

PROTECÇÃO BIOLÓGICA DE CONSERVAÇÃO E GESTÃO DE LARGADAS DE AUXILIARES COMERCIAIS

Elisabete Figueiredo¹, Joana Martins¹, Maria do Céu Godinho², Célia Mateus³, Elsa Valério², Elsa Borges da Silva⁴, Rodrigo Silva⁵, José Firmino⁶, Octávio S. Paulo⁷, João Gago², Sofia G. Seabra⁷, Maria Teresa Rebelo⁸, António Mexia¹

Instituto Superior de Agronomia / Universidade de Lisboa

¹ CEER. ISA/UL ; ² ESAS/IPS ; ³ INIAV; ⁴ CEF. ISA/UL; ⁵ Hortipor; ⁶ Olhorta; ⁷ CBA. FC/UL

⁸ CESAM. FC/UL

RESUMO

Os complexos de espécies de parasitóides e predadores que limitam as populações das principais pragas de culturas hortícolas protegidas, mosquinhas brancas, larvas mineiras, lagartas, afídeos e tripes, têm vindo a ser estudados na região Oeste desde há mais de 25 anos. A riqueza específica encontrada nestes complexos é elevada. Algumas das espécies identificadas são comercializadas para largadas. Estas largadas podem afectar as populações dos agentes de luta biológica presentes nas culturas, ao nível da composição específica dos complexos, da abundância populacional de cada espécie e na proporção relativa dos vários genótipos presentes nas populações. Está a decorrer uma operação/projecto ProDeR, medida 4.1, promovida por duas empresas agrícolas e três instituições de ensino superior público, que pretende definir regras de actuação no combate às pragas destas culturas face à intensidade de ataque observada e aos auxiliares autóctones presentes e sua abundância, com o objectivo de definir regras para eventuais tratamentos biológicos e analisar as consequências destes, de forma a melhor adequar as estratégias de protecção a adoptar.

Palavras-chave: biodiversidade funcional, diversidade genética, limitação natural, riscos da luta biológica, tratamento biológico.

ABSTRACT

The species complexes of parasitoids and predators which control populations of the main pests of vegetable protected crops have been studied for the last 25 years in the Oeste region. Species richness found in the complexes which prey or parasitize the main pests found in these crops, such as whiteflies, leafminers, caterpillars, aphids and thrips is high. Some of the identified species are commercialized for biological control releases. These releases can affect populations of the naturally occurring biological control agents, regarding species composition of the complexes, species abundance and representativeness of the genotypes present in the populations. A ProDeR - measure 4.1 operation/project promoted by two enterprises and three higher education institutions is ongoing. The aim of this project is to define decision rules to control pests of protected crops taking into account pest attack severity, beneficial arthropod species present and their abundance, and through this to define rules for eventual commercial releases of beneficial arthropods and to analyse their consequences. This will lead to the adoption of more adequate plant protection control measures.

Keywords: biological control releases, biological control risks, functional biodiversity, genetic diversity, natural control.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de alternativas aos pesticidas para combater os inimigos das culturas tem sofrido um enorme incremento, no passado recente, em resultado de factores como: (i) redução de substâncias activas (s.a.) disponíveis (Directiva 914/91/CE), conducente quer a finalidades (inimigo x cultura) para as quais deixam de existir s.a. homologadas quer ao aumento de resistências pela maior dificuldade em alternar s.a.; (ii) crescente exigência dos consumidores relativamente a maior segurança alimentar; (iii) medidas legislativas decorrentes da transposição da Directiva 2009/128/CE que estabelece um quadro de acção comunitária para o uso sustentável dos pesticidas (em Portugal, Lei **26/2013 de 11 de Abril**) e que obriga a que cada Estado-membro assegure as medidas necessárias para reduzir a utilização de

pesticidas e imponha os princípios da protecção integrada, a partir de 1 de Janeiro de 2014. Recorde-se que a protecção integrada é uma estratégia de protecção das culturas contra os seus inimigos que utiliza um conjunto de métodos que satisfazem exigências económicas, ecológicas e toxicológicas, dando carácter prioritário às acções que fomentem a limitação natural destes inimigos e respeitando os níveis económicos de ataque (Amaro, 2003), integrando, portanto, medidas indirectas de luta e meios de protecção directos. Neste contexto, o fomento da protecção biológica é indispensável, nomeadamente através das modalidades limitação natural/conservação e tratamento biológico com largadas inoculativas ou inundativas (Eilenberg *et al.*, 2001).

