



Hinc patriam sustinet

Instituto Superior de Agronomia
Universidade Técnica de Lisboa

Possibilidade de utilização da resposta cairomonal do parasitóide *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci* (Girault) como base para o desenvolvimento de táticas de protecção biológica

Elisabete Correia Cortegano

**Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Agronómica**

Orientador: Doutor José Carlos Franco Santos Silva

Co-orientador: Doutora Elsa Maria Borges da Silva

Júri:

Presidente: Doutora Maria Helena Mendes da Costa Ferreira Correia de Oliveira,
Professora Associada do Instituto Superior de Agronomia da
Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: Doutora Maria Teresa Ferreira Ramos Nabais Oliveira Rebelo, Professora
Auxiliar da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa;
Doutor José Carlos Franco Santos Silva, Professor Auxiliar do Instituto
Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;
Doutora Elsa Maria Borges da Silva, Bolseira de Pós-Doutoramento da
Fundação para a Ciência e Tecnologia.

Lisboa, 2009

Resumo

O presente trabalho teve com principal objectivo avaliar a utilização da resposta cairomonal do parasitóide *Anagyrus spec. nov. próx. pseudococci* (Girault) à feromona sexual da cochonilha-algodão da vinha, *Planococcus ficus* (Signoret), como base para o desenvolvimento de uma nova tática de protecção biológica que permita monitorizar a população do parasitóide e incrementar a taxa de parasitismo da cochonilha-algodão em pomares de citrinos. Para o efeito, realizaram-se ensaios laboratoriais em olfactómetro de ar estático e placa de Petri e ensaios de campo com recurso a dois tipos de armadilhas.

Através da caracterização de populações de *A. spec. nov. próx. pseudococci* de diferentes origens geográficas, constatou-se a presença de elevada variabilidade intraespecífica na morfologia do primeiro artículo funicular da antena da fêmea.

Os resultados confirmam a existência de uma resposta cairomonal de natureza inata e sugerem que a feromona sexual de *P. ficus* actua como estímulo do grupo II, ou seja, tem efeito de retenção ou busca, intensificando a actividade de procura do hospedeiro pelo parasitóide na proximidade da fonte de feromona. Sugere-se ainda a inexistência de migrações significativas das populações do parasitóide entre estas culturas.

Palavras-chave: *Anagyrus spec. nov. próx. pseudococci*; efeito cairomonal; feromona sexual; localização do hospedeiro; *Planococcus citri*; *Planococcus ficus*.

Abstract

This work was aimed at evaluating the utilization of kairomonal response to the parasitoid *Anagyrus spec. nov. prox. pseudococci* (Girault) to the sex pheromone of the vine mealybug, *Planococcus ficus* (Signoret), on development of a new control tactic, enable to monitor parasitoids populations and also increase the rate parasitism of vine mealybug on citrus orchards. Laboratory essays on static olfactometer and Petri dishes, and field experiments were conducted, using two trap designs.

The characterization of *Anagyrus spec. nov. prox. pseudococci* populations from different origins showed the existence of high intraspecific variability on the coloration of the first funicular segment of the female antenna.

The results confirmed the existence of an innate kairomonal response, suggesting that sex pheromone of *P. ficus* (group II cue) induce an arrestment behaviour in the parasitoid near of pheromone source. The results also suggest the inexistence of migrations of *Anagyrus spec. nov. prox. pseudococci* populations between cultures.

Palavras-chave: *Anagyrus spec. nov. prox. pseudococci*; kairomonal effect; sexual pheromone; host location; *Planococcus citri*; *Planococcus ficus*.

This work, part of project POCI/AGR/57580/2004, was aimed at evaluating the utilization of kairomonal response of the parasitoid *Anagyrus* spec nov. próx. *pseudococci* (Girault) to the sex pheromone of the vine mealybug, *Planococcus ficus* (Signoret), on development of a new control tactic. This new tactic should be enable to monitor parasitoids populations and increase the rate parasitism of vine mealybug on citrus orchards.

Differents experiments were conducted by employing pheromone traps in field trials and by static air olfactometer and Petri dishes bioassays in the laboratory.

Anagyrus pseudococci s.l. is a solitary koinobiont endoparasitoid of mealybugs (Islam & Copland, 1997; Noyes & Hayat, 1994), and it has been used in classical biological control programmes and augmentative releases to control the citrus mealybug, *Planococcus citri* (Risso) (Noyes & Hayat, 1994).

Based on Triapitsyn et al. (2007) work, the intraspecific variability on the coloration of the first funicular segment of the female antenna (F1) of *A. spec. nov. próx. pseudococci* populations from different origins, was studied. Al the female wasps observed belongs to *A. spec. nov. próx. pseudococci* F1 morphotype and showed a high variability on coloration of F1.

The influence of the number of parasitoid generations in laboratory, on kairomonal response was tested in static air olfactometer bioassays. The results were not conclusives, however, this possibility was not excluded. This results suggest a difference between the kairomonal response of differents populations.

The results from field experiments, confirmed the existence of an innate kairomonal response, suggesting that sex pheromone of *P. ficus* (group II cue) induce an arrestment behaviour in the parasitoid near of pheromone source. The evidence of kairomonal response of *Anagyrus spec. nov. próx. pseudococci* to the sex pheromone of *P. ficus* demonstrated by potato traps enables the utilization of this pheromone on biological control tactics in citrus orchards. The results obtained from sexual traps suggest the inexistence of migrations of *Anagyrus spec nov. próx. pseudococci* populations between vineyards and citrus orchards. The *Anagyrus spec nov. próx. pseudococci* populational increase occurs on the end of Summer result of its multiplication on *P. ficus* and *P. citrus* populations.

Índice Geral

Resumo	i
Abstract	ii
Extended Abstract	iii
Índice de quadros	vi
Índice de figuras	vii
1. Introdução	1
1.1.. Enquadramento do tema	1
1.1.1. As cochonilhas-algodão <i>Planococcus ficus</i> e <i>Planococcus citri</i>	1
1.1.2. Selecção dos hospedeiros pelos parasitóides	6
1.1.3. <i>Anagyrus pseudococci</i> s.l.	10
1.2. Estado da arte	13
1.3. Objectivos	16
2. Criação de <i>Planococcus ficus</i> e <i>Anagyrus</i> spec. nov. próx. <i>pseudococci</i> em laboratório	17
2.1. Objectivos	17
2.2. Criação de <i>Planococcus citri</i>	17
2.3. Criação de <i>Anagyrus</i> spec. nov. próx. <i>pseudococci</i>	18
3. Estudo e caracterização da variabilidade intraespecífica do morfótipo do primeiro artículo funicular da antena da fêmea de <i>Anagyrus</i> spec. nov. próx. <i>pseudococci</i>	20
3.1. Objectivos	20
3.2. Material e métodos	20
3.3. Resultados	21
3.4. Discussão	24
4. Avaliação em laboratório da resposta cairomonal de <i>Anagyrus</i> spec. nov. próx. <i>pseudococci</i> à feromona sexual de <i>Planococcus ficus</i>	25
4.1. Objectivos	25
4.2. Estudo do comportamento de <i>Anagyrus</i> spec. nov. próx. <i>pseudococci</i> em placas de Petri	25
4.2.1. Material e métodos	25
4.2.2. Resultados	27
4.2.3. Discussão	30
4.3. Avaliação em olfactómetro de ar estático	31
4.3.1. Material e métodos	31
4.3.2. Resultados	32
4.3.3. Discussão	33
5. Estudo da influência da feromona sexual de <i>Planococcus ficus</i> no parasitismo de <i>Planococcus citri</i>	35
5.1. Objectivos	35
5.2. Material e métodos	35
5.3. Resultados	37
5.4. Discussão	40
6. Estudo da actividade de <i>Anagyrus</i> spec. nov. próx. <i>pseudococci</i> em pomares de citrinos e vinha	42
6.1. Objectivos	42
6.2. Material e métodos	42
6.3. Resultados	44
6.4. Discussão	45

7. Conclusões	46
Referências Bibliográficas	49
Agradecimentos	56
Anexos	57
Anexo I	58
Anexo II	78
Anexo III	82
Anexo IV	88

Índice de Quadros

Quadro 1	- Origem, hospedeiro vegetal e datas de recolha da população de <i>Planococcus citri</i> (Risso) (Hemiptera, Pseudococcidae) utilizada na criação em laboratório.	18
Quadro 2	- Origem, hospedeiro vegetal, datas de recolha e número de gerações das populações de <i>Anagyris spec. nov. próx. pseudococci</i> (Hymenoptera, Encyrtidae) em criação de laboratório.	18
Quadro 3	- Caracterização da variação observada ao microscópio (ampliação 100x ou 400x) na morfologia do primeiro articulo funicular (F1) das antenas de fêmeas identificadas com morfótipo correspondente a <i>Anagyris sp. nov. próx. pseudococci</i> (<i>sensu</i> Triapsyn et al., 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) com diferentes origens geográficas (fotos originais da autora).	22
Quadro 4	- Caracterização das fêmeas identificadas à lupa (40x) com morfótipo de <i>Anagyris sp. nov. próx. pseudococci</i> (<i>sensu</i> Triapsyn et al., 2007) (Hymenoptera: Encyrtidae) com diferentes origens geográficas.	23
Quadro 5	- Caracterização dos pomares de citrinos onde se realizaram os ensaios para o estudo da influência da feromona sexual de <i>Planococcus ficus</i> (Signoret) (Hemiptera, Pseudococcidae) no parasitismo de <i>Planococcus citri</i> (Risso) (Hemiptera, Pseudococcidae).	36
Quadro 6	- Período de exposição das armadilhas em vinha e pomares de citrinos em função do ciclo destas culturas.	43

Índice de Figuras

Fig. 1	- Fêmea de <i>Planococcus citri</i> (Risso) (Hemiptera, Pseudococcidae) (Fonte: Doutora Elsa Silva).	3
Fig. 2	- Macho de <i>Planococcus citri</i> (Risso) (Hemiptera, Pseudococcidae) (Foto: original da autora).	3
Fig. 3	- Representação esquemática da feromona sexual de <i>Planococcus citri</i> (Risso) (Hemiptera, Pseudococcidae).	5
Fig. 4	- Representação esquemática da feromona sexual de <i>Planococcus ficus</i> (Signoret) (Hemiptera, Pseudococcidae).	5
Fig. 5	- Representação esquemática do processo de selecção do hospedeiro pelo parasitóide (Fotos: originais da autora; elaborado com base em Vinson et al. 1998).	9
Fig. 6	- Macho e fêmea de <i>Anagyrus pseudococci</i> s.l. (Hymenoptera: Encyrtidae) (Foto: original da autora).	13
Fig. 7	- Representação esquemática de uma fêmea de <i>Anagyrus pseudococci</i> s.l. (Hymenoptera: Encyrtidae) (Natural History Museum, Londres).	13
Fig. 8	- Fêmea de <i>Planococcus citri</i> (Risso) (Hemiptera, Pseudococcidae) parasitada por <i>Anagyrus pseudococci</i> s.l. (Foto: original da autora).	13
Fig. 9 ^a	- Antena de fêmea de <i>Anagyrus pseudococci</i> (Girault) evidenciando o primeiro artigo funicular (F1) parcialmente branco e negro (Fonte: Triapitsyn et al. 2007).	15
Fig. 9 ^b	- Antena de fêmea de <i>Anagyrus</i> sp. nov. próx. <i>pseudococci</i> evidenciando o primeiro artigo funicular (F1) completamente negro (sensu Triapitsyn et al. 2007) (Fonte: Triapitsyn et al. 2007).	15
Fig. 10	- Esquema de criação da cochonilha-algodão, <i>Planococcus citri</i> (Risso) (Hemiptera, Pseudococcidae) e do parasitóide <i>Anagyrus</i> sp. nov. próx. <i>pseudococci</i> (Hymenoptera, Encyrtidae) (Fotos: originais da autora).	19
Fig. 11	- Lupa utilizada na observação morfológica de <i>Anagyrus pseudococci</i> s.l. (Hymenoptera: Encyrtidae) (Foto: original da autora).	21
Fig. 12	- Representação esquemática e descrição dos diferentes tipos de comportamentos realizados por <i>Anagyrus</i> spec. nov. próx. <i>pseudococci</i> (Hymenoptera: Encyrtidae) no estudo de comportamento em placas de Petri (Fotos: originais da autora).	26
Fig. 13	- Frequência relativa (%) dos diferentes tipos de comportamento realizados por fêmeas de <i>Anagyrus</i> spec. nov. próx. <i>pseudococci</i> (Hymenoptera: Encyrtidae) com origem em Lisboa e um máximo de quatro gerações em laboratório, para a modalidade testemunha.	28
Fig. 14	- Representação estatística (mínimo, primeiro quartil, mediana, terceiro quartil, máximo, outliers e extremos) dos diferentes tipos de comportamentos de fêmeas de <i>Anagyrus</i> sp. nov. próx. <i>pseudococci</i> (Hymenoptera: Encyrtidae) com origem em Lisboa e um máximo de quatro gerações, para a modalidade testemunha.	28
Fig. 15	- Frequência relativa (%) dos diferentes tipos de comportamento realizados por fêmeas de <i>Anagyrus</i> spec. nov. próx. <i>pseudococci</i> (Hymenoptera: Encyrtidae) com origem em Lisboa e um máximo de quatro gerações em laboratório, para a modalidade com feromona sexual de <i>Planococcus ficus</i> (Signoret) (Hemiptera, Pseudococcidae).	29

