

Estudo da dinâmica populacional e caracterização da biodiversidade de afídeos, seus parasitóides e predadores em culturas hortícolas

Elsa de Jesus Centeio Valério

Orientadores: **Maria Ivone Esteves da Clara**
(Universidade de Évora)

António Maria Marques Mexia
(Instituto Superior de Agronomia)

Arminda Borginho Cecílio
(INIA-INRB)



176 4 17

2010

**Ao meu filho Alexandre,
a minha fonte de inspiração...
a minha força...**

Financiamentos

Este estudo foi desenvolvido no âmbito de uma bolsa de doutoramento da FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia (Refª Bolsa: SFRH/BD/13527/2003) e foi parcialmente financiado pelos seguintes projectos:

- PARIPIPI-FCT - 2001/04 – Projecto: *"Valorização da qualidade e promoção da segurança alimentar e da preservação do ambiente na produção hortofrutícola"*.

- Projecto Agro – nº 189 – 2001/04 – *"Protecção Integrada em tomate para indústria"*:

- PIDDAC nº 103/02 - 2002/04. *"Metodologias de protecção das plantas de pimenteiro para implementação da protecção integrada: níveis de tolerância para pragas e estudo de nemátodos e fungos fitopatogénicos presentes na rizosfera"*.

- Projecto Agro – nº 193 – 2003/2005 - *"Tecnologias de produção integrada no morangueiro visando a expansão da cultura e a reconquista do mercado"*.

Índice

Resumo	viii
Abstract	ix
Agradecimentos	x
Introdução geral	1
I – Afídeos das culturas de pimento, morango e tomate	4
1. Introdução.....	4
2. Aspectos gerais	5
2.1. Efeitos que os afídeos podem causar nas plantas	5
2.2. Posição sistemática.....	5
2.3. Características e critérios para a identificação de espécies de afídeos.....	6
2.3. Bioecologia e importância económica das espécies de afídeos das culturas em estudo.....	10
3. Material e métodos	18
3.1. Colheitas de amostras de afídeos e sua manipulação em laboratório	18
3.2. Análise estatística	23
4. Resultados e discussão.....	24
4.1. Abundância e distribuição das espécies de afídeos das culturas em estudo....	24
4.1.1. Cultura protegida de pimento.....	24
4.1.2. Cultura de morango de ar livre	28
4.1.3. Cultura protegida de morango	30
4.1.4. Cultura de tomate para indústria....	32
4.2. Listas de espécies de afídeos e respectivas plantas hospedeiras.	34
4.3. Influência dos parâmetros de natureza ambiental, espacial, temporal e fisiológica na comunidade de espécies de afídeos da cultura protegida de pimento.....	35

II – Parasitóides de afídeos nas culturas de pimento, morango e tomate.....	38
1. Introdução.....	38
2. Aspectos gerais	39
2.1. Parasitóides primários e parasitóides secundários de afídeos.	39
2.2. Parasitóides afidiíneos em Portugal	39
3. Material e métodos	40
3.1. Colheitas de amostras de afídeos parasitados e sua manipulação em laboratório...40	
3.2. Luta biológica.	41
3.3. Análise estatística....	42
4. Resultados e discussão.....	42
4.1. Dinâmica das populações de afídeos e parasitismo associado nas culturas em estudo.....	42
4.1.1. Cultura protegida de pimento....	42
4.1.2. Cultura de morango de ar livre	45
4.1.3. Cultura protegida de morango	47
4.1.4. Cultura de tomate para indústria....	49
4.2. Abundância e distribuição das espécies de parasitóides.	50
4.2.1. Cultura protegida de pimento....	50
4.2.2. Cultura de morango de ar livre	56
4.2.3. Cultura protegida de morango	58
4.2.4. Cultura de tomate para indústria....	60
4.3. Influência dos parâmetros de natureza ambiental, biológica, espacial e temporal na comunidade de espécies de parasitóides da cultura protegida de pimento.....	61
4.4. Lista espécie de parasitóide afidiíneo – espécie de afídeo – planta hospedeira. .	64

III – Caracterização morfológica e genético-populacional de <i>Aphidius colemani</i> Viereck (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) parasitóide de afídeos das culturas de pimento, morango, e tomate	66
1. Introdução.....	66
2. Aspectos gerais	67
2.1. Posição Sistemática	67
2.2. Taxonomia	68
2.3. Largadas de <i>Aphidius colemani</i>	69
3. Estudo morfológico do parasitóide <i>A. colemani</i>	69
3.1. Material e métodos	69
3.1.1. Obtenção de espécimes.....	69
3.1.1.1. Colheitas de amostras de afídeos parasitados e sua manipulação em laboratório.....	69
3.1.1.2. Multiplicação de <i>A. Colemani</i> em laboratório	71
3.1.2. Manipulação dos espécimes para o estudo morfológico	71
3.1.2.1. Preparação de insectos para observação em lupa binocular	71
3.1.2.2. Preparação de insectos para observação em microscópio electrónico de varrimento	72
3.2. Características morfológicas do parasitóide <i>A. colemani</i>	72
3.2.1. Características morfológicas	72
3.2.1.1. Morfologia externa das fêmeas.	73
3.2.1.2. Morfologia externa dos machos	78
4. Caracterização genético populacional do parasitóide <i>A. colemani</i>	80
4.1. Material e métodos	80
4.1.1. Obtenção de espécimes.....	80
4.1.1.1. Colheitas de amostras de afídeos parasitados e sua manipulação em laboratório.....	80
4.1.1.2. Multiplicação de <i>A. Colemani</i> adquirido à empresa comercial Koppert	80
4.1.1.3. <i>A. colemani</i> proveniente das amostras de Valência	80
4.1.2. Análises biomoleculares.....	81

4.1.2.1. Extração de DNA.....	81
4.1.2.2. Amplificação por PCR (Polymerase chain reaction).....	81
4.1.2.3. Análise de restrição (RFLP)	82
4.1.2.4. Tratamento de dados	82
4.2. Resultados e discussão.....	83

IV – Biodiversidade de predadores de afídeos nas culturas de pimento, morango e tomate89

1. Introdução.....	89
2. Aspectos gerais	90
2.1. Os predadores como inimigos naturais de afídeos	90
2.2. Relações tróficas nos ecossistemas	91
3. Material e métodos	91
3.1. Metodologia e locais de amostragem.....	91
3.2. Montagem de predadores de afídeos (sirfídeos, coccinelídeos e crisopídeos)... ..	92
3.3. Análise estatística	93
4. Resultados e discussão.....	93
4.1. Caracterização da biodiversidade de predadores	93
4.2. Estudo da biodiversidade de espécies de predadores na cultura de morango de ar livre.....	100

V – Conclusões gerais 102

VI – Referências bibliográficas 104

Resumo

Com o objectivo de estudar a dinâmica populacional de afídeos e seus inimigos naturais em três culturas com importância económica, na região do Ribatejo e Oeste, nomeadamente, morango (estufa e ar livre), pimento (estufa) e tomate para indústria (ar livre), realizaram-se estudos entre 1998 e 2006.

Os resultados permitiram identificar oito espécies de afídeos nas culturas em estudo, nomeadamente, *Aphis craccivora*, *Aphis fabae*, *Aphis gossypii*, *Aphis ruborum*, *Aulacorthum solani*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus persicae* e *Pentatrachopus fragaefolii*, sendo todas polífagas, com excepção de *A. ruborum* e *P. fragaefolii*. As espécies de parasitóides primários pertencem aos afidiíneos, nomeadamente, *Aphidius colemani*, *Aphidius ervi*, *Aphidius matricariae*, *Aphidius sp.*, *Ephedrus sp.*, *Lysiplebus fabarum*, *Lysiplebus testaceipes*, *Praon gallicum*, *Praon volucre* e *Trioxys angelicae* e aos afelinídeos. Os afidiíneos do género *Aphidius* sp. foram aqueles que se mostraram mais activos a limitar as espécies de afídeos da cultura de pimento. *A. gallicum* foi pela primeira vez referenciado para Portugal. A percentagem de hiperparasitismo foi elevada em todas as culturas, tendo atingido mais de 70% nos anos 2002 e 2003 e mais de 30% em 2004, na cultura protegida de pimento.

No grupo dos predadores identificaram-se sirfídeos, nomeadamente, *Episyrphus balteatus*, *Eupeodes corollae*, *Meliscaeva auricollis*, *Melanostoma scalare*, *Paragus quadifasciatus*, *Sphaerophoria rueppelli*, *Sphaerophoria scripta*, seis espécies de coccinélídeos, nomeadamente, *Adalia bipunctata*, *Coccinella septempunctata*, *Hippodamia variegata*, *Propylea quattuordecimpunctata*, *Scymnus interruptus*, *Stethorus punctillum*, Antocorídeos (*Orius sp.*), cecidomiídeos (*Aphidoletes aphidimyza*), crisopídeos (*Chrysoperla carnea*) e aracnídeos.

O estudo genético-populacional permitiu a diferenciação de nove genótipos nas amostras de *A. colemani*. O genótipo dominante de *A. colemani* foi encontrado a parasitar quatro espécies de afídeos: *A. craccivora*, *A. gossypii*, *A. ruborum* e *Myzus persicae*.

Para limitar afídeos com baixos níveis populacionais, o parasitismo parece ser a melhor opção a considerar, enquanto, para limitar espécies com taxas reprodutivas muito elevadas, deverão ser largados predadores.

Palavras-chave: Afídeos, Parasitóides, Predadores, Luta biológica, *Aphidius colemani*.

Title: Study of population dynamics and characterization of the biodiversity of aphids, their parasitoids and predators on vegetable crops.

Abstract

With the purpose of studying aphid and their natural enemies, population dynamics in three crops of economic importance, in the Ribatejo and Oeste region, namely strawberry (greenhouse and field), sweet pepper (greenhouse) and processing tomato (field), studies were performed between 1996 and 2006.

Results allowed for the identification of eight aphid species, namely *Aphis craccivora*, *Aphis fabae*, *Aphis gossypii*, *Aphis ruborum*, *Aulacorthum solani*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus persicae* and *Pentatrachopus fragaefolii*, all of which are polyphagous with the exception of *A. ruborum* and *P. fragaefolii*. The primary parasitoid species identified were the aphidiines *Aphidius colemani*, *Aphidius ervi*, *Aphidius matricariae*, *Aphidius sp.*, *Ephedrus sp.*, *Lysiphlebus fabarum*, *Lysiphlebus testaceipes*, *Praon gallicum*, *Praon volucre* and *Trioxys angelicae* and aphelinids. Parasitoids belonging to the genus *Aphidius* were the most active in the limitation of aphid species in sweet pepper crop. *A. gallicum* was reported for the first time in Portugal. Hyperparasitism rates were high, reaching over 70% in 2002 and 2003, and over 30% in 2004, in sweet pepper.

Among the predator species identified, seven were syrphids, namely *Episyrphus balteatus*, *Eupeodes corollae*, *Meliscaeva auricollis*, *Melanostoma scalare*, *Paragus quadifasciatus*, *Sphaerophoria rueppelli* and *Sphaerophoria scripta*; six were coccinellids, namely *Adalia bipunctata*, *Coccinella septempunctata*, *Hippodamia variegata*, *Propylea quattuordecimpunctata*, *Scymnus interruptus* and *Stethorus punctillum*; and one species belonged to each of the families Anthocoridae (*Orius sp.*), Cecidomyiidae (*Aphidoletes aphidimyza*) and Chrysopidae (*Chrysoperla carnea*). Some unidentified arachnids were also found.

The population-genetics study allowed for the differentiation of nine genotypes among the *A. colemani* samples. The dominant *A. colemani* genotype was found parasitizing four aphid species: *A. craccivora*, *A. gossypii*, *A. ruborum* and *M. persicae*.

For low aphid population densities, parasitism seems to be the best option to consider, whereas in order to control aphid species with high reproductive rates, predators should be released.

Key words: Aphids, Parasitoids, Predators, Biological control, *Aphidius colemani*.

Agradecimentos

“Cada um que passa em nossa vida, passa sozinho, mas não vai só, nem nos deixa só... Leva um pouco de nós ... deixa um pouco de si... Há os que levaram muito, mas não há os que não deixaram nada... Esta é a maior responsabilidade da nossa vida...” (Antoine de Saint-Exupéry)

Um agradecimento muito especial a todas as pessoas, os meus mestres, a família, os amigos, os colegas, que directa ou indirectamente acreditaram em mim e no meu trabalho e que nos momentos menos bons me ajudaram a erguer e me mimaram e acarinharam como a uma filha...

Contudo, não posso deixar de agradecer, pontualmente, a algumas pessoas:

Aos meus orientadores:

Eng^a **Arminda Cecílio** que me abriu as portas da entomologia e esteve sempre presente mesmo nos seus momentos menos bons em termos de saúde.

Ao Prof. **António Mexia** pelo facto de ter acreditado em mim e pela força que me deu com exemplos de experiências de vida que me ajudaram a acreditar que não era a única a atravessar momentos maus nesta caminhada já percorrida por tantas pessoas...

À Prof^a **Maria Ivone da Clara** que tão prontamente aceitou o meu convite para orientar esta tese, pela amizade e pelos “puxões de orelhas” nos momentos certos.

No departamento de Protecção das Plantas da Estação Agronómica Nacional um muito obrigado pela amizade, pela simpatia e pelo companheirismo de todos porque sem eles este trabalho não tinha sido possível, especialmente, à **Júlia Cadete** pela ajuda com as “burocracias” (que tantas dores de cabeça me davam...), à **Teresa Pedroso** pela ajuda preciosa nas contagens de milhares de insectos e por todo o apoio no laboratório, à **Teresa Almeida** pela ajuda e ensinamentos na montagem de afídeos, à **Maria José Mendes** por todo o apoio laboratorial e prontidão com que sempre me ajudou e ao **Alexandre Gomes** agradeço os ensinamentos na identificação dos sifídeos e à **Margarida Santos** o apoio no laboratório. Ao Sr. **Octávio Chaveiro** agradeço a simpatia e ajuda com a manipulação do microscópio electrónico de varrimento e fotografias de parasitóides.

Ao Eng^o **Fernando Albano Ilharco** um muito obrigado pelos ensinamentos no âmbito da sistemática de afídeos, pelas identificações e confirmações e pela revisão do capítulo 2 desta tese.

Agradeço também à doutora **Eva Salvado** a amizade e a disponibilização de parte dos dados relativos às temperaturas, à doutora **Sílvia Albano** muito obrigada pela amizade e companheirismo (e desculpa as choradeiras...), à **Ana Pequito** (que belos serões é identificar insectos...), à **Sónia Duarte** muito obrigada pela troca de ideias aquando da identificação dos predadores.

À **Catarina Gonçalves** nem sei por onde começar...as nossas discussões até altas horas acerca da estrutura da tese...e não só..., os conselhos, a revisão de parte do trabalho, a tradução do resumo, a presença nos momentos mais complicados, a amizade e o carinho... (e agora é a tua vez...hehe).

À Prof^a **Elisabete Figueiredo** tenho dificuldade em expressar a gratidão que sinto por me ter ajudado tão prontamente numa altura em que não sabia o que fazer a parte dos dados da minha tese. Muito obrigada pela ajuda no estudo genético populacional do capítulo IV e pela revisão do capítulo III.

A todas as pessoas do departamento de Sanidade vegetal e animal da Universidade de Évora, principalmente à **doutora Rosário** (pela ajuda com as electroforeses) e ao doutor **Fernando Rei**, pelo tempo precioso que disponibilizou para me ajudar com o tratamento estatístico dos dados do capítulo II e pela revisão do mesmo, pela paciência e por responder tão prontamente aos meus pedidos de “SOS”.

A todas as pessoas do IVIA (Instituto Valenciano de Investigaciones agrarias) que me ajudaram, principalmente a **Pedro Castanera** pela prontidão com que aceitou a minha estadia e pela orientação do trabalho e a **Beatriz Sabater** por todo o apoio e ensinamentos no âmbito da biologia molecular.

Ao **Hélder Coelho** muito obrigado por acreditares no meu trabalho e pela força nestes últimos 4 anos e pela execução da capa.

Ao **Rui Silva** muito obrigado pelos contactos dos agricultores e por ter criado em mim o “bichinho” da entomologia ainda durante os nossos tempos de faculdade...

Ao **Carlos Valério** muito obrigado pela criação de aplicações para a determinação dos índices de biodiversidade que tanto me ajudaram e por teres sido o meu “bombeiro informático” neste último ano...

Ao **João Matos** muito obrigado pelo apoio na fase mais stressante desta caminhada e pela ajuda preciosa na formatação e organização do documento para a impressão.

À **Ana Cristina** muito obrigada pelo apoio e por ouvires os meus desabafos nos momentos tristes...

A todos os agricultores que disponibilizaram os terrenos e as estufas para a realização dos ensaios, principalmente a **José Firmino**, por todo o apoio e prontidão com que disponibilizou as estufas para a realização dos ensaios, pelo entusiasmo com que aceitou todas as propostas que lhe foram feitas e também pelos ensinamentos e à Casa Prudêncio, principalmente à **Cláudia Andrade** por todo o apoio no campo.

Agradeço ainda a todos os meus **amigos**, especialmente os do “AO” por me terem ajudado a ultrapassar os momentos de maior nervosismo...