Simultaneamente, a utilização de abelhões como polinizadores, muito frequente em culturas hortícolas protegidas, obrigou os agricultores a modificar as suas práticas para estratégias de protecção compatíveis com o uso destes insectos. Esta alteração de práticas ocorreu também em Portugal e promoveu o recurso a tratamento biológico com artrópodes auxiliares (e.g., Drumond *et al.*, 2005).

Contudo, a utilização de auxiliares comerciais pode provocar efeitos adversos em espécies não visadas, em termos de biodiversidade (Simberloff & Stiling, 1996; Lenteren *et al.*, 2003) e alterações genéticas nas populações presentes no ecossistema (Lenteren *et al.*, 2003), com eventual redução de actividade da biodiversidade funcional. Face a estes riscos há a necessidade de avaliar o risco-benefício da introdução de auxiliares, nomeadamente dos provenientes de outras origens geográficas (Cock, 2002). Alguns países possuem legislação extremamente restritiva a essas introduções; noutros países, todavia, a importação e largada de qualquer espécie é uma realidade sem controlo por ausência de legislação ou fiscalização (Lenteren *et al.*, 2003).

Neste trabalho, apresenta-se o enquadramento/ pressupostos e as linhas de trabalho de uma operação/projecto ProDeR, medida 4.1, que pretende analisar as consequências de tratamentos biológicos, mesmo que com espécies presentes nos nossos ecossistemas, de forma a elaborar regras de actuação no combate às pragas destas culturas face à intensidade de ataque observada e aos auxiliares autóctones presentes e sua abundância, especialmente no que se refere à definição de regras para eventuais tratamentos biológicos de forma a minimizar os seus impactos.

BIODIVERSIDADE FUNCIONAL

Portugal está localizado numa das regiões de clima mediterrânico. Nestas regiões é possível coexistirem espécies nativas, espécies de regiões temperadas e espécies de regiões subtropicais e tropicais. Por este motivo, são regiões de grande riqueza específica, *hotspots* de biodiversidade (Myers *et al.*, 2000).

Verifica-se, ainda, que na região da bacia do Mediterrâneo, o complexo de inimigos e de artrópodes auxiliares que naturalmente ocorrem no ecossistema culturas hortícolas protegidas e que limitam as populações das pragas circulam entre as culturas protegidas e de ar livre e entre estas e plantas adventícias, pois muitos destes inimigos são polípagos e os seus agentes de limitação natural generalistas (Alomar *et al.*, 1989).

A grande diversidade ecológica põe ao dispor do agricultor um importante recurso, com carácter funcional - a biodiversidade funcional. Esta biodiversidade funcional tem um papel importantíssimo na regulação das populações dos inimigos das culturas, na modalidade de protecção biológica de conservação, além da acção na polinização, reciclagem de nutrientes e no controlo dos microclimas e dos processos hidrológicos a nível local (Altieri, 1999; Smeding & Snoo, 2003). Para fomentar o seu papel regulador é necessário criar condições que promovam as populações destes agentes, criando/preservando as chamadas infra-estruturas ecológicas capazes de fornecer habitat de abrigo e/ou reprodução e alimento complementar ou alternativo (Boller *et al.*, 2004; Franco *et al.*, 2006).

