação de tal método de observação em Entomologia.

O sucesso obtido, nomeadamente em situações em que o insecto se encontra no interior de um qualquer material susceptível de permitir uma imagem radiográfica, justifica esse aumento progressivo da sua utilização em tais condições, ainda que com finalidades particulares distintas.

Não se julga muito a propósito apresentar nesta nota prévia uma resenha de todos os trabalhos correspondentes, até por ser diferente quanto nela ora é divulgado.

(*) — Trabalho subsidiado pelo Instituto de Alta Cultura (Projecto de Investigação TLA/5), realizado na Secção de Entomologia do Instituto Superior de Agronomia.

Trata-se, neste caso, de umas primeiras observações de radiografias de crisálidas de *Lymatria dispar* L., dos dois sexos, feitas mais com objectivo de verificar, por tal processo, o grau de parasitismo (a tratar em trabalho à parte), processo que pela oportunidade oferecida quanto às observações de natureza inesperadamente realizadas justifica o destaque dado a estas últimas pela sua separação em nota própria, desligadas como se encontram, até certo ponto, desse objectivo.

As crisálidas radiografadas não estavam atacadas por qualquer parasita, e assim quanto se divulga diz respeito antes ao seu desenvolvimento pupal em condições normais.

O aparelho utilizado foi um «Grain Infestation Unit» de fabrico americano («General Electrics») do Laboratório da Defesa Fitossanitária dos Produtos Armazenados da Direcção-Geral dos Serviços Agrícolas, tendo sido feitas as radiografias com material obtido das culturas do insecto considerado, e empregada kilovoltagem de 25KW, uma intensidade de 6mA e 7 segundos de exposição; usou-se película Kodak M tipo industrial.

*
* *

Admitindo a hipótese de poder existir alguma bibliografia dizendo em especial respeito às observações realizadas, foi esta procurada em todos os meios de informação, e, embora se tivessem consultado trabalhos como os de Fraga de Azevedo e Pinhão (1968), Fraga de Azevedo e Ana Maria Teia dos Santos (1970) e ainda os de Y.E.E. Easse (1953), Chang-Whan Kin (1959), D.I. Anderson (1964), R.M. Clark e W.R. Harvey (1965) e de V.S. Strivastava e M.K. Khare (1966), além dos tratados de Entomologia mais categorizados nomeadamente os de R.E. Snodgrass (1952), A.D. Imms (1970), e R.F. Chapman (1972), ou trabalhos especializados como o de R.E. Snodgrass (1954), os aspectos observados por meios radiográficos nas pupas de *L. dispar* diferem bastante dos referidos por qualquer destes autores em relação a outras espécies de insectos. Consequentemente, para a interpretação das imagens observadas recorreu-se à comparação com material idêntico daquela espécie, que foi dissecado; dessa comparação resultaram dúvidas que não puderam ser completamente esclarecidas. Entendeu-se no entanto, apesar disso, não ser menos oportuna a publicação desta nota.

Bibliografia como a da autoria de C.S. Holling (1958), R.W. Weires e H.C. Chiang (1973) e de T.M. Odell, P.A. Godwin e W.B. White (1974), e a de origem portuguesa para além da já referida, da autoria de Baeta Neves, isoladamente ou em colaboração, tal bibliografia, ainda que tendo apenas de comum o método utilizado, sempre em alguns casos oferecem uma ou outra sugestão quanto a técnica utilizada e observações realizadas, a partir da analogia existente entre os diversos aspectos particulares tratados em cada caso.

Apesar de tudo os autores têm consciência que não terão esgotado todas as fontes de informação, mas mais não lhes foi possível conseguir, e para não demorar demasiado quanto julgavam útil divulgar limitaram-se à apreciação comparativa do que dispunham, como base da interpretação a fazer das imagens radiográficas obtidas.

Têm assim as conclusões a que chegaram apenas o carácter de hipóteses verosímeis, constituindo antes uma contribuição para despertar interesse a outros, marcar a posição própria e servir de justificação de trabalhos posteriores.

*
* *

O material observado foi retirado de uma cultura laboratorial de *L. dispar*, obtida a partir de posturas do insecto colhidas no início do mês de Março de 1974 junto à Herdade de Palma.

