

VASCO GARCIA
MARIA R. FURTADO

POTENCIALIDADES BIOLÓGICAS
DOS COCCINELÍDEOS AFIDÍFAGOS
UTILIZADOS EM LUTA INTEGRADA



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO DOS AÇORES
PONTA DELGADA , 1980

POTENCIALIDADES BIOLÓGICAS DOS COCCINELÍDEOS AFIDÍFAGOS UTILIZADOS EM LUTA INTEGRADA

por
VASCO GARCIA e MARIA R. FURTADO

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem vindo a ser dada a maior importância aos estudos dos efeitos secundários dos pesticidas aplicados em agricultura.

Empregados com um fim imediato — a eliminação das pragas nocivas às culturas — a verdade é que, para além dos efeitos letais sobre aquelas — os chamados efeitos primários — cedo se verificou que outras consequências, por vezes graves, afectavam os agrossistemas submetidos à acção de produtos fitossanitários.

Assim, começou-se primeiro por substituir os pesticidas polivalentes, cuja acção de largo espectro afectava toda uma vasta gama de pragas, por pesticidas específicos que, pelo contrário, afectavam apenas uma praga, ou um tipo específico de pragas.

Limitaram-se deste modo os efeitos biocidas de certos produtos, os quais afectando toda a biocenose, provocavam roturas do equilíbrio biológico.

Num outro sentido, procurou-se substituir os agentes químicos por agentes biológicos; é o caso da utilização de parasitas

ófagos do género *Trichogramma* na luta contra os Noctuídeos, que tanto sucesso tem obtido recentemente no México, França, URSS e Estados Unidos.

Ainda na luta biológica, o uso de Coccinelídeos (Joaninhas) contra as Cochonilhas, como a espécie *Chilocorus bipustulatus*, utilizada contra a cochonilha branca da palmeira tamareira, *Parlatoria blanchardi*, no vale do Adrar, Maurítania (IPERTI *et all.*, 1970).

A mais recente técnica, no entanto, consiste na associação dos meios químicos com os meios biológicos de luta, ou seja, a chamada *luta integrada*. Usam-se pesticidas específicos, de baixa toxicidade, cujas aplicações no espaço e no tempo são feitas de acordo com estudos ecológicos prévios. E, com base nestes estudos, fazem-se intervenções com predadores ou parasitas produzidos em massa.

Noutros casos, respeitam-se as faunas de inimigos naturais já existentes, aplicando criteriosamente produtos tão específicos quanto possível e apenas quando estritamente necessários. Como exemplo podemos citar os estudos de luta integrada em curso no Laboratório de Ecologia Aplicada da Universidade dos Açores contra a «lagarta das pastagens» (army-worm), *Mythimna unipuncta* HAW. (GARCIA & TAVARES, 1977).

O grupo de trabalho da Organização Internacional de Luta Biológica (OILB) denominado «Pesticides and Beneficial Arthropods» inclui uma linha de pesquisa referente à influência de pesticidas sobre Coccinelídeos afidípagos (GARCIA 1976). Esta linha é desenvolvida em Antibes, França (Station de Lutte Biologique INRA) e no Laboratório de Ecologia do I.U.A., que se ocupa especialmente dos efeitos dos aficidas sobre joaninhas afidípagas (GARCIA & SCHANDERL 1977).

É neste último aspecto das investigações do L.E.A. do I.U.A. que se enquadra este nosso trabalho.

CAPÍTULO I
MATERIAL E MÉTODOS

1. *Material usado na multiplicação dos hospedeiros*

A multiplicação dos hospedeiros destinados a alimentar as joaninhas predadoras de pulgões exige uma unidade climatizada, com uma estrutura que não é simples de instalar.

No entanto, o material usado é em si mesmo desprovido de complicações e compreende:

- 1 — Vasos de plástico de aproximadamente $15 \times 15 \times 15$ cm, destinados ao cultivo do suporte vegetal (figura 1).
- 2 — Terra húmida, para germinação e cultivo do vegetal.
- 3 — Na fase de germinação do suporte vegetal, uma pequena câmara semi-obscura e fresca. Na fase de crescimento das plântulas, transferem-se para uma sala de culturas equipada com lâmpadas «néon» tipo «GRO-LUX» ou «DAY-LIGHT».
- 4 — Sementes de *Vicia faba major* L. ou *Vicia faba minor* L. (fava e favica), em quantidade suficiente para aprovisionamento. Podemos considerar que cerca de 3 litros de fava dão para semear cinco vasos plásticos do tipo descrito acima.

2. *Material usado no estudo dos predadores*

Este tipo de material pode dividir-se em dois grupos:

1 — *Material de observação*

Consiste essencialmente numa boa óptica e em equipamento ligeiro para dissecações, a saber:

- a) lupa estereoscópica Wild M-3, equipada com tubo de desenho, permitindo observações de 40 a 1.000 diâmetros.

- b) alfinetes entomológicos e pinças de dissecação tipo IDEALTEK Inox n.º 5.
- c) uma pequena tina de dissecação, soluto de Ringer ou soluto isotónico de cloreto de sódio.

2 — *Material de captura*

Este material é principalmente constituído por aspiradores de boca de plástico, fabricados no laboratório. Permitem o fácil manuseamento dos insectos de dimensões relativamente pequenas, como é o caso das coccinelas. Também são muito usados, por se acoplarem aos aspiradores de boca, os tubos de caça, com rolha de plástico cuja parte central é substituída por rede fina de cobre (figura 2).

3. *Material usado nos ensaios de hormona juvenil*

É constituído pelo próprio produto a aplicar, neste caso um produto natural de substituição da hormona juvenil ou HJ, designado por juvabiona.

A origem da juvabiona utilizada nos nossos ensaios é francesa, tendo sido fornecida pelo Laboratório de Biologia Animal da Universidade de Bordéus I (PROFESSOR GIRARDIE), no quadro da cooperação com o Laboratório de Ecologia do I.U.A.

A sua fórmula bruta é $C_{16}H_{26}O_2$. Quimicamente pertence ao grupo dos terpenos, os quais são múltiplos do hidrocarboneto isopreno.

A hormona juvenil apresenta notáveis particularidades: é altamente específica dos insectos, que são os únicos organismos capazes de sintetisá-la, não é tóxica para qualquer animal e age por simples contacto.

A HJ, como é normalmente conhecida, tem um papel essencial no desenvolvimento pós-embriónico, no mecanismo da muda, da metamorfose e da maturação sexual (JOLY 1972, in RAMADE 1972). A administração desta hormona, por vezes

também chamada neotenina, caso seja feita num momento inoportuno do ciclo biológico dum insecto, pode comprometer o seu desenvolvimento ou a sua reprodução.

Como, além disso, os insectos parecem não adquirir resistência a este composto, é evidente o seu interesse como pesticida de origem natural.

A juvabiona, o homólogo natural da hormona juvenil a que nos referimos, foi extraída por SLAMA (1965) da madeira do abeto *Abies balsamea*. A descoberta deu-se por mero acaso, devido ao facto de SLAMA ter verificado que certos insectos em contacto com o papel feito com pasta daquela árvore, davam larvas que nunca mudavam para adultos, eram estéreis e morriam.

O elemento existente no papel foi de início designado por «paper-factor» e mais tarde, depois de isolado, juvabiona.

A juvabiona aplicada nos nossos ensaios faz parte de uma ampola de 100 miligramas, cujo conteúdo foi dissolvido em 2 mililitros de azeite neutro. O frasco contendo o azeite com a hormona e o azeite testemunha, foi conservado no frigorífico a 8° C.

Para as aplicações tópicas de hormona, utilizaram-se dois pincéis de pêlo de marta n.º 2, um exclusivamente para o azeite (aplicações testemunha) e outro para o azeite contendo juvabiona.

Para retirarmos um pouco de soluto hormonal do frasco, utilizou-se uma seringa clínica, do tipo das usadas nas aplicações de insulina (capacidade, 2 cc).

4. *Condições ambientais*

As coccinelas a estudar, assim como os pulgões que lhes servem de alimento, foram criados na unidade de multiplicação de predadores em funcionamento no Laboratório de Ecologia da Universidade dos Açores.

Esta unidade está climatizada, com as seguintes condições:

- a) Temperatura, $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- b) Fotoperíodo, 16 horas de fotofase.
- c) Humidade relativa, $80\% \pm 10\%$.

Esta unidade possui quatro «charriots» de multiplicação, 2 para os hospedeiros e 2 para os predadores e totaliza 60 m^2 .

A funcionar normalmente, pode produzir cerca de 10.000 ovos de coccinelas por dia, nas condições indicadas e utilizando como hospedeiro *Aphis fabae* SCOP. e como predador *Cheilomenes sulphurea* (Ol.) (GARCIA & SCHANDERL 1977).