Como os últimos são os primeiros agradeço pura e simplesmente por pertencer a esta família maravilhosa, os meus **pais, irmãos, sobrinhos, cunhados** que me ajudaram sempre e sem restrições nos momentos mais difíceis...

E muito carinhosamente agradeço à minha **Mãe**, ao meu **Pai**, e ao meu **Filho** pelo orgulho que sei que têm por mim...

Introdução geral

A agricultura é uma actividade humana que, transforma ecossistemas naturais e equilibrados em ecossistemas agrícolas, em equilíbrio instável, principalmente no que diz respeito às populações de fitófagos. Um dos principais factores de instabilidade está relacionado com a utilização abusiva de produtos fitofarmacêuticos, com inconvenientes para a saúde pública e para o ambiente, nomeadamente a toxicidade para o homem, a poluição ambiental e os efeitos nefastos que têm nas espécies não visadas onde se incluem os inimigos naturais com a consequente eliminação dos mesmos (Ilharco, 1992; van Lenteren, 1996; Zhang *et al.*, 2000; Östman, 2001; Barrenechea *et al.*, 2004).

Estas preocupações são acrescidas quando se trata de culturas mais intensivas como é o caso das culturas hortícolas, que estão sujeitas a ataques de diferentes pragas, das quais os afídeos não são excepção. A crescente exigência dos consumidores e as preocupações a nível da protecção e conservação do ambiente tem levado a União Europeia a estabelecer directivas para a melhoria da qualidade dos produtos agrícolas que, consequentemente, levam os agricultores a mudar para modos de produção que privilegiam outros meios de luta em detrimento da luta química, como por exemplo, a luta biológica.

Os inimigos naturais presentes no ecossistema revelam, por vezes, pouca eficácia na limitação das populações de afídeos, porque são em número insuficiente, ou porque houve um desfasamento entre a colonização da praga e o aparecimento dos inimigos naturais (Ferreira, 1998), devido, muitas vezes, à inexistência de abrigos e locais de hibernação junto da cultura (Ferreira, 1998; Ramos, 2006). No entanto, os afídeos possuem numerosos inimigos naturais que contribuem para a limitação das suas populações (Ilharco, 1992; Valério *et al.*, 2007 a,b).

A correcta identificação das espécies de afídeos é muito importante e deve ser feita antes da implementação de um programa que implique a largada de parasitóides ou predadores (Greer, 2000; Valério *et al.*, 2004c, 2005b) para que possa ser seleccionado o auxiliar mais apropriado para as largadas, particularmente no caso de inimigos naturais específicos. Outros aspectos devem ser considerados como a proporção praga/auxiliar, data da largada, localização dos pontos de largada, temperatura e aplicação de produtos fitofarmacêuticos, os quais podem influenciar o sucesso do programa de luta biológica, (Greer & Diver, 1999; Dufour, 2001). Precauções para minimizar os efeitos indirectos da luta biológica, como por exemplo a extinção de espécies nativas e o desequilíbrio de ecossistemas são muito importantes e

devem também ser avaliados (Simberloff & Stiling, 1996; Follett & Duan, 2000; Barratt *et al.*, 2003; Louda, 2003; Van Lenteren *et al.*, 2003; Pearson, 2004; Denslow & D'Antonio, 2005).

Além dos predadores, que são considerados os auxiliares mais eficazes na limitação das populações de afídeos (Ilharco, 1992; Valério *et al.*, 2007 a,b), também os parasitóides podem contribuir para a redução das populações desta praga, principalmente *Aphidius colemani* Viereck que é uma espécie muito utilizada em programas de luta biológica e porque tem demonstrado contribuir para a limitação de algumas espécies de afídeos praga das culturas, como *Aphis gossypii* Glover (Messing & Rabasse, 1995; van Steenis, 1995, Van Steenis & El-khawass, 1996; Jacobson & Croft, 1998; Perdakis *et al.*, 2004; Vasquez *et al.*, 2006), *Myzus persicae* Sulzer (Messing & Rabasse, 1995; Sampaio *et al.*, 2001a; Douloumpaka & van Emden, 2003; Perdakis *et al.*, 2004; Bilu *et al.* 2006), *Rhopalosiphum padi* (Messing & Rabasse, 1995; Adisu *et al.*, 2002; Ode, 2004; Bilu *et al.*, 2006), *Toxoptera aurantii* (Messing & Rabasse, 1995).

O conhecimento, não só da praga como dos inimigos naturais é de extrema importância e para além dos aspectos morfológicos, os estudos moleculares também têm vindo a contribuir para o enriquecimento da informação a nível taxonómico, sistemático e biológico, pela utilização de métodos baseados em electroforeses, como utilizado por Castanera *et al.* (1983) na identificação taxonómica de parasitóides nos afídeos dos cereais, métodos baseados em testes de PCR (polymerase chain reactions) que podem ser uma ferramenta muito útil para separar estirpes de parasitóides mais eficazes na limitação das pragas, relativamente a outras menos eficazes (Roehrdanz, 1993) e também para verificar a eficácia dos programas de luta biológica.

Assim, e tendo em atenção o que foi exposto anteriormente, procedeu-se à realização deste trabalho cujos principais objectivos foram:

- Estudar a abundância, distribuição e diversidade de espécies de afídeos e parasitóides, nas culturas protegidas de pimento e morango, cultura de morango de ar livre e cultura de tomate para indústria;

- Estudar para a cultura de pimento a influência dos parâmetros de natureza ambiental, espacial, temporal e fisiológica nas populações de espécies de afídeos e parasitóides. Analisou-se ainda a influência das espécies de afídeos na comunidade de parasitóides;

- Fazer um estudo morfológico e genético populacional do parasitóide *Aphidius colemani*, no sentido de diferenciar biótipos.

- Fazer uma inventariação da fauna de predadores de afídeos presentes nas culturas em estudo.

- Estudar a evolução da guilda de predadores na cultura de morango de ar livre, em termos de biodiversidade, após a alteração do modo de produção de agricultura convencional para produção integrada.

I - Afídeos das culturas de pimento, morango e tomate

1. Introdução

Os afídeos são um grupo de insectos, muito importante, em culturas hortícolas, principalmente devido ao facto de muitas espécies poderem constituir praga nestas culturas.

No entanto, nem todas as espécies de afídeos que se alimentam das culturas o fazem com igual interesse económico, havendo algumas que não são consideradas perigosas para a cultura pelo que é desnecessária a realização de tratamentos para as combater (Ilharco, 1992). Saber identificar as espécies de afídeos presentes na cultura é de extrema importância, por apresentarem nocividade diferente.

A forma mais satisfatória de monitorizar afídeos é pesquisando colónias directamente nas plantas. A observação directa das populações permite obter informação preciosa para auxiliar na identificação das espécies de afídeos, como o hospedeiro vegetal, o local onde se alimenta e a cor dos espécimes (Millar, 1990).

No entanto, a correcta identificação das espécies de afídeos nem sempre é fácil, por um lado, devido à sua natureza polimórfica os afídeos possuem gerações muito diferentes, morfológica e funcionalmente (Mittler, 1973; Blackman, 1974; Ilharco, 1992), por outro lado as espécies de afídeos podem ainda ser polípagas, podendo a mesma espécie ser encontrada a alimentar-se em plantas de diferentes famílias botânicas, o que pode dificultar o seu reconhecimento no campo.

Para analisar, convenientemente, as características identificativas de um espécimen, o mesmo deverá ser montado em lâmina e lamela e analisado ao microscópio (Ilharco, 1992; Leclant, 1996). Contudo, sobre plantas cultivadas, o número de espécies de afídeos é mais reduzido (Leclant, 1996; Blackman & Eastop, 2000) e a identificação por via macroscópica ou com o auxílio de uma lupa de pelo menos 10 x poderá ser feita com uma pequena margem de erro (Ilharco, 1992; Leclant, 1996; Blackman & Eastop, 2000). A disponibilidade de chaves para a separação das espécies com ilustrações a cores poderá também ser muito útil e permitir a identificação dos afídeos no campo, que é essencial se estivermos a falar de uma espécie com importância económica que exija uma intervenção atempada (Ilharco, 1985b).

Posto isto, pretendeu-se com este capítulo estudar a abundância, distribuição e diversidade de espécies de afídeos, nas culturas protegidas de pimento e morango, cultura de morango de ar livre e cultura de tomate para indústria.

Contribui-se ainda com o estudo, para a cultura de pimento, da influência dos parâmetros de natureza ambiental, espacial, temporal e fisiológica nas populações de espécies de afídeos.

2. Aspectos gerais

2.1. Efeitos que os afídeos podem causar nas plantas

Os afídeos podem causar estragos directos ao competirem com as plantas pelos nutrientes disponíveis, o que pode provocar a morte prematura dos tecidos (necroses) e o enfraquecimento da planta, se as populações forem elevadas, uma vez que, individualmente, não são perigosos (Blackman, 1974; Leclant, 1996). Por outro lado podem causar estragos indirectos, que resultam do facto de serem transmissores de vírus (Blackman, 1974; Ilharco & van Harten, 1987; Ilharco, 1992; Leclant, 1996), contudo, recorrendo a plantas certificadas, resistentes ou tolerantes, evitam-se os estragos causados pelas viroses. Outro aspecto dos efeitos indirectos provocados pelos afídeos está relacionado com o facto de produzirem melada. Para satisfazerem as suas necessidades em proteínas têm de ingerir grandes quantidades de seiva, que é muito rica em açúcares mas muito pobre em aminoácidos; consequentemente, o produto da digestão (excrementos) é uma substância açucarada, designada por melada (Leclant, 1996) frequentemente procurada por formigas, que além de provocar queimaduras nas plantas (Ilharco, 1992), contribui também para o desenvolvimento de fumagina e para a fixação das mudas dos afídeos, o que poderá inviabilizar a comercialização dos produtos agrícolas (Valério, 2007b).

2.2. Posição sistemática

Os afídeos são insectos que pertencem à ordem Hemíptera, subordem Sternorrhyncha e superfamília Aphidoidea, segundo a classificação europeia.

Os estudos taxonómicos geram normalmente discordância e a classificação de insectos encontra-se em constante alteração. No que diz respeito ao grupo dos afídeos a maior controvérsia está relacionada com a classificação ao nível da família

e continua ainda hoje a ser discutida (Ilharco & Van Harten, 1987; Miller, 1990; Ilharco, 1992; Blackman & Eastop, 2000). Nieto Nafria (1974) faz uma análise histórica da classificação dos afídeos e Ilharco & Van Harten (1987) fazem uma revisão da evolução histórica da classificação atribuída aos afídeos, desde 1913 a 1984. Verifica-se que cada vez mais se tenta simplificar a classificação deste grupo de insectos pela redução do número de famílias (Ilharco, 1992; Remaudière & Remaudière, 1997; Nieto Nafria *et al.*, 1998). Neste trabalho considerámos a classificação de Ilharco (1992), o qual considera, no grande grupo Aphidoidea, oito famílias, Adelgidae, Phylloxeridae, Hormaphididae, Pemphigidae, Drepanosiphidae, Greenideidae, Aphididae e Lachnidae sendo as duas primeiras primitivas e as restantes são compostas por espécies de primitivas a especializadas. A família Aphididae compreende três subfamílias, nomeadamente, Baltichaitophorinae, Pterocommatinae e Aphidinae. A subfamília Aphidinae compreende a maior parte das espécies de afídeos das culturas hortícolas.

2.3 Características e critérios para a identificação de espécies de afídeos

A identificação das espécies de afídeos faz-se, fundamentalmente, através de características morfológicas. No entanto, outras características podem ser úteis e facilitar a identificação, pelo que na altura da amostragem a informação recolhida deve ser o mais pormenorizada possível para reduzir a margem de erro na identificação (Ilharco & Van Harten, 1987). Aspectos como a identificação da planta hospedeira são de extrema importância tendo em conta que, alguns afídeos têm um elevado grau de especificidade com a planta hospedeira (Millar, 1990; Blackman & Eastop, 2000;), no caso dos afídeos monófagos (Ilharco & Van Harten, 1987). Outros aspectos são também importantes como, a cor dos afídeos e a presença de cera e dos padrões que forma, o facto de se apresentarem isolados ou em colónias densas, se formam galhas e a forma das mesmas, se são procurados por formigas ou não (Ilharco & Van Harten, 1987), o órgão da planta do qual se alimentam e a posição que os afídeos ocupam no mesmo (Valério, 2004c).

As características morfológicas, principalmente as externas, são fundamentais na identificação de um espécimen, não podendo haver taxonomia sem conhecimentos de morfologia (Ilharco, 1992).

As características morfológicas apresentadas em seguida referem-se, fundamentalmente, a fêmeas partenogenéticas ápteras. Estudos morfológicos pormenorizados podem ser encontrados em Hille Ris Lambers (1959), Eastop

(1966), Holman (1974); Stroyan (1984), Blackman & Eastop (1984, 2000), Ilharco (1985b, 1992), Heie (1986), Ilharco & Van Harten (1987) e Millar (1990).

A maior parte dos afídologistas apresentam, de uma forma consensual, algumas características úteis para a identificação das espécies (Blackman, 1974, Blackman & Eastop, 1984, 2000; Ilharco, 1985b, 1992; Ilharco & Van Harten, 1987; Leclant, 1996) as quais se podem resumir nos seguintes aspectos: cor dos afídeos em vida e grau de cerosidade, a forma do corpo e o seu comprimento, características da cabeça, abdómen e tórax, apêndices, grau de esclerificação dorsal, natureza da superfície cuticular, e número, tamanho e forma das sedas.

A cor nos afídeos deve-se à presença de pigmento na hemolinfa, e é uma característica morfológica importante, no entanto, pode ser muito variável não só dentro da mesma espécie como também na mesma geração ou variar com a estação do ano. O corpo apresenta-se normalmente nu, mas por vezes em determinadas espécies pode ter pequenas áreas glandulares excretoras de cera de cor branca, cuja quantidade produzida é constante para cada espécie, podendo ser designada por pruinosa, pulverulenta, farinhenta ou algodóníferas.

A forma do corpo é bastante variável, sendo constante entre grandes grupos, o que permite diferenciá-los, contudo é muito semelhante dentro do grupo, pelo que apenas se torna útil para identificação por via macroscópica juntamente com informação relativa ao tamanho do corpo e cor. Segundo Ilharco (1985b) a forma do corpo pode ser globosa, oval, piriforme, ovulada, elíptica, fusiforme e subcilíndrica. Por outro lado, o comprimento do corpo pode variar de acordo com as condições de alimentação e as estações do ano. O comprimento do corpo tem sido medido desde a extremidade dos tubérculos frontais da cabeça, ao fim do abdómen, excluindo a cauda (Blackman & Eastop, 1984, 2000; Millar, 1990) ou incluindo a cauda (Ilharco, 1985b, 1992; Ilharco & Van Harten, 1987). Ilharco (1992) refere que, como a cauda é considerada o nono segmento do abdómen, deve incluir-se na medição. O número de segmentos abdominais dos afídeos constitui motivo de discórdia entre os autores. Segundo Millar (1990) os afídeos possuem dez segmentos abdominais, sendo nove deles visíveis. Ilharco (1992) considera apenas nove segmentos abdominais. Este autor refere que o último segmento geralmente se diferencia formando a cauda, outros autores consideram que o nono segmento é atrofiado e representado ventralmente por rudimentares gonapófises (pequenos tubérculos existentes na margem inferior da placa anal), enquanto a cauda e a placa anal constituem o décimo segmento (Millar, 1990).

Tal como em todos os insectos, nos afídeos distinguem-se três partes, morfológica e funcionalmente diferenciadas: a cabeça, o tórax e o abdómen.

A cabeça dos afídeos é constituída por cápsula craniana ou cefálica e por apêndices articulados ou formações cuticulares: antenas, armadura bucal, olhos, sedas e tubérculos. As antenas dos afídeos são geralmente longas e finas com 5-6 segmentos, mas também podem haver as que possuem 3 ou 4 (Millar, 1990; Blackman, 1974; Ilharco, 1992). Nos Aphidinae, principalmente nos Macrosiphini, os tubérculos frontais encontram-se desenvolvidos e a sua forma e grau de desenvolvimento é uma importante característica identificativa. O comprimento das sedas da cabeça também pode ser uma característica determinante, sobretudo comparando com o comprimento do 1º segmento das antenas.

As antenas podem-se inserir directamente na cápsula craniana ou em tubérculos frontais (Ilharco, 1985b; Leclant, 1996) e possuem, na maior parte dos afídeos, 5 ou 6 segmentos (Blackman & Eastop, 2000), cujo número apenas ocasionalmente é útil para a identificação de espécies, ao contrário do que acontece com características como o comprimento da antena quando comparado com o corpo, o comprimento dos segmentos 3º, 4º, 5º e 6º e principalmente o comprimento do filamento terminal, o qual é medido desde a margem do sensorio primário até à ponta do segmento (Ilharco & Van Harten, 1987).

As patas podem ter dimensões semelhantes, nas famílias mais primitivas, ou diferentes nos grupos mais evoluídos. Geralmente, o par de patas mais longo é o posterior, e o anterior o mais curto (Ilharco, 1992). Ilharco (1992) considera que as sedas existentes nas coxas, fémures e tíbias podem apresentar diferenças ao nível da espécie, contribuindo para a sua identificação.