Em particular, o mosaico da paisagem existente na região Oeste, constituído pela diversidade de culturas ao ar livre (maioritariamente, hortícolas, citrinos, pomóideas e vinha) e em estufa (hortícolas e ornamentais), sebes e plantas adventícias de bordadura e na própria parcela, pequenas manchas de bosque e floresta, hortas e jardins nos núcleos habitacionais e muros de pedra ao longo dos caminhos, permitem uma riqueza específica muito elevada nos complexos de espécies de parasitóides e predadores das diferentes pragas de hortícolas (Mexia *et al.*, 2004; Figueiredo *et al.*, 2010, 2011). Estão identificadas 16 espécies de himenópteros parasitóides oófagos e larvares e uma espécie de díptero parasitóide larvar de noctuídeos (Lepidoptera: Noctuidae), nove espécies de parasitóides larvares e larvo-pupais de larvas mineiras (Diptera: Agromyzidae), nove espécies de parasitóides (Hemiptera: Aphididae) e

algumas de hiperparasitóides de afídeos, oito espécies de parasitóides de ninfas de mosquinha branca (Hemiptera: Aleyrodidae) e 21 espécies de predadores, alguns generalistas, das famílias de heterópteros Miridae e Anthocoridae, neurópteros Chrysopidae, coleópteros Coccinellidae, dípteros Cecidomyiidae, Syrphidae e Muscidae (Marques *et al.*, 1999; Mexia *et al.*, 1999; Figueiredo *et al.*, 2000, 2011; Valério, 2010).

TRATAMENTO BIOLÓGICO EM CULTURAS PROTEGIDAS

No Oeste, as largadas de artrópodes auxiliares, em tratamento biológico inundativo, começaram no final dos anos 80 com ácaros predadores e parasitóides de larvas mineiras (Figueiredo *et al.*, 2011) e, mais tarde, com outras espécies de agentes de luta biológica comercializados, como parasitóides de mosquinhas brancas e de afídeos, antocorídeos predadores de tripes e mirídeos predadores generalistas. Na avaliação de eficácia dos tratamentos biológicos, cedo se percebeu que as espécies autóctones dominavam frequentemente nas amostragens em detrimento das espécies largadas; a menor frequência de tratamentos e, sobretudo, mais criteriosa selecção das substâncias activas permitiam às espécies autóctones dominar os complexos de espécies de agentes de protecção biológica presentes. Assim, tentou-se incentivar práticas que promovessem as populações das espécies autóctones numa estratégia de luta biológica de conservação, como a criação de infra-estruturas ecológicas (Marques *et al.*, 1999; Lourenço *et al.*, 2002), aconselhando-se largadas inoculativas ou inundativas, menos frequentemente e só depois da avaliação da sua necessidade. Todavia, largadas mais ou menos frequentes, sobretudo de carácter inoculativo são efectuadas em culturas protegidas, na grande maioria das vezes com espécies presentes naturalmente nos nossos ecossistemas.

O PROJECTO ProDeR LARGADAS

No momento em que a luta biológica, como alternativa aos pesticidas, se generalizou, muitas vezes com o uso exclusivo da mesma espécie ou estirpe comercial surgem riscos associados à poluição genética, com consequências na composição das comunidades de auxiliares e polinizadores e restante biodiversidade presente, colocando em causa a manutenção das espécies importantes na

conservação/limitação natural e a eficácia da luta biológica com consequências equiparáveis à utilização cega de pesticidas.

Em Portugal, entre os principais auxiliares comercializados, encontram-se os parasitóides *Diglyphus isaea* (Walker) para combater larvas mineiras, *Aphidius colemani* Viereck e *Aphidius matricariae* Haliday para afídeos, espécies dos géneros *Eretmocerus* Haldeman e *Encarsia* Forster para combater mosquinhas brancas e os predadores *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) para combater mineiras, afídeos, mosquinhas brancas e traça do tomateiro, *Tuta absoluta* (Meyrick) e *Orius laevigatus* (Fieber) para trips (informação dos técnicos de empresas a operar em Portugal). Destes auxiliares, seleccionaram-se três espécies (*N. tenuis*, *A. colemani* e *Bombus terrestris* (L.)) para estudar diferentes efeitos, nas suas populações, decorrentes da realização de tratamentos biológicos, ao longo do tempo (alteração da proporção relativa das espécies no complexo, alteração da diversidade genética duma espécie ou entre subespécies por introgressão, respectivamente).