Para manter estas condições, utiliza-se um condicionador de ar, um humidificador de tecto com higrostató, um convector de aquecimento com termostato e dois relógios de fotoperíodo, um de corda manual e outro eléctrico.

5. Métodos de multiplicação dos hospedeiros

O hospedeiro comumente utilizado no Laboratório de Ecologia para alimentação das coccinelas é o pulgão preto da fava, *Aphis fabae* SCOP., que é produzido sobre um suporte vegetal de *Vicia faba major*, ou fava grada. A *Vicia faba minor* ou favica, ainda que dê excelente resultado, encontra-se dificilmente nos Açores.

A contaminação das plântulas dá-se a partir do momento em que têm cerca de 10 cm de altura. Uma semana depois, utilizando a cultura da fava em terra fresca, a contaminação em pulgão atinge valores óptimos.

Resta apenas utilizar, por corte, as plântulas carregadas de afídeos.

6. *Métodos de multiplicação dos predadores*

Dois casos se podem dar:

- a) ou se multiplicam as coccinelas em caixas plásticas transparentes com rede fina de cobre, de capacidade de cerca de 2 litros, de modelo semelhante às usadas para pôr alimentos no frigorífico.
- b) ou se utilizam gaiolas de rede de musselina muito fina e resistente (tipo organza), com cerca de $\frac{1}{4}$ de m², cuja armação interna é em arame de 2 mm de diâmetro e a base em barra de «DEXION» quadrada com uma prancha de madeira prensada no fundo (GARCIA & SCHANDERL 1977).

No primeiro caso, utilizam-se no máximo 12 casais por caixa. Destinam-se mais à observação cuidadosa, recolha de ovos para recuperação de reprodutores ou manutenção das «souches». A alimentação faz-se por ramos de fava cortados, guarnecidos de pulgão.

No segundo caso, trata-se das caixas utilizadas em multiplicação maciça. Podem conter até 50 casais, que nelas completam o seu ciclo. A alimentação faz-se por substituição semanal dos vasos plásticos com plantas guarnecidas de pulgão.

7. *Métodos de aplicação da hormona juvenil*

A aplicação do homólogo da HJ foi feita por pincelagem da face ventral dos últimos anéis abdominais das fêmeas de coccinelas, mediante a utilização de pincéis n.º 2, de pêlo de marta.

Dado que o efeito residual da juvabiona é extremamente forte (MALAUSA 1976) só um pincel é utilizado para a mistura de azeite e juvabiona.

A técnica teve de ser aperfeiçoada. Chegou-se à conclusão que o método menos traumatizante para as coccinelas era segurá-las docemente entre os dedos, com a face ventral para cima e pincelar uma vez atrás das patas metatorácicas, nos 3 ou 4 últimos anéis abdominais.

A juvabiona era retirada com a seringa microlítica do pequeno frasco que a mantinha no frigorífico, em quantidades muito pequenas, apenas o suficiente para molhar completamente o pincel.

O tipo de juvabiona utilizado destina-se a agir mais sobre a metamorfose que sobre a maturação sexual, conforme indicação do Laboratório de Biologia Animal da Universidade de Bordéus I.

Em insectos maiores — por exemplo, Cárabos — a aplicação pode fazer-se por injeção abdominal, utilizando microseringas (MALAUSA 1976).

8. Métodos de contagem das posturas

Os casais para controlo das posturas foram colocados em caixas circulares de plástico tipo MINO-GAILLARD n.º 2936, com tampa de rede fina de cobre, com o fundo coberto por papel de filtro.

A alimentação era constituída por pedaços cortados de faveira, guarnecidos de *Aphis fabae*. Cada 48 horas (dia sim, dia não) era feito o controlo das posturas efectuadas e substituída a nutrição.

Nos ensaios efectuados com hormona juvenil, as fêmeas eram tratadas no dia seguinte à sua eclosão.

Nos ensaios de distribuição da postura por classes, a idade das fêmeas era apenas aproximadamente conhecida, visto que o factor idade não parece influir naquele tipo de ensaios, no que reside, aliás, uma das vantagens do método utilizado (GARCIA 1976).

CAPÍTULO II
OS COCCINELÍDEOS UTILIZADOS

1. *Semiadalia undecimnotata* SCHNEIDER

Semiadalia undecimnotata SCHNEIDER, a coccinela originária dos Alpes, é o exemplo do predador especializado.

Esta espécie de joaninha, originária dos Alpes da Alta Provença (região de Digne, França), foi trazida para a Estação de Luta Biológica de Antibes pela equipa do Laboratório de Monsieur IPERTI.

Desse Laboratório, onde desde 1964 se mantêm em multiplicação maciça, foi trazida para os Açores, onde vem sendo utilizada como material de teste para os efeitos de pesticidas sobre entomófagos. Pensa-se ainda que, dadas as suas características biológicas, poderá ser utilizada contra as populações primaveris de pulgão preto da beterraba e da fava (IPERTI 1971).

Semiadalia 11 — notata é uma espécie estivo-hibernante, de que se conhecem bem os mecanismos de diapausa e os locais de hibernação, para o Sudeste da França (IPERTI e HODEK 1974). Além disso, é uma espécie migradora e monovoltina: migra da planície para a montanha e vice-versa e possui uma só geração anual.

O seu monovoltinismo torna-a um material biológico ideal para ensaios de pesticidas, dado que permite realizar ensaios à saída da diapausa, em actividade, à entrada da diapausa e em diapausa, com resultados surpreendentes (GARCIA 1976).

Os estudos sobre distribuição das frequências de postura por classes de postura, realizados em Antibes, necessitavam de confirmação.

Do ponto de vista ecológico podemos ainda dizer que *S. 11 notata* é uma espécie com preferência pelos estratos vegetais constituídos por plantas baixas cultivadas, tal como o definiu

IPERTI (1965). Este autor considera o termo «estrato» vegetal como «as porções de espaço onde vivem as coccinelas, sem ter em conta as espécies botânicas ou as associações vegetais».

Assim, os biótopos ocasionais poder-se-iam repartir em 5 classes, em relação à sua altura média, à sua densidade e a considerações culturais:

— de 0 a 50 cm de altura

- + plantas baixas espontâneas
- + plantas baixas cultivadas

— de 50 cm a 2 m

- + plantas arbustivas espontâneas
- + plantas arbustivas cultivadas

— acima de 2 m

- + árvores cultivadas ou espontâneas

Semiadalia 11-notata encontra-se essencialmente na beterraba e na fava, estratos cultivados de 0 a 50 cm de altura, praticamente enfeudada a uma só espécie de pulgão, *Aphis fabae* SCOP.

2. *Adalia bipunctata* LINNÉ

Adalia bipunctata LINNÉ, a coccinela das laranjeiras de Lisboa, é um predador com tendência para a especialização.

Recolhidos alguns casais nas laranjeiras do aeroporto de Lisboa, em Junho de 1977, foram a partir destes realizadas culturas no Laboratório, que permitiram os ensaios sobre postura.

Utilizou-se como alimento *Aphis fabae*, embora não seja a melhor nutrição para *A.2-punctata*, que prefere *Myzodes persicae* SULZER (IPERTI 1965).

A.2-punctata é um coccinelídeo com tendência para o monovoltinismo, mas pode desenvolver uma segunda geração (Junho-Julho).

É também uma coccinela adaptada à Europa, portanto possuindo estivo-hibernação, originando a primeira geração no início da Primavera.

No entanto, difere de *S.11-notata* por não ser propriamente uma espécie Europeia, mas sim cosmopolita.

É abundante em Portugal continental e possui uma preferência nítida pelos estratos arbóreos.

3. *Cheilomenes sulphurea* (OLIVIER)

Cheilomenes sulphurea (OLIVIER), a coccinela originária de Angola, é o exemplo do predador não especializado.

Esta espécie foi enviada para a Estação de Luta Biológica de Antibes pela Divisão de Entomologia do Instituto de Investigação Científica de Angola, em Junho de 1974. Mantida desde então em reprodução em França, em Junho de 1976 uma estirpe de descendentes transitou para o Laboratório de Ecologia Aplicada do I.U.A.

Trata-se duma espécie extremamente resistente, abundante sobretudo nas savanas secas do litoral de Angola e nas bacias algodoeiras do Bengo-Quanza e de Novo Redondo.

A sua alimentação consiste principalmente, em Angola, em *Aphis gossypii*, *Myzodes (Myzus) persicae* e *Aphis nerii*. Nos ensaios de preferência afidífaga realizados em Angola (GARCIA 1974) verificou-se que o afídeo *Histeroneura setaria*, sobre a graminéa *Eragrotis superba*, era tóxico para a espécie.

Nos Açores, adaptou-se excelentemente à nutrição sobre *Aphis fabae*, apresentando muito fraca mortalidade e um bom poder reprodutor.

De notar que, nas «souches» de Antibes, a mortalidade é significativa, embora se use também *A. fabae*. Mas, o substrato

vegetal é cultivado sobre aparas de pinheiro húmidas, enquanto que nos Açores se usa terra de cultivo da Estação Agrária.