O abdómen possui, por vezes, pigmentação nos tergitos normalmente associada à deposição mais ou menos abundante de melanina na cutícula. O padrão, a distribuição e a intensidade desta esclerificação são critérios utilizados na identificação (Leclant, 1996), contudo, estas características podem ser muito variáveis e este aspecto deve ser tido em conta (Blackman & Eastop, 2000).

Os sífões são estruturas características da maior parte dos afídeos (Blackman & Eastop, 2000). A sua presença ou ausência não é portanto um critério identificativo a utilizar, no entanto algumas características podem ser úteis, como, a forma, o comprimento, a presença de sedas, o tipo de ápex, a ornamentação e a posição no tergito abdominal (Ilharco & Van Harten, 1987).

A forma da cauda em vista dorsal e o número de sedas que possui (Blackman & Eastop, 2000), assim como a comparação do comprimento com a largura basal e

com o comprimento dos sifões e a cor (Ilharco & Van Harten, 1987) são caracteres, frequentemente, utilizados. A placa anal é muito importante ao nível da família e do género (Ilharco & Van Harten, 1987).

As características das sedas e a sua distribuição são características importantes (Ilharco, 1985b), contudo, aspectos da quetotaxia são, mais frequentemente, observados em insectos montados em lâmina e lamela, no entanto, sedas capitadas com bases tuberculadas, características de alguns afídeos, principalmente as da cabeça são facilmente visíveis sem montagem (Blackman & Eastop, 2000).

Os tubérculos referem-se a uma grande diversidade de estruturas (Blackman & Eastop, 2000) que podem existir no abdómen, onde adquirem várias formas e comprimentos, e no tórax, sendo que se estiverem presentes no tórax, também estão no abdómen mas não o contrário (Ilharco & Van Harten, 1987).

Os estigmas abdominais possuem número e forma variável e são úteis na identificação de determinadas espécies de afídeos (Ilharco & Van Harten, 1987).

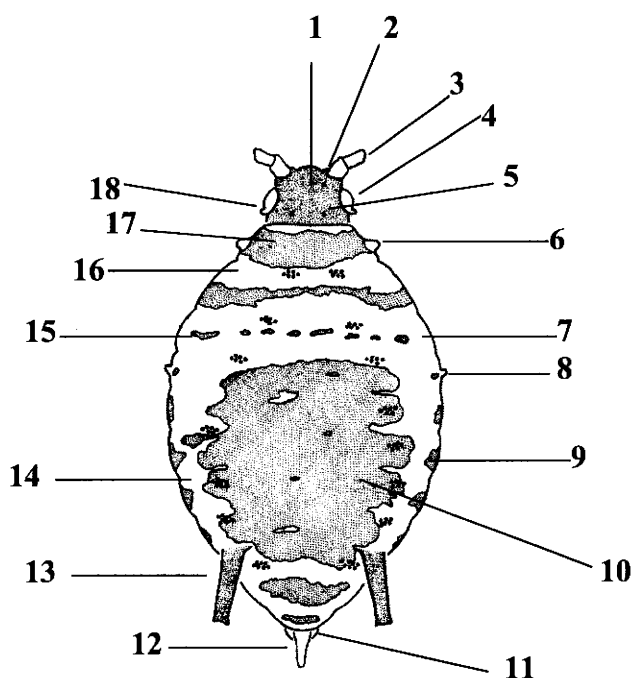


Figura 1- Morfologia externa dos afídeos ápteros. Adaptado de Ilharco (1985b).

1- Cabeça; 2- Tubérculo frontal; 3- Antena; 4- Olho composto; 5 - Tubérculo espinhal; 6- Tubérculo marginal protorácico; 7- Metatórax; 8- 1º tubérculo marginal do abdómen; 9- Esclerito marginal; 10- Placa abdominal; 11- Placa anal; 12- Cauda; 13- Sifão; 14- Abdómen; 15- Esclerito dorsal; 16- Mesotórax; 17- Protórax; 18- Tubérculo ocular.

2.4. Bioecologia e importância económica das espécies de afídeos das culturas em estudo

Descrevem-se em seguida os principais aspectos relacionados com a bioecologia e importância económica das espécies de afídeos que foram objecto de estudo neste capítulo.

Aphis craccivora Koch, 1854

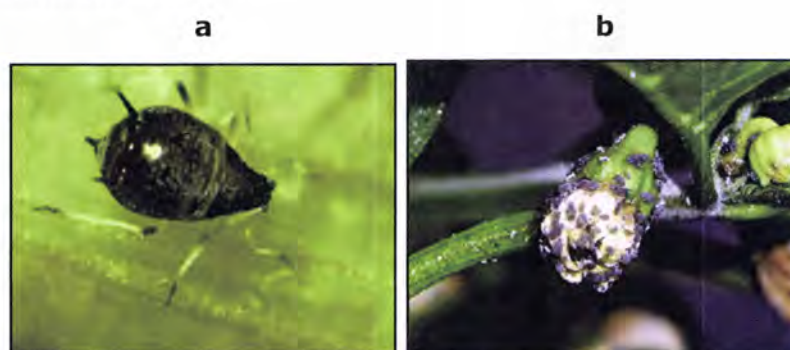


Figura 1: a – Adulto áptero de *A. craccivora*, cultura protegida de pimento.
b - População de *A. craccivora* em alimentação na flor, cultura protegida de pimento.

Esta espécie é polífaga, podendo ser encontrada em plantas de muitas famílias, contudo prefere leguminosas (Barbagallo, 1966; Holman, 1974; Patti, 1983; Ilharco, 1985b; Heie, 1986; Millar, 1990; Blackman & Eastop, 2000). É um afídeo muito comum em Portugal e tem comportamento anolocíclico (Ilharco, 1985b), aliás, como em quase todo o mundo (Blackman & Eastop, 2000). Em Portugal pode constituir praga em faveira, luzerna, feijoeiro, ervilheira, os trevos e outras papilionáceas herbáceas (Ilharco, 1985b) e pimento (Valério *et al.*, 2007a).

A. craccivora pode viver e alimentar-se de caules herbáceos, como por exemplo o feijão verde, vértices vegetativos e páginas inferior e superior das folhas de algumas plantas como o pimenteiro.

A importância económica deste afídeo está também relacionada com a transmissão de vírus, nomeadamente, o mosaico da faveira e das cucurbitáceas (Ilharco, 1985a).

Esta espécie tem sido objecto de estudo por ser considerada uma das principais pragas em culturas hortícolas (Singh & van Emden, 1979) principalmente do feijoeiro (Singh & van Emden, 1979; Mesfin *et al.*, 1992; Annan *et al.*, 1996; Álvarez-Álvarez, *et al.*, 2004).

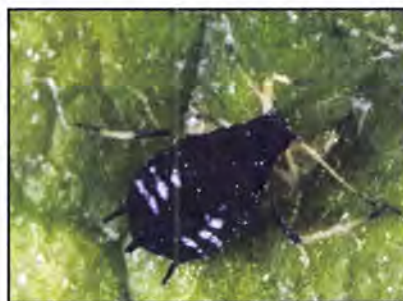
Aphis fabae Scopoli, 1763

Figura 2 – Adulto áptero de *A. fabae*, cultura protegida de pimento.

A. fabae é uma espécie muito polífaga pelo que um grande número de plantas herbáceas pertencentes a muitas famílias botânicas podem ser seus hospedeiros secundários (Ilharco, 1985a; Millar, 1990; Blackman & Eastop, 2000).

Em Portugal, *A. fabae* tem comportamento anolocíclico devido à escassez ou inexistência de hospedeiros primários (*Euonymus* de folha caduca) (Ilharco, 1985a). A infestação inicial das culturas dá-se através de formas aladas provenientes de hospedeiros vizinhos.

A picada de alimentação deste afídeo e a transmissão de vírus não se reveste de grande importância quando comparada com os estragos que podem ser causados pela melada que é extremamente cáustica para as plantas herbáceas e pode inclusive inviabilizar a comercialização dos frutos.

Em Portugal pode constituir praga em faveira, feijoeiro, beterraba sacarina, cártamo, girassol e plantas ornamentais (Ilharco, 1992). Apesar de os estragos na cultura de feijão verde serem de tal forma grandes que põem muitas vezes em causa a comercialização de frutos provenientes de estufas inteiras, também foi identificado em pepino e pimento (Valério, 1999) e observado com uma certa frequência em cultura protegida de tomate. Millar (1990) refere a cultura do tomate como um hospedeiro onde este afídeo pode constituir praga.

O estudo de *A. fabae* está relacionado com diversos aspectos da sua biologia dos quais se destacam a produção e as características da sua melada e a relação com as formigas (Ficher *et al.*, 2005), a sua polifagia (Ilharco, 1985a; Millar, 1990; Mari, 1996; Blackman & Eastop, 2000) e a capacidade de transmitir vírus (Devonshire, 1989; Pérez *et al.*, 1992).

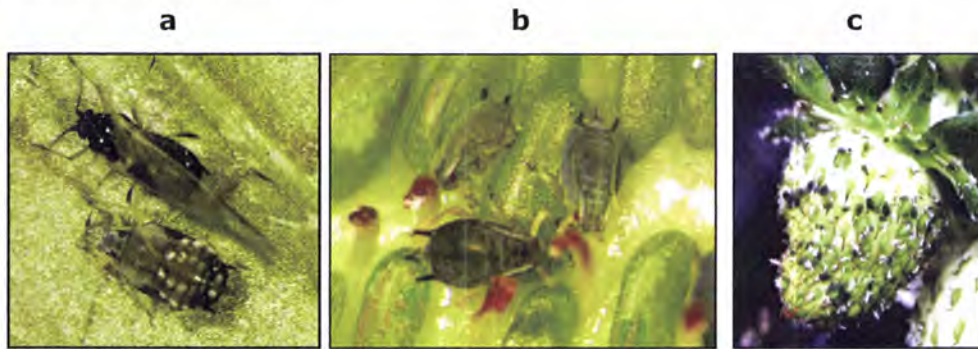
Aphis gossypii Glover, 1877

Figura 3 a – Adulto alado e ninfa de *A. gossypii*, cultura protegida de pimento.
 b – Colónia de *A. gossypii* em alimentação juntos dos aquénios do morango, cultura protegida de morango.
 c – População de *A. gossypii* em alimentação no morango, cultura protegida de morango.

A. gossypii tem sido objecto de estudo por todo o mundo devido a vários aspectos relacionados com as suas características morfológicas que dificultam a determinação do seu estatuto taxonómico e à dificuldade em interpretar a informação biológica (Stroyan, 1984; Blackman & Eastop, 2000). Em 1952 Stroyan refere-se a um grupo com importância económica, em Inglaterra, ao qual chama de “grupo *ramni-frangulae-gossypii*”, já Barbagallo (1966) e Ilharco (1973) apresentam *Aphis frangulae* Koch como sinónimo de *A. gossypii*, mas validam *A. frangulae* Kaltenbach como uma espécie. Miller (1990) refere-se à existência de um “complexo *gossypii*”, enquanto Stroyan (1984) refere *A. gossypii* como uma subespécie do “grupo *frangulae*”, o qual, refere o autor, é muito difícil de separar. O ciclo de vida destas espécies possui uma flexibilidade evolucionária extraordinária (Blackman & Eastop, 2000), razão pela qual a relação com os seus hospedeiros é muito complexa o que exige que se tenha muito cuidado quando se refere a enorme lista dos seus hospedeiros (Stroyan, 1984). *A. gossypii* possui um número indefinido de linhas anolocíclicas, algumas das quais têm uma relação muito particular com a planta hospedeira, sendo que biótipos de *A. gossypii* que se alimentam de uma planta podem não sobreviver noutra (Stroyan, 1984; Blackman & Eastop, 2000). Assim, na Europa central, *A. frangulae*, virtualmente, não é distinguível de *A. gossypii*, contudo, enquanto a primeira tem comportamento holocíclico, *A. gossypii* tem comportamento anolocíclico (Blackman & Eastop, 2000).

Neste trabalho, utiliza-se a informação morfológica de Ilharco (1985b) e Blackman & Eastop (2000) e optou-se por considerar *A. gossypii* como uma espécie e não como uma subespécie de *A. frangulae*.

Uma opinião unânime, de todos os autores é que *A. gossypii* é extremamente polífago, podendo viver sobre plantas de mais de 70 famílias botânicas (Ilharco, 1985a). Além dos estragos directos causados por este afídeo ao alimentar-se, também pode causar estragos indirectos pela transmissão de vírus (Holman, 1974; Stroyan, 1984; Ilharco, 1985a; Blackman & Eastop, 1994, 2000). Outro efeito indirecto provocado por esta espécie e que é extremamente importante em termos económicos está relacionado com o facto de produzir melada que, além de provocar queimaduras nas plantas, contribui também para o desenvolvimento de fumagina e para a fixação das exúvias dos afídeos, o que inviabiliza a comercialização de alguns frutos como acontece em cultura protegida de morango (Valério *et al.*, 2007b), o que também foi verificado por Rondon (2005), ou destrói culturas inteiras como acontece com as cucurbitáceas (Valério *et al.* - não publicado; Aldryhim & Khalil, 1993; Burgio & Ferrari, 1996).

Em Portugal pode causar praga em muitas plantas, entre as quais, melão, abóbora, pepino, algodão, citrinos, pereira, macieira, e algumas ornamentais (Ilharco, 1992). Pode ainda constituir praga em pimento (Valério *et al.*, 2007a) e morango (Valério *et al.*, 2007b).

Aphis ruborum (Borner, 1931)

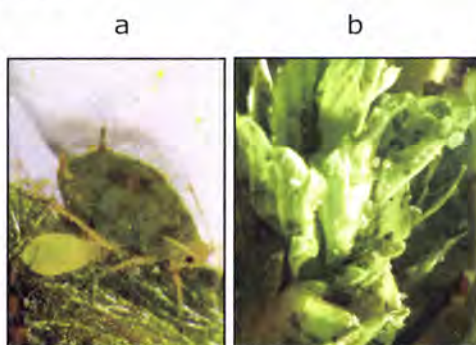


Figura 4 a - Adulto áptero e ninfa de *A. ruborum*, cultura protegida de morango.
b - População de *A. ruborum* em alimentação na coroa de uma jovem planta, cultura protegida de morango.

Esta espécie é conhecida como o afídeo da amora, onde tem comportamento holocíclico (Heie, 1986; Blackman & Eastop, 2000), contudo, Blackman & Eastop (2000), referem a sua presença ocasional em morangueiro. Em Portugal é frequente ser encontrado nesta cultura, onde vive em colónias muito densas na coroa das plantas jovens do morangueiro e são avidamente procuradas por formigas, cuja presença serve muitas vezes para localizar as colónias deste afídeo. Quando as

colónias se tornam mais densas podem ser encontrados a alimentar-se das flores e, inclusive, dos frutos (Valério *et al.*, 2007b)

Um efeito indirecto provocado por esta espécie está relacionado com o facto de produzir melada que, além de provocar queimaduras nas plantas, contribui também para o desenvolvimento de fumagina e para a fixação das exúvias dos afídeos, o que inviabiliza a comercialização dos frutos. Esta situação é frequente em cultura protegida (Valério *et al.*, 2005c, 2007b).

Aulacorthum solani (Kaltenbach, 1843)

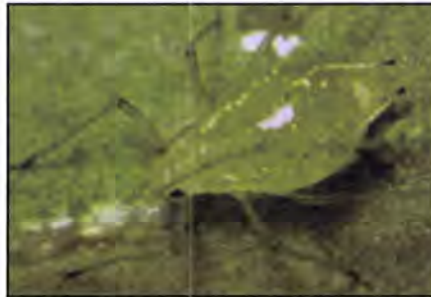


Figura 5 – Adulto áptero de *A. solani*, cultura protegida de pimento.

Esta espécie é polífaga, contudo, prefere plantas herbáceas (Ilharco, 1985a). É muito frequente em estufa, onde pode constituir praga (Ilharco, 1985a; Blackman & Eastop, 2000). Apesar de poderem ser encontradas formas sexuadas em muitos hospedeiros, em Portugal é sempre anolocíclica (Ilharco, 1985a), onde é, frequentemente, encontrada a alimentar-se em culturas protegidas.

A sua importância económica está relacionada ainda com a transmissão de vírus (Millar, 1990), podendo transmitir cerca de 40 diferentes doenças virais (Blackman & Eastop, 2000). Não é procurado por formigas (Ilharco, 1985a).