- Fig. 16 - Representação estatística (mínimo, primeiro quartil, mediana, terceiro quartil, máximo, outliers e extremos) dos diferentes tipos de comportamentos de fêmeas de *Anagyrus spec. nov. próx. pseudococci* (Hymenoptera: Encyrtidae) com origem em Lisboa e um máximo de quatro gerações em laboratório, para a modalidade com feromona sexual de *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera, Pseudococcidae). 29
- Fig. 17 - Olfactómetro de ar estático usado nos ensaios com difusor de feromona de *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera, Pseudococcidae) (Foto: original da autora). 32
- Fig. 18 - Número de respostas das fêmeas de *Anagyrus sp nov. próx. pseudococci* (Hymenoptera: Encyrtidae) obtidas de *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera, Pseudococcidae) em ensaios de dupla escolha em olfactómetro de ar estático. Os parasitóides tinham origem em Lisboa (A), Tavira (B), e Silves (C e D) e foram submetidos a difusores de feromona sexual de *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera, Pseudococcidae) preparados em 2006 (C) e 2007 (A, B e D). (* - Resultado significativo, $p=0,05$; ** - Resultado significativo, $p=0,057$; NS - Resultado não significativo, $p=0,05$). 33
- Fig. 19 - Batatas-armadilha, com colónias de fêmeas adultas e terceiros instares de *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera, Pseudococcidae) utilizadas no estudo da influência da feromona sexual de *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera, Pseudococcidae) na taxa de parasitismo por *Anagyrus spec. nov. próx. pseudococci* (Hymenoptera: Encyrtidae) nas diferentes modalidades: A) testemunha, sem difusor de feromona; B) batata-armadilha com difusor de 200 μg de feromona sexual de *P. ficus* no interior do dispositivo; e C) batata-armadilha com difusor de 200 μg de feromona sexual de *P. ficus*, a 60 cm do dispositivo (Fotos: originais da autora). 37
- Fig. 20 - Número médio (\pm desvio padrão) de dias até à primeira emergência de *Anagyrus spec. nov. próx. pseudococci* (Girault) (Hymenoptera: Encyrtidae) em batatas-armadilha, expostas em pomares de citrinos entre 16 e 23 de Julho de 2008, na região de Silves; Ffi) com difusor de 200 μg de feromona sexual de *Planococcus ficus* (Hemiptera, Pseudococcidae), no interior do dispositivo, Ffe) com difusor de 200 μg de feromona sexual de *Planococcus ficus* (Hemiptera, Pseudococcidae), a 60 cm de distância do dispositivo; T) testemunha, sem difusor de feromona. As colunas com letras iguais não diferem significativamente entre si ($P=0,05$). 38
- Fig. 21 - Número médio (\pm desvio padrão) de parasitóides *Anagyrus spec. nov. próx. pseudococci* (Girault) (Hymenoptera: Encyrtidae) emergidos em batatas-armadilha, expostas em pomares de citrinos entre 16 e 23 de Julho de 2008, na região de Silves; Ffi) com difusor de 200 μg de feromona sexual de *Planococcus ficus* (Hemiptera, Pseudococcidae), no interior do dispositivo, Ffe) com difusor de 200 μg de feromona sexual de *Planococcus ficus* (Hemiptera, Pseudococcidae), a 60 cm de distância do dispositivo; T) testemunha, sem difusor de feromona. As colunas com letras iguais não diferem significativamente entre si ($P=0,05$). 38
- Fig. 22 - Taxa média de parasitismo (%) de *Planococcus citri* (Risso) por *Anagyrus sp. nov. próx. pseudococci* (Girault) (Hymenoptera: Encyrtidae), registada em batatas-armadilha, expostas em pomares de citrinos, na região de Silves, entre 16 e 23 de Julho de 2008, Ffi) com difusor de 200 μg de feromona sexual de *Planococcus ficus* (Hemiptera, Pseudococcidae), no interior do dispositivo, Ffe) com difusor de 200 μg de feromona sexual de *Planococcus ficus* (Hemiptera, Pseudococcidae), a 60 cm de distância do dispositivo; T) testemunha, sem difusor de feromona. As colunas com letras iguais não diferem significativamente entre si ($P=0,05$). 39
- Fig. 23 - Número médio (\pm desvio padrão) de fêmeas de *Anagyrus spec. nov. próx. pseudococci* (Girault) (Hymenoptera: Encyrtidae) capturadas em batatas-armadilha, expostas em pomares de citrinos em Setembro, na região de Tavira, entre 23 e 30 de Setembro de 2008; Ffi) com difusor de 200 μg de feromona sexual de *Planococcus ficus* (Hemiptera, Pseudococcidae), no interior do dispositivo, Ffe) com difusor de 200 μg de feromona sexual de *Planococcus ficus* (Hemiptera, Pseudococcidae), a 60 cm de distância do dispositivo; T) testemunha, sem difusor de feromona. As colunas com letras iguais não diferem significativamente entre si ($P=0,05$). 39

- Fig. 24 - Armadilha adesiva do tipo placa (15 x 15 cm) em vinha. A- testemunha, sem difusor de feromona de *Planococcus ficus* (Signoret), (Hemiptera: Pseudococcidae), B – com difusor com 50µg feromona sexual de *P. ficus* (Fotos: originais da autora). 43
- Fig. 25 - Armadilha adesiva do tipo placa (15x15 cm), com difusor com 50 µg feromona *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) em pomar de citrinos (Foto: original da autora). 44
- Fig. 26 - Contagem dos parasitóides e machos de cochonilha-algodão com o auxílio de lupa binocular (Foto: original da autora). 44
- Fig. 27 - Número médio de fêmeas de *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci* (Hymenoptera, Encyrtidae) capturados em Lisboa nas diferentes modalidades: C_Pf1 – armadilhas activadas 50 µg de feromona sexual de *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera, Pseudococcidae), instaladas em pomar de citrinos; V_Pf1 - armadilhas activadas 50 µg de feromona sexual de *P. ficus* instaladas em vinha, V_T – armadilhas sem feromona (Testemunha) instaladas em vinha. 44
- Fig. 28 - Número médio de fêmeas de *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci* (Hymenoptera, Encyrtidae) capturados em Lisboa nas diferentes modalidades: C_Pf1 – armadilhas activadas 50 µg de feromona sexual de *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera, Pseudococcidae), instaladas em pomar de citrinos; V_Pf1 - armadilhas activadas 50 µg de feromona sexual de *P. ficus* instaladas em vinha, V_T – armadilhas sem feromona (Testemunha) instaladas em vinha. 44

1. Introdução

1.1. Enquadramento do tema

O presente trabalho insere-se no projecto POCI/AGR/57580/2004 “*Mate location by mealybug males and host finding by parasitoids: its potencial use to manage two noxious mealybug species in citrus orchard and vineyards*”, que tem por objectivo desenvolver uma nova tática biotécnica de protecção em relação às cochonilhas-algodão dos citrinos, *Planococcus citri* (Risso), e da vinha, *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae), tendo como base o estudo da influência de vários factores de natureza fisiológica e ambiental na localização das fêmeas pelos machos, bem como do processo de localização do hospedeiro pelo parasitóide *Anagyrus pseudococci* s.l. (Hymenoptera, Encyrtidae). Esta tática, ao contrário da confusão sexual, na qual os machos de cochonilha-algodão atraídos podem recuperar e localizar fêmeas viáveis, conduz à morte dos machos, podendo por isso ser potencialmente mais eficaz. Na “atracção e morte”, é utilizado um suporte com atractivo (feromona sexual) e insecticida. Desta forma, os insectos atraídos pela feromona, ao contactarem com a superfície, recebem uma dose letal. O difusor, activado com a feromona, difunde odor para a atmosfera durante o período em que a armadilha se encontra funcional. Este deve ser renovado com regularidade, sendo a frequência na troca do difusor dependente do material utilizado (borracha, polietileno, fibras ocas, etc.) e da resposta da espécie ao estímulo químico. O suporte físico confere estrutura e forma à armadilha, sendo responsável pela captura dos insectos atraídos, normalmente através de substâncias adesivas (Lousa 2001, Antunes, 2005).

Com o presente trabalho, pretendeu-se avaliar a possibilidade de utilização da resposta cairomonal do parasitóide *Anagyrus* sp. próx. *pseudococci* (Girault) à feromona sexual de *P. ficus*, como base para o desenvolvimento de táticas de protecção biológica para redução de populações de cochonilhas-algodão em ecossistemas em que a espécie *P. ficus* não está presente, como é o caso da cultura dos citrinos. Esta utilização exige conhecimento aprofundado dos mecanismos envolvidos no processo de localização do hospedeiro pelo parasitóide.

1.1.1. As cochonilhas-algodão *Planococcus ficus* e *Planococcus citri*

As cochonilhas-algodão são consideradas importantes, devido aos estragos que resultam da sua actividade alimentar e da excreção de melada. As suas populações tendem a agregar-se em frutos em fase de crescimento, provocando estragos directos, tais como, queda, diminuição de calibre, descoloração e deformação dos frutos, e indirectos, como a

deposição de melada e formação de fumagina e os resultantes da acção de lepidópteros carpófagos atraídos pela melada excretada por estas cochonilhas (Franco & Carvalho 1990, Franco et al. 1994, 2000).

Este grupo de insectos caracteriza-se por ter o corpo coberto por partículas cerosas, de aspecto esbranquiçado, produzidas por poros triloculares, o que condiciona a eficácia dos insecticidas de contacto (Fig. 1). Esta situação é agravada pelo seu comportamento críptico, visto que permanecem em locais protegidos da planta, como as axilas das folhas, ranhuras do tronco e cálices dos frutos (Antunes 2005, Franco & Carvalho 1990, Franco et al. 1994, 2000, Millar et al. 2002).

As espécies com maior importância económica, dentro do género *Planococcus*, são a cochonilha-algodão dos citrinos, *Planococcus citri* (Risso), e a cochonilha-algodão da vinha, *Planococcus ficus* (Signoret). *P. ficus* tem origem provável na Bacia do Mediterrâneo, tendo-se expandido para outras regiões, tais como a África do Sul e Califórnia, encontrando-se referenciada em cerca de 40 países. Quanto a *P. citri*, suspeita-se que tenha origem Afrotropical, estando hoje referenciada em mais de 90 países. Em Portugal, ambas as espécies são geralmente consideradas pragas-ocasionais, podendo no entanto assumir estatuto de pragas-chave. *P. ficus* tem vindo a assumir importância crescente, nomeadamente em castas de uva de mesa, estando associada à transmissão dos vírus do enrolamento foliar e da casca encortiçada da videira (Ben-Dov 1994, Cabaleiro e Segura 1997, Godinho 2001, Krüger 2003, Sforza et al. 2003, Aguiar 2004, Borbón et al. 2004, Walton 2004, Walton & Pringle 2004a, Daane et al. 2006, Franco et al. 1997, 2000, 2004b).

A nível nacional, *P. citri* é a cochonilha-algodão mais referenciada em citrinos na região do Algarve, estando igualmente assinalada na Madeira e Açores. Embora tenha vários hospedeiros, a laranjeira-doce é considerada uma das espécies mais susceptíveis a esta praga (Franco 1997, Silva 2000).

Os ciclos de vida de *P. citri* e de *P. ficus* são similares e estão de acordo com o modelo geral dos pseudococcídeos descrito por Franco et al. (2000). Nas vinhas mediterrâneas, *P. ficus* completa três gerações anuais, enquanto *P. citri* apresenta quatro a cinco, de acordo com as condições climáticas de cada região (Franco et al. 2004a, Lemos 2006).

Do ponto de vista morfológico, *P. citri* e *P. ficus* são muito semelhantes, tendo sido (e continuando a ser) frequentemente confundidas. Entre outras características, distinguem-se pelo número de ductos tubulares na região ventral da cabeça, em número elevado, em *P. citri*, e reduzido ou nulo em *P. ficus*, assim como pelo número de poros multiloculares na base das patas anteriores das fêmeas adultas (Cox 1989, Franco et al. 2004a).

Os pseudococcídeos apresentam acentuado dimorfismo sexual (Figs.1 e 2). As fêmeas são ovaladas, achatadas dorsoventralmente e cobertas por secreções cerosas que

estão na origem de algumas designações vulgares, e.g., cocciniglie farinose, mealybugs, podendo viver vários meses. Os machos, de menores dimensões do que as fêmeas, são alados, sem armadura bucal, com as três regiões do corpo bem diferenciadas, e vivem apenas três a sete dias (Franco et al. 2000).



Fig. 1 – Fêmea de *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera, Pseudococcidae) (Fonte: Doutora Elsa Silva).



Fig. 2 – Macho de *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera, Pseudococcidae) (Foto: original da autora).

Dado a reduzida dimensão e localização em locais abrigados das cochonilhas-algodão, a sua inspecção por observação visual pode revelar-se difícil e morosa. Os meios de protecção contra as cochonilhas-algodão podem ser químicos, biológicos e culturais. Apesar dos tratamentos químicos serem os mais comuns, mostram-se com frequência ineficazes, devido a diversos factores, tais como: dificuldade de contacto do insecticida devido ao comportamento críptico das cochonilhas-algodão e revestimento ceroso típico do tegumento destas espécies, restrições de aplicação de insecticidas de largo espectro de acção (e.g. organofosforados) e impactos negativos que exercem no ecossistema, nomeadamente na fauna auxiliar, possibilitando a ocorrência de pululações de pragas secundárias (Millar et al. 2002). O uso indiscriminado de pesticidas nas últimas quatro décadas levou à eliminação de muitos inimigos naturais. Estima-se que dos pesticidas aplicados à cultura, apenas 1 % atinja a praga-alvo (Galash 1999). Para a cochonilha-algodão da vinha, destaca-se a aplicação usual de organofosforados ou carbamatos. Resultados obtidos por Daane et al. (2008) demonstraram que os estragos da cultura podem ser reduzidos pela aplicação sistémica de imidaclopride ou foliar de buprofezina. Concluíram ainda que largadas inoculativas de *Anagyrus pseudococci* s.l., e a utilização de confusão sexual pode suprimir populações da praga (Daane et al. 2008, Walton et al. 2006).

Como medidas culturais, são de referir, entre outras, a eliminação e queima à poda das varas atacadas e a raspagem dos troncos das cepas que revelem sinais de ataque de *P. ficus* (Cavaco et al. 2005, Mendes & Cavaco 2004).

Como as fêmeas das cochonilhas-algodão produzem feromona sexual para atrair os machos, é possível utilizar armadilhas sexuais na monitorização do voo dos machos. A

2. Criação de *Planococcus ficus* e *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci* em laboratório

2.1. Objectivos

Para a execução dos ensaios que constam neste trabalho foi necessário proceder à criação da cochonilha-algodão dos citrinos, *Planococcus citri* (Risso), e do parasitóide *A. spec. nov. próx. pseudococci*. As criações decorreram semanalmente no insectário do Departamento de Protecção de Plantas e Fitoecologia do Instituto Superior de Agronomia.