Evolução da proporção relativa das diferentes espécies no complexo de mirídeos, predadores generalistas em culturas protegidas

Trabalhos anteriores ou contemporâneos da intensificação de largadas de mirídeos (Silva, 1996; Carvalho, 1999; Carvalho & Mexia, 2000; Luz, 2001) revelaram dominância de uma espécie do género *Dicyphus* Fieber, inicialmente identificada como *Dicyphus cerastii* Wagner e que se verificou, após a descrição de uma espécie nova (Sanchez *et al.*, 2006), tratar-se de *Dicyphus umbertae* Sanchez & Cassis (Figueiredo *et al.*, 2012). Amostragens efectuadas em 2012 fazem supor que a dominância dentro do complexo de espécies de mirídeos está a modificar-se, tendo a espécie *N. tenuis* aumentado muito a sua representação no complexo (Fig. 1) (Figueiredo *et al.*, 2012). Esta espécie, mais agressiva, é capaz de predação *Macrolophus pygmaeus* (Rambur), outro mirídeo usado em luta biológica, quando ocorrem, simultaneamente, em estufas de tomate (Perdikis *et al.*, 2014) e o mesmo poderá suceder com *D. umbertae*.

Os mirídeos são espécies que apresentam comportamento zoofitófago e, em verdade, também alguma necrofagia, com variação em contínuo desde as espécies quase exclusivamente fitófagas até às quase exclusivamente zoófagas (Lucas & Alomar, 2002;

Castañé *et al.*, 2011). Segundo alguns agricultores e técnicos da região Oeste que têm observado o comportamento de *N. tenuis* e *D. umbertae*, nas suas explorações, há diferença no nível de fitofagia, sendo a última espécie menos herbívora. Para *N. tenuis*, é aceite, no Oeste, um nível populacional de 2-3 indivíduos/folha de tomateiro, considerado como limiar tolerável a partir do qual é necessário efectuar intervenções contra esta espécie, supostamente, auxiliar (Rodrigo Silva, com. pess.), uma vez que as picadas de alimentação, nos caules, formam anéis necróticos que conduzem à quebra do caule e à perda de produção. Aparentemente, estes estragos não estão correlacionados com menores densidades de presas, mosquinhas brancas e traça do tomateiro (Matos, 2011, Duarte, 2013). Em modo de produção biológico, há situações em que os técnicos consideram esta espécie como praga-chave em tomate protegido pelos estragos que provoca e pela ausência de meios de protecção eficazes (Matos, 2011; Duarte, 2013).

Alteração da diversidade genética nas populações de parasitóides de afídeos

A largada massiva e frequente de indivíduos produzidos em biofábricas a partir de uma base genética estreita e, provavelmente, a partir de populações geneticamente diferenciadas das existentes nos nossos ecossistemas, portanto possivelmente menos adaptadas, pode conduzir, ao longo do tempo, a menor diversidade genética e a menor *fitness* das espécies usadas em tratamento biológico (Baker *et al.*, 2003; Hinomoto *et al.*, 2006; Hagler, 2009; Laikre *et al.*, 2010).