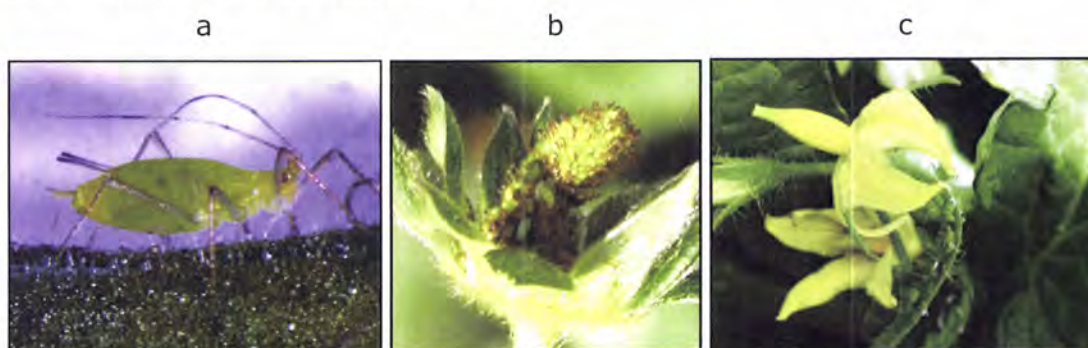
Macrosiphum euphorbiae (Thomas, 1878)

Figura 6 a – Adulto áptero de *M. euphorbiae*, cultura de tomate para indústria.
 b – Colónia de *M. euphorbiae* em alimentação em morango, cultura protegida de morango.
 c – Colónia de *M. euphorbiae* em alimentação junto aos cachos florais de tomate, cultura de tomate para indústria.

M. euphorbiae é altamente polífago, alimentando-se em mais de 200 espécies de plantas diferentes pertencentes a mais de 20 famílias (Blackman & Eastop, 2000) contudo, preferindo hospedeiros herbáceos (Ilharco, 1985a). Tem comportamento anolócíclico em Portugal (Ilharco, 1985a) e na Europa (Blackman & Eastop, 2000), mostrando-se holocíclico na América do Norte (Millar, 1990; Blackman & Eastop, 2000).

Pode constituir praga nas solanáceas, principalmente batateira, onde vive na parte terminal do caule (Ilharco, 1985a), em cultura protegida de tomate (Rabasse *et al.*, 1985) e na cultura de tomate para indústria (Lykoyressis, 1993; Hummel *et al.*, 2004; Valério *et al.*, 2006). Também se refere, frequentemente, este afídeo associado à cultura de alface (Nieto Nafria, 1977, 1984, 1998; Mier Durante, 1978; Masia, 1980). Em Portugal, *M. euphorbiae* forma populações muito elevadas junto aos cachos florais, o que pode induzir o seu abortamento e, conseqüentemente, levar a quebras de produção (Valério, 2005d, 2006a). Walgenbach (1997) refere ainda que a principal causa de perdas de produção está relacionada com a perda de qualidade do fruto na cultura de tomate.

Pode também encontrar-se na página inferior ou superior das folhas de outras plantas sendo, neste caso inofensivo se não for vector de vírus (Ilharco, 1985a). É vector de cerca de 50 vírus e não é procurado por formigas (Ilharco, 1985a).

Myzus persicae (Sulzer, 1776)

Figura 7 a – Colónia de *M. persicae*, cultura protegida de pimento.

b – Colónia de *M. persicae* em flor de pimento, cultura protegida de pimento.

Este afídeo é extremamente polífago em hospedeiros secundários. Tem comportamento anolocíclico ou holocíclico (Ilharco, 1985a, 1992; Blackman & Eastop, 2000), sendo o seu hospedeiro primário *Prunus* spp. (Barbagallo, 1966; Ilharco, 1992; Blackman & Eastop, 2000). Pode viver na página inferior das folhas, nos vértices vegetativos, nas inflorescências e nas flores, por exemplo em pimento. Não é procurado por formigas (Ilharco, 1985a) em hospedeiros secundários.

É considerada uma das espécies polípagas mais importante em cultura protegida (Rabasse & Wyatt, 1985). A sua importância estende-se a muitas culturas hortícolas como pimento (Ilharco, 1985a; Gilkeson, 1990; Hommes, 1992; Vasicek *et al.*, 2001; Valério *et al.*, 2005a, 2007a; Barrenechea *et al.*, 2004), alface (Zagonel *et al.*, 2002), espinafre (McLeod, 1987), brassicas (Trumble, 1982), tomate (Gilkeson, 1990), tabaco (Ilharco, 1985a) e muitas outras. Ilharco (1985a) refere que apesar da sua polifagia em hospedeiros secundários, não forma grandes populações nestes hospedeiros, salvo nalguns casos como no pimento, couve e tabaco.

A sua importância económica não está nos estragos directos mas sim nos efeitos indirectos relacionados com a transmissão de vírus (Sylvester, 1954; Fereres *et al.*, 1992; Collar *et al.*, 1997). Este afídeo é um dos vectores mais eficientes na transmissão de vírus, conhecendo-se mais de 100 vírus que ele é capaz de transmitir (Holman, 1974; Ilharco, 1985a; Blackman & Eastop, 2000).

Um aspecto que tem sido motivo de estudo no que diz respeito a *M. persicae* está relacionado com a resistência que tem demonstrado a determinados insecticidas (Giunchi, 1969; Guenaoui & Ait Chaabane, 1991; Cravedi & Cervato, 1994; Foster *et al.*, 1996; Delorme, 1996; Ciglar & Baric, 1996).

Pentatrichopus fragaefolii (Cockerell, 1901)



Figura 8 – Colónia de *P. fragaefolii*, cultura de morango de ar livre.

Este afídeo vive, principalmente, em cultura de morango e apenas excepcionalmente pode ser encontrado noutras culturas (Millar, 1990; Blackman & Eastop, 2000). É vector de alguns vírus do morangueiro (Ilharco, 1992; Blackman & Eastop, 2000). Em Portugal *P. fragaefolii* tem importância económica em cultura de ar livre de morango (Valério *et al.*, 2004b,c, 2005c). A importância económica deste afídeo no morangueiro foi estudada por Shanks & Finnigan (1970) e também por Rondon & Cantliffe (2004). Estudos de luta biológica foram desenvolvidos por Cross *et al.* (2001) e Rondon *et al.* (2003).

As populações deste afídeo podem ser encontradas a alimentar-se na página inferior das folhas jovens da coroa, junto das nervuras.

Este afídeo tem comportamento, essencialmente, anolócíclico. Existem, no entanto, registos de machos tanto alados como ápteros e de ovíparas em situações pontuais (Blackman & Eastop, 2000).

3. Material e métodos

3.1. Colheitas de amostras de afídeos e sua manipulação em laboratório

Efectuaram-se colheitas de amostras, nos anos de 2002 a 2005, na Região do Ribatejo e Oeste, em cultura protegida de pimento (Local 1 - Silveira); cultura de morango de ar livre (Local 2 - Almeirim); cultura protegida de morango (Local 3 - Centro experimental Q^{ta} de S. João - Coto, Caldas da Rainha); cultura de tomate para indústria (Local 4 - Lezíria grande, Vila Franca de Xira) e cultura de tomate para indústria (Local 5 - Valada do Ribatejo) (Fig. 9).

As colheitas de amostras realizaram-se semanalmente, em percursos aleatórios. De cinco em cinco metros amostraram-se 10 plantas de pimento e 20 plantas de morango e tomate, nas linhas seleccionadas. No quadro 1 podemos ver a informação relativa aos locais de amostragem, assim como metodologias de colheita de amostras.

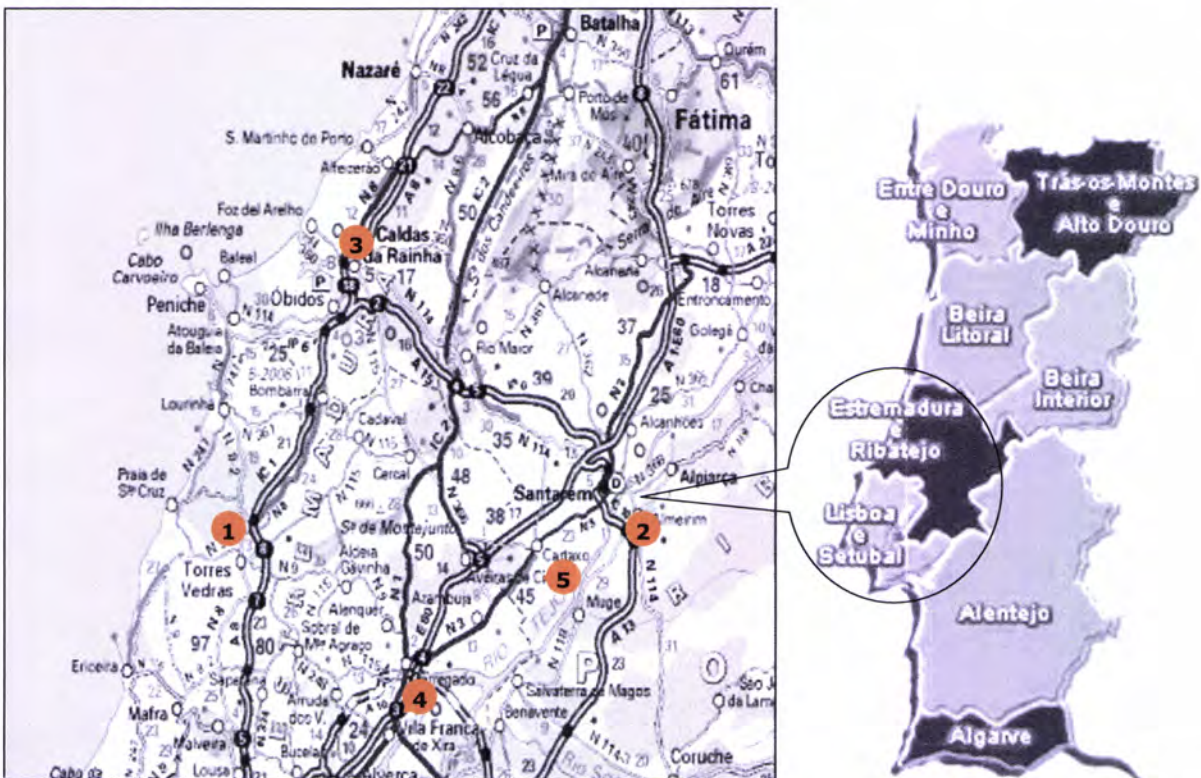


Figura 9 – Locais de colheitas de amostras. Anos 2002, 2003, 2004 e 2005. Cultura protegida de pimento (Local 1 - Silveira); cultura de morango de ar livre (Local 2 - Almeirim); cultura protegida de morango (Local 3 - Centro experimental Q^{ta} de S. João - Coto, Caldas da Rainha); cultura de tomate para indústria (Local 4 - Lezíria grande, Vila Franca de Xira) e cultura de tomate para indústria (Local 5 - Valada do Ribatejo).

Quadro 1 – Locais, culturas, anos de amostragem, metodologia de colheita de amostras, áreas e número de parcelas/estufas amostrados. Os números sublinhados correspondem aos locais indicados na fig. 9. MPB – Modo de produção biológico; PRODI – Produção Integrada; PI – Protecção Integrada; pl - plantas.

Cultura	Pimento	Morango	Morango	Tomate para indústria	Tomate para indústria
Modo Produção	PI	PRODI	PRODI	PI	MPB
Modo de condução	Cultura protegida	Ar livre	Cultura protegida	Ar livre	Ar livre
Local	<u>1</u> - Silveira	<u>2</u> -Almeirim	<u>3</u> - Centro experimental Q ^{ta} de S. João - Coto	<u>4</u> - Lezíria Grande (V. F. Xira)	<u>5</u> - Valada do Ribatejo
Anos de amostragem	2002 2003 2004	2002 2003 2004	2002/2003 2003/2004	2002 2003	2003 2004 2005
Colheitas de amostras	2 Folhas x 10 pl	1 Trifólio x 20 pl	1 Trifólio x 20 pl	1 Folha composta x 20 pl	1 Folha composta x 20 pl
Área/unidade	1200 –1700 m ²	2500 m ²	200 m ²	0,5 ha	0,5 ha
Nº estufas/parcelas amostradas por ano	2 estufas	2 parcelas	2 estufas	1 parcela	1 parcela

As estufas onde se realizaram as amostragens possuíam cobertura de polietileno e aberturas laterais reguláveis.

Na cultura protegida de pimento as estufas encontravam-se divididas em duas baterias, a da direita tinha orientação Norte-Sul, com aberturas laterais orientadas Oeste-Este e a da esquerda com orientação Oeste – Este, com aberturas laterais orientadas a Norte-Sul, com excepção do ano 2004 em que as duas estufas observadas tinham orientação Norte-Sul. As estufas da direita encontravam-se do lado do vento dominante (Fig. 10).

Registou-se a temperatura e a Humidade relativa nas estufas de pimento, tendo-se utilizado para o efeito um termohigrógrafo (ano 2002) e um Datalogger Extech RHT20 (anos 2003 e 2004). Os registos de temperatura e humidade, nos anos 2003 e 2004 foram obtidos em estufas vizinhas às dos ensaios.

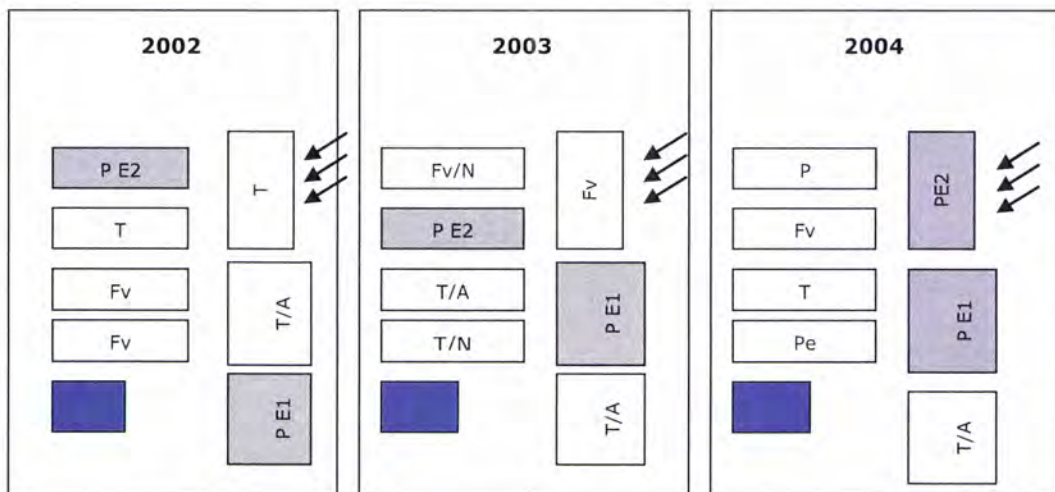


Figura 10 – Esquema das estufas onde se realizaram os estudos. A azul encontra-se o escritório e a cinzento estão representadas as estufas de cultura protegida de pimento onde se realizaram os estudos. A – alface; Fv – feijão-verde; N – nabiça; P E1 – pimento (estufa 1); P E2 – pimento (estufa 2); T – tomate. As setas indicam a direcção dos ventos dominantes.

Após a chegada ao laboratório as folhas foram separadas e procedeu-se à quantificação e identificação de espécies de afídeos.

Relativamente à cultura de tomate para indústria em modo de produção biológico identificaram-se as espécies de afídeos, contudo os afídeos não foram contabilizados.

Quando não foi possível a imediata identificação dos afídeos, estes foram conservados em álcool a 90 % para posterior montagem e identificação.

Sempre que necessário procedeu-se à montagem de afídeos para observação microscópica, tendo-se utilizado as metodologias descritas em Ilharco & Gomes, 1966 e Ilharco & Lemos (1981). Os procedimentos adoptados consistem em **1-** Perfuração do lado ventral do abdómen; **2-** Colocação do afídeo em tubos de vidro com cerca de 1 cm de diâmetro contendo KOH a 10 % e fervura em banho-maria durante 5 a 10 minutos; **3-** Lavagem em líquido detergente a 25 % durante 5 minutos; **4-** Lavagem em água destilada; **5-** Desidratação em álcool a 95° durante 5 minutos; **6-** Clarificação em eugenol durante 15 minutos; **7-** Montagem em lâminas de vidro, usando como meio o bálsamo-do-Canadá ou o Entellan.

Procedeu-se à compilação de uma chave de identificação, que se apresenta em seguida, tendo-se utilizado a informação dos seguintes trabalhos: Barbagallo, 1966; Blackman, 1974; Stroyan, 1984; Blackman & Eastop, 1984, 2000; Ilharco,

1985 a,b, 1992; Heie, 1986; Millar, 1990. Sempre que se julgou necessário, a confirmação de algumas espécies foi efectuada por F. A. Ilharco.

Chave utilizada para a identificação de espécies de afídeos das culturas hortícolas estudadas

A chave a seguir apresentada foi compilada com o objectivo de auxiliar na identificação de fêmeas vivíparas ápteras, adultas, por ser a forma morfológica mais frequente em colónias de afídeos de culturas hortícolas.