Em seguida descreve-se o processo de criação destas espécies.

2.2. Criação de *Planococcus citri*

A população de *Planococcus citri* utilizada nos ensaios teve origem em Silves (Quadro 3) e foi criada em brotos de batata (*Solanum tuberosum* L.). Uma vez que no insectário coexistem várias espécies de cochonilhas-algodão, o manuseamento destas espécies foi realizado após desinfecção da bancada de trabalho e material utilizado. A fase de criação da cochonilha-algodão envolve duas etapas separadas espacialmente de forma a prevenir possíveis contaminações: 1) crescimento dos brotos; e 2) criação de *P. citri*.

- 1) Crescimento dos brotos de batata - Batatas da variedade Desirée foram lavadas e colocadas em tabuleiros (44 cm de comprimento x 34 cm de largura x 12 cm de profundidade), sendo posteriormente acondicionadas a $22^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante aproximadamente 20 dias, até se obterem brotos com comprimento médio de 5 cm. Para evitar a produção de solanina, substância que pode influenciar o desenvolvimento de *P. citri*, os tabuleiros foram cobertos por um tecido negro para evitar a exposição à luz. Os tubérculos foram regados regularmente.
- 2) Criação de *Planococcus citri* - Cada broto de batata foi infestado com dois sacos ovíferos de *P. citri*. Foram colocados cerca de oito tubérculos por frasco de criação, o qual consiste num contentor de plástico transparente (7 cm de comprimento x 17 cm de largura x 13 cm de altura), fechado com tampa hermética, possuindo cinco aberturas para arejamento (ca. 3 cm de diâmetro), revestidas com "étamine". Os frascos de criação foram mantidos em câmara climatizada a 26°C e na ausência de luz. Ao fim de cerca de quatro semanas, o ciclo de criação foi reiniciado com novas posturas.

Quadro 1 – Origem, hospedeiro vegetal e datas de recolha da população de *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera, Pseudococcidae) utilizada na criação em laboratório.

Origem	Hospedeiro vegetal	Data de recolha
Silves	Laranjeira-doce	Outubro 2004, Junho 2005, Julho 2006
	Limoeiro	Julho 2006

2.3. Criação de *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci*

As populações de *A. spec. nov. próx. pseudococci* de várias origens (Quadro 4) foram criadas em colónias de *P. citri*. Em cada frasco de criação (14 cm Ø x 15 cm de altura), foram colocados dois tubérculos infestados com cochonilha-algodão com maioria de 3^o instares ninfais (i.e., estado preferencial para as fêmeas do parasitóide realizarem a postura) e cerca de 10-20 parasitóides de ambos os sexos. Os frascos foram mantidos em câmara climatizada a 24-25°C e fotoperíodo de 10L:14E, até à emergência dos parasitóides (cerca de 14 dias).

O facto de existirem em criação populações do parasitóide de diferentes origens geográficas, exige o manuseamento cuidadoso do material de forma a evitar contaminações.

Para a realização dos ensaios presentes neste trabalho (ver Capítulo 4), foi necessário garantir que as fêmeas de *A. sp. nov. próx. pseudococci* com origem em Lisboa não excedessem as quatro gerações em laboratório. Para isso, de Maio a Outubro de 2008, foram capturados indivíduos de *A. sp. nov. próx. pseudococci* em batatas-armadilha (ver 5), que consistem em frascos de plástico com difusor de feromona e uma batata infestada com fêmeas de *P. citri*, instaladas na vinha e no pomar de citrinos do Instituto Superior de Agronomia. Todas as semanas, era iniciado um ciclo de criação com indivíduos recém-emergidos e provenientes das colónias de *P. citri* expostas durante uma semana no campo, em batatas-armadilha (primeira geração). Os descendentes destes indivíduos foram utilizados neste processo de renovação de criações até à quarta geração.

Quadro 2 – Origem, hospedeiro vegetal, datas de recolha e número de gerações das populações de *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci* (Hymenoptera, Encyrtidae) em criação de laboratório.

Origem	Hospedeiro vegetal	Data de recolha	N.º de gerações
Silves	Laranjeira-doce	Outubro 2005	81
Tavira	Laranjeira-doce	Janeiro 2007	40
Lisboa	Laranjeira-doce e vinha	Maio-Setembro 2008	1-4

3. Criação de *Planococcus ficus* e *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* em laboratório

1) Crescimento dos brotos de batata (3 semanas a 22°C):



2) Criação da cochonilha-algodão (4 semanas a 26°C):



3) Criação do parasitóide (cerca de 2 semanas a 24-25°C):

Fig.10 – Esquema de criação da cochonilha-algodão, *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera, Pseudococcidae) e do parasitóide *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci* (Hymenoptera, Encyrtidae) (fotos originais da autora).

3. Estudo e caracterização da variabilidade intraespecífica do morfótipo do primeiro artigo funicular da antena da fêmea de *Anagyrus spec. nov. próx. pseudococci*

3.1. Objectivos

Este estudo teve como objectivo classificar os exemplares de fêmeas de *A. pseudococci* s.l. existentes na colecção do Laboratório de Entomologia do Departamento de Protecção de Plantas e Fitoecologia do Instituto Superior de Agronomia, segundo Triapitsyn et al. (2007), i.e., *A. pseudococci* (Girault) ou *A. spec. nov. próx. pseudococci*, bem como caracterizar a variabilidade intraespecífica correspondente ao morfótipo *A. spec. nov. próx. pseudococci*.

3.2. Material e métodos

Neste estudo, para além das fêmeas de *A. pseudococci* s.l. provenientes dos ensaios realizados (ver Capítulos 3 a 6), foi incluído material existente na colecção do Laboratório de Entomologia do Departamento de Protecção de Plantas e Fitoecologia do Instituto Superior de Agronomia, e preservado em álcool etílico a 70%.

Com o propósito de determinar o morfótipo de F1, foram observadas à lupa (Leica, modelo Mz6, 10-40 x) (Fig 8), com base em Triapitsyn et al. (2007), antenas de 2103 fêmeas de *A. pseudococci* s.l., com diferentes origens geográficas, nomeadamente Portugal (Gradil, Lisboa, Lagoa, Loulé, Silves e Tavira), Israel e Itália (Sicília) (Quadro 1).

Segundo Triapitsyn et al. (2007), consideraram-se pertencentes à espécie *A. pseudococci* indivíduos com a parte basal de F1 negra e a parte distal branca em todo o perímetro da respectiva secção. Tendo por base as fotografias de Triapitsyn et al. (2007), considerou-se que nesta espécie a parte branca de F1, geralmente correspondente a cerca de 50% do comprimento do primeiro artigo funicular da antena da fêmea, possui sedas de coloração clara (Fig. 9 a). Por sua vez, consideraram-se pertencentes à espécie *A. spec. nov. próx. pseudococci*, os indivíduos que possuem F1 completamente negro ou com pequenas porções brancas de comprimento variável, na parte distal da antena e apenas numa parte do perímetro. Estas pequenas porções brancas possuem sedas negras. Verificou-se à lupa uma grande variabilidade entre indivíduos de *A. spec. nov. próx. pseudococci*, em função do comprimento destas porções brancas, tendo-se subdividido os indivíduos desta espécie em classes: 1) zona distal branca menor que 1/3 do comprimento de F1 (Z.D.B. <1/3 F1); 2) zona distal branca com 1/3 do comprimento de F1 (Z.D.B. 1/3 F1); 3) zona distal branca maior que 1/3 do comprimento de F1 (Z.D.B. >1/3 F1); 4) zona distal

branca com 1/2 do comprimento de F1 (Z.D.B. 1/2 F1); 5) zona distal branca maior que de 1/2 do comprimento de F1 (Z.D.B. >1/2 F1); 6) F1 todo negro (Quadros 1 e 2).



Fig. 11 - Lupa utilizada na observação morfológica de *Anagyrus pseudococci* s.l. (Hymenoptera: Encyrtidae) (original da autora).

3.3. Resultados

Todas as 2103 fêmeas de *A. pseudococci* s.l. observadas apresentaram morfótipo correspondente a *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapsyn et al. 2007). Destas, 1078 foram observadas à lupa pormenorizadamente e subdivididas em seis classes distintas (Quadros 1 e 2).

Verificou-se, portanto, a existência de variabilidade morfológica no padrão de coloração de F1 de *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci*. Os morfótipos mais frequentes foram o 2 e 6, correspondentes respectivamente a uma porção da extremidade distal de F1 com 1/3 do seu comprimento e F1 todo negro, os quais no seu conjunto representam cerca de 75% dos exemplares estudados (Quadro 2 e 3).

Esta variação na morfologia do primeiro articulo funicular das antenas de fêmeas identificadas com morfótipo correspondente a *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapsyn et al. 2007) só é visível à lupa, não sendo possível distinguir as referidas classes de forma notória ao microscópio. Porém, não foi possível garantir definição fotográfica de qualidade à lupa, pelo que se optou por incluir no Quadro 1 as correspondentes fotografias tiradas ao microscópio.

4. Avaliação em laboratório da resposta cairomonal de *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci* à feromona sexual de *Planococcus ficus*

4.1. Objectivos

Pretendeu-se avaliar, em condições laboratoriais, o comportamento de fêmeas de *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* provenientes de diferentes populações, quanto à origem geográfica (Lisboa, Silves e Tavira) e número de gerações em laboratório, na presença da feromona sexual da cochonilha-algodão da vinha, *Planococcus ficus*, e confirmar a existência e respectiva natureza da resposta cairomonal, tendo em vista a confirmação de resultados obtidos anteriormente e avaliar a possibilidade das condições de criação em laboratório poderem favorecer, em função do número de gerações, o aumento da frequência de fenótipos do parasitóide que não apresentam resposta cairmonal à feromona sexual de *P. ficus* (Cortegano 2006, Fortuna 2007, Franco et al. 2008).

Para alcançar os objectivos propostos, foram realizados dois tipos de ensaios: o estudo do comportamento de *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* em placas de Petri, na presença de feromona sexual de *P. ficus* (4.2), e o estudo da resposta do parasitóide à mesma feromona em olfactómetro de ar estático (4.3).

4.2. Estudo do comportamento de *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci* em placas de Petri

4.2.1. Material e métodos

Neste ensaio, cada fêmea de *A. spec. nov. próx. pseudococci* (origem: Lisboa), com idade compreendida entre 47 e 49 horas, após acasalamento e alimentação, foi libertada num círculo de papel de filtro (2 cm Ø) impregnado com 50 µg de feromona sexual de *P. ficus* (teste) ou hexano (testemunha), localizado no centro de uma placa de Petri (12 cm Ø, 2 cm altura). Nos quinze minutos de duração do ensaio, procedeu-se à cronometragem e registo da duração, sequência e localização de cada tipo de comportamento do parasitóide (i.e., procura, limpeza, repouso, comportamento de postura, sondagem com as antenas) (Fig.12). Efectuaram-se 30 repetições por ensaio, em condições de laboratório (24±0,5°C, 50±0,5% hr, 176 lux com igual incidência na placa de Petri). As placas de Petri utilizadas foram colocadas previamente em água e detergente para eliminar qualquer resíduo de feromona de ensaios anteriores. Os ensaios foram realizados entre Agosto e Outubro de 2008.

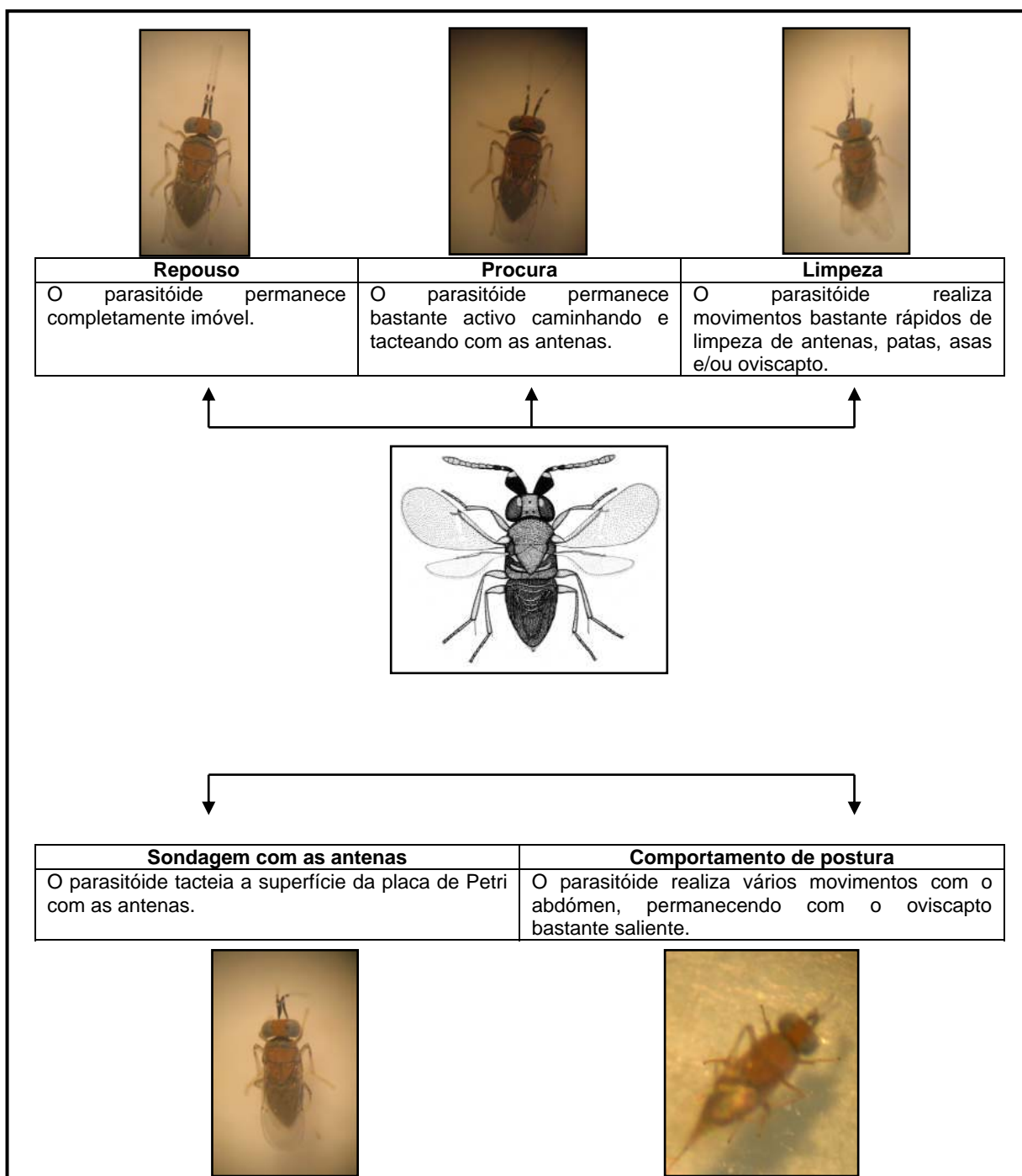


Fig. 12 – Representação esquemática e descrição dos diferentes tipos de comportamentos realizados por *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci* (Hymenoptera: Encyrtidae) no estudo de comportamento em placas de Petri (Fotos: originais da autora).