Dado que a climatização é idêntica nos dois locais, pensamos que deve estar aí a diferença.

Cheilomenes sulphurea é um predador polivoltino, chegando a ter 10 gerações anuais (GARCIA, comunicação pessoal). Não se conhecem dados sobre possibilidade de hibernação.

Neste sector, só agora foram iniciados estudos nos Açores, com vista à introdução da espécie. As largadas experimentais já feitas foram executadas apenas como ensaio.

Os estudos morfológicos e biológicos já efectuados sobre *Cheilomenes sulphurea* levam-nos a considerar esta espécie um bom material de estudo, dado que se conhece bem a biologia dos estados imaturos (GARCIA 1972) e dos adultos (GARCIA & SCHANDERL 1977).

Também a sua distribuição geográfica, essencialmente africana, mostra uma adaptação ao clima tropical. Isso explica o seu polivoltinismo em condições naturais. Donde, uma das técnicas para a sua introdução nos Açores ser a experimentação da sua capacidade de hibernação.

Esta é aliás uma das nossas linhas de trabalho para futuro próximo.

Os estratos vegetais donde é originária *Cheilomenes sulphurea* pertencem ao grupo das plantas arbustivas espontâneas (*Calotropis procera* ART.) ou cultivadas (algodoeiro) com 50 cm a 2 m de altura.

CAPÍTULO III

OS ENSAIOS DE AVALIAÇÃO DAS POSTURAS

A avaliação das posturas dos Coccinelídeos estudados fez-se sobre 3 aspectos:

- *Quantidade média dos ovos postos em 48 horas, e sua evolução durante 45 dias.*
- *Distribuição das posturas no espaço (tactismos e tropismos da oviposição).*
- *Distribuição das frequências de postura por classes de postura.*

1. *Quantidade média dos ovos postos cada 48 horas e sua evolução durante 45 dias*

O método de contagem das posturas, para as três espécies estudadas, foi já descrito no parágrafo 8 do capítulo I.

Como se pode ver na tabela I, a média de ovos postos cada 48 horas foi de 28 para *S.11-notata*, de 25 para *A.2-punctata* e de 22 para *Cheilomenes sulphurea*.

Estas diferenças de fertilidade seriam possivelmente devidas a diferentes graus de afinidade alimentar em relação a *Aphis fabae*.

No entanto, esta opinião carece de um estudo mais aprofundado, ainda que os estudos de IPERTI (1971) confirmem os dados que obtivemos para a fertilidade média relativa de *A.2-punctata* e *S.11-notata*.

Por outro lado, os dados obtidos para a fertilidade de *Cheilomenes sulphurea* confirmam os obtidos em Angola (GARCIA 1973 não publicado).

No que respeita à evolução das posturas, durante 45 dias, os resultados obtidos estão representados no gráfico da figura 3.

Para verificar se havia diferenças estatisticamente significativas entre 3 séries de posturas referidas às 3 espécies de Coccinelídeos estudados e apresentados na figura 3, recorreremos ao teste de MANN-WHITNEY.

Trata-se de um teste destinado a pequenas amostras ($n < 30$) que não seguem a distribuição normal e que é especialmente indicado para estas curvas de postura (RABASSE, in GARCIA 1976).

O teste de MANN-WHITNEY mostra-nos que duas distribuições de valores são idênticas sempre que o valor de $|Z| \leq 1,96$. Pelo contrário a hipótese de identidade entre duas distribuições é rejeitada sempre que $|Z| \geq 1,96$ (nível de significância de 5 %).

O processo de execução deste teste é apresentado no anexo I, no fim deste trabalho.

Os resultados obtidos mostraram aceitação da hipótese nula (identidade entre as séries de posturas, comparadas 2 a 2). Não há diferenças estatisticamente significativas entre as posturas de *S.11-notata* e *A.2-punctata*, pois o $|Z| = |1,31|$, logo inferior a 1,96. O mesmo sucede entre *Cheilomenes sulphurea* e *A.2-punctata*, pois $|Z| = |1,86|$, inferior portanto a 1,96. Idêntico resultado para a comparação das posturas de *S.11-notata* e *Cheilomenes sulphurea*, com $|Z| = |-0,80|$, também inferior a 1,96.

Não deverão portanto ser de considerar diferenças entre o comportamento das posturas destas 3 espécies, apesar de aparentemente essas diferenças existirem.

2. Distribuição das posturas no espaço (*tactismos e tropismos da oviposição*)

Os dados destes estudos foram retirados de trabalhos efectuados por IPERTI (1965), no que diz respeito a *Semiadalia.11-notata* e *Adalia.2-punctata*. A mesma técnica foi utilizada por GARCIA (1973) em Angola, no que se refere a *Cheilomenes*

sulphurea. Pensamos que a comparação destes resultados poderia ter interesse. Por outro lado, utilizando técnica idêntica, embora com modificações ligeiras, fizemos um ensaio do mesmo tipo com *S.11-notata* e *A.2-punctata*.

As técnicas utilizadas são 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.

Só os dispositivos variam ligeiramente (figura 4).

IPERTI (1965) utilizou caixas de plástico, com cerca de ½ litro de capacidade, com tampa de rede de cobre. No fundo, sobre papel de filtro que assentava numa base perfurada, encaixando num recipiente com água, colocou batatas em germinação, contaminadas com *Myzodes persicas* (nutrição de *S.11-notata* e *A.2-punctata*).

GARCIA (1973) utilizou chaminés de candeeiro, de vidro, com tampa de rede de gaze, invertidos sobre caixas de Petri com papel de filtro. No papel de filtro, assentavam frutos duma Asclepiadácea tropical, *Calotropis procera* ART., contaminados com *Aphis nerii* (nutrição de *Cheilomenes sulphurea*).

Nós utilizamos caixas plásticas circulares, MINO-GAILLARD ref. 2936, com tampa de rede de cobre e fundo coberto de papel de filtro. Sobre o papel de filtro colocamos pequenos ramos de faveira contaminados com *Aphis fabae* (nutrição de *S.11-notata*).

Os resultados estão expressos na figura 5.

A análise destes resultados leva-nos a considerar que as posturas, no seu aspecto geral, se efectuam na maior quantidade na tampa e no vegetal com afídeos em 4 casos: *S.11-notata*, LEA 1977 e IPERTI 1965 e *A.2-punctata*, IPERTI 1965 e LEA 1977. Em *Cheilomenes sulphurea* (GARCIA 1973), são os lados dos recipientes e o vegetal com afídeos que representam os locais preferidos de oviposição: 46 % no primeiro caso e 35 % no segundo.

Podemos assim concluir que, em 4 casos, a ventilação, o geotropismo negativo e a atracção alimentar associada ao higrotropismo atraíram duas espécies: *S.11-notata* e *A.2-punctata*.

No outro caso, foi o fototropismo, associado ao higrotropismo e à atracção alimentar que atraíram a oviposição de *Cheilomenes sulphurea*.

Não será então correcto dizer-se que a oviposição dos Coccinelídeos se dá em princípio junto das populações de afídeos, pois outros factores são determinantes.

3. *Distribuição das frequências de postura por classes de postura*

Esta técnica de análise da postura dos predadores foi posta em prática com resultados interessantes, na Estação de Luta Biológica de Antibes (GARCIA 1976).

Consiste em agrupar as posturas segundo o número de ovos, distribuindo-as em classes cujo intervalo é de 10 (0 a 10 ovos, 10 a 20 ovos, etc. ...). Há assim classes em que se verifica uma maior frequência, noutras uma menor.

Ora, uma conclusão interessante dos ensaios realizados em 1976 em Antibes, fora a de que, fosse qual fosse o estado ecofisiológico do predador, a distribuição das posturas era semelhante, para cada espécie estudada, desde que submetida às mesmas condições de ensaio.

Foi curioso verificar que a figura estatística da distribuição das posturas de *Semiadalia undecimnotata* obtida no LEA, nos Açores, coincidiu grandemente com as que se obtiveram em Antibes, igualmente com animais de cultura de laboratório (figuras 6 e 7).

Assim, verifica-se que as frequências maiores, são nos dois casos, nas classes de dez a vinte ovos e de vinte a trinta ovos, para as posturas de baixa gama. Nas posturas maiores há, uma espécie de planalto entre a classe 50 e a classe 70.

Geometricamente, a figura estatística é quase idêntica.

Uma distribuição parecida com a anterior, foi verificada no caso da *A.2-punctata*, nos ensaios que realizámos.

Observando a figura 8, verifica-se que há uma maior frequência nas posturas de baixa gama (10, 20, 30 ovos). Há a seguir uma queda, relativamente brusca e uma nova elevação nas frequências de postura de alta gama. Este segundo máximo de frequências verifica-se na classe de 60 a 70 ovos e origina um fenómeno de «planalto» semelhante ao verificado no caso de *Semiadalia undecimnotata*.