1	Corpo com sedas longas capitadas sobre bases tuberculadas (Fig. 12 a,b). Corpo oval alongado, de cor branco-amarelada a verde-amarelada pálida, translúcido. Ápteros pequenos com 1.0-1.8 mm. Sobre morangueiro.	<i>Pentatrichopus fragaefolii</i>
	Corpo sem sedas capitadas.	2
2	Tubérculos frontais pouco desenvolvidos (Fig. 11 a)	3
-	Tubérculos frontais bem desenvolvidos (Fig. 11 b,c,d)	6
3	Corpo de cor verde-azulado, com sífões pálidos. Vive em colónias muito densas nos jovens rebentos do morangueiro e, quando as populações aumentam, alimentam-se também nas flores e frutos. São avidamente procurados por formigas. 0,8-2,5 mm.	<i>Aphis ruborum</i>
-	Corpo negro, verde ou de outra cor, com sífões negros	4
4	Indivíduos de cor preto-brilhante a castanho-escura, com uma placa dorsal negra, polida, brilhante no abdómen (Fig. 12 c). Cauda negra (Fig. 12 d). Ninfas baças pulverulentas. Afídeo polífago mas com preferência por leguminosas	<i>Aphis craccivora</i>
-	Abdómen sem pigmentação ou com marcas negras dispersas antes dos sífões. Cauda pálida ou escura	5
5	Cauda claramente mais clara do que os sífões, com 4-7 sedas. Populações com indivíduos de diversas cores (Fig. 12 e,f,g). Afídeo polífago	<i>Aphis gossypii</i>
-	Cauda da cor dos sífões, negra, com muitas sedas. Populações uniformemente com indivíduos negros, com ou sem secreção serosa disposta em estrias dorsais, muito comum nas ninfas. (Fig. 12 h) Afídeo polífago	<i>Aphis fabae</i>
6	De cor verde ou encarnada e sífões levemente clavados (Fig. 12 i,j). Tubérculos frontais convergentes em vista dorsal (Fig. 11 b). Corpo oval com a cutícula dorsal escabrosa, brilhante. No máximo atinge 2.5 mm. Afídeo polífago.	<i>Myzus persicae</i>
-	De cor verde ou encarnada e sífões não clavados	7
7	Tubérculos frontais divergentes em vista dorsal (Fig. 11 c). Sífões encarnados ou amarelos e com a zona terminal com um reticulado poligonal (Fig. 12 l,m). Corpo fusiforme, de aspecto baço. Antenas amarelas, longas, mais escuras no ápex. Cauda clara. Chegam a atingir os 4 mm. Afídeo polífago.	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>
-	Tubérculos frontais paralelos em vista dorsal (Fig. 11 d). Sífões mais do que duas vezes maiores do que a cauda (Fig. 12 n). Cutícula dorsal polida, brilhante. Abdómen com duas zonas verde-escuras na base dos sífões. Antenas muito longas. Afídeo polífago	<i>Aulacorthum solani</i>

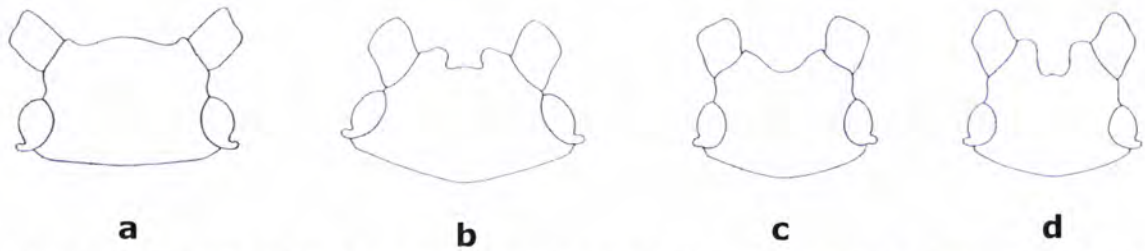
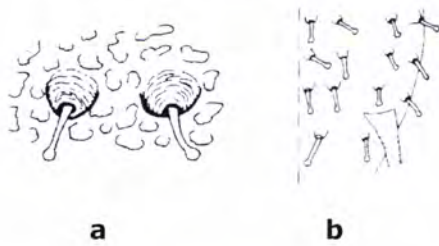


Figura 11 - Tubérculos frontais pouco desenvolvidos (a) e desenvolvidos: convergentes (b), divergentes (c) e paralelos (d) (Segundo Ilharco, 1985b).

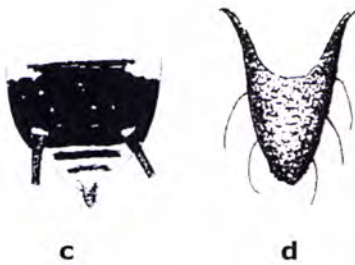
Pentatrichopus fragaefolii



a

b

Aphis craccivora



c

d

Aphis gossypii



e

f

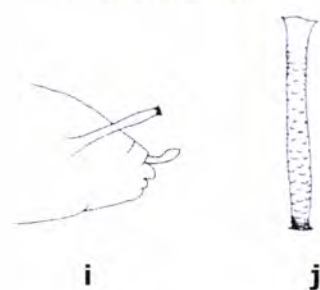
g

Aphis fabae



h

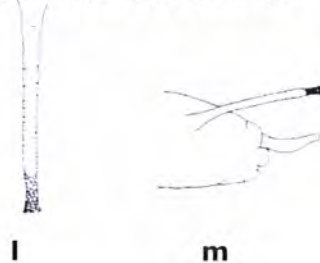
Myzus persicae



i

j

Macrosiphum euphorbiae



l

m

Aulacorthum solani



n

Figura 12 - Aspectos morfológicos importantes para a identificação das espécies de afídeos das culturas em estudo (Blackman & Eastop, 2000).

3.2. Análise estatística

A distribuição dos resultados obtidos para cada uma das comunidades foi verificada por gráficos de frequências sendo os desvios da normalidade testados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk e a análise da homogeneidade das variâncias, através do teste de Levene (Programa SPSS, versão 17). Porque os dados não seguiam uma distribuição normal e, na maioria dos casos, não possuíam homogeneidade de variâncias, e atendendo a que a análise multivariada permite identificar todas as relações existentes num conjunto de dados, foram utilizados métodos de ordenação (análise de gradientes), para se determinar quais as variáveis explanatórias com maior influência nas populações das espécies de afídeos capturadas, tendo sido utilizado o mesmo procedimento para os parasitóides (*vidé* cap. II).

Desse modo, realizou-se inicialmente uma DCA (análise canónica "detrended"), para se determinar a influência das populações das espécies de afídeos (ou parasitóides, *vidé* cap. II) às variáveis explanatórias que abaixo se discriminam. De acordo com este teste a dimensão do gradiente foi sempre inferior a 3, pelo que se assumiu uma resposta linear das variáveis de resposta em função das variáveis explanatórias tendo-se seleccionado o método de análise de redundância (RDA) (Leps & Smilauer, 1999, 2003) para se analisar as relações entre variáveis explanatórias e de resposta. As variáveis explanatórias agruparam-se de acordo com a sua natureza, nomeadamente, ambientais (temperatura e Humidade relativa), espaciais (estufa 1 e estufa 2), temporais (ano, mês e semana), fisiológicas (estado fenológico) e biológicas (espécies de afídeos), tendo esta última sido analisada apenas para os parasitóides (*vidé* cap. II). Dos modelos base (com todas as variáveis explanatórias), foram obtidos modelos optimizados, apenas com as variáveis explanatórias com maior impacto na comunidade das espécies de afídeos (ou parasitóides, *vidé* cap. II), isto é, as variáveis com maior percentagem explicada das variáveis resposta. Na análise de aferição, utilizou-se o teste de Monte-Carlo ($p < 0.05$).

As variâncias associadas a cada variável explanatória dos modelos optimizados foram determinadas pelo método da "partição da variância" de acordo com o procedimento de Borcard *et al.* (1992), tendo sido utilizado o programa estatístico CANOCO 4.5 (ter Braak@Smilauer - versão 4.5 para o Windows), para esse efeito.

As eventuais correlações existentes entre variáveis explanatórias e de resposta, sugeridas pela análise de redundância, foram confirmadas pelo coeficiente de correlação de Spearman (Programa SPSS, versão 17).

4. Resultados e discussão

4.1. Abundância e distribuição das espécies de afídeos das culturas em estudo

4.1.1. Cultura protegida de Pimento

As espécies de afídeos identificadas foram: *A. craccivora*, *A. gossypii*, *A. solani*, *M. euphorbiae* e *M. persicae* (Quadro 2, Fig. 13).

As espécies de afídeos identificadas são polípagas, pelo que se podem alimentar de plantas de diversas famílias botânicas e conseqüentemente alternam de hospedeiro vegetal em hospedeiro vegetal.

Quadro 2 – Média de afídeos por folha e respectivo desvio padrão (média±desvio padrão). Cultura protegida de pimento. Anos 2002, 2003 e 2004. Acr – *A. craccivora*; Ag – *A. gossypii*; As – *A. solani*; Me – *M. euphorbiae*; Mp – *M. persicae*. O zero (0) significa que não houve capturas dessa espécie de afídeo.

Ano	Estufa	Acr	Ag	As	Me	Mp
2002	1	13,80±20,74	3,33±7,09	0,12±0,24	8,33±11,77	8,89±21,06
	2	0,64±1,52	0,10±0,30	1,91±5,60	0,05±0,13	0,05±0,16
2003	1	0	0	0,24±0,38	0,07±0,21	0,13±0,21
	2	0	0	1,17±2,22	0,06±0,17	0,36±0,75
2004	1	12,28±27,70	5,90±12,66	0,59±1,27	1,78±4,34	5,90±12,66
	2	0	0,03±0,11	0,17±0,43	0,18±0,54	1,33±2,32

A. craccivora foi o afídeo que atingiu níveis populacionais mais elevados no ano 2002, seguido de *M. persicae*, *M. euphorbiae* e *A. gossypii*, por outro lado, *A. solani* apresentou um baixo nível populacional neste ano. As populações mais elevadas de *M. euphorbiae*, que se observaram na estufa 1 (2002), relativamente a outros anos, podem estar relacionadas com a presença de um campo de tomate de ar livre na vizinhança, onde este afídeo tem tendência para apresentar níveis populacionais mais elevados, e que pode ter contribuído para a dispersão das formas aladas de *M. euphorbiae* para dentro da estufa, tendo em conta a sua natureza polífaga.

No ano 2003, a espécie dominante foi *A. solani* (Quadro 2, Fig. 13), contudo, a dinâmica populacional das espécies de afídeos, muito diferente neste ano, relativamente aos outros anos, foi provavelmente devido a problemas no desenvolvimento das plantas causados pela ocorrência de oídio, o que aconteceu em todas as estufas de pimento deste agricultor. *A. solani* encontra-se normalmente junto das aberturas laterais.

De uma forma geral, *A. craccivora* foi o afídeo dominante, no ano 2002, principalmente na estufa 1 e 2 e no ano 2004, na estufa 1, seguido de *M. persicae* e *A. gossypii* (Quadro 2). As populações mais elevadas deste afídeo estão normalmente associadas à floração.

Na cultura de pimento, as espécies *M. persicae* e *A. gossypii* são frequentemente consideradas como umas das mais importantes (Gilkeson, 1990; Domagala, 1992; Wick, 1992; Valério, 1997; Mellinger, *et al.*, 2000; Vasicek, *et al.*, 2001; Lee, 2002; Valério *et al.*, 1997, 1999, 2005a, 2007a). Contudo, nos últimos anos, temos vindo a observar novas espécies tornarem-se pragas de difícil limitação (García, 2001; Valério *et al.*, 2005a). Em cultura protegida de pimento, *A. solani* tem sido referido como uma das espécies mais importantes nalgumas regiões de Espanha (Hermoso de Mendoza *et al.*, 2005; Sánchez *et al.*, 2005). O afídeo *M. euphorbiae* também tem vindo a ser referido para Portugal (Valério, 1997, 1999; Valério, *et al.*, 1999, 2003, 2007a), no entanto, a sua importância tem sido considerada secundária.

Nos anos 2002 e 2004, a estufa onde se registaram maiores níveis populacionais de afídeos foi na estufa 1, por outro lado, no ano 2003 os maiores níveis populacionais registaram-se na estufa 2, apesar de neste ano as populações terem atingido níveis baixos pelas razões acima referidas (Quadro 2). Os elevados níveis populacionais verificados nos anos 2002 e 2004 podem estar relacionados com o facto de todas as espécies de afídeos identificadas serem polífagas.

Os elevados níveis populacionais de *A. craccivora* e *A. gossypii* podem estar relacionados com a elevada capacidade reprodutiva que estas espécies de afídeos possuem, o que dificulta a sua limitação se não for feita uma intervenção atempada com os meios de luta disponíveis, preferencialmente a luta biológica (Ferrari & Nicoli, 1994; Guenaoui *et al.*, 1994; Cecílio *et al.*, 1994; Burgio *et al.*, 1994; Rosenheim, 1997) devido a fenómenos de resistência a alguns insecticidas como tem vindo a ser comprovado com diversos estudos (Hollingsworth *et al.*, 1997; Furk & Hines, 1993; O'Brien *et al.*, 1992; Idris *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2004).



Por outro lado, as estufas com maiores níveis populacionais de afídeos registaram-se nas estufas com orientação Norte-Sul, com aberturas orientadas Oeste-Este (Fig. 10), do lado dos ventos dominantes o que acontece frequentemente devido às características das estufas de horticultura protegida na região Oeste por não possuírem condicionamento ambiental, sendo o arejamento assegurado por aberturas laterais desprovidas de redes que permitem a entrada de pragas importantes, nomeadamente de afídeos, principalmente nas aberturas do lado dos ventos dominantes. As formas aladas entram nestas aberturas laterais e iniciam a infestação, multiplicam-se e as populações vão aumentando até formarem novos afídeos alados que vão colonizar novas plantas e novas estufas.

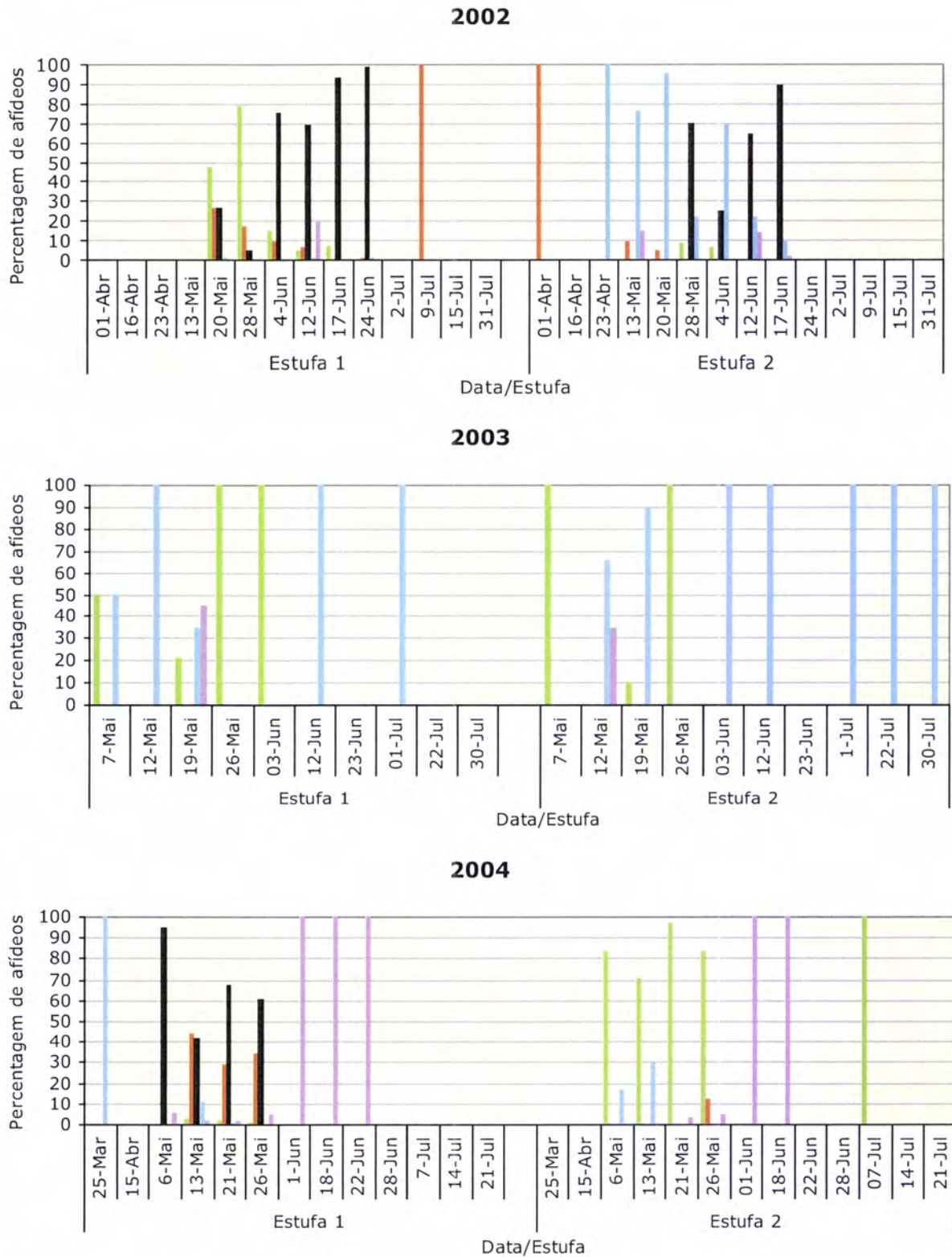


Figura 13 - Evolução das espécies de afídeos, em percentagem, em duas estufas de cultura protegida de pimento. Anos 2002, 2003 e 2004. Silveira (Torres Vedras).
 Legenda: ■ *A. craccivora* ■ *A. gossypii* ■ *A. solani* ■ *M. euphorbiae* ■ *M. persicae*

4.1.2. Cultura de morango de Ar livre

As espécies de afídeos identificadas foram: *A. gossypii*, *A. ruborum*, *A. solani*, *M. euphorbiae*, *M. persicae* e *P. fragaefolii* (Quadro 3, Fig. 14).