As fêmeas de *A. spec. nov. próx. pseudococci* foram criadas em *Planococcus citri* e isoladas na primeira hora de vida, em frascos de vidro cilíndricos fechados com é tamine na presença de alimento (50% mel + 50% água) e de dois machos, para assegurar o acasalamento. Optou-se por fêmeas com origem em Lisboa, por corresponderem a um menor número de gerações em laboratório, i.e., uma a quatro gerações (Quadro 3), sendo esperado que possuam características próximas das populações selvagens. O mel foi

utilizado por se aproximar do alimento natural dos parasitóides adultos (melada ou néctar), isto porque, após a emergência as fêmeas procuram primeiro o alimento, permitindo, não só, satisfazer as respectivas necessidades alimentares, mas também, evitar o *stress*, devido à fome (Grade 2004).

No final de cada ensaio, as fêmeas do parasitóide foram preservadas em tubo Eppendorf, com álcool a 70%, para posterior confirmação da espécie (ver Capítulo 2.2).

A feromona de *Planococcus ficus*, senecioato de (S)-(+)-lavandulilo (LS) utilizada neste e nos restantes ensaios deste trabalho foi sintetizada na unidade química do Departamento de Entomologia do Volcani Center, Agricultural Research Organization, Bet Dagan, Israel, segundo Zada et al. (2003). Todos os difusores foram impregnados com feromona em solução de hexano. LS foi utilizada na sua forma racémica, com uma pureza química de 94%.

Para comparar o tempo de procura do parasitóide nas duas modalidades, realizou-se um teste t de Student com base no programa SPSS versão 15.0 para Windows.

4.2.2. Resultados

No caso das fêmeas com origem em Lisboa, para a modalidade testemunha, a frequência relativa de cada actividade foi, por ordem decrescente: procura, limpeza, repouso e sondagem com as antenas (Fig 13). A procura constituiu o comportamento dominante (73%) e o parasitóide não manifestou comportamento de postura (Fig. 13).

No respeitante à duração média de cada actividade, destaca-se igualmente a procura com cerca de 10 minutos (Fig.14; Anexo II). As fêmeas de *A. spec. nov. próx. pseudococci* passaram a totalidade do tempo na área não tratada, ou seja, não permaneceram no papel de filtro com hexano.

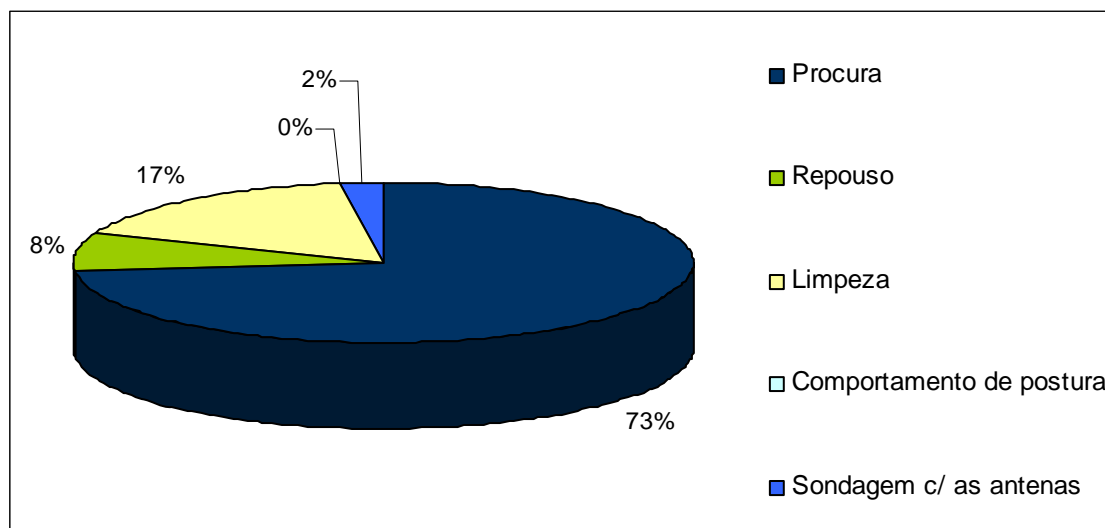


Fig. 13 - Frequência relativa (%) dos diferentes tipos de comportamento realizados por fêmeas de *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci* (Hymenoptera: Encyrtidae) com origem em Lisboa e um máximo de quatro gerações em laboratório, para a modalidade testemunha.

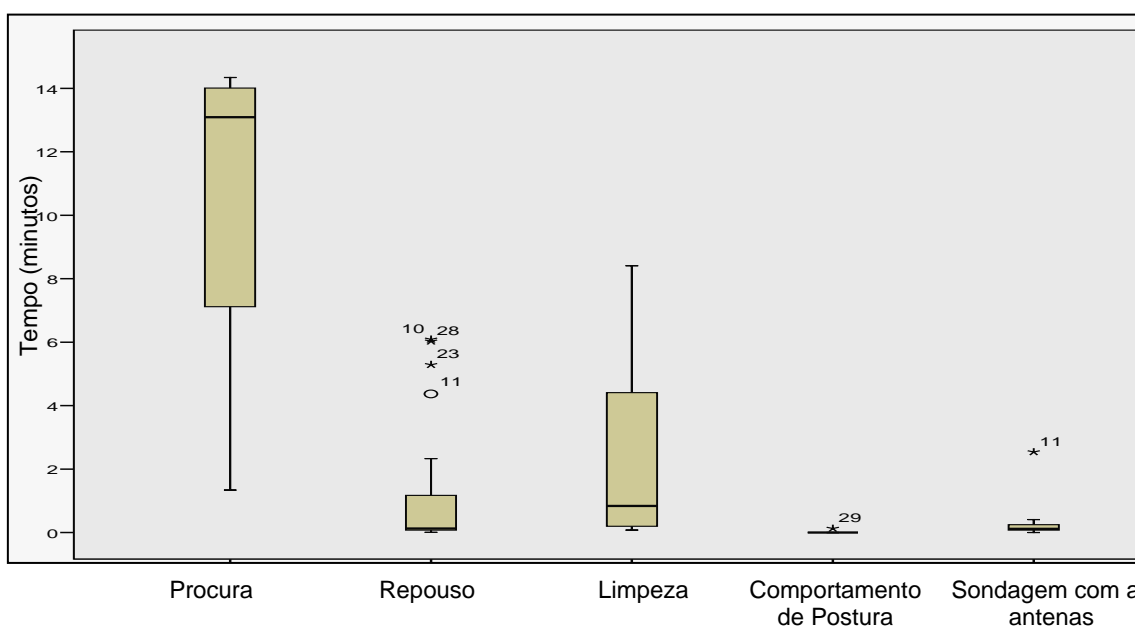


Fig. 14 – Representação estatística (mínimo, primeiro quartil, mediana, terceiro quartil, máximo, outliers e extremos) dos diferentes tipos de comportamentos de fêmeas de *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (Hymenoptera: Encyrtidae) com origem em Lisboa e um máximo de quatro gerações, para a modalidade testemunha.

Na presença da feromona sexual de *P. ficus*, as fêmeas do parasitóide aumentaram a frequência relativa da actividade de procura do hospedeiro (82%), tendo algumas fêmeas manifestado comportamento de postura (Fig. 15). A procura, como actividade predominante, apresentou duração média de 12,5 minutos (Fig. 16; Anexo II). Nesta modalidade, as fêmeas do parasitóide permaneceram cerca de 1% do tempo sobre o círculo de papel de filtro com feromona sexual de *P. ficus*, sendo este tempo correspondente na sua maioria ao

comportamento de sondagem com as antenas. Em relação à duração média de cada actividade, para esta modalidade, também se obtém a procura como actividade predominante, com 12 minutos e vinte e oito segundos, sendo a sondagem com as antenas a menos representativa, com 25 segundos (Fig. 16; Anexo II). Nesta modalidade a fêmea do parasitóide passou 99% do tempo médio fora da zona tratada, ou seja, no exterior do círculo de papel de filtro com feromona sexual de *P. ficus*.

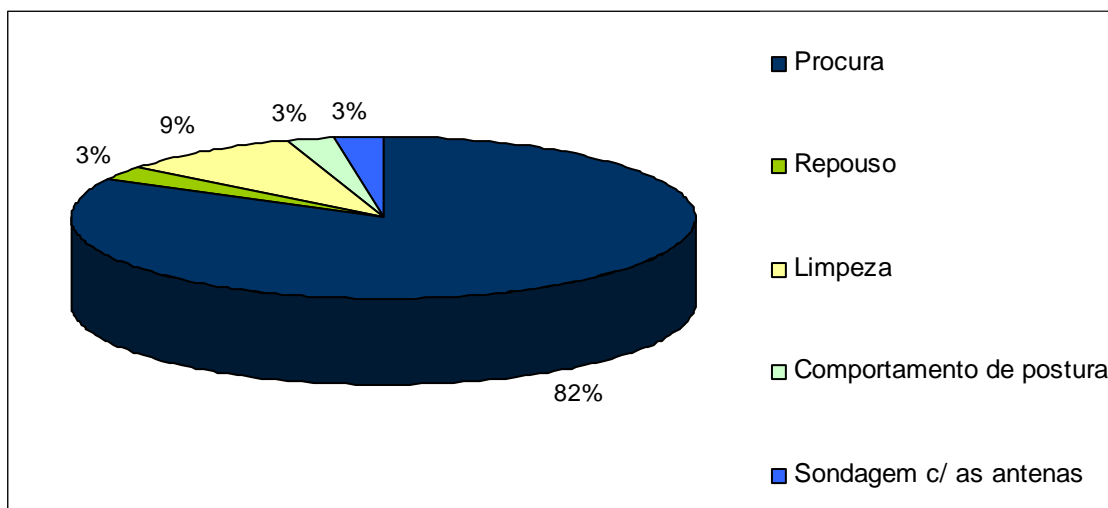


Fig. 15 - Frequência relativa (%) dos diferentes tipos de comportamento realizados por fêmeas de *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci* (Hymenoptera: Encyrtidae) com origem em Lisboa e um máximo de quatro gerações em laboratório, para a modalidade com feromona sexual de *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera, Pseudococcidae).

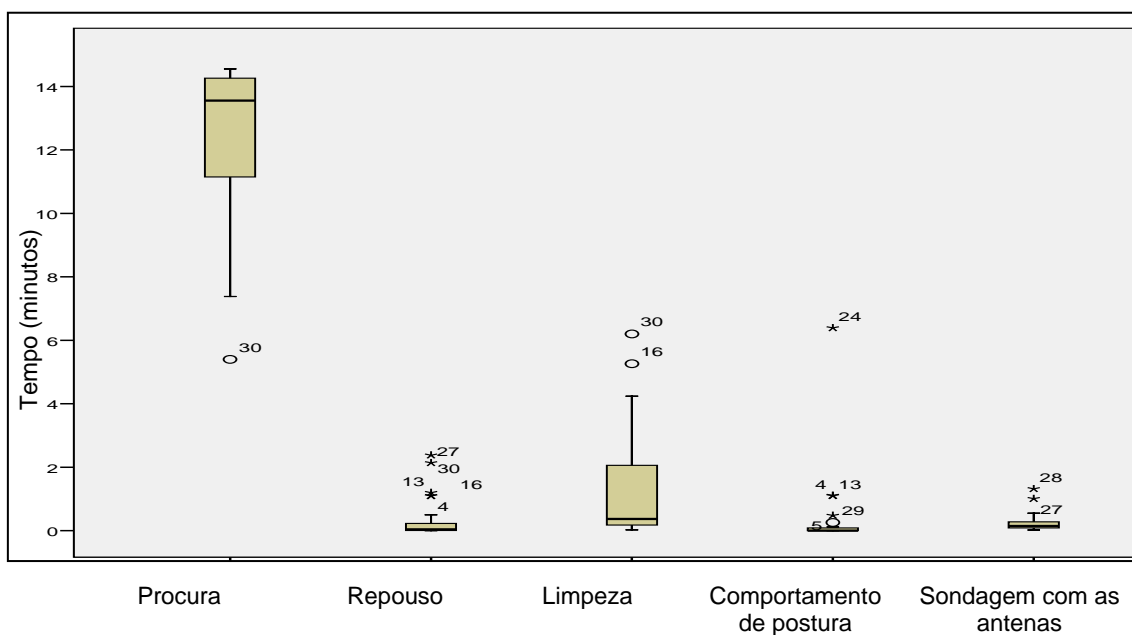


Fig. 16 – Representação estatística (mínimo, primeiro quartil, mediana, terceiro quartil, máximo, outliers e extremos) dos diferentes tipos de comportamentos de fêmeas de *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci* (Hymenoptera: Encyrtidae) com origem em Lisboa e um máximo de quatro gerações em laboratório, para a modalidade com feromona sexual de *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera, Pseudococcidae).