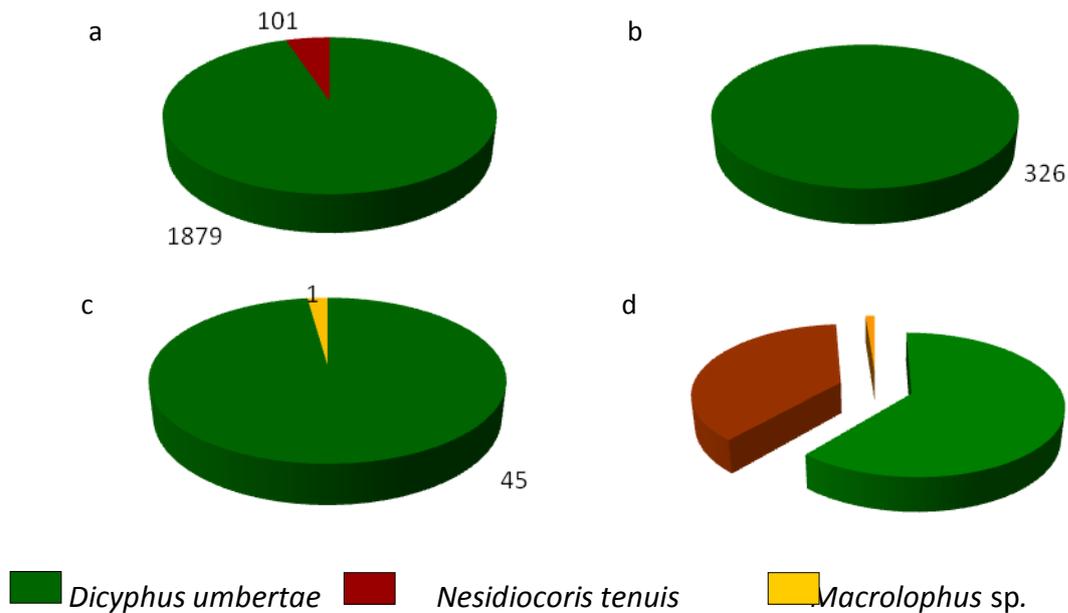


Fig. 1. Número de mirídeos, por espécie, amostrados por Silva (1996) (a), Carvalho (1999) (b), Luz (2001) (c) e Figueiredo *et al.* (2012) (d).

Valério (2010) efectuou um estudo preliminar de comparação de genótipos de *A. colemani* produzidos em massa por uma empresa com representação no nosso país com os genótipos das populações encontradas, na região Oeste, em estufas onde foram efectuadas largadas, em diferentes anos, tendo verificado a existência de estufas com populações com diversidade bastante mais elevada (cinco genótipos em duas populações, num mesmo ano ou no total dos anos amostrados) e estufas com populações em que só um genótipo foi detectado. O último caso pode estar relacionado com estrangulamento populacional (Nei *et al.*, 1975), facto que ocorre quando são retiradas pequenas amostras de grandes populações, o que acontece frequentemente em espécies invasoras ou em luta biológica (Roderick & Navajas, 2003; Hufbauer *et al.*, 2004), nas modalidades luta biológica clássica e tratamento biológico, mesmo quando se larga um grande número de indivíduos para evitar esta perda de variabilidade genética.

Alteração genética da subespécie autóctone por introgressão com subespécies comercializadas para polinização

Bombus terrestris é a espécie de abelhões mais frequente na região Oeste Paleárctica. Nesta região, a espécie apresenta nove subespécies (Rasmont *et al.*, 2008). Os

abelhões são comercializados para polinização desde os anos 80 (Ings *et al.*, 2005). Na região Oeste, em culturas protegidas, são utilizados desde o início dos anos 90 (Figueiredo *et al.* (2011). Na Europa, as subespécies comercializadas são *B. terrestris* ssp. *sassaricus* Tournier, ssp. *terrestris* (L.) e, sobretudo, ssp. *dalmatinus* Dalla Torre (Rasmont *et al.*, 2008; Goulson, 2010; Kraus *et al.*, 2011). Em Portugal, incluindo Madeira, como em toda a Península Ibérica e no Sul de França existe *B. terrestris* ssp. *lusitanicus* Krüger (Rasmont *et al.*, 2008). Ameaças potenciais para a subespécie nativa são a competição por locais de nidificação e recursos florais, a dispersão de parasitas e a hibridação introgressiva, entre esta e a subespécie comercializada, que pode alterar a composição genética, cujas consequências, imprevisíveis, poderiam incluir menor adaptação das populações resultantes e redução da polinização de culturas e plantas silvestres de que os abelhões são polinizadores naturais (Goulson, 2010; Kraus *et al.*, 2011). Os estudos genéticos sobre introgressão são escassos (Goulson, 2010), mas Kraus *et al.* (2011) detectaram forte introgressão de *B. terrestris* ssp. *dalmatinus* em populações nativas de *B. terrestris* ssp. *terrestris*, em zonas de estufas na Polónia.