Quadro 3 – Média de afídeos por folha e respectivo desvio padrão (média±desvio padrão). Cultura de morango de ar livre. Anos 2002, 2003 e 2004. Ag – *A. gossypii*; Ar – *A. ruborum*; As – *A. solani*; Me – *M. euphorbiae*; Mp – *M. persicae*; Pf – *P. fragaefolii*. O zero (0) significa que não houve capturas dessa espécie de afídeo.

Ano	Parcela	Ag	Ar	As	Me	Mp	Pf
2002	1	0,067±0,245	0,003±0,013	0	0	0	0
	2	0,063±0,245	0,003±0,013	0	0,003±0,013	0	2,550±5,574
2003	1	0	0,239±0,637	0	0,350±0,688	0	0,039±0,1
	2	0	1,908±3,952	0,011±0,040	1,233±1,999	0	0,525±1,627
2004	1	0,707±1,486	1,586±2,929	0	0,571±0,960	0	0
	2	0,836±1,707	2,279±0,246	0	0,743±1,668	0	0

As espécies de afídeos que atingiram níveis populacionais mais elevados foram *A. ruborum* e *P. fragaefolii*, com médias superiores a 2 afídeos por folha (Quadro 3).

P. fragaefolii e *A. ruborum* têm importância económica em cultura de morango de ar livre, em Portugal, sendo que *P. fragaefolii* tem sido referido como um dos mais importantes também noutros locais (Shanks & Finnigan, 1970; Strand, 1994; Rondon, 2004). A presença de *A. ruborum* já havia sido registada em *Fragaria* sp. e *Rubus* sp., mas não foi considerada potencialmente causadora de praga no nosso País (Ilharco, 1992). *P. fragaefolii* registou níveis populacionais mais elevados em 2002 e *A. ruborum* em 2004, tendo-se mantido activo durante o período da cultura (Fig. 14).

As populações mais elevadas de *M. euphorbiae* que se registaram no ano 2003, na parcela 2 (Quadro 3), estão associadas à presença de cultura de tomate para indústria na vizinhança, onde esta espécie de afídeo atinge níveis elevados. Este afídeo manteve-se activo ao longo do período da cultura, neste ano (Fig. 14).

O afídeo *M. persicae* foi capturado apenas em forma de múmia (afídeo parasitado), pelo que o quadro apresenta valor zero para todas as combinações ano/parcela. As populações das outras espécies de afídeos, nomeadamente, *A. gossypii* e *A. solani* apresentaram níveis baixos durante o estudo realizado.

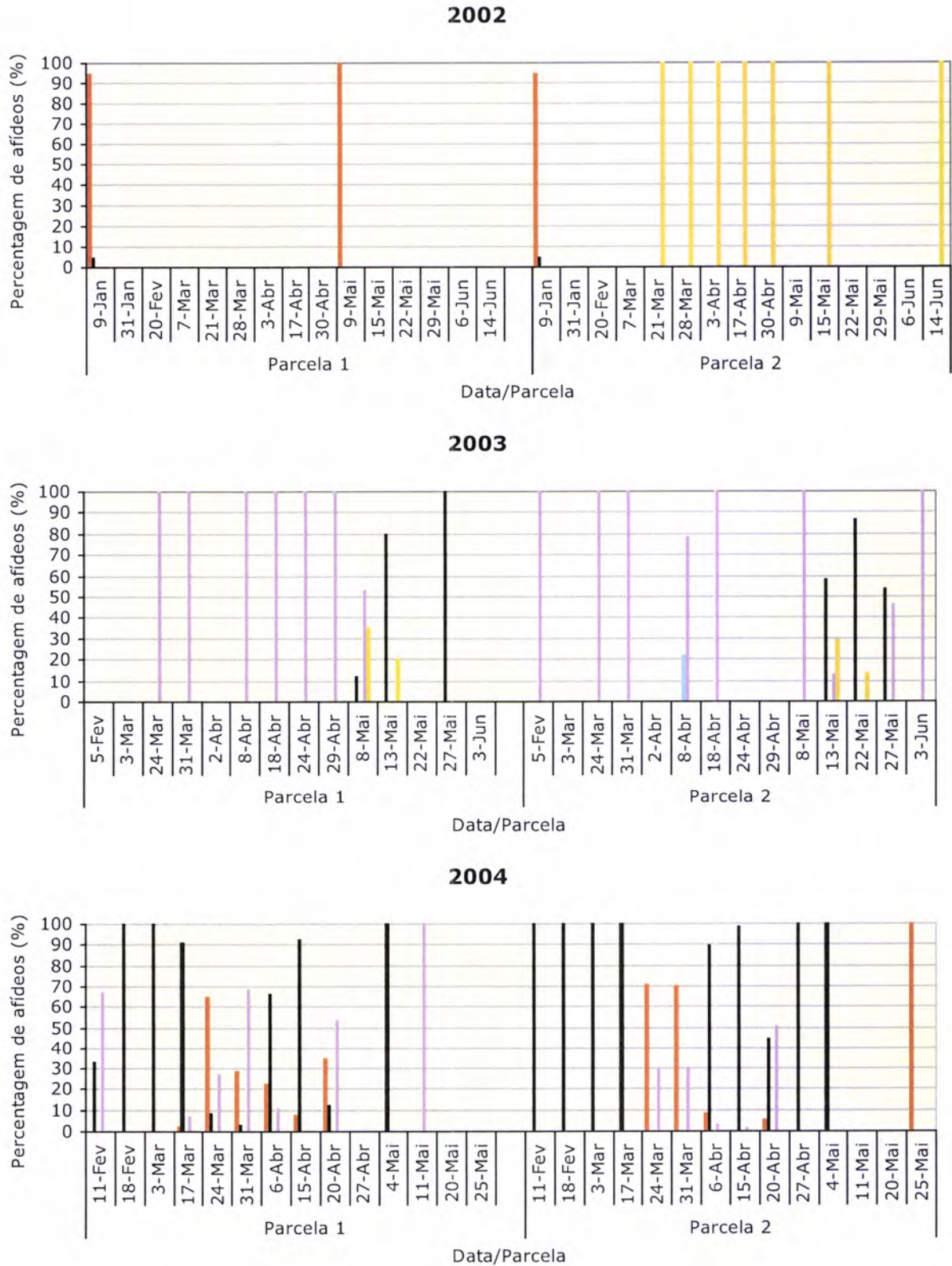


Figura 14 – Evolução das espécies de afídeos, em percentagem, em duas parcelas de morango de ar livre. Anos 2002, 2003 e 2004. Almeirim.

Legenda: ■ *A. gossypii* ■ *A. ruborum* ■ *A. solani* ■ *M. euphorbiae* ■ *M. persicae* ■ *P. fragaefolii*

4.1.3. Cultura protegida de morango

As espécies de afídeos identificadas foram: *A. craccivora*, *A. gossypii*, *A. ruborum*, *A. solani* e *M. euphorbiae*, (Quadro 4, Fig. 15).

Quadro 4 – Média de afídeos por folha e respectivo desvio padrão (média±desvio padrão). Cultura protegida de morango. Anos 2002, 2003 e 2004. Acr – *A. craccivora*; Ag – *A. gossypii*; Ar – *A. ruborum*; As – *A. solani*; Me – *M. euphorbiae*. O zero (0) significa que não houve capturas dessa espécie de afídeo.

Ano	Estufa	Acr	Ag	Ar	As	Me
2002/2003	1	0,004±0,020	4,596±4,602	1,213±3,008	0	0,202±0,731
	2	0	7,488±13,052	0,687±2,446	0,008±0,039	0
2003/2004	1	0	8,891±9,913	2,146±5,653	0	0
	2	0	2,477±2,901	0,895±1,797	0	0,013±0,066

As espécies de afídeos que atingiram níveis populacionais mais elevados foram *A. gossypii* e *A. ruborum*.

A. gossypii é considerado uma praga chave na cultura protegida de morangueiro (Valério *et al.*, 2004a,c, 2005c, 2007b), tal como verificado também por Rondon *et al.* (2003, 2005).

As espécies *A. gossypii* e *A. ruborum* desenvolvem populações elevadas nas flores e frutos. A melada produzida por elevadas populações destas duas espécies de afídeos ao alimentarem-se dos frutos contribui para o desenvolvimento de fumagina e para a fixação das mudas dos afídeos, o que inviabiliza a comercialização destes frutos.

A. gossypii esteve activo em quase todo o ciclo vegetativo da cultura, nos dois anos de realização dos estudos e nas duas estufas observadas (Quadro 4, Fig. 15).

A. ruborum apresentou uma tendência para formar populações muito elevadas mas em focos muito localizados e com a presença de formigas, que normalmente permitem a detecção de colónias deste afídeo, no campo.

As outras espécies de afídeos, nomeadamente, *A. craccivora*, *A. solani* e *M. euphorbiae* apresentaram níveis populacionais baixos durante a realização deste estudo.

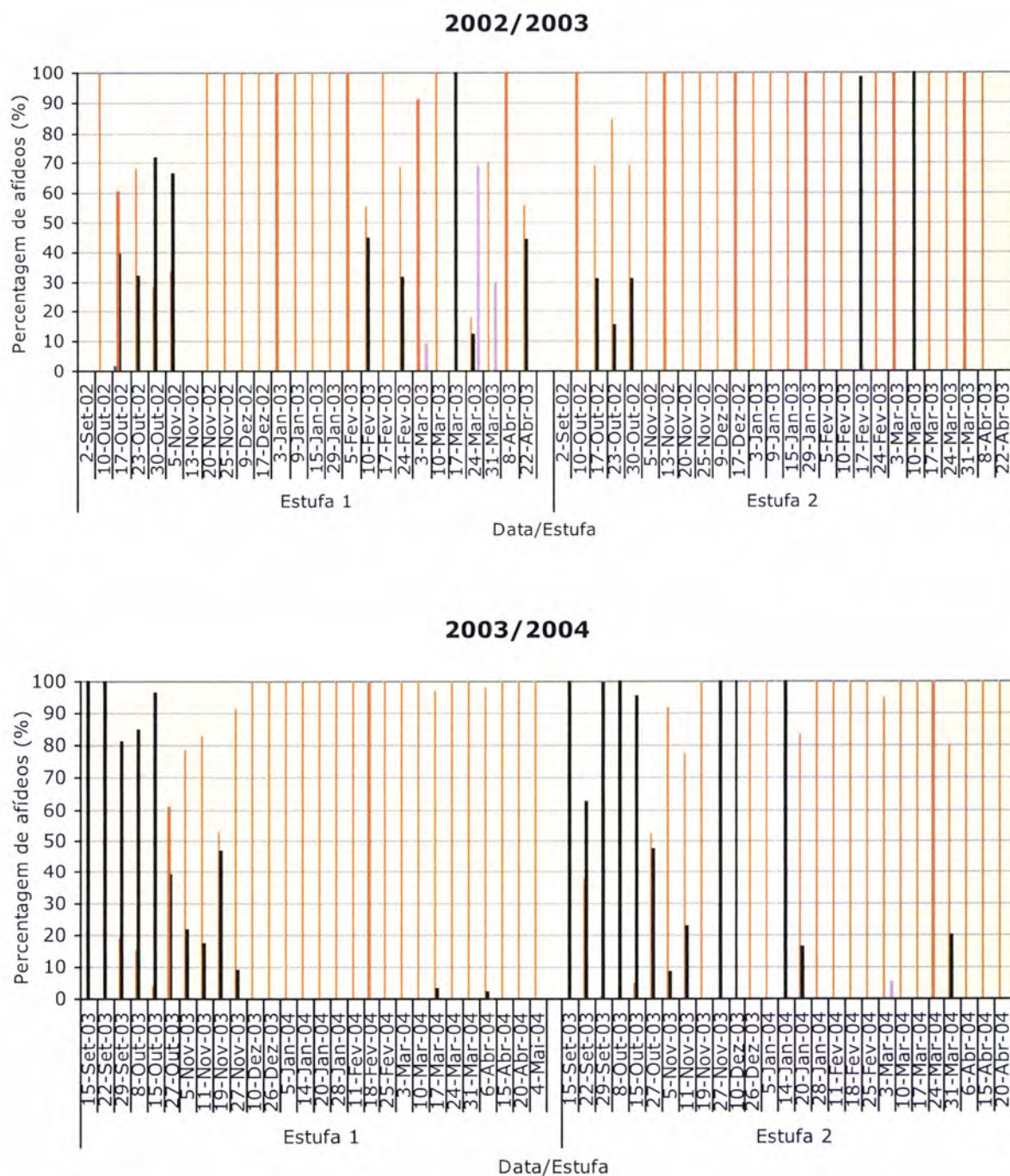


Figura 15 – Evolução das espécies de afídeos, em percentagem, em duas estufas de cultura protegida de morango. Anos 2002/2003 e 2003/2004. Centro experimental Q^{ta} de S. João – Coto – Caldas da Rainha.

Legenda: ■ *A. craccivora* ■ *A. gossypii* ■ *A. ruborum* ■ *A. solani* ■ *M. euphorbiae*

4.1.4. Cultura de Tomate para indústria

Apresentam-se em seguida os resultados relativos à cultura de tomate para indústria conduzida segundo a óptica da protecção integrada.

As espécies de afídeos identificadas foram: *A. craccivora*; *A. fabae*; *A. gossypii*; *M. euphorbiae* e *M. persicae* (Quadro 5).

O afídeo *M. euphorbiae* foi o que se comportou como praga nos dois anos de amostragem, tendo sido aquele que registou o maior número de capturas em 2002 e 2003 (Quadro 5). *M. euphorbiae* é o afídeo que mais preocupa o produtor de tomate para indústria. Para além de formar populações muito elevadas nas folhas da cultura de tomate para indústria, alimenta-se com frequência junto aos cachos florais, o que pode induzir o seu abortamento e conseqüentemente levar á diminuição da produção. Assim, no início do aparecimento dos primeiros cachos florais e na plena floração, devemos estar muito atentos ao aparecimento desta espécie.

A. gossypii apareceu numa fase inicial da cultura, no mês de Junho (Fig. 16), contudo, não atingiu níveis populacionais elevados. Esta espécie foi identificada pela primeira vez nesta cultura, no decurso deste estudo, contudo, por norma, não forma populações muito elevadas, provavelmente devido a uma substância insecticida que é excretada pelas folhas desta cultura e que é tóxica para *A. gossypii* (Auclair, 1989).

As outras espécies identificadas, nomeadamente, *A. craccivora*, *A. fabae* e *M. persicae* foram capturadas em número muito reduzido, contudo, pareceu-nos pertinente o registo da sua presença nestes resultados, principalmente de *M. persicae*, que por vezes pode atingir valores mais elevados, o que foi verificado em observações posteriores a este estudo (Valério, não publicado).

Quadro 5 – Média de afídeos por folha e respectivo desvio padrão (média±desvio padrão). Tomate para indústria (em protecção integrada). Anos 2002 e 2003. Acr – *A. craccivora*; Af – *A. fabae*; Ag – *A. gossypii*; Me – *M. euphorbiae*; Mp – *M. persicae*. O zero (0) significa que não houve capturas dessa espécie de afídeo.

Ano	Acr	Af	Ag	Me	Mp
2002	0,004±0,014	0,004±0,014	0,281±0,759	4,665±7,753	0,004±0,014
2003	0	0	0,318±0,519	4,595±9,953	0

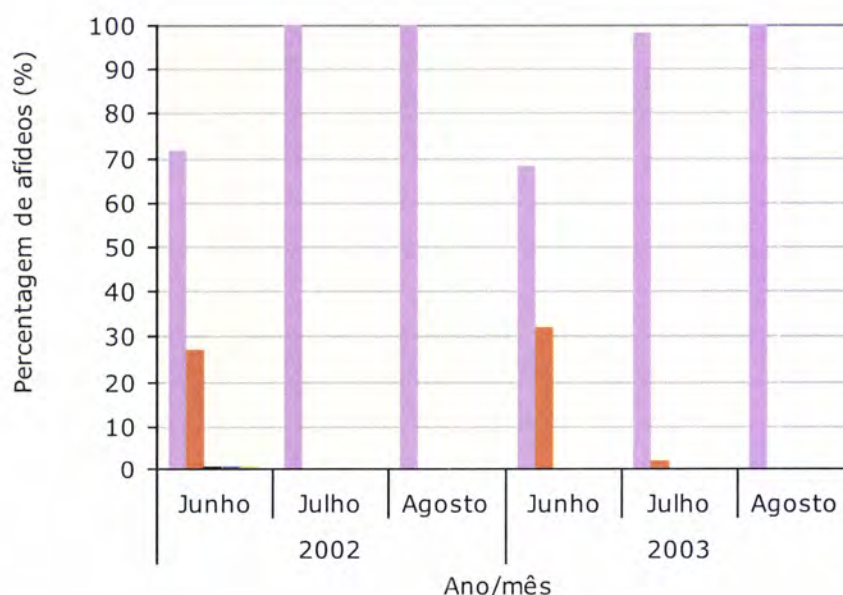


Figura 16 – Percentagem de afídeos identificados. Cultura de tomate para indústria em protecção integrada. Anos 2002 e 2003, meses de Junho, Julho e Agosto. Lezíria grande (V. Franca de Xira).
 Legenda: ■ *A. craccivora* ■ *A. fabae* ■ *A. gossypii* ■ *M. euphorbiae* ■ *M. persicae*

4.2. Listas de espécies de afídeos e respectivas plantas hospedeiras

Em seguida apresentam-se as listas: espécie de afídeo/planta hospedeira e planta hospedeira/espécie de afídeo.