O tempo dispendido pelas fêmeas de *A. spec. nov. próx. pseudococci* na procura de hospedeiros foi significativamente superior ($t_{(49)}=26,115$, $p<0,001$) na presença da feromona sexual.

4.2.3. Discussão

O comportamento de procura das fêmeas de *A. spec. nov. próx. pseudococci* foi a actividade mais representativa (73% - testemunha; 82% - feromona), tendo a feromona sexual de *P. ficus* incrementado significativamente o tempo dispendido na procura. Este resultado indica que, para ambas as modalidades, as fêmeas do parasitóide se mantiveram bastante activas de modo semelhante ao observado por Chong & Oetting (2007) para *Anagyrus* sp. nov. nr. *sinope*. Segundo estes autores, as fêmeas deste parasitóide iniciam a actividade de procura assim que colocadas na placa de Petri. A elevada actividade manifestada pelas fêmeas de *A. spec. nov. próx. pseudococci* com idade compreendida entre 47 e 49 horas deve-se possivelmente à procura do hospedeiro, através da localização dos estímulos que lhe estão associados. A hipótese desta actividade de procura estar associada à busca de alimento é pouco verosímil, uma vez que as fêmeas utilizadas nos ensaios tinham tido acesso prévio a alimento sob a forma de mel diluído. O mesmo se pode dizer relativamente à hipótese de procura relacionada com o acasalamento, visto que as referidas fêmeas foram previamente expostas a machos.

As fêmeas de *A. spec. nov. próx. pseudococci* manifestaram todos os tipos de comportamento apenas na presença de feromona sexual de *P. ficus*, apesar da existência de alguma variabilidade entre indivíduos, quanto à distribuição do tempo por tipo de comportamento (Fig. 14). Em algumas repetições, não se verificou comportamento de postura, ao passo que noutras, esse comportamento ocorreu mais de uma vez, atingindo um máximo de cinco vezes na mesma repetição.

Anagyrus spec. nov. próx. pseudococci identifica o hospedeiro através da sondagem da sua superfície com as antenas, órgão que possui vários receptores, e da introdução do oviscapto no interior do corpo do hospedeiro. O processo de selecção do hospedeiro, por um parasitóide envolve vários comportamentos mediados por estímulos que culminam na postura. Na ordem Hymenoptera, é comum que após a identificação do hospedeiro, a sua aceitação ou rejeição esteja dependente de estímulos tácteis, ou da resposta a substâncias químicas, como a feromona sexual, que funcionam como cairomonas (Alphen & Jervis 1996, Karamouna & Copland 2000, Powell et al. 1998, Vinson 1998). O facto das fêmeas de *A. spec. nov. próx. pseudococci* terem realizado comportamento de postura (3%) na ausência de hospedeiro e na presença de feromona sexual de *P. ficus* reforça a hipótese sugerida em trabalhos anteriores desta substância funcionar como cairomona (ver Capítulo 1.2).

Na modalidade testemunha, apesar da fêmea se manter bastante activa (73% de procura), o tempo dispendido em sondagem com as antenas foi bastante reduzido (2%), não tendo ocorrido comportamento de postura. Nesta modalidade, também se verificou heterogeneidade no tempo dedicado a cada comportamento, pelas diferentes fêmeas (Fig.14). Esta heterogeneidade no tempo e tipo de comportamento é comum nos parasitóides, devido a variações intraespecíficas provocadas por três tipos factores intrínsecos, nomeadamente, 1) diferenças genotípicas, 2) plasticidade individual, adquirida através da experiência e aprendizagem associativa, e 3) estado fisiológico, e por vários factores extrínsecos, tais como condições climáticas e densidade do hospedeiro (Lewis et al. 1990, Powell et al. 1998, Vinson 1998, Borges et al. 2003). No caso dos parasitóides utilizados nos ensaios, os factores extrínsecos são eliminados, uma vez que as criações foram realizadas em igualdade de circunstâncias, em condições controladas de laboratório.

O tempo dispendido na área tratada foi bastante reduzido em ambas as modalidades. Este resultado já era esperado, dado tanto o hexano, como a feromona sexual da cochonilha-algodão da vinha são substâncias bastante voláteis, sendo de esperar que o seu efeito se faça sentir em toda a placa de Petri e não fique reduzido ao círculo de papel de filtro.

4.3. Avaliação em olfactómetro de ar estático

4.3.1. Material e métodos

O tipo e natureza da resposta das fêmeas de *A. spec. nov. próx. pseudococci* à feromona sexual de *P. ficus* foram avaliados em olfactómetro de ar estático, através de ensaios de dupla escolha (feromona *versus* testemunha). O olfactómetro de ar estático é um dispositivo de acrílico, com 21cm x 7cm x 2cm, que consiste em três poços de 50 mm de diâmetro e 16 mm de profundidade, ligados entre si por um corredor de 5 mm de profundidade, tapado por uma tampa de vidro (Fig. 17) (Alphen & Jervis 1996).

Foram definidos quatro ensaios em função da origem do parasitóide, da feromona e do número de gerações de criação em laboratório: 1) Silves, com cerca de 81 gerações, difusores com feromona sexual de *P. ficus* de 2006; 2) Silves, com cerca de 81 gerações, difusores com feromona sexual de *P. ficus* de 2007; 3) Tavira, com cerca de 40 gerações, difusores com feromona sexual de *P. ficus* de 2007; 4) Lisboa, 1 a 4 gerações, feromona sexual de *P. ficus* de 2007. Todos os difusores com feromona foram conservados a cerca de 5°C desde a recepção, até à sua utilização nos ensaios.

De forma a garantir condições idênticas, as fêmeas de *A. spec. nov. próx. pseudococci*, utilizadas nos quatro ensaios foram criadas em *Planococcus citri* e isoladas na

primeira hora de vida em frascos de vidro cilíndricos, fechados com étamine, na presença de alimento (50% mel + 50% água) e de dois machos, para assegurar o acasalamento.

Em cada repetição, uma fêmea de *A. spec. nov. próx. pseudococci*, com idade compreendida entre 47 e 48 horas, foi libertada no poço central do olfactómetro, sendo sujeita a duas opções, difusor com 200 µg de feromona sexual de *Planococcus ficus* (odor teste) e ausência de estímulo (testemunha). O difusor de feromona foi colocado no olfactómetro dez minutos antes da fêmea do parasitóide.

Para cada ensaio, foram efectuadas 50 repetições, tendo-se registado a frequência e o tempo de resposta para cada repetição. Os ensaios foram realizados em condições de laboratório (24°C ± 0,5°C, 50 ± 0,5%hr, 176 lux com igual incidência sobre ambos os lados do olfactómetro) e tiveram a duração máxima de 30 minutos, de forma a evitar a saturação de feromona em todos os compartimentos, como consequência da ausência de circulação de ar no dispositivo. Entre repetições alternou-se a posição do difusor de feromona para evitar qualquer influência no tipo de resposta. Após a realização de cada repetição, o olfactómetro foi colocado em água e detergente, durante 10 minutos, sendo posteriormente lavado com água corrente e, por último, com hexano para eliminar qualquer resíduo de feromona de ensaios anteriores. Os ensaios foram realizados entre Janeiro e Agosto de 2008.

No final de cada ensaio, confirmou-se a identidade do parasitóide (ver Capítulo 2.2).

Como hipótese nula (H0), considerou-se que a escolha efectuada pelo parasitóide entre as duas opções seria realizada ao acaso. Para avaliar essa hipótese recorreu-se à distribuição binomial ($p=q=0,5$, $n=50$), com base no programa SPSS versão 15.0 para Windows.

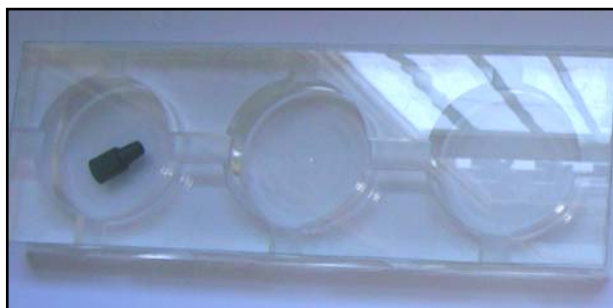


Fig. 17 – Olfactómetro de ar estático usado nos ensaios com difusor de feromona de *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera, Pseudococcidae) (Foto original da autora).

4.3.2. Resultados

O número de respostas positivas à feromona sexual de *P. ficus* por parte das fêmeas de *A. spec. nov. próx. pseudococci* só foi significativamente superior ao esperado, se o

parasitóide tivesse escolhido ao acaso entre feromona e testemunha, de acordo com a distribuição binomial ($p=q=0,5$, $n=50$), no caso da população proveniente de Tavira, com 40 gerações em laboratório (Fig. 20, Anexo III).

Nos restantes casos, o número de respostas do parasitóide à feromona sexual de *P. ficus* não diferiu significativamente do esperado, não havendo razões para rejeitar H_0 (Fig. 18; Anexo III). Contudo, no caso da população de Lisboa, com menos de quatro gerações, o número de respostas positivas esteve muito próximo do valor considerado estatisticamente significativo, (ou seja, é considerado significativo para $p=0,057$).

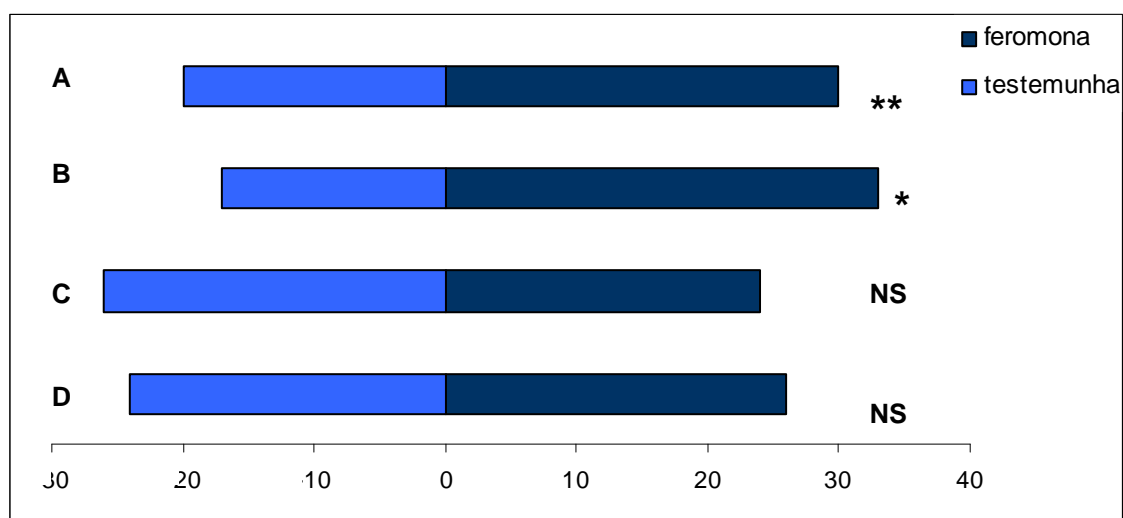


Fig. 18 – Número de respostas das fêmeas de *Anagyrus* sp. nov. próx. *pseudococci* (Hymenoptera: Encyrtidae) obtidas de *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera, Pseudococcidae) em ensaios de dupla escolha em olfactómetro de ar estático. Os parasitóides tinham origem em Lisboa (A), Tavira (B), e Silves (C e D) e foram submetidos a difusores de feromona sexual de *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera, Pseudococcidae) preparados em 2006 (C) e 2007 (A, B e D). (* - Resultado significativo, $p=0,05$; ** - Resultado significativo, $p=0,057$; NS – Resultado não significativo, $p=0,05$).

4.3.3. Discussão

O facto dos resultados obtidos por Fortuna (2007), realizados nas mesmas condições experimentais, serem distintos dos de Cortegano (2006) suscitou a hipótese da existência de impurezas ou erros na síntese da feromona sexual utilizada nos diferentes ensaios (i.e., difusores activados em 2006 e 2007). Para avaliar esta possibilidade, realizaram-se ensaios de dupla escolha em olfactómetro de ar estático com os difusores utilizados em ambos os ensaios. Todavia, para ambos os casos, o número de respostas positivas das fêmeas de *A. spec. nov. próx. pseudococci* à feromona sexual de *P. ficus* não foi significativa, resultado que exclui a hipótese anteriormente colocada.

Utilizaram-se parasitóides com diferente número de gerações para avaliar se fêmeas com menor número de gerações em criação laboratorial respondiam positivamente à feromona sexual de *P. ficus*, em concordância com ensaios anteriores de campo (Cortegano

2006, Franco et al. 2008, Fortuna 2007), visto não ser provável terem sofrido possíveis processos de selecção, devido às condições laboratoriais (em laboratório, mesmo os indivíduos menos eficientes na localização do hospedeiro têm possibilidade de se reproduzir, por serem expostos directamente ao hospedeiro), sendo de admitir apresentarem, ainda características próximas das populações selvagens. As fêmeas com origem em Lisboa e um máximo de quatro gerações não excluíram a possibilidade do número de gerações do parasitóide em criação de laboratório influenciar o seu comportamento. Torna-se, portanto, necessário confirmar se o número de gerações afecta ou não o tipo de resposta do parasitóide à feromona sexual de *P. ficus*. Para isso, é fundamental realizar diferentes tipos de ensaios, uma vez que o recurso ao olfactómetro de ar estático oferece algumas limitações, nomeadamente o risco de ocorrer saturação de feromona em todos os compartimentos num curto período de tempo, dada a volatilidade deste composto e a ausência de circulação de ar no dispositivo.

Os resultados obtidos com fêmeas de *A. sp. nov. próx. pseudococci* com origem em Tavira e cerca de 40 gerações suportam a hipótese deste parasitóide utilizar a feromona sexual de *P. ficus* como cairomona durante o processo de selecção do hospedeiro. Estes resultados corroboram os obtidos por Cortegano (2006), Fortuna (2007) e Franco et al. (2008). Esta resposta à feromona sexual de *P. ficus* mantém a hipótese da existência de uma resposta de natureza inata, visto que as fêmeas utilizadas nos ensaios foram obtidas a partir de criações de *P. citri*, sem qualquer contacto prévio com *P. ficus* ou a sua feromona sexual (Cortegano 2006, Fortuna 2007, Franco et al. 2008).