As larvas nascidas em laboratório a partir do final daquele mês foram alimentadas com rebentos de *Quercus coccifera*.

Quando atingiram o último instar observaram-se diariamente para se determinar o momento em que passaram a crisálidas.

As crisálidas obtidas cada dia eram colocadas em pequenas caixas plásticas onde se anotava a data em que os insectos atingiam aquele estado. Não houve a preocupação de separar as pupas de machos das de fêmeas pois em virtude do dimorfismo sexual deste insecto é muito fácil distinguir os sexos na própria radiografia.

Para realizar a primeira radiografia escolheram-se algumas das pupas referentes a cada data que foram colocadas sobre fita adesiva dando-se-lhe um número de ordem (ver quadro I) que as relacionava com a data em que crisalidaram. Nas radiografias subsequentes realizadas em dias seguintes mantêve-se a disposição da amostra inicial apenas se juntando a partir do dia 16 de Julho mais uma pupa fêmea.

QUADRO I

N.º de ordem	Data de passagem a crisálida	Data da eclosão do imago	Sexo
1	3/7/74	13/7/74	Macho
2	5/7/74	—	—
3	5/7/74	16/7/74	Macho
4	5/7/74	15/7/74	Macho
5	10/7/74	21/7/74	Macho
6	10/7/74	—	—
7	10/7/74	—	—
8	11/7/74	22/7/74	Fêmea
9	11/7/74	—	—
10	14/7/74	22/7/74	Fêmea

*
**

As radiografias obtidas em cada data, reproduzidas nas gravuras seguintes, contêm pupas de diferentes idades. Para ajudar a observar e comparar as imagens radiográficas reunimos no quadro II a data da radiografia e o número de ordem das pupas de cada idade.

QUADRO II

N.º de dias após a passagem a crisálida	N.º de ordem da pupa	Data das radiografias
1 dia	5, 6, 7 8, 9 10	11/7/74 12/7 16/7
2 dias	5, 6, 7 8, 9 10	12/7 13/7 17/7
3 dias	5, 6, 7 10	13/7 18/7
4 dias	8, 9 10	15/7 19/7
5 dias	5, 6, 7 8, 9 10	15/7 16/7 20/7
6 dias	2, 3, 4 5, 6, 7 8, 9	11/7 16/7 17/7
7 dias	2, 3, 4 5, 6, 7 8, 9	12/7 17/7 18/7
8 dias	1 2, 3, 4 5, 6, 7	11/7 13/7 18/7
9 dias	1 5, 6, 7 8, 9	12/7 19/7 20/7
10 dias	2, 3, 4 5, 6, 7	15/7 20/7
11 dias	2	16/7

Assim nas primeiras 24 horas após a crisalidação a pupa fêmea apresenta uma imagem radiográfica opaca, distinguindo-se apenas os contornos e as aberturas dos estigmas, sobretudo se se encontram em posição lateral (Pupa 8 em 12/7 e 10 em 16/7).

Nos machos o aspecto radiográfico da pupa é diferente notando-se distintamente quatro pares de manchas semelhantes e simétricas e um outro par mais pequeno, por vezes apenas vestigial, em posição anterior.

Estas manchas correspondem a áreas de menor opacidade no interior da pupa e que são portanto atravessadas pelos Raios X.

Os estigmas são muito menos visíveis que nas pupas fêmeas não se notando bem a conexão destes com as referidas manchas; não obstante a localização das manchas, corresponde à posição que eles ocupam observável no exterior das pupas (Pupas 5, 6 e 7 em 11/7).

O aspecto das pupas masculinas mantém-se sensivelmente idêntico nos dias seguintes, com excepção das que não prosseguiram a evolução normal e de onde portanto não nasceram imagos. Nestas pupas começa a notar-se, a partir dos dois ou três dias, imagens radiográficas diferentes com grandes manchas em posições variáveis e que vão aumentando progressivamente de tamanho (Pupas 2, 6, 7 e 9 em dias sucessivos).