Alguma desta informação foi parcialmente publicada em trabalhos anteriores, que foram desenvolvidos no âmbito deste estudo, nomeadamente: Valério *et al.*, 1999, 2004a,b,c, 2005a,b,c,d, 2006; 2007a,b).

As letras entre parêntesis significam o seguinte: (P) – Cultura Protegida; (AL) – Cultura de ar livre; (I) – Indústria.

Lista espécie de afídeo/planta hospedeira

Aphis craccivora Koch, 1854

Capsicum annuum L. (P) *

Fragaria vesca L. (P) *

Lycopersicon esculentum Miller (I) *

Aphis fabae Glover, 1877

Lycopersicon esculentum Miller (I) *

Aphis gossypii Glover, 1877

Capsicum annuum L. (P)

Fragaria vesca L. (P+AL) *

Lycopersicon esculentum Miller (I) *

Aphis ruborum (Borner, 1931)

Fragaria vesca L. (P+AL) *

Aulacorthum solani (Kaltenbach, 1843)

Capsicum annuum L. (P)

Fragaria vesca L. (P+AL) *

Macrosiphum euphorbiae (Thomas, 1878)

Capsicum annuum L. (P)

Fragaria vesca L. (P+AL) *

Lycopersicon esculentum Miller (I)

Myzus persicae (Sulzer, 1776)

Capsicum annuum L. (P)

Fragaria vesca L. (AL)

Lycopersicon esculentum Miller (I)

Pentatrachopus fragaefolii (Cockerell, 1901)

Fragaria vesca L. (AL)

* Novo hospedeiro vegetal referenciado para a espécie de afídeo.

Lista planta hospedeira/espécie de afídeo

***Capsicum annuum* L. (P)**

Aphis craccivora

Aphis gossypii

Aulacorthum solani

Macrosiphum euphorbiae

Myzus persicae

***Fragaria vesca* L. (P)**

Aphis craccivora

Aphis gossypii

Aphis ruborum

Aulacorthum solani

Macrosiphum euphorbiae

***Fragaria vesca* L. (AL)**

Aphis gossypii

Aphis ruborum

Aulacorthum solani

Macrosiphum euphorbiae

Myzus persicae

Pentatrachopus fragaefolii

***Lycopersicon esculentum* Miller (I)**

Aphis craccivora

Aphis fabae

Aphis gossypii

Macrosiphum euphorbiae

Myzus persicae

4.3. Influência dos parâmetros de natureza ambiental, espacial, temporal e fisiológica na comunidade de espécies de afídeos da cultura protegida de pimento

Os dois primeiros eixos do modelo base explicam 92,9 % da variação dos quais 81,3 % contribuiu o primeiro eixo e 11,6 % o segundo. A variância total associada a todas as variáveis explanatórias do modelo base (RDA) foi 30,5 %.

Deste modelo base obteve-se um modelo otimizado, com as variáveis explanatórias com maior impacto na comunidade das espécies de afídeos que foram as variáveis temperatura média (Tmed), Humidade relativa média (Hmed), estufa e semana, com valor significativo ($p < 0,05$, teste de Monte-Carlo). Os dois primeiros eixos da ordenação, deste modelo otimizado, explicam 95,8 % da variação dos quais 84,0 % contribuiu o primeiro eixo e 11,8 % o segundo.

Pela análise do diagrama de ordenação (Fig. 17) podemos observar que as variáveis explanatórias (semana, estufa, Tmed e Hmed), de uma forma geral, não manifestam muita influência nas espécies de afídeos, com excepção das populações de *A. solani* (A_As) que demonstram uma relação com a Humidade relativa média (Hmed), e que pode estar relacionado com o facto de esta espécie de afídeo se ter encontrado preferencialmente junto às aberturas laterais da estufa, onde a humidade relativa é mais baixa.

A variável estufa tem influência em algumas espécies de afídeos (Fig. 17), nomeadamente, *A. craccivora* (A_Cr) cujas populações foram encontradas preferencialmente na estufa 1 (Quadro 2), assim como as populações de *A. gossypii*, *M. persicae* e *M. euphorbiae*, que também apresentam uma distribuição desigual em cada uma das estufas, apesar de em menor escala.

Por outro lado, as espécies de afídeos *A. gossypii* (A_Ag) e *M. persicae* (A_Mp) apresentam uma correlação positiva forte ($p=0,000$, teste de Spearman), o que pode ser explicado por se encontrarem a alimentar preferencialmente na mesma estufa.

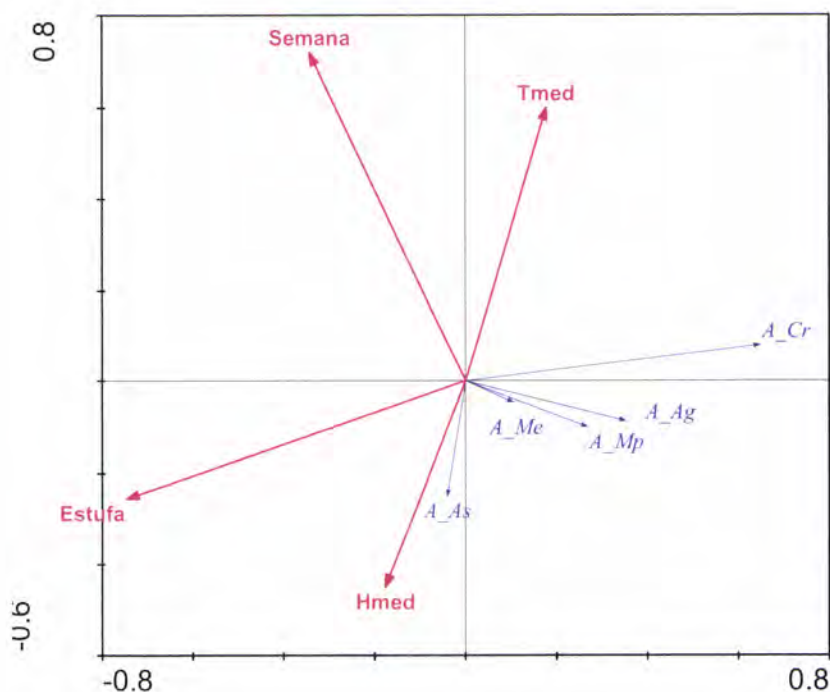


Figura 17 - Diagrama de ordenação resultante da análise de redundância (RDA) relacionada com o modelo optimizado associado à comunidade de afídeos. Espécies de afídeos (A_Cr - *A. craccivora*; A_Ag - *A. gossypii*; A_As - *A. solani*; e A_Me - *M. euphorbiae* e A_Mp - *M. persicae*) - a azul e as variáveis explanatórias de natureza ambiental (Tmed - temperatura média e Hmed - Humidade relativa média), espacial (estufa) e temporal (semana) - a vermelho.

O resultado da análise de redundância (RDA) foi confirmada pela “partição da variância” (Fig. 18), onde podemos confirmar a influência da variável estufa a qual apresenta uma variabilidade associada de 7,30 %, quase o mesmo valor que se obteve com as variáveis ambientais (Tmed e Hmed) e a variável temporal (semana).

Na selecção efectuada posteriormente, verificamos que 2,0 % da variabilidade está associada à temperatura média (Tmed) e Humidade relativa média (Hmed) ($p > 0,05$, teste de Monte-Carlo) e 2,4 % está associada à variável semana ($p > 0,05$, teste de Monte-Carlo), contudo, a intersecção representa 3,2 % da variabilidade, valor maior que o apresentado pelas variáveis temperatura, humidade e semana, individualmente (Fig. 18). Os valores obtidos com as variáveis temperatura (Tmed) e Humidade relativa média (Hmed) (2,0 %), e semana (2,4 %) são valores baixos pelo que estas variáveis demonstraram pouco impacto nas populações de afídeos. O valor

de 2,0 % deve-se principalmente à variável Humidade relativa média que está relacionada fundamentalmente com as populações do afídeo *A. solani*.

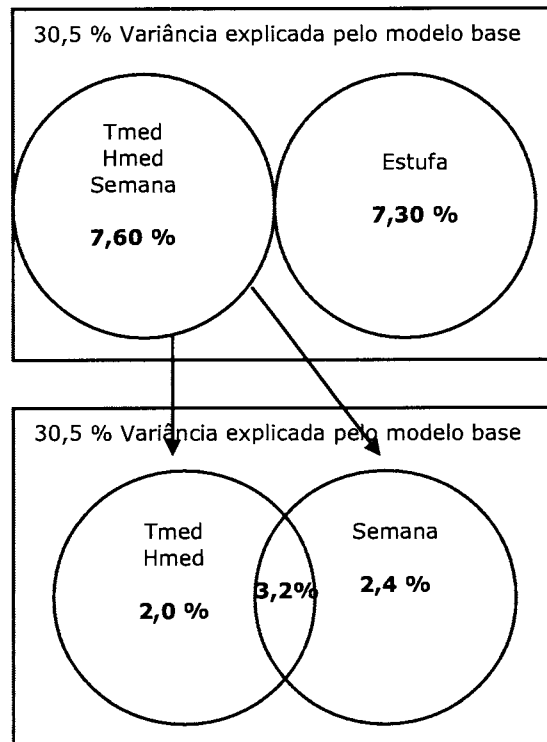


Figura 18 - "Partição da variância" associada às variáveis com maior influência na comunidade de afídeos, nomeadamente, variáveis ambientais (Temperatura média – Tmed e Humidade relativa média – Hmed), variáveis temporais (semana) e variáveis espaciais (estufa).

II - Parasitóides de afídeos nas culturas de pimento, morango e tomate

1. Introdução

O conhecimento das pragas potenciais que podem constituir um risco para as nossas culturas é tão importante como a necessidade de fazer um levantamento dos inimigos naturais dessas pragas, se possível, com identificação até à espécie. Os parasitóides são inimigos naturais que, em determinadas situações são muito eficazes na limitação das pragas de afídeos.

A correcta identificação dos parasitóides de afídeos exige a necessidade de recorrer a uma lupa binocular para os identificar, devido às suas pequenas dimensões, no entanto, esta informação é muito útil e permite seleccionar a espécie mais adequada a programas de luta biológica contra determinadas espécies de afídeos.

Os parasitóides de afídeos dividem-se em dois grupos, parasitóides primários (Afidííneos e Afelinídeos) e os parasitóides secundários (hiperparasitóides). Os parasitóides primários têm um papel muito importante na limitação das populações de afídeos em várias comunidades e ecossistemas agrícolas (Starý, 1970).

As populações de parasitóides primários podem no entanto ser reduzidas devido à presença de inimigos naturais, nomeadamente, predadores de afídeos, outros parasitóides primários, hiperparasitóides e fungos entomopatogénicos, e às condições ambientais que podem influenciar as populações de parasitóides e dos afídeos hospedeiros (Starý, 1987).

Os hiperparasitóides ou parasitóides secundários podem atingir níveis muito elevados em várias culturas, nomeadamente em cultura protegida de pimento (Valério *et al.*, 1999, 2004d) constituindo assim um factor limitativo à actividade dos parasitóides primários o que contribui para a diminuição das taxas de parasitismo.

No sentido de aumentar a informação disponível acerca deste grupo de insectos, apresentamos em seguida um estudo cujo objectivo foi contribuir para o conhecimento da diversidade de espécies, abundância e distribuição de parasitóides nas culturas protegidas de pimento e morango, cultura de morango de ar livre e cultura de tomate para indústria, culturas com importância económica na região do Ribatejo e Oeste. Apresentam-se listas espécie de parasitóide afidííneo – espécie de afídeo – planta hospedeira.

A cultura de pimento foi ainda objecto de estudo, no que diz respeito à análise da influência dos parâmetros de natureza biológica (espécies de afídeos), ambiental

(temperatura mínima, temperatura média e temperatura máxima e humidade relativa mínima, humidade relativa média e humidade relativa máxima), espacial (estufa 1 e estufa 2), temporal (ano, mês e semana) e fisiológica (estado fenológico) nas populações de parasitóides.

2. Aspectos gerais

2.1. Parasitóides primários e parasitóides secundários de afídeos

No grupo dos parasitóides primários, os Afidiíneos (Hymenoptera: Braconidae) formam a maior parte do espectro de parasitóides de afídeos (Wyatt, 1985). Em Portugal existem registos de taxas de parasitismo por afidiíneos da ordem dos 60% em cultura protegida de pimento (Valério *et al.*, 1999). Os parasitóides afidiíneos são endoparasitóides solitários especializados em afídeos (Kavallieratos *et al.*, 2001). No grupo Aphidiinae estão identificados cerca de 60 géneros e 400 espécies no mundo inteiro (Starý *et al.*, 1988).

Podem ainda ser encontrados a parasitar as espécies de afídeos das culturas hortícolas outros parasitóides primários, pertencentes à família Aphelinidae (Starý, 1987; Valério, 1999), contudo atingem, normalmente, níveis de parasitismo inferiores aos Afidiíneos (Valério, 1999), dependendo da espécie de afídeo que estão a parasitar.

Por outro lado, os parasitóides secundários ou hiperparasitóides têm normalmente um papel importante na regulação das populações de afídeos, principalmente porque limitam as populações de parasitóides primários (Sullivan & Van den Bosch, 1971; Sullivan, 1987, 1988; Starý, 1987; Holler *et al.*, 1991; Sullivan & Volkl, 1999; Van Veen *et al.*, 2001). A eficiência dos parasitóides primários como agentes de luta biológica é afectada por níveis elevados de hiperparasitismo (Sullivan, 1988, Holler *et al.*, 1991).

2.2. Parasitóides afidiíneos em Portugal

Em Portugal, os parasitóides de afídeos (afidiíneos) são objecto de estudo já há alguns anos, tendo sido apresentada a primeira lista em 1988 por Costa, à qual se seguiram actualizações e aditamentos (Cecílio, 1992, 1991-1995, 1995). Costa & Starý (1988) e Cecílio *et al.* (1994) apresentam ainda alguns estudos relativos à introdução de *L. testaceipes* em Portugal Continental e Starý *et al.* (1996) alarga esses estudos à ilha da Madeira, e completam a informação relativa a novas

espécies e novas relações tritróficas para esta ilha. Em 1996 (Vieira *et al.*) e 1998 (Cecílio *et al.*), enriquece-se para Portugal, a informação relativa às relações tritróficas na flora adventícia em pomares de pomóideas e em prunóideas. Em 1987, Gouveia & Araújo estudam os parasitóides dos afídeos dos cereais.

Contudo, a maior parte da informação acerca dos parasitóides de afídeos das culturas hortícolas começou a ser recolhida a partir de 1996 (Valério, 1997, 1999; Valério *et al.*, 1999, 2004a,b,c,d, 2005a,b,c,d, 2006, 2007a,b; Cecílio *et al.*, não publicado).

3. Material e métodos

3.1. Colheitas de amostras de afídeos parasitados e sua manipulação em laboratório

A metodologia de colheita de amostras e os locais de amostragem efectuaram-se de acordo com o que foi descrito no capítulo I (*vidé* material e métodos do cap. I).

Após a chegada ao laboratório as folhas foram separadas e procedeu-se à quantificação e identificação de múmias de afídeos (com e sem parasitóide emergido).

As múmias viáveis (com parasitóide não emergido) foram individualizadas em cápsulas de gelatina até à emergência dos parasitóides.

As folhas foram colocadas em caixas de emergência, que consistiam em caixas de plástico cobertas com tule, durante um período de 30 dias, após o qual se procedeu à quantificação das múmias presentes para rectificação do número total de afídeos parasitados.

Após a emergência dos parasitóides das múmias que se encontravam nas cápsulas de gelatina, parte foi fixada em álcool a 70 % e parte em álcool a 96 %, e procedeu-se à identificação e quantificação dos parasitóides (machos e fêmeas).

Sempre que foi necessário, para facilitar a identificação, procedeu-se à montagem dos parasitóides, de acordo com a metodologia descrita em Cecílio (1987): dos parasitóides conservados em álcool a 70% escolheram-se 5 a 10 espécimes, os quais foram colocados numa barra de cartão molhado com álcool a 20 % para facilitar, com o auxílio de dois alfinetes, a sua colocação na posição correcta (lado direito do tórax virado para baixo, asas distendidas e para cima, abdómen dobrado para baixo de modo a ser fácil a observação do propodeum e do tergito e as patas colocadas de modo a não impedirem a observação lateral do tergito); após a secagem do insecto nessa posição, cola-se na etiqueta pelo lado direito do tórax e identificou-se devidamente, com a

informação considerada útil (Local de colheita, data, colector; habitat; hospedeiro vegetal; espécie de afídeo hospedeira; número da amostra; espécie de parasitóide, nome do identificador e ano de identificação).

3.2. Luta biológica

Privilegiou-se a limitação natural sempre que possível, contudo, nas culturas protegidas de pimento e morango procedeu-se a largadas de auxiliares para limitar as populações de afídeos.