O facto dos resultados obtidos até à data em olfactómetro de ar estático incluindo os presentes neste capítulo, não serem concordantes, sugere a hipótese de existirem diferenças entre populações no que respeita à resposta cairomonal em relação à feromona sexual de *P. ficus*.

5. Estudo da influência da feromona sexual de *Planococcus ficus* no parasitismo de *Planococcus citri*

5.1. Objectivos

Com este estudo pretendeu-se confirmar, com base em resultados anteriores (Cortegano 2006, Fortuna 2007), a possibilidade de incrementar a taxa de parasitismo de *Planococcus citri* por *Anagyrus spec. nov. próx. pseudococci* em pomares de citrinos, através da utilização de feromona sexual de *P. ficus*, bem como estudar o seu possível papel como caíromona no processo de selecção do hospedeiro deste parasitóide, i.e., estímulos químicos (Grupo I – actuam a longas distâncias ou Grupo II – de retenção e busca).

Nesse sentido utilizou-se um dispositivo experimental (Cortegano 2006), com base na exposição de colónias sentinela de cochonilha-algodão dos citrinos (batatas-armadilha), tendo em vista avaliar, em condições de campo (pomares de citrinos), a resposta do parasitóide a diferentes estímulos, com e sem feromona sexual de *P. ficus*, através da respectiva taxa de parasitismo.

5.2. Material e métodos

Os ensaios foram efectuados em dois períodos distintos, 16 a 23 de Julho e 23 a 30 de Setembro de 2008, em dois pomares de citrinos na região do Algarve (Quadro 5). Na escolha das parcelas para a realização deste ensaio, foram ponderados vários critérios, nomeadamente, dimensão e localização, historial da parcela e historial de presença de cochonilha-algodão e *A. spec. nov. próx. pseudococci* em anos anteriores.

O dispositivo utilizado (batata-armadilha) consistiu num contentor cilíndrico de plástico transparente (11 cm de \varnothing , 13 cm de altura), com quatro aberturas circulares (3 cm de \varnothing), distribuídas ao longo do perímetro, para permitir o arejamento e a entrada de fêmeas de *A. spec. nov. próx. pseudococci*, que foi fechado com tampa hermética. No interior de cada batata-armadilha, colocaram-se duas batatas abrolhadas, cujos brotos foram infestado com 70 fêmeas de terceiro instar de *P. citri*. Para minimizar variações, no que diz respeito à taxa média de parasitismo, é fundamental proporcionar as mesmas condições em todas as modalidades.

Os ensaios foram instalados, segundo um sistema de casualização total, com dez repetições (Anexo IV): 1) batata-armadilha testemunha, sem difusor de feromona sexual de *P. ficus*; 2) batata-armadilha com difusor de 200 μ g de feromona sexual de *P. ficus* no

interior; e 3) batata-armadilha com difusor de 200 µg de feromona sexual de *P. ficus* no exterior, a 60 cm de distância do dispositivo (Fig. 19). As armadilhas foram instaladas no interior da copa das árvores, à altura de 1,0-1,5m, no quadrante sudeste (SE), por ser o que tem exposição directa aos raios solares, durante as primeiras horas do dia. Na modalidade 2) o difusor foi preso à tampa do dispositivo, com arame, ao passo que na modalidade 3) foi pendurado na extremidade de um arame com 60 cm de comprimento.

Quadro 5 – Caracterização dos pomares de citrinos onde se realizaram os ensaios para o estudo da influência da feromona sexual de *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera, Pseudococcidae) no parasitismo de *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera, Pseudococcidae).

Pomar	Localização (freguesia)	Ano de plantação	Cultivar	Porta-enxerto	Sistema de rega	Compasso (mxm)	Área (m ²)
Afonso Vaz	Algoz	1989	Newhall	Citranjeira troyer	gota-a-gota	4 x 6	3 000
Centro de Experimentação Agrária de Tavira	Santiago	1996	Newhall	Citranjeira troyer	gota-a-gota	4,5 x 4,5	4 600

As armadilhas permaneceram uma semana no campo. Findo esse período, foram transferidas para o mesmo tipo de contentores sem qualquer orifício, tendo o cuidado de manter os parasitóides presentes dentro do frasco, e transportadas para o laboratório (22.0 ± 0.5°C; 60.0 ± 0.5% hr; 14L:10D), onde se contabilizaram o número de parasitóides e *P. citri* existentes e eliminadas formigas e larvas de predadores. Foram realizadas observações diárias de todas as repetições, iniciadas 15 dias após a recolha das armadilhas, durante 8 dias após a primeira emergência no ensaio de Julho e 15 dias após a primeira emergência em Setembro, para determinar o número de dias até à primeira emergência e o número de parasitóides emergidos por repetição. O período considerado teve em atenção o tempo necessário para *A. spec. nov. próx. pseudococci* completar uma geração e o tempo que as armadilhas permaneceram no campo.

A taxa de parasitismo foi estimada através do quociente entre o número de parasitóides emergidos e o número de cochonilhas-algodão presentes no momento da recolha.

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), seguida de teste “à posteriori” de comparação de médias de Tuckey e quando necessário sofreram transformação (logarítmica ou angular), através do programa SPSS versão 15.0 para Windows (Anexo IV).



Fig. 19 – Batatas-armadilha, com colônias de fêmeas adultas e terceiros instares de *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera, Pseudococcidae) utilizadas no estudo da influência da feromona sexual de *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera, Pseudococcidae) na taxa de parasitismo por *Anagyrus spec. nov. próx. pseudococci* (Hymenoptera: Encyrtidae) nas diferentes modalidades: A) testemunha, sem difusor de feromona; B) batata-armadilha com difusor de 200 µg de feromona sexual de *P. ficus* no interior do dispositivo; e C) batata-armadilha com difusor de 200 µg de feromona sexual de *P. ficus*, a 60 cm do dispositivo (Fotos originais da autora).

5.3. Resultados

No primeiro ensaio realizado em Julho, o número médio de fêmeas capturadas no interior das batatas-armadilha na altura da recolha foi muito reduzido (0,2 para a modalidade feromona sexual de *P. ficus* no interior da batata-armadilha; 0,2 para a modalidade feromona sexual de *P. ficus* a 60 cm da batata-armadilha, 0,4 para a modalidade testemunha). Este registo, à semelhança do que sucedeu anteriormente (Fortuna 2007) pode ser o resultado de uma baixa densidade populacional do parasitóide no campo durante este período do ano. No entanto, todas as modalidades possuíam fêmeas de parasitóide e eram visíveis sinais de parasitismo nas cochonilhas-algodão.

A presença de feromona sexual de *P. ficus* teve efeito significativo no número de dias até à primeira emergência do parasitóide ($F_2=2,815$; $P<0,001$), tendo a modalidade testemunha apresentado valor significativamente superior aos das duas modalidades com feromona. Estas duas últimas não diferiram significativamente entre si (Fig. 20).

6. Estudo da actividade de *Anagyrus spec. nov. próx. pseudococci* em pomares de citrinos e vinha

6.1. Objectivos

Com o objectivo de ampliar os conhecimentos acerca do comportamento de *A. spec. nov. próx. pseudococci*, no seu habitat natural, possibilitando o aperfeiçoamento da sua utilização enquanto agente de controlo biológico, considerou-se interessante estudar a sua actividade populacional em pomares de citrinos e de vinha.

Ainda é desconhecido o comportamento deste parasitóide no seu habitat natural ao longo do seu ciclo de vida. Suspeita-se que as populações migrem entre culturas, nomeadamente vinha e pomares de citrinos. Tendo em conta que esta informação é fundamental na compreensão do processo de localização do hospedeiro e de quais as chaves químicas envolvidas neste processo, pretende-se, pela primeira vez, estudar a evolução da actividade de populações de *A. spec. nov. próx. pseudococci* no seu habitat natural, e avaliar a existência de migrações entre culturas, nomeadamente vinha e pomares de citrinos, uma vez que estas duas culturas podem apresentar duas das espécies de cochonilhas-algodão hospedeiros deste parasitóide (i.e., *Planococcus ficus* e *Planococcus citri*) e com frequência são culturas vizinhas, na região mediterrânica.

Para o efeito, recorreu-se a armadilhas adesivas activadas com a feromona sexual de *P. ficus*, tendo em vista a captura de fêmeas de *A. spec. nov. próx. pseudococci*.

6.2. Material e métodos

O estudo foi realizado em pomares de citrinos e vinha, em dois locais distintos, de 20 de Maio a 30 de Setembro, na Tapada da Ajuda (Lisboa), e de 27 de Maio a 30 de Setembro, em Tavira (Quadro 6).

Na vinha foram comparadas duas modalidades de armadilhas adesivas brancas, do tipo placa (15 x 15 cm): 1) sem feromona (testemunha); e 2) com difusor de 50 µg de feromona sexual de *Planococcus ficus* (Fig. 24).

Em ambas as culturas, os ensaios foram instalados segundo um sistema de casualização total, com 5 repetições (Anexo V). As armadilhas foram instaladas no quadrante SE, por ser o que tem exposição directa aos raios solares, durante as primeiras horas do dia e de forma a não ficarem obstruídas pela folhagem. As armadilhas foram trocadas semanalmente e os difusores de feromona mensalmente. O número de capturas de fêmeas de *A. spec. nov. próx. pseudococci* e de machos de cochonilha-algodão foi determinado semanalmente em laboratório, com o auxílio de lupa binocular (modelo Nikon

SMZ-2B, Japão) (Fig. 26). Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA), seguida de teste “à posteriori” de comparação de médias de Tuckey, através do programa SPSS versão 15.0 para Windows.

Quadro 6 – Período de exposição das armadilhas em vinha e pomares de citrinos em função do ciclo destas culturas.

Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.	
Hibernação			Ciclo vegetativo									
Choro		Rebentação		Crescimento dos órgãos vegetativos			Atempamento			Queda das folhas		Ciclo vegetativo e reprodutor da videira
					Floração		Paragem de crescimento Vingamento		Maturidade			
Crescimento dos órgãos reprodutores						Maturação						
											Ciclo reprodutor	
									Vindima no ISA			
										Vindima em Tavira		
					Tratamento no pomar de Tavira (Apploud)		Tratamento no pomar de Tavira (Nissorum)					
A	B C C1 C2 D E		F G	H I		J		Mudança de cor dos frutos			Estado fenológico dos citrinos	
												Período de permanência das armadilhas no campo



Fig. 24 – Armadilha adesiva do tipo placa (15 x 15 cm) em vinha. A- testemunha, sem difusor de feromona de *Planococcus ficus* (Signoret), (Hemiptera: Pseudococcidae), B – com difusor com 50µg feromona sexual de *P. ficus* (Fotos originais da autora).

7. Conclusões

A correcta classificação e consequente caracterização de uma espécie é fundamental para o seu conhecimento profundo, nomeadamente no que diz respeito a aspectos relacionados com o comportamento. Esta necessidade é acentuada quando se trata de um agente de controlo biológico.

Os exemplares do parasitóide observados neste trabalho correspondem à espécie recentemente descrita *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci* (*sensu* Triapsyn et al. 2007). Constatou-se a presença de elevada variabilidade intraespecífica no que respeita à morfologia do primeiro artigo funicular da antena correspondente ao morfótipo. *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci*. A presença de sedas negras associadas às zonas de coloração branca na região distal deste artigo poderão ser um parâmetro que poderá auxiliar na distinção entre *Anagyrus pseudococci* e *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci*, aspecto a ter em conta numa futura revisão do género *Anagyrus*.

Durante a avaliação do comportamento do parasitóide em laboratório com recurso a placas de Petri, verificou-se que fêmeas com idade entre 47 e 49 horas de vida são bastante activas. Esta actividade foi significativamente incrementada na presença da feromona sexual de *P. ficus*, apoiando a hipótese desta cairomona funcionar como chave química no processo de localização do hospedeiro, sendo o comportamento de procura o mais representativo. Constatou-se, ainda, a existência de elevada variabilidade entre indivíduos, quanto à distribuição do tempo por tipo de comportamento realizado, em ambas as modalidades.

Apenas na presença de feromona sexual de *P. ficus*, todos os tipos de comportamento estiveram representados, incluindo o comportamento de postura, facto que reforça a hipótese sugerida em trabalhos anteriores desta substância funcionar como cairomona.

Os resultados da utilização de parasitóides com diferente número de gerações na avaliação da resposta cairomonal de *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci* à feromona sexual de *Planococcus ficus* em olfactómetro de ar estático não foram concludentes. No entanto, a hipótese de fêmeas com menor número de gerações em criação laboratorial responderem positivamente à feromona sexual de *P. ficus*, uma vez que, possivelmente ainda não sofreram processos de selecção, mantendo as características selvagens não foi excluída. Os resultados sugerem a possibilidade de existir variações entre populações do parasitóide no que respeita à resposta cairomonal relativamente à feromona sexual de *P. ficus*. Contudo, há que ter em conta também a possível influência do método utilizado (olfactómetro de ar estático), sendo

de ponderar a repetição destes ensaios, diminuindo o tempo entre a introdução da feromona e do parasitóide, de modo a minimizar a ocorrência de saturação de feromona nos vários compartimentos do olfactómetro.

Planococcus citri está entre os hospedeiros mais comuns de *A. pseudococci* s.l., todavia a feromona sexual desta cochonilha não exerce efeito cairomonal neste parasitóide, o que limita a sua utilização enquanto agente de luta biológica em pomares de citrinos. No entanto, a evidência de resposta cairomonal de *Anagyrus* spec. nov. próx. *pseudococci* à feromona sexual de *Planococcus ficus* demonstrada nos ensaios das batatas-armadilha (ver Capítulo 5), possibilita a utilização desta feromona em tácticas de protecção biológica das culturas, como incremento do parasitismo de *P. citri* em pomares de citrinos. Os resultados obtidos sugerem que a feromona sexual de *P. ficus* actua como estímulo do grupo II, ou seja, tem efeito de retenção ou busca, intensificando a actividade de procura do hospedeiro pelo parasitóide na proximidade da fonte de feromona.