No caso de *Cheilomenes sulphurea*, verifica-se um nítido desequilíbrio entre a frequência das posturas de alta gama (muito baixa) e a frequência de posturas de baixa gama (extremamente alta, representando a quase totalidade das posturas).

O fenómeno de «planalto» que se segue à queda suave do gráfico e que se verificou no caso de *S.11-notata* e de *A.2-punctata* é totalmente inexistente.

Isto mostra que as posturas de alta gama (60 a 70 ovos) existem com certa frequência nos casos de *S.11-notata* e *A.2-punctata* e são muito pouco frequentes em *Cheilomenes sulphurea*.

Esta constatação é extremamente importante sobre dois aspectos:

- primeiro, porque permite estabelecer uma certa distinção entre os predadores estudados, do ponto de vista ecológico;
- segundo, porque as figuras estatísticas agora confirmadas podem ser utilizadas para referenciar a influência de certos pesticidas sobre a postura dos Coccinelídeos afidípagos, conforme fora sugerido por GARCIA (1976).

4. *A acção da juvabiona sobre a postura de Cheilomenes sulphurea.*

As aplicações de mistura de azeite e hormona juvenil sobre 5 fêmeas adultas de *Cheilomenes sulphurea* levaram, por comparação com as posturas de 5 fêmeas adultas da mesma espécie pinceladas apenas com azeite (testemunhas) aos seguintes resultados.

TABELA II

	N.º do posturas	Média de ovos	T. de ovos	Sx
Tratadas	35	18,3	641	6,81
Testemunhas	35	15,7	550	5,34

Sx = desvio padrão

As observações deste teste duraram cerca de 70 dias, com as contagens de ovos feitas cada 48 horas. Todos os insectos se encontravam em idênticas condições ambientais.

Os valores das posturas médias que permitiram elaborar a tabela II, vêm indicados no fim do trabalho, nos elementos de cálculo para as tabelas.

A priori, seriam necessárias mais observações para conclusões definitivas, dado que os valores do desvio padrão são elevados. Com este fim e para avaliar a significância das médias, efectuamos um teste estatístico de MANN-WHITNEY, cujo emprego já foi referido no parágrafo 1 do capítulo III.

No caso do ensaio efectuado, as distribuições de posturas da série tratada com juvabiona e da série testemunha deram um valor de $Z = 6,04$, portanto $|6,04| > 1,96$ e a hipótese nula é rejeitada. As duas séries de valores são significativamente diferentes.

Podemos assim aceitar que estas diferenças são devidas a um aumento da postura pela acção da juvabiona.

CAPÍTULO IV

ENSAIO DE UMA TÉCNICA SIMPLES
PARA AVALIAÇÃO DO RITMO CARDÍACO DAS PUPAS

O estudo das potencialidades biológicas das coccinelas adultas oferece menos dificuldades que a apreciação das mesmas em relação aos estados imaturos (ovos, larvas e pupas).

No entanto, no estudo dos efeitos secundários de certos pesticidas sobre os predadores considerados, é necessário dispor-se de parâmetros biológicos cuja variação nos permita aquilatar em que medida o pesticida afecta ou não as «performances» biológicas dos insectos.

Ora, no caso dos adultos, isto tem sido realizado, utilizando como parâmetro básico a capacidade de postura, como foi exposto nos capítulos precedentes.

No caso das larvas, os trabalhos em curso no LEA assim como métodos aperfeiçoados de determinação da voracidade por meio de radioelementos empregados no INRA de Antibes, (FERRAN, a publicar) põem o problema em vias de solução.

Mas, o caso dos estados imóveis (ovos e pupas) afigura-se mais difícil.

Duas técnicas seguras poderão servir para resolver esta questão:

- um método respirométrico, que possa medir a influência dos pesticidas na taxa de consumo de oxigénio pelos ovos e pupas;
- um método cardiométrico, que permita avaliar a influência dos pesticidas sobre o ritmo de batimentos cardíacos dos insectos.

Isto porque pretendemos ensaiar pesticidas que não tenham efeitos letais sobre os predadores (GARCIA 1976), conforme o espírito que preside às técnicas de luta integrada.

Como complemento, pode pensar-se na observação de outros efeitos, como sejam a percentagem de eclosões viáveis.

E ainda, no caso dos ovos, os efeitos sobre as larvas eclodidas ou no caso das pupas, os efeitos sobre os adultos eclodidos.

Mas só o método respirométrico e cardiométrico são métodos de estudo directo dos efeitos secundários não letais.

Uma vez que a respirometria exige aparelhagem sofisticada, de que o Laboratório de Ecologia ainda não dispõe, pensamos numa técnica simples que permitisse, sem usar aparelhos de electrocardiografia (que serão necessariamente de alta sensibilidade) traçar, com exactidão aceitável, o perfil cardiográfico das pupas.

1. A técnica utilizada

Utilizando uma lupa estereoscópica WILD M/3, com ampliação de 40 diâmetros, torna-se possível observar através do tegumento translúcido da face dorsal das pupas de *Cheilomenes sulphurea*, o pulsar do vaso dorsal e a passagem da hemolinfa.

Com o auxílio de dois observadores, um à lupa, utilizando um contador mecânico («TALLY COUNTER», ref.^a Ward's n.º 15W2640) e outro actuando como registador e cronometrista (cronómetro OMEGA, precisão 1/10 do segundo), conseguiu-se, em ensaios prévios, definir as regras técnicas de observação.

Com o material utilizado, verificou-se que os resultados eram seguros, se se considerasse um período mínimo de observações, para cada pupa, de pelo menos 1 hora.

2. As pupas observadas

As pupas utilizadas foram as da espécie *Cheilomenes sulphurea*, em virtude do seu tegumento, de cor amarela, permitir uma melhor observação à lupa das pulsações do vaso dorsal ou «coração».

A este respeito, podemos dizer que as observações foram feitas sempre numa região bem determinada da pupa: à altura

da linha média da face dorsal do terceiro anel abdominal, onde a visão das pulsações é geralmente mais nítida.

Tratando-se de um ensaio prévio, não escolhemos pupas todas da mesma idade.

Sabendo-se que a duração da pupação é para a *Cheilomenes sulphurea*, de cerca de 4 a 6 dias, conforme as condições ecológicas do ciclo (GARCIA 1972), é provável que as diferenças nos cardiogramas obtidos sejam devidas ao facto de se tratar de pupas de idade diferente. Isto porque se sabe que é na fase de pupa que se dão as maiores transformações morfológicas e fisiológicas das coccinelas.

Mas, interessou-nos sobretudo obter uma ideia geral acerca da existência de um ritmo cardíaco e se este ritmo era semelhante de exemplar para exemplar, ou se todos estes insectos apresentavam um tipo de ritmo semelhante, com pequenas variações.

3. Os cardiogramas obtidos

Começamos por analisar três gráficos dos batimentos cardíacos correspondentes a três pupas que, quanto a nós, representam os três tipos clássicos de cardiogramas obtidos (figura 10).

A pupa 1, durante a hora que durou o registo de pulsações apresentou um pulsar regular, praticamente sem pausas ou com pausas relativamente pequenas (cerca de 1 minuto, no máximo).

A pulsação média por minuto foi de 45,57 (desvio padrão 8,47). Os valores das observações estão representados na tabela III.

A pupa 2, apresenta um tipo oposto de cardiograma. As pausas longas predominam, interrompidas por pulsações de frequência mais alta: média de 50,38 por minuto.

Os longos períodos sem pulsação são interrompidos por períodos curtos de pulsação, mas com batimentos rápidos.

Os valores das observações estão também representados na tabela III.

A pupa 3, apresenta um tipo intermédio entre os dois cardiogramas anteriores.

Os períodos de pulsação alternam com períodos de pausa, numa forma de certo modo regular.

A frequência média de pulsação foi de 40,76 por minuto com um desvio padrão de 17,67 (tabela III).

4. *As possibilidades futuras*

Os resultados obtidos mostram-nos que é possível estabelecer um controlo do ritmo cardíaco das pupas.

Concluimos ainda que, mesmo com os métodos aproximativos empregados, sem dúvida que é possível considerar três tipos base de ritmos cardíacos pupais.

Põe-se o problema de saber se os três tipos base de cardiogramas correspondem a fases diferentes da diferenciação morfo-fisiológica das pupas, visto que, como atrás dissemos, as pupas estudadas eram de idades diferentes.

Para tal, é necessário estabelecer-se um protocolo de pesquisa, utilizando uma metodologia de observação das pupas, a intervalos regulares, desde a formação da pupa até à eclosão do adulto.

É óbvio que, se dispusermos de um aparelho registador de impulsos, associado a um amplificador de alta sensibilidade, de um osciloscópio e numa unidade impressora, poderemos tentar a colocação de um microeléctrodo sobre o vaso dorsal das pupas e obter o cardiograma. Tal técnica só poderá ser utilizada em colaboração futura a estabelecer com o Laboratório de Biologia Animal da Universidade de Bordéus I.