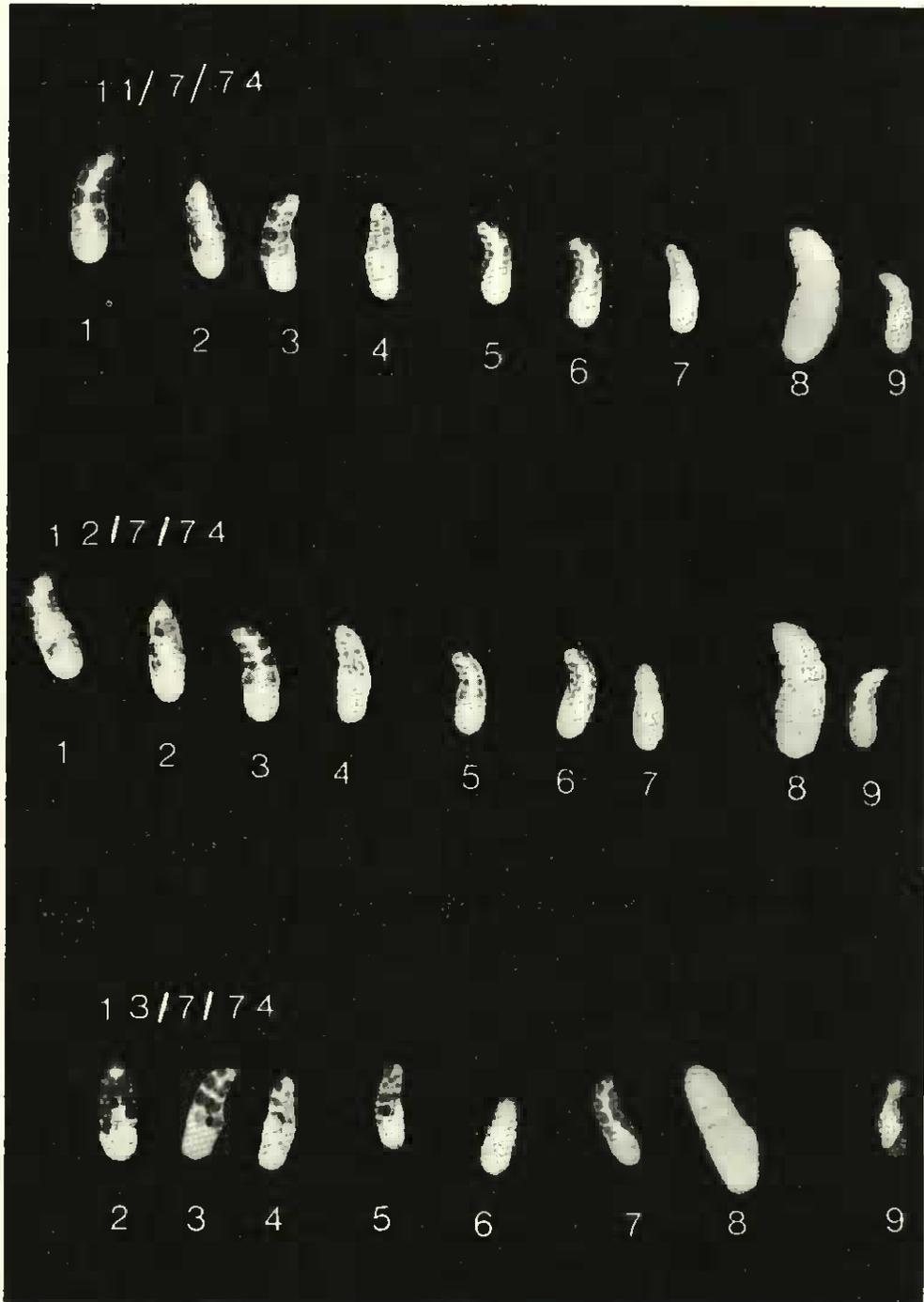
Nas fêmeas apenas se nota o aparecimento de manchas semelhantes às dos machos dois dias após a crisalidação, sendo no entanto a imagem radiográfica algo diferente pois não só as manchas são menos nítidas (devendo estudar-se outros períodos de exposição e de intensidade e voltagem para obter melhores imagens), como nalguns casos é bem visível a sua ligação com os estigmas (Pupa 10 em 19/7).

A imagem radiográfica da pupa fêmea mantém-se também semelhante em dias sucessivos.