Os resultados obtidos no estudo da actividade de populações de *A. spec. nov. próx. pseudococci* em pomares de citrinos e vinha sugerem não existir migrações significativas das populações do parasitóide entre estas culturas, sendo o aumento populacional registado no final do Verão resultado da sua multiplicação em populações de cochonilhas-algodão dos citrinos, *P. citri*, e da vinha, *P. ficus*, respectivamente.

Referências bibliográficas

- Abd-Rabou S (2000) Parasitoids attacking *Saccharicoccus sacchari* (Cockerell) (Hemiptera: Pseudococcidae) on sugarcane in Egypt. Sugarcane pest management in the New Millennium, 4th Sugarcane Entomology Workshop International Society of Sugar Cane Technologists, Khon-Kaen, Thailand, pp 72-75.
- Aguiar A, Mexia A, Couto C, Ramadas I, Garrido J, Costa J, Ribeiro JA, Freitas J, Trigueiros J, Inglez MA, Ferreira MA, Raposo ME & Amaro P (2004) Manual técnico de protecção integrada da vinha na região norte. ISA Press, Lisboa.
- Alphen JJMV & Jervis MA (1996) Foraging behaviour. In: Jervis M & Kidd N (eds) Insect natural enemies: practical approaches to their study and evaluation. Chapman & Hall, London, pp 1-62.
- Amaro P (2003) A protecção integrada. ISA Press, Lisboa.
- Antunes R (2005) Bases para o desenvolvimento de uma tática biotécnica de “atração e morte” relativamente à cochonilha-algodão dos citrinos: influência da cor na actividade de voo dos machos e ritmo circadiano. Rel Trab Fim Curso Eng Agron, ISA/UTL, Lisboa.
- Arakaki N, Wakamura S, Yasuda Y & Yamagishi K (1996) Two regional strains of a phoretic agg parasitoid, *Telenomus euproctidis* (Hymenoptera: Scelionidae), that use different sex pheromones of two allopatric tussock moth species as kairomones. J Chem Ecol 23: 153-161.
- Ben-Dov (1994) A systematic catalogue of the mealybugs of the world (Insecta: Homoptera: Coccoidea: Pseudococcidae and Putoidae), with Data on Geographical Distribution, Host Plants, Biology and Economy Importance. Intercept Limited, Andover, UK.
- Bierl-Leonhardt BA, Moreno DS, Schwarz M, Fargerlund J & Plimmer JR (1981) Isolation, identificatio and synthesis of the sex pheromone of the citrus mealybug, *Planococcus citri* (Risso). Tetrah Lett 22: 389-392.
- Blumberg D, Franco JC, Suma P, Russo A, Mendel Z & Pellizzari G (2001) Parasitoid encapsulation in mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) as affected by the host-parasitoid association and superparasitism. Boll Zool Agrar Bach 33: 385-395.
- Blumberg D, Klein M & Mendel Z (1995) Response by encapsulation of four mealybug species (Homoptera: Pseudococcidae) to parasitization by *Anagyrus pseudococci*. Phytoparasitica 23: 157-163.
- Boo KS & Yang JP (2000) Kairomones used by *Trichogramma chilonis* to find *Helicoverpa assulta* eggs. J Chem Ecol 26: 359-3.
- Borbón CMDE, Gracia O & Talquenca GSG (2004) Mealybugs and grapevine leafroll-associated virus 3 in vineyards of Mendoza, Argentina. Am J Enol Vitic 55: 283-285.

- Borges M, Colazza S, Lucas PR, Chauchan KR, Moraes MCB & Aldrich JR (2003) Kairomonal effect of walking traces from *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae) on two strains of *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae). *Physiol Entomol* 28: 349-355.
- Branco M, Franco JC, Dunkelblum E, assael F, Prostasov A, Ofer D & Mendel Z (2006a) A common mode of attraction of larvae and adults of insect predators to the sex pheromone of their prey (Hemiptera: Matsucoccidae). *Bull Entomol Res* 96: 179-185.
- Branco M, Jactel H, Franco JC & Mendel Z (2006a) Modelling response of insect trap captures to pheromone dose. *Eco Model* 197:247-257.
- Branco M, Lettere M, Franco JC, Binazzi A & Jactel H (2006b) Kairomonal response of predators to three pine bast scale sex pheromones. *J Chem Ecol* 32:1577-1586.
- Cabaleiro C & Segura A (1997) Field transmission of grapevine leafroll associated virus 3 (GLRaV-3) by the mealybug *Planococcus citri*. *Plant Dis* 81: 283-287.
- Campos JM, Martinez FMT & Ripolles JL (2003) Host and parasitoid densities influence on progeny and sex ratio of *Anagyrus pseudococci* (Girault) and *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae); two *Planococcus citri* (Risso) (Homoptera: Pseudococcidae) parasitoids. *OILB/SROP Bull* 26: 139-147.
- Cavaco M, Calouro F & Clímaco P (2005) Produção integrada da cultura da vinha. Direcção Geral de Protecção das culturas, Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e Pescas, Oeiras.
- Chong JH & Oetting RD (2007) Foraging behavior of the mealybug parasitoid *Anagyrus* sp. nov. nr. *sinope* (Hymenoptera: Encyrtidae). *J Entomol Sci* 42:481-495.
- Colazza S, Rosi C & Clemente A (1997) Response of egg parasitoid *Telenomus busseolae* to sex pheromone of *Sesamia nonagrioides*. *J Chem Ecol* 3: 2437-2444.
- Cortegano E (2006) Estudo da resposta cairomonal do parasitóide *Anagyrus pseudococci* (Girault) em relação à feromona sexual de *Planococcus ficus* (Signoret). *Rel Trab Fim Curso Eng Agron, ISA/UTL, Lisboa*.
- Cournoyer M & Boivin G (2004) Infochemical-mediated preference behaviour of the parasitoid *Microctonus hyperodae* when searching for its adults weevil hosts. *Entomol Exp Appl* 112: 117-124.
- Cournoyer M & Boivin G (2005) Short distance cues used by adult parasitoid *Microctonus hyperodae* Loan (Hymenoptera: Braconidae, Euphorinae) for host selection of a novel host *Listronotus oregonensis* (Coleoptera: Curculionidae). *J Insect Behav* 18: 577-591.
- Cox JM (1989) The mealybug genus *Planococcus* (Homoptera: Pseudococcidae). *Bull Br Mus Nat Hist* 58: 1-78.
- Daane KM, Bentley WJ, Walton VM, Malakar-Kuenen R & Millar JG (2006) New controls investigated for vine mealybug. *California Agric* 60: 31-38.

- Daane KM, Bentley WJ, Millar JG, Walton VM, Cooper ML, Biscay P & Yokota GY (2008) Integrated management of mealybugs in California vineyards. Proceedings of the International Symposium on Grape Production and Processing 785, pp 235-252.
- Daane KM, Kuenen RM, Guillén M, Bentley WJ, Bianchi M & González D (2001) Abiotic and biotic pest refuges hamper biological control of mealybugs in California vineyards. 1st International Symposium on Biological Control of arthropods, pp 389-397.
- Daane KM, Kuenen RM & Walton VM (2004) Temperature-dependent development of *Anagyrus pseudococci* (Hymenoptera: Encyrtidae) as a parasitoid of the vine mealybug, *Planococcus ficus* (Homoptera: pseudococcidae). Biol Contr 31: 123-132.
- Das BK & Sahoo AK (2005) Record of parasitoids of some scale and mealybug pests of mango from West Bengal, India. J Biol Contr 19: 71-72.
- Dunkelblum E (1999) Scale insects. In: Hardie J & Minks AK (eds.) Pheromones of non-lepidopteran insects associated with agricultural plants. CAB International, Wallingford 251-276.
- Dunkelblum E, Ben-Dov Y, Goldshimdt Z, Wolk JL & Somkh L (1987) Synthesis and field bioassay of some analogs of sex pheromone of citrus mealybug, *Planococcus citri* (Risso). J Chem Ecol 13: 863-871.
- Fortuna T (2007) Resposta cairomonal do parasitóide *Anagyrus spec. nov. próx. pseudococci* (Girault) (Hymenoptera, Encyrtidae) à feromona sexual de *Planococcus ficus* (Signoret) (Homoptera, Pseudococcidae). Mestrado Ecologia & Gestão Ambiental, FCUL, Lisboa.
- Franco JC (1997) Contribuição para a protecção integrada em citrinos: caso das cochonilhas-algodão (Homoptera, Pseudococcidae). Tese Doutor Eng Agron, ISA/UTL, Lisboa 176.
- Franco JC & Carvalho JP (1990) As cochonilhas-algodão dos citrinos (Homoptera, Pseudococcidae) em Portugal. I Congr Iber Ciênc Hort, Lisboa 1990. Acta Hort 6: 75-81.
- Franco JC, Gross S, Silva EB, Suma P, Russo A & Mendel Z (2004a) Is mass-trapping a feasible management tactic of the citrus mealybug in citrus orchards? An Inst Sup Agron 49: 353-367.
- Franco JC, Russo A, Suma P, Silva EB, & Mendel Z (2001) Monitoring strategies for the citrus mealybug in citrus orchards. Bol Zool Agr Bachic 33: 297-303.
- Franco JC, Silva EB & Carvalho JP (2000) Cochonilhas-algodão (Homoptera, Pseudococcidae) associadas aos citrinos em Portugal. ISA Press, Lisboa.
- Franco JC, Magro A & Carvalho JP (1994) Situação da luta biológica contra as cochonilhas-algodão (Homoptera, Pseudococcidae) em pomares de citrinos. In: Pereira A, Abreu CA,

- Ribeiro JA, Torres LM & Barroso SF (eds) II Encontro Nac Prot Integr, Vila Real 1993. Anais UTAD 5: 405-412.
- Franco JC, Silva EB, Cortegano E, Campos L, Branco M, Zada A & Mendel Z (2008) Kairomonal response of the parasitoid *Anagyrus spec nov.* near *pseudococci* to the sex pheromone of vine mealybug. Entomol Exp Appl 126: 122-130.
- Franco JC, Suma P, Silva EB, Blumberg D & Mendel Z (2004b) Management strategies of mealybug pests of citrus in Mediterranean countries. Phytoparasitica 32: 507-522.
- Galasch PT (1999) Chilean citrus industry: methods of orchard management. <http://www.sardi.sa.gov.au/index.html>.
- Glinwood RT, Powell W & Tripathi CPM (1998) Increased parasitization of aphids on trap plants alongside vials releasing synthetic aphid sex pheromone and effective range of the pheromone. Biocontrol Sci Technol 8: 607-614.
- Glinwood RT, Du YJ & Smiley DWM (1999) Comparative responses of parasitoids to synthetic and plant-extracted nepetalactone component of aphid sex pheromones. J Chem Ecol 25: 1481-1488.
- Godinho MAM (2001) A cochonilha algodão a vinha – importância, identidade específica e biologia. Rel Trab Fim Curso Eng Agron, ISA/UTL, Lisboa.
- Grade NFC (2004) A encapsulação como factor limitante da actividade do parasitóide *Anagyrus pseudococci* (Girault): superparasitismo e variabilidade intraespecífica do hospedeiro *Planococcus citri* (Risso). Rel trab Fim Curso Eng agron, ISA/UTL, Lisboa.
- Gravitz N & Willson C (1968) A sex pheromone from the citrus mealybug. Entomol 32: 1458-1459.
- Gullec G, Kilincer NA, Kaydan MB, & Ulgenturk S (2007) Some biological interactions between the parasitoid *Anagyrus pseudococci* (Girault) (Hymenoptera: Encyrtidae) and its host *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Coccoidea: Pseudococcidae). J Pest Sci 80: 43-49.
- Gutierrez AP, Daane KM, Ponti L, Walton VM & Ellis CK (2008) Prospective evaluation of the biological control of vine mealybug: refuge effects and climate. J Appl Ecol 45: 524-536.
- Hefetz A & Tauber O (1990) Male response to the synthetic sex pheromone of *Planococcus citri* (Risso) (Hom., Pseudococcidae) and its application for the population monitoring. J Appl Entomol 109: 502-506.
- Hilker M, Blaske V, Kobs & Dippel C (2000) Kairomonal effects of sawfly sex pheromones on egg parasitoids. J Chem Ecol 26: 2591-2601.
- Hinkens DM, McElfresh JS & Millar JG (2001) Identification and synthesis of the sex pheromone of the vine mealybug, *Planococcus citri*. Tetrahedron Lett 1619-1621.