Podemos entender este ensaio como uma experimentação prévia que nos permitiu saber se era possível virmos a aplicar técnicas de cardiografia às pupas das *coccinelas*.

Verificado este facto, resta depois comparar electrocardiogramas de pupas tratadas com pesticidas, com os electrocardiogramas testemunha e obter uma metodologia própria para seleccionar os pesticidas segundo os efeitos produzidos.

DISCUSSÃO

1 — Os estudos realizados só podem verificar-se num Laboratório que disponha de uma cultura permanente de hospedeiros e predadores, em condições de ambiente controlado.

2 — As espécies de Coccinelídeos que foram objecto de estudo — *Semiadalia undecimnotata* SCHNEIDER, *Adalia bipunctata* LINNÉ e *Cheilomenes sulphurea* (OLIVIER) — representam 3 tipos muito diferentes de afidípagos:

— *S.11-notata* é originária dos Alpes, monovoltina, estivo-hibernante e praticamente enfeudada a *Aphis fabae* e às plantas cultivadas.

— *A.2-punctata* é cosmopolita, com tendência para o monovoltinismo e prefere *Myzodes persicae* e os estratos arbóreos.

— *Cheilomenes sulphurea* é originária de África, polivoltina, prefere *Aphis gossypii* e os estratos arbustivos espontâneos.

3 — As diferenças ecológicas entre as três espécies estudadas constituíram uma grande vantagem para as observações, sobretudo com respeito à análise da postura, à distribuição das posturas no espaço e à distribuição das frequências de postura por classes de postura.

4 — Os ensaios de avaliação das posturas dos três Coccinelídeos afidípagos estudados pareciam, à primeira vista, mostrar diferenças quanto à fertilidade relativa dos mesmos. Até porque estudos anteriores davam esta impressão (IPERTI 1971; GARCIA 1973).

O emprego adequado do teste estatístico de MANN-WHITNEY mostrou que as diferenças existentes nos ensaios não eram significativas e que portanto a fertilidade de *Semiadalia 11-notata*, *Adalia bipunctata* e *Cheilomenes sulphurea*, nas condições de estudo utilizadas, deve ser considerada equivalente.

5 — A avaliação da postura respeitante à sua distribuição no espaço, levou às seguintes conclusões:

— A ventilação, o geotropismo negativo por um lado e a atracção alimentar associada do higtotropismo por outro, são os factores mais importantes que atraem a oviposição de *S.11-notata* e *A.2-punctata*.

— A atracção alimentar e o higtotropismo, se são importantes na oviposição de *Cheilomenes sulphurea*, não o são tanto quanto o fototropismo.

Podemos concluir que a oviposição é determinada por um complexo de factores, possivelmente variáveis com a espécie estudada e que será arriscado afirmar que os Coccinelídeos põem os seus ovos principalmente junto das populações afidianas.

6 — A distribuição das posturas por classes revelou ser o melhor modo de avaliar o comportamento da postura dos Coccinelídeos afidífagos. A representação gráfica da evolução das posturas (figura 3) ou a sua expressão numérica em termos de fertilidade média (figura 2) nem sempre nos dão uma ideia clara sobre o tipo de predador utilizado.

7 — As figuras estatísticas da distribuição das frequências de postura por classes, são independentes da idade e do estado ecofisiológico, o que acaba de ser confirmado mais uma vez neste estudo. Assim, a distribuição das frequências de postura por classes mostrou, no caso da *S.11-notata*, o mesmo comportamento que o obtido nas experiências realizadas na Estação de Luta Biológica de Antibes.

Partindo do mesmo método de análise da figura estatística da distribuição de frequências de postura por classes, verificou-se que *A.2-punctata* tem uma distribuição semelhante: *a seguir a uma frequência elevada de posturas de alta gama, há uma queda brusca, baixando a frequência nas posturas de alta gama, mas com um número significativo, dando origem a uma espécie «planalto»* (figuras 6 e 7).

8 — No caso das posturas de *Cheilomenes sulphurea*, o contraste com as espécies anteriores é flagrante: há um nítido desequilíbrio entre as posturas de baixa gama (que constituem a quase totalidade) e as de alta gama, eliminando praticamente o «planalto» terminal.

9 — Retira-se da análise das figuras estatísticas referidas atrás:

— a frequência de posturas de alta gama com certa importância, confere maior impacto ecológico à acção dos predadores de tendência monovoltina, como *S.11-notata* e *A.2-punctata*, pois a sua acção sobre as populações de pulgões num dado momento deverá ser maior, sobretudo se a concentração de maiores posturas coincidir com a maior população de pulgões.

— Confirmou-se que as espécies monovoltinas ou com tendência para o monovoltinismo são, em princípio, melhor material biológico para estudo dos efeitos secundários de pesticidas selectivos sobre a postura por possuírem dois tipos de postura (de alta e de baixa gama), que são evidenciadas na distribuição das frequências. A aplicação dum pesticida alterará esta distribuição, como já foi estudado (GARCIA 1976).

10 — A juvabiona, homólogo da hormona juvenil que ensaiámos em fêmeas de *Cheilomenes sulphurea*, teve um efeito de aumento da fertilidade (cerca de mais 3 ovos por dia e por fêmea). Estes resultados foram confirmados estatisticamente.

11 — A técnica cardiométrica ensaiada deu bons resultados. Sabe-se agora que é possível avaliar o ritmo cardíaco das pupas dos Coccinelídeos e que este ritmo obedece a certos padrões.

CONCLUSÕES

1 — Um laboratório que se dedique a estudos de efeitos secundários de pesticidas selectivos sobre Coccinelídeos afidífagos, deverá reunir condições para multiplicar em permanência, espécies monovoltinas, polivoltinas e espécies de voltinismo intermédio. As diferenças ecológicas entre as espécies estudadas são importantes para este tipo de estudos.

2 — O método de estudo da postura através da sua evolução no tempo, com contagens sucessivas, não parece muito seguro.

Nenhum resultado estatisticamente significativo foi obtido com base nas médias de fertilidade, obtidas cada 48 horas, que permitisse caracterizar as três espécies nos ensaios.

3 — Os locais de oviposição dos Coccinelídeos afidífagos são afectados por um complexo de factores, de importância variável de espécie para espécie.

Sendo a atracção alimentar importante, não é por vezes a mais importante (caso da espécie *Cheilomenes sulphurea*). Deverá pois evitar-se afirmar que os predadores afidífagos da família *Coccinellidae* efectuem as suas posturas principalmente junto das populações de afídeos.

4 — O melhor método de estudo das posturas e aquele que parece ter mais utilidade, por permitir conclusões ecológicas é o da avaliação das frequências de postura por classes. Assim se pôde concluir que a frequência de posturas de alta gama (60 a 70 ovos) com certa importância, confere aos predadores com tendência monovoltina um maior impacto ecológico em certas épocas do ano. Na Primavera, por exemplo, será preferível empregar contra as populações de afídeos coccinelas monovoltinas ou de tendência monovoltina, em vez de polivoltinas.

5 — A distribuição de frequências de postura por classe, mostrou também que as coccinelas de tendência monovoltina são

melhor material biológico para utilizar nos estudos de efeitos secundários de pesticidas sobre a postura, porque permite estudar os efeitos dos produtos sobre a frequência das posturas de alta e baixa gama.

6 — A aplicação de juvabiona sobre as fêmeas de *Cheilomenes sulphurea* provocou um aumento da fertilidade de cerca de 3 ovos por dia e por fêmea em relação aos insectos testemunhas.

7 — A partir dos resultados obtidos nos ensaios da técnica de avaliação do ritmo cardíaco das pupas, sabemos agora que será possível, com meios mais aperfeiçoados, determinar quais os efeitos dos pesticidas sobre o ritmo cardíaco das pupas de Coccinelídeos.