Um pouco antes do nascimento do adulto a imagem da pupa altera-se nos dois sexos. Assim, para os machos a pupa com 10 dias apresenta-se novamente toda opaca, sendo no entanto o seu aspecto diferente da pupa recém-formada, pois a cabeça do imago é já bem visível (Pupa 4 a 15/7).

Para as fêmeas essas alterações começam cerca de 8 a 9 dias após a crisalidação (Pupa 8 a 20/7), mas o aspecto do imago é semelhante embora com diferença de dimensão, característica deste insecto.

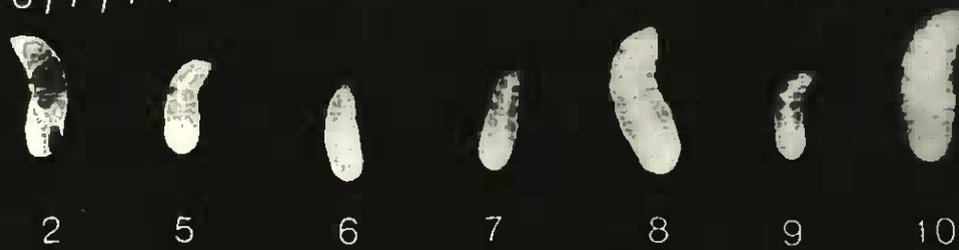
A duração desta fase variou entre 9 e 11 dias para este material devendo no entanto notar-se que o período de 24 horas entre cada



15/7/74



16/7/74



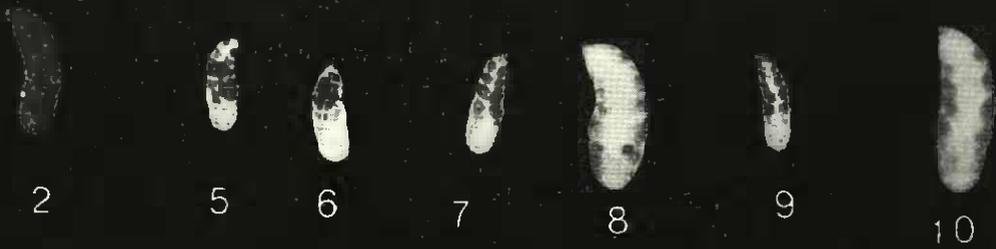
17/7/74



18/7/74



19/7/74



20/7/74



22/7/74



observação é demasiado longo, pois entre as pupas recém-formadas encontram-se as que passaram àquele estado durante todo este período e por isso podiam ter quase um dia de diferença umas das outras, o que explica as diferenças de aspecto de pupas que indicamos terem a mesma idade.

*
* *

Sem preocupações, como foi anunciado logo de início, de passar dos limites de uma nota prévia, a anunciar quanto se julga original, não se poderá na mesma, pela sua natureza, ir mais longe na interpretação das imagens, por falta de bibliografia a propósito e de observações pessoais feitas intencionalmente para um melhor esclarecimento do assunto.

Diremos apenas para terminar que as observações feitas no presente trabalho nos permitiram já distinguir num outro insecto, a *Thaumetopoea pityocampa* Schiff., as pupas parasitadas das que estavam em diapausa visto estas apresentarem imagem radiográfica bastante semelhante às de *L. dispar*, observação que, como primeiro exemplo de aplicação do processo, justifica a esperança nele depositado no sentido da sua aplicação mais variada e mais útil, ainda que se deverá ir apurando e adaptando a técnica respectiva e cada caso especial a experimentar.

Fica assim em aberto, na falta de qualquer informação que o conteste, um campo de aplicação dos Raios X que poderá vir a ajudar quantos se dediquem ao estudo do desenvolvimento imaginal e quanto com ele esteja relacionado e sujeito ao condicionalismo de não se poder abrir o material em estudo; a radiografia poderá permitir fazer as observações desejadas nessas condições.

RESUMO

Com o objectivo de averiguar as possibilidades oferecidas pelo emprego dos Raios X para a realização de estudos em que haja interesse em não alterar as condições normais em que os insectos se desenvolvam, radiografaram-se diariamente pupas de *Lymantria dispar* (Lep. *Lymantriidae*) durante todo o período da fase pupal.