- Islam KM (1993) The influence of host and other environmental factors on the biology of the mealybug parasitoid *Anagyrus pseudococci* (Girault). PhD Thesis, Univ. London, United Kingdom.
- Islam KS & Copland MJW (1997) Host preference and progeny sex ratio in a solitary koinobiont mealybug endoparasitoid, *Anagyrus pseudococci* (Girault), in response to its host stage. *Biocontr Sci Technol* 7: 449-456.
- Islam KS & Copland MJW (2000) Influence of egg load and oviposition time interval on the host discrimination and offspring survival of *Anagyrus pseudococci* (Hymenoptera: Encyrtidae), a solitary and endoparasitoid of citrus mealybug, *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae). *Bull Entomol Res* 90: 69-75.
- Islam KM & Jahan (1993a) Influence of honeydew of citrus mealybug (*Planococcus citri*) on searching behaviour of its parasitoid, *Anagyrus pseudococci*. *Biocontr Sci Technol* 90: 69-75.
- Islam KM & Jahan (1993b) Oviposition and development of the mealybug parasitoid *Anagyrus pseudococci* (Girault) at different constant temperatures. *Pak J Sci Ind Res* 36: 322-324.
- Islam KM, Perera HAS & Copland MJW (1997) The effects of parasitism by an encyrtid parasitoid, *Anagyrus pseudococci* on the survival, reproduction and physiological changes of the mealybug, *Planococcus citri*. *Entomol Exp Appl* 34: 77-83.
- Karamaouna F & Copland MJW (2000) Oviposition behaviour, influence on host size selection, and niche overlap of the solitary *Leptomastix epona* and the gregarious *Pseudophycus flavidulus*, two endoparasitoids of the mealybug *Pseudococcus viburni*. *Entomol Exp Appl* 97: 301-308.
- Krüger K (2003) Transmission of grapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV-3) by *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae). *Proc 14th Entomol Congr, Entomological Society of Southern Africa*, pp. 1-66
- Lemos R (2006) Bases para o desenvolvimento de uma tática biotécnica de “atração e morte” relativamente à cochonilha-algodão da vinha: influência da cor na actividade de voo dos machos e ritmo circadiano. *Rel Trab Fim Curso Eng Agron, ISA/UTL, Lisboa*.
- Lewis WJ, Vet EM, Tumlinson JH, Lenteren JCV & Papaj DR (1990) Variations in parasitoid foraging behaviour: essential element of a sound biological control theory. *Environ Entomol* 19: 1183-1193.
- Lousa EMC (2001) Utilização de armadilhas sexuais na estimativa de risco de *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera, Pseudococcidae) em citrinos. *Rel Trab Fim Curso Eng Agron, ISA/UTL, Lisboa*.
- Karamouna F & Copland MJW (2000) Oviposition behaviour, influence on host size selection, and niche overlap of the solitary *Leptomastix epona* and the gregarious *Pseudophycus*

- flavidulus*, two endoparasitoids of the mealybug *Pseudococcus viburni*. Entomol Exp Appl 97: 301-308.
- Mendes F & Cavaco F (2004) Protecção integrada dos citrinos: lista dos produtos fitofarmacêuticos e níveis económicos de ataque. Direcção Geral de Protecção das Culturas, Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Oeiras.
- Millar JG, Daane KM, McElfresh JS, Moreira JA & Malakar-Kuenen R (2002) Development and optimization of methods for using sex pheromone for monitoring the mealybug *Planococcus ficus* (Homoptera: Pseudococcidae) in California vineyards. J Econ Entomol 95: 706-714.
- Noyes JS & Hayat M (1994) Oriental mealybug parasitoids of the Anagyrini (Hymenoptera: Encyrtidae). CAB International, Wallingford, UK.
- Passarinho AMP (2004) Efeito da encapsulação na actividade do parasitóide *Anagyrus pseudococci* (Girault) como agente de limitação natural da cochonilha-algodão. Rel Trab Fim Curso Eng Agron, ISA/UTL, Lisboa.
- Powell W, Pennachio F, Poppy GM & Tremblay E (1998) Strategies involved in the location of hosts by the parasitoid *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). Biol Contr 11: 104-107.
- Rosen D & Rössler Y (1966) Studies on an Israeli strain of *Anagyrus pseudococci* (Girault) (Hymenoptera, Encyrtidae). I. Morphology of the adults and developmental stages. Entomophaga 11: 269-277.
- Rotundo G & Tremblay E (1982) Preliminary report on the attractiveness of the synthetic pheromone of *Planococcus citri* (Risso) (Homoptera, Coccoidea) in comparison to virgin females. Boll Lab Entomol Agrar F Silvestri 39: 97-101.
- Saeng & Chung K (2004) Insect semiochemical research in Korea: overview and prospects. Appl Entomol Zool 40: 13-29.
- Sforza R, Boudon-Padieu E & Greif C (2003) New mealybugs species vectoring grapevine leafroll-associated viruses-1 and -3 (GLRaV-1 and -3). Eur J Plant Pathol 109: 975-981.
- Silva EB (2000) Cálculo de prejuízos provocados por *Planococcus citri* (Risso) em citrinos. Tese Doutor Eng Agron, ISA/UTL, Lisboa.
- Silva EB, Fortuna T, Franco JC, Campos L, Branco M, Zada A & Mendel (2009) A specific kairomonal response of a mealybug parasitoid to the sex pheromone of *Planococcus ficus*. IOBC wrps Bull 72 (em publ.).
- Sime KR (2002) Experimental studies of the host-finding behaviour of *Trogus pennator*, a parasitoid of swallowtail butterflies. J Chem Ecol 28: 1377-1392.
- Steidle LMJ, Strppuhn A & Ruther J (2003) Specific foraging kairomones used by a generalist parasitoid. J Chem Ecol 29: 131-143.

- Takács S & Gries G (2001) Communication ecology of webbing clothes moth: evidence for male-produced aggregation signal(s). *Can Entomol* 133: 725-727.
- Tauber O, Sternlicht M & Hefetz A (1985) Preliminary observations on the behaviour of males *Planococcus citri* exposed to the synthetic sex pheromone, with references to its applicability monitoring. *Phytoparasitica* 13: 148.
- Tingle CCD & Copland MJW (1989) Progeny production and adult longevity of the mealybug parasitoids *Anagyrus pseudococci*, *Leptomastix dactylopii*, and *Leptomastidea abnormis* (Hym: Encyrtidae) in relation to temperature. *Entomophaga* 34: 111-120.
- Triapitsyn SV, González D, Vickerman D, Noyes J & White EB (2007) Morphological, biological, and molecular comparisons among the different geographical populations of *Anagyrus pseudococci* (Hymenoptera: Encyrtidae), parasitoids of *Planococcus* spp. (Hemiptera: Pseudococcidae), with notes on *Anagyrus dactylopii*. *Biol Contr* 41: 14-24.
- Vet LEM & Dicke M (1992) Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annu Rev Entomol* 37: 141-172.
- Vet LEM, Lewis WJ & Cardé RT (1995) Parasitoid foraging and learning. In: Cardé RT & Bell WJ (eds) *Chemical Ecology of insects 2*. Chapman and Hall, NY, pp 65-101.
- Vinson SB (1998) The general host selection behaviour of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. *Biol Contr* 11: 76-96.
- Walton VM, Daane KM & Pringle KL (2004) Monitoring *Planococcus ficus* in South African vineyards with sex pheromone-baited traps. *Crop Prot* 23: 1089-1096.
- Walton VM, Daane KM, Bentley WJ & Malakar-Kuenen R (2006) Pheromona-based mating disruption of *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae) in California vineyards. *J Econ Entomol* 99: 1280-1290.
- Walton VM & Pringle KL (2004a) Vine mealybug, *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae), a key pest in South African vineyards: a review. *S Afr J Enol Viticult* 20: 31-34.
- Walton VM & Pringle KL (2004b) A survey of mealybugs and associated natural enemies in vineyards in the Western Cape Province, South Africa. *S Afr J Enol Viticult* 25: 23-25.
- Zada A, Dunkelblum E, Assael F, Harel N, Cojocar M & Mendel Z (2003) Sex pheromone of the vine mealybug, *Planococcus ficus* in Israel: occurrence of a second component in a mass-reared population. *J Chem Ecol* 29: 977-988.
- Zada A, Dunkelblum E, Harel M, Assael F, Gross S & Mendel Z (2004) Sex pheromone of the citrus mealybug *Planococcus citri*: synthesis and optimization of trap parameters. *J Econ Entomol* 97: 361-368.

Zaki FN (1998) Effect of some kairomones and pheromones on two hymenopterous parasitoids *Apanteles ruficrus* and *Microplitis demolitor* (Hym., Braconidae). J Appl Entomol 120: 555-557.

Agradecimentos

Os meus agradecimentos a todos os que de alguma forma contribuíram para a execução deste trabalho, em particular:

Ao Prof. José Carlos Franco pela oportunidade de desenvolver este tema, pela revisão da tese e ajuda na análise estatística.

À Doutora Elsa por toda a orientação, ajuda e apoio ao longo do trabalho, pela companhia e pelos bons momentos passados no laboratório! Acima de tudo pela dedicação prestada durante o trabalho, e pela amizade!

Ao Sr. Manuel Cariano pela ajuda imprescindível para a realização deste trabalho, pela paciência, companhia nas viagens ao Algarve, transmissão de conhecimentos e experiências, pelos conselhos e acima de tudo pela amizade.

Ao Eng.^o Celestino Soares pela colaboração nos ensaios realizados no Algarve e pela informação disponibilizada.

À Eng. Leonor Campos pela colaboração nos ensaios de campo.

À Eng.^a Ana Passarinho pela colaboração e partilha.

À Eng.^a Ana Cabral por toda a disponibilidade em colaborar e pela companhia no laboratório.

À D. Teresa Inês pela simpatia.

À Eng.^a Regina pelo auxílio prestado ao fotografar ao microscópio.

A todos os meus amigos pela minha ausência e por pacientemente acompanharem este trabalho, em especial à Paula Fernandes, Paula Mendes, Margarida e João.

Um agradecimento especial, ao Paulo pelo apoio, paciência e incentivo, pela colaboração preciosa em várias tarefas inerentes ao trabalho, e principalmente por estar sempre ao meu lado, mesmo nos momentos menos simpáticos!

Aos meus pais e mana, a quem dedico este trabalho, um muito obrigada, por mais uma vez me apoiarem incondicionalmente e por estarem sempre presentes na minha vida!

ANEXOS

ANEXO I

Caracterização da variabilidade do morfótipo do primeiro artigo do funículo da antena das fêmeas de *Anagyrus spec. nov. próx. pseudococci* observadas:

	Origem	Data ensaio	Nº gerações	Ano	Tipo de antena
1	Silves	24.10.07	81	2007	Ext. F1 Branca (+ de 1/2)
2	Silves	18.7 a 6.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/2)
3	Silves	18.7 a 6.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/3)
4	Silves	18.7 a 5.8	0	2007	F1 todo negro
5	Silves	18.7 a 5.8	0	2007	F1 todo negro
6	Silves	18.7 a 6.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/3)
7	Silves	18.7 a 6.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/3)
8	Silves	18.7 a 5.8	0	2007	F1 todo negro
9	Silves	18.7 a 6.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/2)
10	Silves	18.7 a 27.7	0	2007	F1 todo negro
11	Silves	18.7 a 6.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/3)
12	Silves	18.7 a 4.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/3)
13	Silves	18.7 a 4.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/3)
14	Silves	18.7 a 27.7	0	2007	F1 todo negro
15	Silves	18.7 a 6.8	0	2007	F1 todo negro
16	Silves	18.7 a 6.8	0	2007	F1 todo negro
17	Silves	18.7 a 9.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/3)
18	Silves	18.7 a 9.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/3)
19	Silves	18.7 a 27.7	0	2007	Ext. F1 Branca (- de 1/3)
20	Silves	18.7 a 6.8	0	2007	F1 todo negro
21	Silves	18.7 a 8.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/3)
22	Silves	18.7 a 8.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/3)
23	Silves	18.7 a 4.8	0	2007	F1 todo negro
24	Silves	18.7 a 5.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/3)
25	Silves	18.7 a 5.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/3)
26	Silves	18.7 a 5.8	0	2007	Ext. F1 Branca (+ de 1/3)
27	Silves	18.7 a 6.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/3)
28	Silves	18.7 a 8.8	0	2007	Ext. F1 Branca (+ de 1/3)
29	Silves	18.7 a 6.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/2)
30	Silves	18.7 a 5.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/3)
31	Silves	18.7 a 8.8	0	2007	Ext. F1 Branca (+ de 1/3)
32	Silves	18.7 a 5.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/3)
33	Silves	18.7 a 5.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/3)
34	Silves	18.7 a 5.8	0	2007	Ext. F1 Branca (1/3)
35	Silves	18.7 a 7.7	0	2007	Ext. F1 Branca (1/3)
36	Silves	18.7 a 7.7	0	2007	Ext. F1 Branca (1/2)
37	Silves	18.7 a 8.8	0	2007	Ext. F1 Branca (+ de 1/3)
38	Silves	18.7 a 7.7	0	2007	Ext. F1 Branca (1/3)
39	Silves	18.7 a 15.8	0	2007	F1 todo negro
40	Silves	18.7 a 15.8	0	2007	F1 todo negro
41	Silves	18.7 a 15.8	0	2007	F1 todo negro
42	Silves	18.7 a 16.8	0	2007	F1 todo negro
43	Silves	18.7 a 15.8	0	2007	F1 quase todo branco. A. pseudococci
44	Silves	18.7 a 15.8	0	2007	F1 todo negro
45	Silves	18.7 a 15.8	0	2007	F1 todo negro
46	Silves	18.7 a 15.8	0	2007	F1 todo negro
47	Silves	18.7 a 15.8	0	2007	F1 todo negro

48	Silves	18.7 a 15.8	0	2007	F1 todo negro
49	Silves	18.7 a 15.8	0	2007	F1 todo negro
50	Silves	18.7 a 15.8	0	2007	F1 todo negro
51	Silves	18.7 a 15.8	0	2007	F1 todo negro
52	Tavira	3.10.07	0	2007	F1 todo negro
53	Tavira	22.10.07	0	2007	F1 todo negro
54	Tavira	24.10.07	0	2007	F1 todo negro
55	Tavira	25.10.07	0	2007	F1 todo negro
56	Tavira	24.10.07	0	2007	F1 todo negro
57	Tavira	24.10.07	0	2007	F1 todo negro
58	Tavira	24.10.07	0	2007	F1 todo negro
59	Tavira	24.10.07	0	2007	F1 todo negro
60	Tavira	31.10.07	0	2007	F1 todo negro
61	Tavira	29.10.07	0	2007	F1 todo negro
62	Tavira	25.10.07	0	2007	F1 todo negro
63	Tavira	29.10.07	0	2007	F1 todo negro
64	Tavira	29.10.07	0	2007	F1 todo negro
65	Tavira	25.10.07	0	2007	F1 todo negro
66	Tavira	25.10.07	0	2007	F1 todo negro
67	Tavira	25.10.07	0	2007	F1 todo negro
68	Tavira	29.10.07	0	2007	F1 todo negro
69	Tavira	29.10.07	0	2007	F1 todo negro
70	Tavira	29.10.07	0	2007	F1 todo negro
71	Tavira	29.10.07	0	2007	F1 todo negro
72	Tavira	02.11.07	0	2007	F1 todo negro
73	Tavira	18.7.07 a 16.8.07	0	2007	F1 todo negro
74	Tavira	18.07.07	0	2007	F1 todo negro