BIBLIOGRAFIA

- 1 -- GARCIA V., 1972 — Os estados imaturos de *Cheilomenes sulphurea sulphurea* (OL.) — *Coleoptera: Coccinellidae*. *Bol. Inst. Invest. Cientif. Ang.*, Vol. 9 (N.º 2), Luanda.
- 2 — GARCIA V., 1974 — A preferência afidífaga de *Cheilomenes sulphurea sulphurea* (OL.) — *Coleoptera: Coccinellidae* na região de Luanda. *Relatórios e Comunicações do Instituto de Investigação Científica de Angola*, N.º 31, Luanda.
- 3 — GARCIA V., 1966 — Influence de trois produits phytosanitaires sur les performances biologiques d'une coccinelle aphidiphage (*Semiadalia undecimnotata* SCHNEIDER). *Thèse de doctorat de spécialité en Sciences Biologiques*, Université de Provence, 114 pp., Marseille.
- 4 — GARCIA & SCHANDERL, 1977 — Biologia de um coccinélido afidífago *Cheilomenes sulphurea* (OL.), *Relatórios e Comunicações do Laboratório de Ecologia Aplicada do Instituto Universitário dos Açores*, n.º 1, Ponta Delgada.
- 5 — GARCIA & TAVARES, 1977 — Ecologia e métodos de combate à «lagarta das pastagens» *Mythimna (Cirphis) unipuncta* HAW. (*Lepidoptera, Noctuidae*). *Relatórios e Comunicações do Laboratório de Ecologia Aplicada do Instituto Universitário dos Açores*, n.º 2, Ponta Delgada.
- 6 — HODEK I., 1973 — Biology of Coccinellidae. Dr. W. JUNK N. V., The Hague, 260 pp.
- 7 — IPERTI G., LAUDÉHO Y. BRUN J. et JANVRY C., 1970 — Les entomophages de *Parlatoria blanchardi* TARG, dans les palmeraies de l'Adrar Mauritanien. *Ann. Zool. Écol. anim.* Vol 2 (N.w 4), Paris.
- 8 — IPERTI G., 1965 — Ecology of aphidophagous Coccinellids (The choice of oviposition sites in aphidophagous Coccinellidae). *Proceedings of a Symposium held in Liblice*. Academia, Praha, 360 pp.
- 9 — IPERTI G., 1971 — L'emploi des Coccinelles dans la lutte contre le Puceron noir de la Beterave (*Aphis fabae* SCOP). *Parasitica*, Tome 27, n.º 4.

- 10 — IPERTI G. & HODEK I., 1974 — Induction alimentaire de la dormance imaginale chez *Semiadalia 11-notata* SCHNEIDER. (Col., Cocc.) pour aider à la conservation des coccinelles élevées au laboratoire avant une utilisation ultérieure. *Ann. Zool. Écol. anim.* 6 (1), 41-51.
- 11 — MALAUSA J.-C., 1976 — Étude écophysiological des principaux types de cryptobiose observés chez les *Caraboidea* (Coleoptera) Thèse de doctorat de spécialité, Université de Provence, 73 pp., Marseille.
- 12 — SLAMA K. & WILLIAMS C. M., 1965 — Juvenile hormone activity for the bug, *Pyrrhocoris apterus*. *Proc. nat. Acad. Sci.*, 54 411-414.
- 13 — RAMADE F., 1972 — Évolution et avenir de la lutte biologique. *Bulletin de la Société Zoologique de France*, tome 97, n.° 4, p. 629.

ANEXO IV

TESTE ESTATÍSTICO DE MANN-WHITNEY

Este teste destina-se a avaliar se há ou não diferenças estatisticamente significativas entre duas distribuições. Aplica-se a pequenas amostras ($n \leq 30$) e sempre que as distribuições se afastam da distribuição normal.

A estatística de MANN-WHITNEY define-se a partir do valor

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

em que n_1 e n_2 representam o número de amostras da primeira e da segunda distribuição. De notar que é indiferente qual das distribuições se considera primeiro.

Para efectuar os cálculos de U , seriam-se os valores das duas amostragens (ou sejam os valores reais) por ordem crescente de grandeza. Os valores que lhes correspondem nesta escala (valores teóricos) é que são considerados no cálculo das séries R_1 e R_2 . Quando n_1 e n_2 têm alguma expressão (digamos, superiores a 8), o teste é definido pelo valor de

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

pois neste caso a distribuição respectiva aproxima-se da normal.

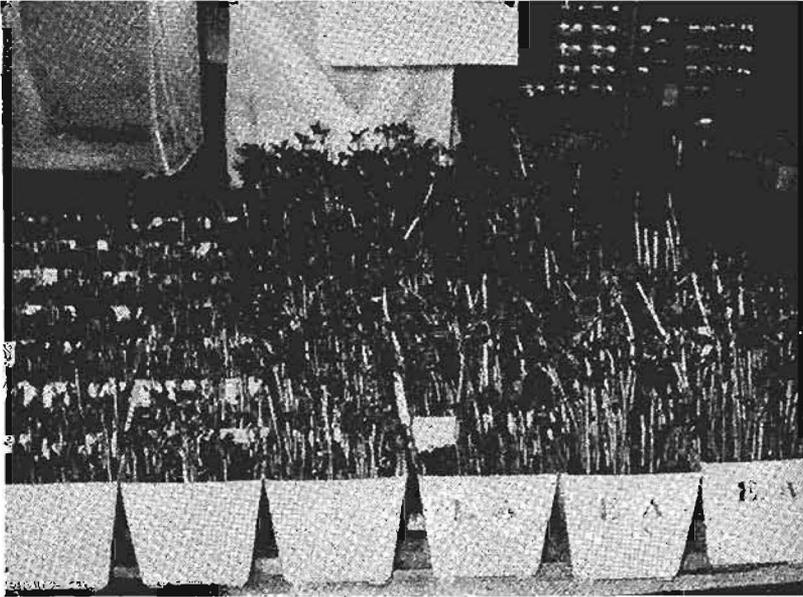


FIGURA 1 — Vasos de plástico para cultivo de *Vicia faba*

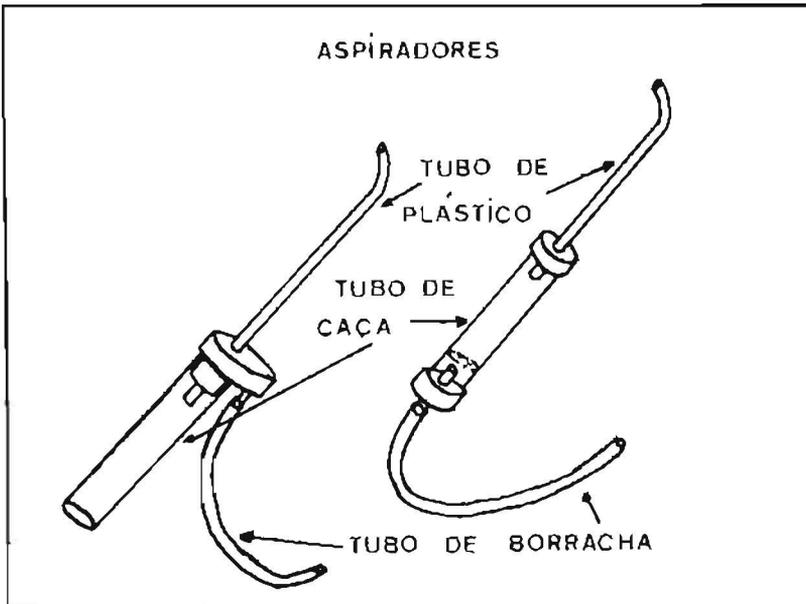


FIGURA 2 — Material de captura

= TABELA I =

POSTURAS MEDIAS CADA 48 HORAS

S.11-notata	A.2-punctata	Ch.sulphurea
X = 28	X = 25	X = 22
n = 25	n = 23	n = 26
Sx = 6,02	Sx = 3,11	Sx = 5,14

X = média; n = número de contagens; Sx = desvio
drão.

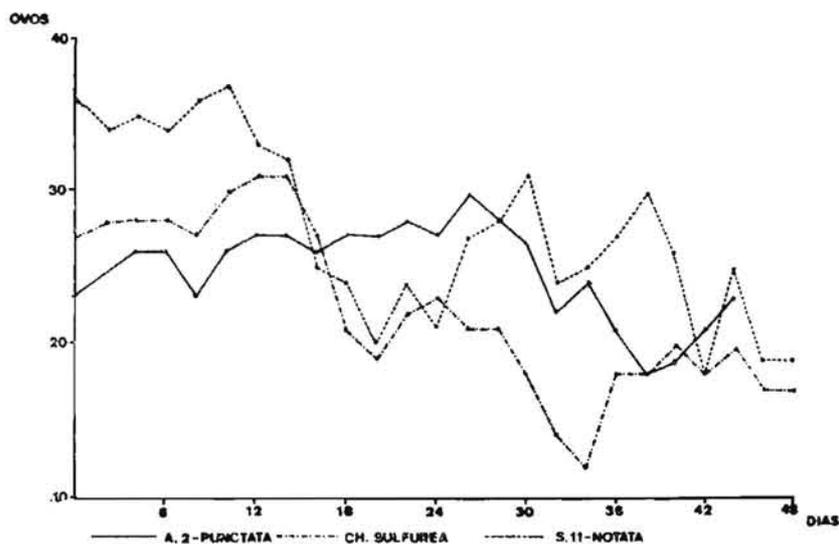


FIGURA 3 — Evolução das quantidades de ovos postos cada 48 horas
(*S.11-notata*, *A.2-punctata* e *Cheilomenes sulphurea*).