Linhas de trabalho em execução no ProDeR Largadas

Tendo em conta os riscos mencionados da luta biológica e da utilização de polinizadores em culturas protegidas e a necessidade de definir regras de conduta para os minorar, duas empresas com sede na região Oeste (Hortipor-Export Lda. e Olhorta – Produção de produtos hortícolas) e três instituições de ensino superior (Instituto Superior de Agronomia e Faculdade de Ciências, ambos da Universidade de Lisboa, e Escola Superior Agrária de Santarém do Instituto Politécnico de Santarém) promoveram o projecto/operação ProDeR medida 4.1. “Novo processo produtivo associado ao combate das principais pragas com melhoria na qualidade do produto final e na gestão dos recursos naturais, gestão de largadas de auxiliares comerciais e acção de limitação natural (Proder Largadas”, que decorre de 1 Janeiro de 2013 a 31 de Dezembro de 2014. Os objectivos principais desta operação são: (i) conhecer as dinâmicas de frequência relativa das espécies no complexo de mirídeos e de parasitóides de afídeos; (ii) conhecer os génotipos dominantes de três das espécies mais utilizadas em tratamento biológico e como polinizadores (*N. tenuis*, *A. colemani* e

B. terrestris), nas regiões de produção de culturas protegidas e longe desses locais, comparando estes genótipos com os comerciais; (iii) avaliar o impacto de introduções em massa destes insectos na composição genética das populações existentes; (iv) definir regras de tomada de decisão para tratamento biológico, tendo em conta a densidade populacional da praga e dos auxiliares presentes e adequando as espécies a largar, as taxas de largada e o momento de realização das largadas a cada situação concreta. A divulgação destes riscos e das regras de tomada de decisão entretanto definidas com base nos resultados obtidos para estas três espécies será um objectivo primordial nos últimos meses da operação.

BIBLIOGRAFIA

Alomar, O., Castañé, C., Gabarra, R., Bordas, E., Adillón, J. & Albajes, R. 1989. Cultural practices for IPM on protected crops in Catalonia. In: Cavalloro, R. & Pelarents, C. (Eds.). Integrated Pest Management in Protected Vegetable Crops. A.A. Balkema, Rotterdam, pp. 339-346.

Altieri, M.A. 1999. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agric., Ecosyst. Environ.*, 74: 19-31.

Amaro, P. 2003. A protecção integrada. ISAPress, Lisboa, 446 pp.

Baker, D.A., Loxdale, H.D. & Edwards, O.R. 2003. Genetic variation and founder effects in the parasitoid wasp, *Diaeretiella rapae* (M'intosh) (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiidae), affecting its potential as a biological control agent. *Mol. Ecol.* 12: 3303-3311.

Boller, E.F., Häni, F. & Poehling, H.-M. 2004. Ecological infrastructures: ideabook on functional biodiversity at the farm level - temperate zones of Europe. IOBCwprs Comm. Integrated Production Guidelines, Endors, LBL, Lindau, Suíça, 212 pp.

Carvalho, P.J.P. 1999. Os mirídeos e a limitação natural na cultura protegida do tomateiro. Diss. Mestrado, ISA/UTL, Lisboa, 102 pp.

Carvalho, P. & Mexia, A. 2000. First approach on the potencial role of *Dicyphus cerastii* Wagner (Hemiptera: Miridae), as natural control agent in Portuguese greenhouses. *IOBCwprs Bull.*, 23(1): 261-264.