Os resultados obtidos neste exemplo podem concretizar-se nas perspectivas oferecidas para trabalhos posteriores, nomeadamente quanto ao tempo da diferenciação progressiva dos imagos, bem como da diapausa quando esta acaso exista.

SYNOPSIS

Notice on X-raying in the study of the imaginal development of *Lymantria dispar* L.

In order to check the possibilities of X-raying in studies in which the normal development of the insect must be preserved, *Lymantria dispar* L. pupae were daily radiographed during all the pupal stage.

The results we have obtained in this case allow us to foresee good prospectives for further works, namely in order to watch the time of imago differentiation as well as pupal diapause if it occurs.

BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON, D. T. 1964 — The embryology of *Dacus tryoni* (Diptera). 3. Origins of imaginal rudiments other than the principal discs. *J. Embryol. Exp. Morph.*, 12 (1):65-75.
- BAETA NEVES, C. M. 1964 — Os raios X na detecção e estudo de ataques ocultos de insectos florestais. *Boletim Agrícola da Shell* n.º 109:437-439.
- BAETA NEVES, C. M. e MOREIRA, M. I. S. 1963 — A detecção pelos raios X de ataques ocultos de insectos em sementes. *Gazeta das Aldeias* n.º 2509.
- CHANG — WHAN KIM 1959 — The differentiation centre inducing the development from larval to adult leg in *Pieris brassicae* (Lepidoptera). *J. Embryol. Exp. Morph.*, 7(4):572-582.
- CHAPMAN, R. F. 1969 — The Insects. Structure and Function. English Universities Press Ltd. London.
- CLARK, R. M. and HARVEY, W. R. 1965 — Cellular membrane formation by plasmatocytes of diapausing cecropia pupal. *J. Ins. Physiol.*, 11:161-175.
- EASSE, Y. E. E. 1953 — The development of imaginal buds in the head of *Pieris brassicae* Linn. (Lepidoptera). *Trans. E. ent. Soc. London*, 104:39-50.

- AZEVEDO, F. e PINHÃO, R. 1968 — Studies carried out with the *Glossina morsitans* colony of Lisbon. II — Aspects of the tsetse flies appreciated by the «soft» X — Rays. *Anais da Escola Nacional de Saúde Pública e Medicina Tropical*, 2 (1/4).
- AZEVEDO, F. e SANTOS, A. M. T. 1970 — Evolution des muscles thoraciques dans la *Glossina morsitans* élevée au laboratoire. 1.º Simp. Int. sobre a criação da mosca tsé-tsé no laboratório e sua aplicação prática. Lisboa.
- AZEVEDO, F., SANTOS, A. M. T. e SOUSA, A. 1970 — New attempt at sex differentiation of tsetse fly pupae by X — Rays. 1.º Simp. Int. sobre a criação da mosca tsé-tsé no laboratório e sua aplicação prática. Lisboa.
- HOLLING, C. S. 1958 — A radiographic technique to identify healthy, parasitized, and diseased saw fly prepuping within cocoons. *Canad. Entomol.*, 90 (1):59-61.
- IMMS, A. D. 1970 — A General Textbook of Entomology. Methuen & Co. Ltd. London.
- ODELL, T. M., GODWIN, P. A. and WHITE, W. B. 1974 — Radiographing puparia of tachinid parasites of the gypsy moth and application in parasite release programs. Northeastern Forest Experiment Station. USDA Forest Service Research Note NE-194.
- SCHEVCHENKO, M. I. 1957 — Revealing seed pests by means of X — rays. *Plant Prot.*, 14:14-25.
- SNODGRASS, R. E. 1952 — A Textbook of Arthropod Anatomy. Ed. Constock Publishing Associates. New York.
- SNODGRASS, R. E. 1954 — Insect metamorphosis. *Smithsonian Inst. and U. S. Dep. of Agriculture*, 122 (9).
- SRIVASTAVA, U. S. and KHARE, M. K. 1966 — The development of Malpighian tubules and associated structures in *Philosomia ricini* (Lepidoptera, Saturniidae). *J. Zool. Lond.*, 150, 145-163.
- WEISER, R. W. and CHIANG, H. C. 1973 — A radiographic method for rapid detection of *Hylemya brassicae* puparial parasitism. *Entomophaga*, 18 (4):405-408.