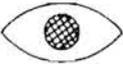
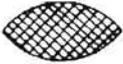
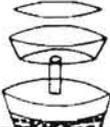
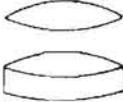
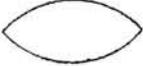
	IPERTI 1965	GARCIA 1973	L.E.A. 1977
Tampa			
Lados			
Vegetal			
Fundo			

FIGURA 4 — Material utilizado nos estudos de distribuição das posturas (tactismos e tropismos).

ESPECIE	S.11-n	S.11-n	A.2-p	A.2-p	Ch. s	FACTORES DE INFLUENCIA
AUTOR	IPERTI 1965	L.E.A. 1977	IPERTI 1965	L.E.A. 1977	GARCIA 1973	
TAMPA	26%	56%	44%	64%	1%	GEOTROPISMO-VENTILAÇÃO
LADOS	19%	14%	26%	7%	46%	FOTOTROPISMO
VEGETAL	43%	28%	21%	27%	35%	HIGROTROPISMO TIGMOTACTISMO
FUNDO	12%	2%	9%	2%	18%	TIGMOTACTISMO

Figura 5 - DISTRIBUIÇÃO DAS POSTURAS NO ESPAÇO

(S.11-n = Semiadalia 11-notata; A.2-p = Adalia bipunctata;

Ch. s = Cheilomenes sulphurea.

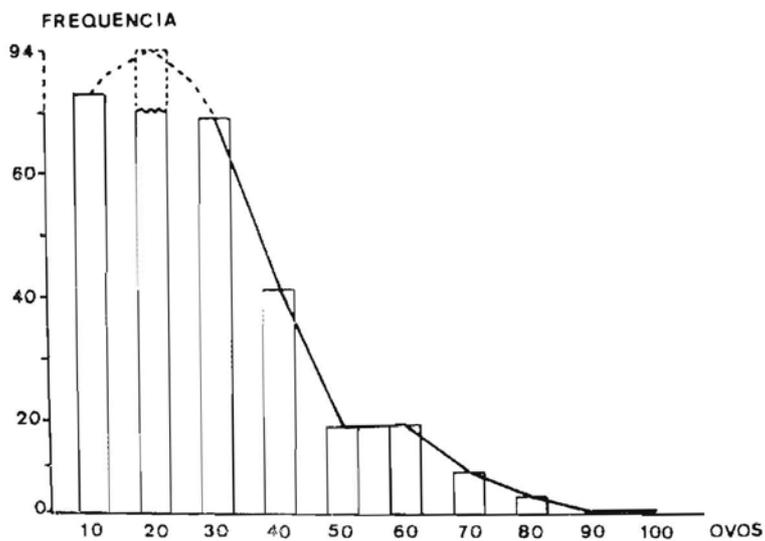


FIGURA 6—Frequência das posturas, distribuída por classes (GARCIA 1976) (*Semiadalia 11-notata*, cultura de laboratório).

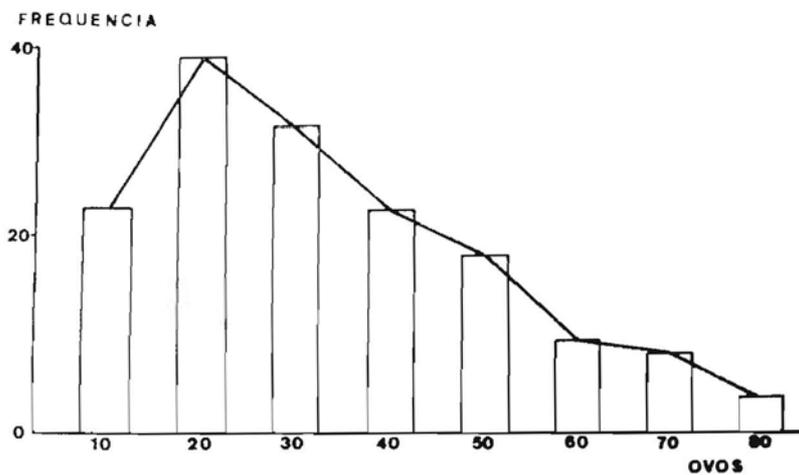


FIGURA 7—Frequência das posturas distribuída por classes (L.E.A. 1977) (*Semiadalia 11-notata*, cultura de laboratório).

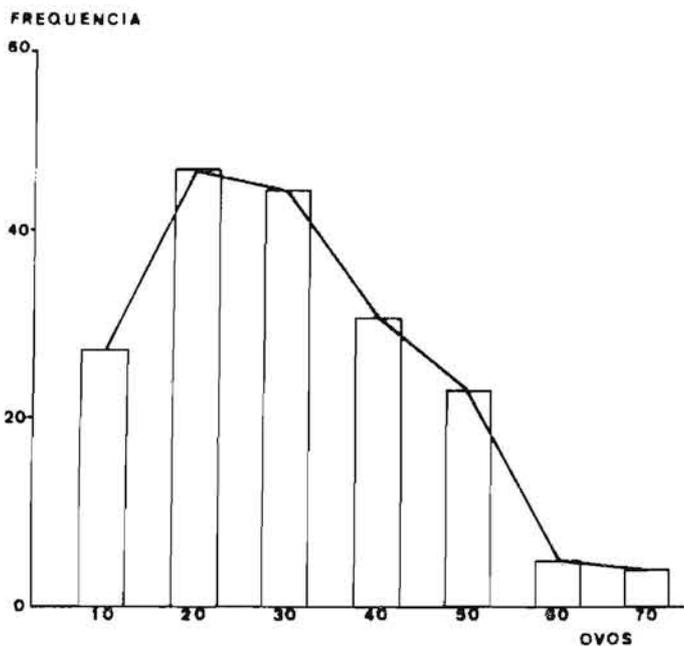


FIGURA 8 — Frequência das posturas distribuídas por classes (L.E.A. 1977)
(*Adalia 2-punctata*, cultura de laboratório).

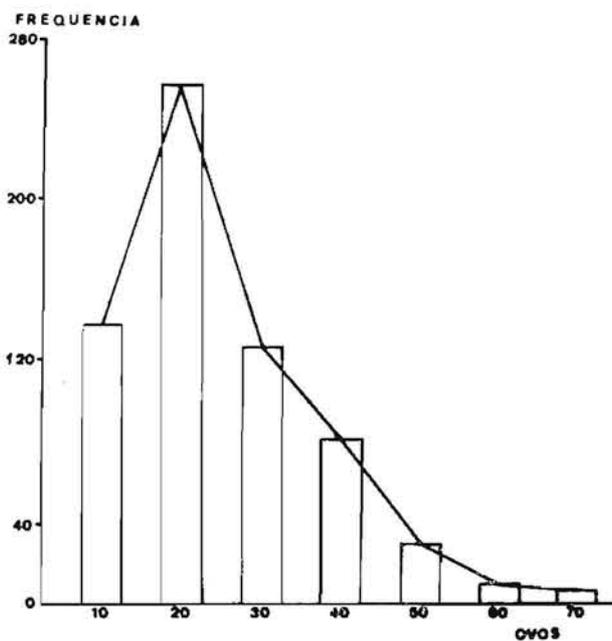


FIGURA 9 — Frequência das posturas distribuídas por classes (L.E.A. 1977)
(*Cheilomenes sulphurea*, cultura de laboratório).

ANEXO I
ELEMENTOS DE CALCULO PARA OS TESTES DE MANN-WHITNEY (Figura 3)
VALORES MEDIOS DAS POSTURAS

TESTE 1				TESTE 2				TESTE 3			
<u>S.11-notata</u>		<u>A.2-punctata</u>		<u>S.11-notata</u>		<u>Ch.sulphurea</u>		<u>Ch.sulphurea</u>		<u>A.2-punctata</u>	
VALOR REAL	VALOR TEORICO	VALOR REAL	VALOR TEORICO	VALOR REAL	VALOR TEORICO	VALOR REAL	VALOR TEORICO	VALOR REAL	VALOR TEORICO	VALOR REAL	VALOR TEORICO
36	34,5	23	23	36	37,5	27	28	27	27	23	23,5
34	34,5	28	29,5	34	33,5	28	28	28	27	28	27
35	34,5	26	23	35	33,5	28	28	28	27	26	27
34	34,5	26	23	34	33,5	28	28	28	27	26	27
36	34,5	23	23	36	37,5	27	28	27	27	23	23,5
37	37,5	26	23	37	37,5	30	30,5	30	33,5	26	27
33	34,5	27	29,5	33	33,5	31	30,5	31	33,5	27	27
32	29,5	27	29,5	32	33,5	27	28	27	27	27	27
25	23	26	23	25	25,5	21	19,5	21	21,5	26	27
24	23	26	23	24	23,5	19	19,5	19	17	26	27
20	23	27	29,5	20	19,5	22	22	22	21,5	27	27
23	23	28	29,5	23	23,5	23	23,5	23	23,5	28	27
21	23	27	29,5	21	19,5	21	19,5	21	21,5	27	27
27	29,5	30	29,5	27	28	21	19,5	21	21,5	30	33,5
28	29,5	28	29,5	28	28	18	19,5	18	17	28	27
31	29,5	27	29,5	31	30,5	14	13	14	13,5	27	27
24	23	22	23	24	23,5	12	13	12	12	22	21,5
25	23	24	23	25	25,5	18	19,5	18	17	24	23,5
26	23	21	23	26	25,5	18	19,5	18	17	21	21,5
30	29,5	18	18	30	30,5	20	19,5	20	20	18	17
26	23	19	18	26	25,5	18	19,5	18	17	19	17
18	18	21	23	18	19,5	20	19,5	20	20	21	21,5
25	23	24	23	25	25,5	17	16	17	17	24	23,5
19	18			19	19,5	17	16	17	17		
19	18			19	19,5	17	16	17	17		
						18	19,5	18	17		