- Castañé, C., Arnó, J., Gabarra, R. & Alomar, O. 2011. Plant damage to vegetable crops by zoophytophagous mirid predators. *Biol. control*, 59: 22-29.
- Cock, M.J.W. 2002. Risks of non-target impact versus stakeholder benefits in classical biological control of arthropods: selected case studies from developing countries. In: Driesche, R.G. van (Ed.). *Proc. 1st Int. Symp. Biol. Control Arthropods*, Honolulu, Hawaii, FHTET, USDA Forest Service, Morgantown, West Virginia, EUA, pp. 25-33.
- Duarte, G.N.A.H.G. 2013. Problemas associados à gestão de *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae) em tomateiro em modo de produção biológico: amigo ou inimigo? Diss. Mestrado, ISA/UL, Lisboa, 72 pp.
- Drumond, V., Godinho, M., Amaro, F., Figueiredo, E., Salvado, E. & Mexia, A. 2005. A utilização de *Bombus terrestris* L. na cultura de tomate protegido como prática impulsionadora da protecção integrada. V Cong. Ib. Ciênc. Hortíc.. *Actas Port. Hortic.* 5: 98-104.
- Eilenberg, J., Hajek, A. & Lomer, C. 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl* 46: 387–400.
- Figueiredo, E., Mexia, A., Godinho, M.C. & Amaro, F. 2000. *Desenvolvimento da protecção integrada como nova tecnologia agrícola em horticultura protegida. Relatório final* Projecto PRAXIS 3/3.3/Hort/2164/95, Lisboa, 54 pp. + anexos.
- Figueiredo, E., Godinho M., Rodrigues, S., Prieto, R., Mateus, C. & Costa, C.A. 2010. Biodiversidad funcional: un ecoservicio en horticultura protegida, *Actas I Cong. Virtual Iberoam. Producción Integrada*, pp. 208-226. Disponível em <http://www.cvpi.es/index.php?modulo=actas>
- Figueiredo, E., Mexia, A., Mateus, C., Godinho, M. & Rodrigues, S. 2011. Integrated pest management in vegetable protected crops in the Oeste region. *Acta Hort.*, 917: 93-101.
- Figueiredo, E., Carvalho, P. & Mexia, A. 2012. Mirid species as biological control agents in protected vegetable crops in the Portuguese Oeste region. XV Cong. Ib. Entomol., Angra do Heroísmo, 2-6 Setembro 2012, Livro de Resumos, pp. 180.
- Franco, J.C., Ramos, A.P. & Moreira, I. (eds.). 2006. *Infra-estruturas ecológicas e protecção biológica - caso dos citrinos*. ISA Press, Lisboa, 176 pp.

- Goulson, D. 2010. Impacts of non-native bumblebees in Western Europe and North America. *Appl. Entomol. Zool.* 45: 7-12
- Hagler, J. 2009. Comparative studies of predation among feral, commercially-purchased, and laboratory-reared predators. *BioControl* 54: 351-361.
- Hinomoto, N., Higaki, T. & Noda, T. 2006. Genetic diversity in field and commercial populations of *Orius strigicollis* (Poppius) (Heteroptera: Anthocoridae) measured by microsatellite markers. *Appl. Entomol. Zool.* 41(3): 499-506.
- Hufbauer, R.A., Bogdanowicz, S.M. & Harrison, R.G. 2004. The population genetics of a biological control introduction: mitochondrial DNA and microsatellite variation in native and introduced populations of *Aphidius ervi*, a parasitoid wasp. *Mol. Ecol.* 13: 337-348.
- Ings, T.C., Schikora, J. & Chittka, L. 2005. Bumblebees, humble pollinators or assiduous invaders? A population comparison of foraging performance in *Bombus terrestris*. *Oecol.*, 144: 508-516.
- Kraus, F.B., Szentgyörgyi, H., Rožej, E., Rhode, M., Moroń, D., Woyciechowski, M. & Moritz R.F.A. 2011. Greenhouse bumblebees (*Bombus terrestris*) spread their genes into the wild. *Conserv. Gen.*, 12: 187-192.
- Laikre, L., Schwartz, M.K., Waples, R.S., Ryman, N. & The GeM Working Group. 2010. Compromising genetic diversity in the wild: unmonitored large-scale release of plants and animals. *Trends Ecol. Evol.*, 25: 520-529.
- Lenteren, J.C. van, Babendreier, D., Bigler, F., Burgio, G., Hokkanen, H.M.T., Kuske, S., Loomans, A.J.M., Menzler-Hokkanen, I., Rijn, P.C.J. van, Thomas, M.B., Tommasini, M.G. & Zeng, Q.Q. 2003. Environmental risk assessment of exotic natural enemies used in inundative biological control. *BioControl* 48: 3-38.
- Lourenço, I., Rodrigues, S., Figueiredo, E., Godinho, M.C., Marques, C., Amaro, F. & Mexia, A. 2002. The effect of crop protection strategy in pest and beneficials incidence in protected crops. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent*, 67(3): 569-573.
- Lucas, E. & Alomar, O. 2002. Impact of *Macrolophus caliginosus* presence on damage production by *Dicyphus tamaninii* (Heteroptera: Miridae) on tomato fruits. *J. Econ. Entomol.*, 95(6): 1123-1129.

- Luz, M.F.H. 2001. Mirídeos - estudo e prospecção das espécies em cultura protegida de tomate. Diss. Licenciatura, UTAD, Vila Real, 88 pp.
- Marques, C., Nunes, A.P., Almeida, M.L., Godinho, M.C., Figueiredo, E., Amaro, F., Carvalho, P. & Mexia, A. 1999. Manual de protecção integrada em culturas protegidas. Principais pragas e auxiliares na região Oeste, ISA Press, Lisboa, 60 pp.
- Matos, T.M.F.L.G. 2011 Evolução das populações de *Tuta absoluta* (Meyrick) e meios de protecção em ambiente empresarial vocacionada para exportação. Diss. Mestrado, ISA/UTL, Lisboa, 72 pp.
- Mexia, A. (Coord.), Marques, C., Figueiredo, E., Amaro, F., Godinho, M.C., Almeida, M.L. & Nunes, A.P. 1999. *Melhoria da produção hortícola protegida em estufa no Oeste*. Rel. final projecto PAMAF nº 2034, ISA/UTL-DRARO/MADRP, Lisboa, 55 pp. + anexos.
- Mexia, A., Figueiredo, E. & Godinho, M.C. 2004. Natural control against pests on vegetables in Portugal: important species and their role. IOBCwprs Bull., 27(6): 1-8.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Fonseca, G.A.B. & Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature, 403: 853-858.
- Nei, M., Maruyama, T. & Chakraborty, R. 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. Evol., 29 (1): 1-10.
- Rasmont, P., Coppée, A., Michez, D., Meulemeester, T. De 2008. An overview of the *Bombus terrestris* (L. 1758) subspecies (Hymenoptera: Apidae). Ann. Soc. Entomol. Fr. (n.s.), 44: 243-250.
- Roderick, G.K. & Navajas, M. 2003. Genes in new environments: genetics and evolution in biological control. Nature Rev. Gen., 4: 889-899.
- Sanchez, J.A., Martinez-Cascales, J.M. & Cassis, G. 2006. Description of a new species of *Dicyphus* Fieber (Insecta: Heteroptera: Miridae) from Portugal based on morphological and molecular data. Insect Syst. Evol., 37(3): 281-300.
- Silva, A.C.P.P. 1996. Os mirídeos na cultura de tomate em estufa na região do Oeste. Diss. Mestrado, ISA/UTL, Lisboa, 111 pp.
- Simberloff, D. & Stiling, P. 1996. Risks of species introduced for biological control. Biol. Conserv., 78: 185-192.

Smeding, F.W. & Snoo, G.R. 2003. A concept of food-web structure in organic arable farming systems. *Landsc. Urban Planning*, 65: 219-236.

Valério, E. 2010. Estudo da dinâmica populacional e caracterização da biodiversidade de afídeos, seus parasitóides e predadores em culturas hortícolas. Diss. Doutorado, Univ. Évora, Évora, 117 pp.