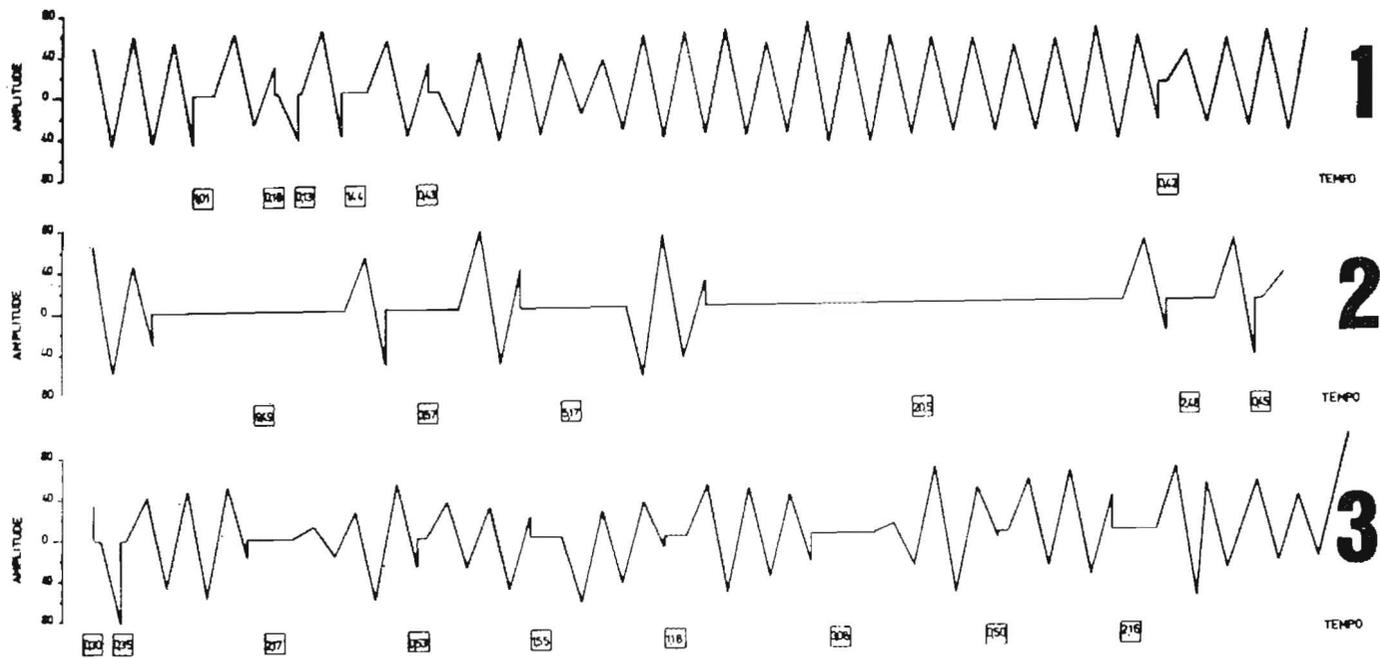


FIGURA 10 — Representação gráfica dos 3 tipos básicos de ritmo cardíaco das pupas de *Cheilomenes sulphurea*.

ANEXO II

ELEMENTOS DE CALCULO PARA OS TESTES DE
MANN-WHITNEY (ensaio de juvabiona)

VALORES MEDIOS DAS POSTURAS

TRATADAS		TESTEMUNHAS	
VALOR REAL	VALOR TEORICO	VALOR REAL	VALOR TEORICO
29	66	20	20,5
15	32	16	16,5
12	16,5	12	11
11	11	14	16,5
19	46,5	14	16,5
18	16,5	9	11
9	4,5	20	20,5
20	20,5	12	11
20	20,5	19	16,5
27	24,5	18	16,5
34	32	23	24,5
33	32	29	32
22	24,5	20	20,5
16	16,5	23	24,5
31	32	24	24,5
10	11	15	16,5
29	32	20	20,5
15	16,5	16	16,5
12	11	12	11
11	11	14	16,5
19,	16,5	14	16,5
18,	16,5	9	11
9	11	20	20,5
20	20,5	12	11
24	24,5	11	11
11	11	7	10
21	20,5	27	24,5
14	16,5	10	11
21	20,5	13	11
14	16,5	15	16,5
15	16,5	11	11
17	16,5	15	16,5
17	16,5	15	16,5
18	16,5	15	16,5
10	11	6	4

ANEXO III

ELEMENTOS PARA O CALCULO DO RITMO CARDIACO DAS PUPAS DE Cheilomenes sulphurea

PUPA 1		PUPA 2		PUPA 3		PUPA 4		PUPA 5		PUPA 6		PUPA 7	
TEMPO	PULSA- ÇOES/m	TEMPO	PULSA- ÇOES/m	TEMPO	PULSA- ÇOES/m	TEMPO	PULSA- ÇOES/m	TEMPO	PULSA- ÇOES/m	TEMPO	PULSA- ÇOES/m	TEMPO	PULSA- ÇOES/m
60	48	60	65	52	33	60	36	60	91	60	59	60	61
60	48	60	59	Parada		60	42	60	59	60	39	60	57
60	59	60	46	<u>0,30</u>		18	30	24	65	30	26	32	24
60	45	44	30	<u>30</u>	80	60	68	Parada		Parada		Parada	
60	51	Parada		Parada		60	38	<u>0,49</u>		<u>8,58</u>		<u>14,08</u>	
11	49	<u>9,49</u>		<u>0,35</u>		60	24	<u>60</u>	54	<u>1,32</u>	53	60	58
Parada		60	51	60	42	Parada		60	57	60	43	60	58
<u>1,01</u>		60	52	60	45	<u>2,22</u>		13	23	29	37	60	64
60	59	Parada		60	49	<u>60</u>	52	Parada		Parada		5	40
60	30	<u>3,57</u>		60	57	Parada		<u>9,16</u>		<u>0,31</u>		Parada	
30	26	60	75	60	57	<u>2,47</u>		<u>60</u>	55	60	31	<u>9,15</u>	
Parada		60	54	15	20	<u>60</u>	44	60	65	60	19	60	64
<u>0,18</u>		30	38	Parada				10	72	Parada		60	68
47	45	Parada		<u>2,17</u>				Parada		<u>9,16</u>		60	60
Parada		<u>5,17</u>		60	11			<u>1,38</u>		<u>44</u>	61	60	63
<u>0,13</u>		60	68	60	17			60	70			60	54
60	61	60	70	60	27			60	59			17	21
60	44	60	49	60	60			10	60			Parada	
60	42	13	23	60	52			Parada				<u>3,23</u>	
Parada		Parada		60	28			<u>14,00</u>				60	63
<u>1,22</u>		<u>20,47</u>		Parada				<u>68</u>	36			60	50
60	50	60	60	<u>0,53</u>				Parada				32	63
60	42	15	28	60	34			<u>1,00</u>				Parada	
30	28	Parada		60	30			<u>42</u>	111			<u>2,16</u>	
Parada		<u>2,18</u>		60	29			Parada				60	63
<u>0,43</u>		60	61	60	51			<u>1,53</u>				60	58
60	42	60	53	49	19			60	61			60	61
60	38	Parada		Parada				Parada				11	27
60	49	<u>0,45</u>		<u>1,55</u>				<u>1,53</u>					
60	51	<u>56</u>	25	60	64			<u>49</u>	62				
60	44			60	24			Parada					
60	36			60	48			<u>5,81</u>					
60	23			60	32			<u>60</u>	54				
60	29			16	11			60	33				
60	40			Parada				13	41				
60	52			<u>1,18</u>				Parada					

Continua .../...

TABELA III
 BATIMENTOS CARDIACOS DAS PUPAS DE Cheilomenes sulphurea (OLIVIER)

	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 aritmética; n = nº de observações; Sx = desvio padrão (valores expressos em pulsações por minuto)

Separata de **ARQUIPÉLAGO**
Revista do Instituto Universitário dos Açores
Série Ciências da Natureza - N.º 1 - Julho 1980