Na cultura protegida de pimento efectuaram-se largadas do parasitóide *Aphidius colemani* Viereck e do predador *Coccinella septempunctata* L., para limitar as populações de afídeos. O parasitóide *A. colemani* foi adquirido à empresa comercial Koppert e largado junto de colónias de *M. persicae* para limitar as suas populações. As múmias do parasitóide vinham acondicionadas em garrafas de 100 ml, as quais continham múmias misturadas com serradura. A distribuição efectuou-se uniformemente nas colónias da praga, tendo-se deixado no mínimo quatro a cinco múmias por planta. Os coccinelídeos da espécie *C. septempunctata* foram capturados em culturas de batateira que se situavam perto das estufas e largados na cultura de pimento para limitar as populações das espécies de afídeos *A. gossypii* e *A. craccivora*. Em cada planta infestada com afídeos distribuíram-se uniformemente os predadores, tendo-se largado duas joaninhas em cada estrato da planta atacada.

Na cultura protegida de morango, para limitar as populações de *A. gossypii* nas flores e frutos, libertaram-se duas espécies de predadores (coccinelídeos): *Harmonia axyridis* (Pallas), em 2002/2003 e *C. septempunctata* em 2003/2004. *H. axyridis* foi adquirida à empresa comercial Koppert. As larvas dos coccinelídeos (larvas) vinham acondicionadas em garrafas de plástico, com substrato de pipoca. A distribuição efectuou-se uniformemente nas plantas mais infestadas com afídeos, tendo sido largadas 2 larvas por planta. Por motivos alheios, a largada foi efectuada quase um mês após a data prevista. A selecção deste predador e a consequente aquisição foi devida a factores externos aos nossos objectivos e foi facilitada pela sua disponibilidade nas empresas comerciais, em detrimento de outros coccinelídeos, e por inicialmente se desconhecerem alguns dos seus efeitos indirectos.

C. septempunctata foi capturada em cultura de batata junto das estufas e, na distribuição utilizou-se o mesmo procedimento acima descrito para *H. axyridis*.

3.3. Análise estatística

O procedimento estatístico utilizado neste estudo foi semelhante ao referido no capítulo I (vidé material e métodos do cap. I), contudo, houve uma pequena alteração nas variáveis explanatórias analisadas, tendo sido estudadas as seguintes: variáveis espaciais (estufa 1 e estufa 2), temporais (semana e ano) e biológicas (espécies de afídeos).

4. Resultados e Discussão

4.1. Dinâmica das populações de afídeos e parasitismo associado nas culturas em estudo

4.1.1. Cultura protegida de pimento

As taxas de parasitismo foram baixas (quadro 1), apesar de se verificar a actividade dos parasitóides ao longo do ciclo da cultura nos 3 anos (Fig. 1). Em 2003, a evolução dos parasitóides acompanhou as populações de afídeos, no entanto, as populações da praga apresentaram sempre níveis muito baixos (Fig. 1).

O afídeo *M. persicae* foi o que apresentou a taxa de parasitismo mais elevada (Quadro 1), seguido de *M. euphorbiae*. A percentagem de parasitismo das outras espécies de afídeos, nomeadamente, *A. solani*, *A. gossypii* e *A. craccivora* foi baixa.

O parasitismo de *M. persicae* pode estar também relacionado com as largadas de *A. colemani* que se efectuaram nas colónias deste afídeo, desde o início da colonização, que juntamente com a limitação natural contribuíram para o aumento das suas taxas de parasitismo.

Por outro lado, os elevados níveis populacionais atingidos por *A. craccivora* podem estar relacionados, em parte, com o baixo parasitismo observado nesta espécie. Por outro lado, para limitar as populações de *A. craccivora* e *A. gossypii*, cuja taxa reprodutiva é muito elevada em cultura protegida de pimento, o parasitismo, normalmente, não é suficiente. A redução das populações de *A. craccivora* e *A. gossypii* está normalmente associada ao aumento das populações de predadores (Valério *et al.*, 2007a), assim, se a actividade dos predadores autóctones for reduzida, as largadas de predadores, nomeadamente, coccinelídeos, deverá ser tida em conta devido à sua eficácia a limitar estas espécies de afídeos (Valério *et al.*, 2007a).

Quadro 1 – Número de afídeos capturados por espécie e percentagem de parasitismo associado às espécies de afídeos. Cultura protegida de pimento. Anos 2002 a 2004. Ac – *A. craccivora*, Ag – *A. gossypii*, As – *A. solani*, Me – *M. euphorbiae* e Mp – *M. persicae*.

Espécie de afídeo	Ac	Ag	As	Me	Mp
Nº de afídeos capturados (vivos+parasitados)	7276	2678	1216	1147	3966
Nº de afídeos parasitados	42	174	168	266	946
Percentagem de parasitismo	0,58 %	6,50 %	13,82 %	23,19 %	23,85 %

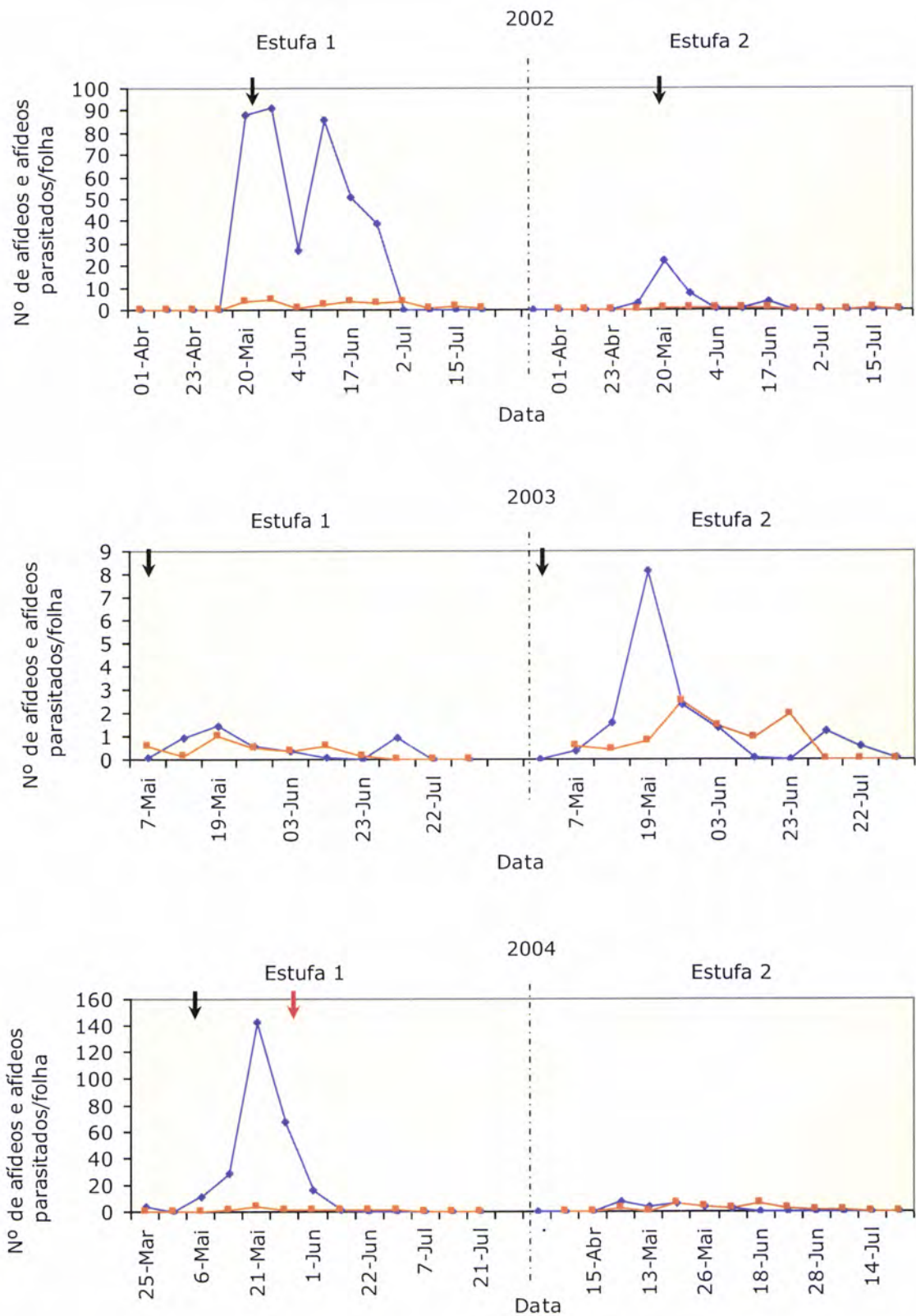


Figura 1 – Número de afídeos por folha (azul) e número de afídeos parasitados (múmia) por folha (laranja) em duas estufas de cultura protegida de pimento. Anos 2002, 2003 e 2004. As setas pretas indicam largadas de *A. colemani* e a seta vermelha indica a largada do predador *Coccinella septempunctata*.

4.1.2. Cultura de morango de ar livre

A evolução dos parasitóides acompanhou as populações de afídeos, nos anos 2003 e 2004, tendo sido excepção do ano 2002, na parcela 2 (Fig. 2).

As taxas de parasitismo mais elevadas verificaram-se nos afídeos *M. persicae* e *A. solani*, contudo estes afídeos formaram populações muito baixas (Quadro 2). Por outro lado, *A. ruborum* apresentou o maior número de capturas e a menor taxa de parasitismo, o que vem de encontro ao que foi exposto anteriormente para a cultura de pimento, em que se verificou que os afídeos com taxas reprodutivas muito elevadas e que desenvolvem populações muito elevadas apresentam taxas de parasitismo mais baixas, o que foi verificado também em trabalhos anteriores (Valério *et al.*, 2007a,b).

Quadro 2 – Número de afídeos capturados e percentagem de parasitismo associado às espécies de afídeos. Cultura de morango de ar livre. Anos 2002 a 2004. Ag – *A. gossypii*, Ar – *A. ruborum*, As – *A. solani*, Me – *M. euphorbiae*, Mp – *M. persicae* e Pf – *Pentatrichopus fragaefolii*.

Espécie de afídeo	Ag	Ar	As	Me	Mp	Pf
Nº de afídeos capturados (vivos+parasitados)	725	1828	35	927	10	923
Nº de afídeos parasitados	254	181	32	164	10	0
Percentagem de parasitismo	35,03%	9,90%	91,43%	17,69%	100	0

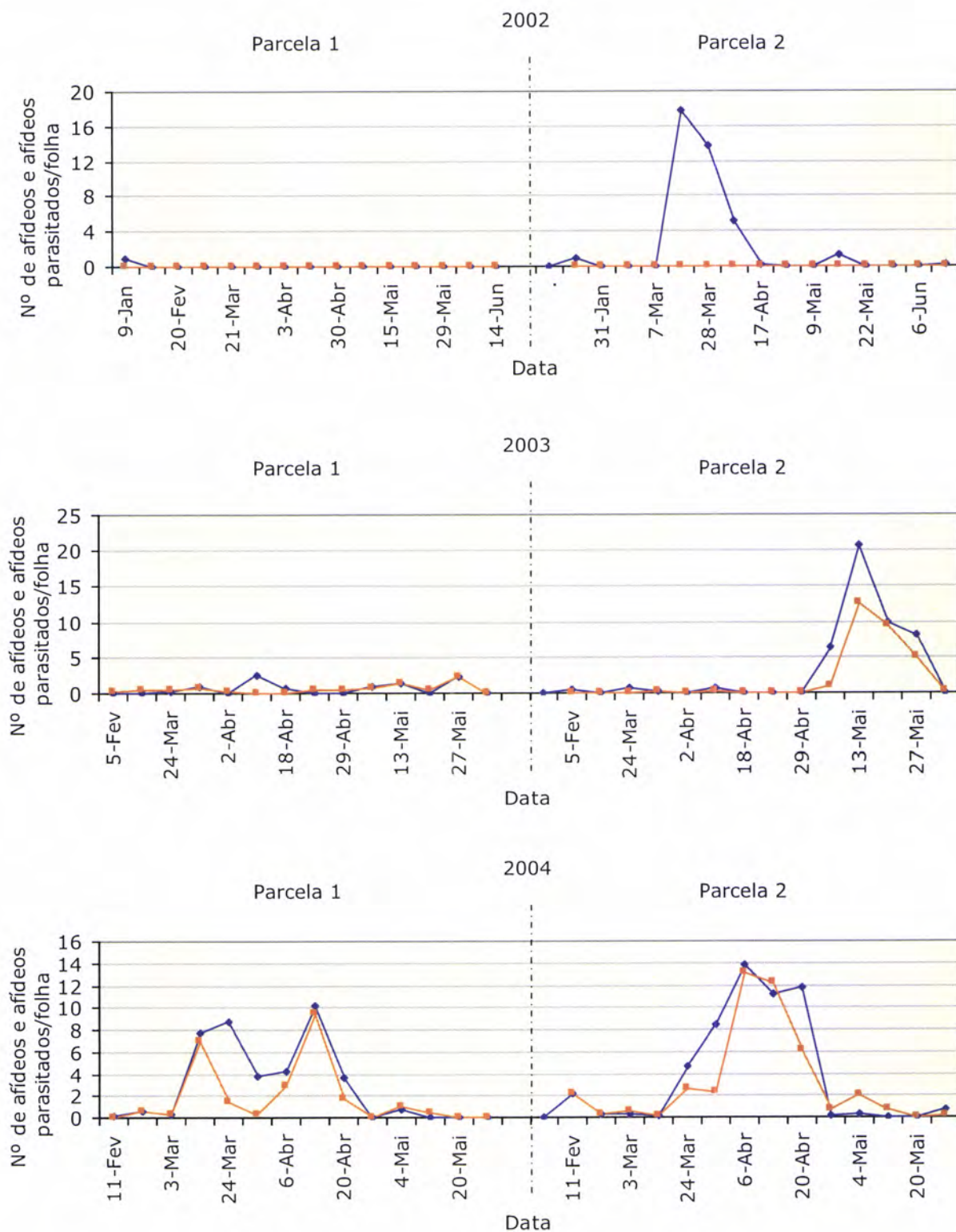


Figura 2 – Número de afídeos por folha (azul) e número de afídeos parasitados (múmiás) por folha (laranja). Parcela 1 e parcela 2. Cultura de morango de ar livre. Anos 2002, 2003 e 2004.

4.1.3. Cultura protegida de morango

As taxas de parasitismo foram muito baixas na cultura protegida de morango (Quadro 3). Apenas se verificou parasitismo de *A. gossypii* e *A. ruborum*, os quais formaram populações muito elevadas, ao contrário dos parasitóides associados que por sua vez não acompanharam a evolução das populações destas espécies de afídeos (Fig. 3) tendo sido a actividade dos parasitóides ineficaz na limitação da praga. Dois aspectos parecem ter contribuído para esta ineficácia, por um lado, o facto de os parasitóides serem em número insuficiente para populações tão elevadas de afídeos e por outro porque houve um desfazamento entre a colonização da praga e o aparecimento dos parasitóides tal como se observou também noutros estudos (Ferreira, 1998), o que pode ser devido, muitas vezes, à inexistência de abrigos e locais de hibernação junto da cultura (Ferreira, 1998; Ramos, 2006).

As largadas de predadores coccinelídeos, nomeadamente, *H. axyridis* no ano 2002/2003 e de *C. septempunctata* no ano 2003/2004 (Fig. 3), que se efectuaram na estufa 1, parecem ter apresentado uma melhor alternativa no combate às espécies de afídeos praga, verificando-se uma redução dos níveis da praga para valores mais baixos. A eficácia dos coccinelídeos na limitação de elevados níveis de afídeos foi comprovada em várias culturas (Ferrari & Nicoli, 1994; Obrycki, 1998; Triltsch, 1999; Minoretti, 2000; Evans, 2003), incluindo a cultura de morangueiro (Valério, 2004a, 2007b). No entanto, as largadas efectuadas não foram suficientes para evitar prejuízos na cultura, tendo contribuído para isso a sua realização quando as colónias de afídeos já se encontravam instaladas, por motivos alheios aos nossos objectivos. No entanto, consideramos que é uma opção a considerar porque os predadores demonstraram, noutros estudos, ser os auxiliares mais adequados para controlar colónias muito densas, características de *A. gossypii*, o afídeo alvo na cultura protegida de morango (Ramakers, 1989; Cross *et al.*, 2001).

Na estufa 2 (2002/2003 e 2003/2004) não efectuámos qualquer intervenção em termos de meios de luta biológica ou química, tendo-se privilegiado a luta cultural pela remoção de folhas velhas.

Quadro 3 – Número de afídeos capturados e percentagem de parasitismo associado às espécies de afídeos. Cultura protegida de morango. Anos 2002/2003 e 2003/2004. Acr – *A. craccivora*, Ag – *A. gossypii*, Ar – *A. ruborum*, As – *A. solani* e Me – *M. euphorbiae*.

Espécie de afídeo	Acr	Ag	Ar	As	Me
Nº de afídeos capturados (vivos+parasitados)	2	13225	2839	4	112
Nº de afídeos parasitados	0	575	148	0	0
Percentagem de parasitismo	0	4,35 %	5,21 %	0	0

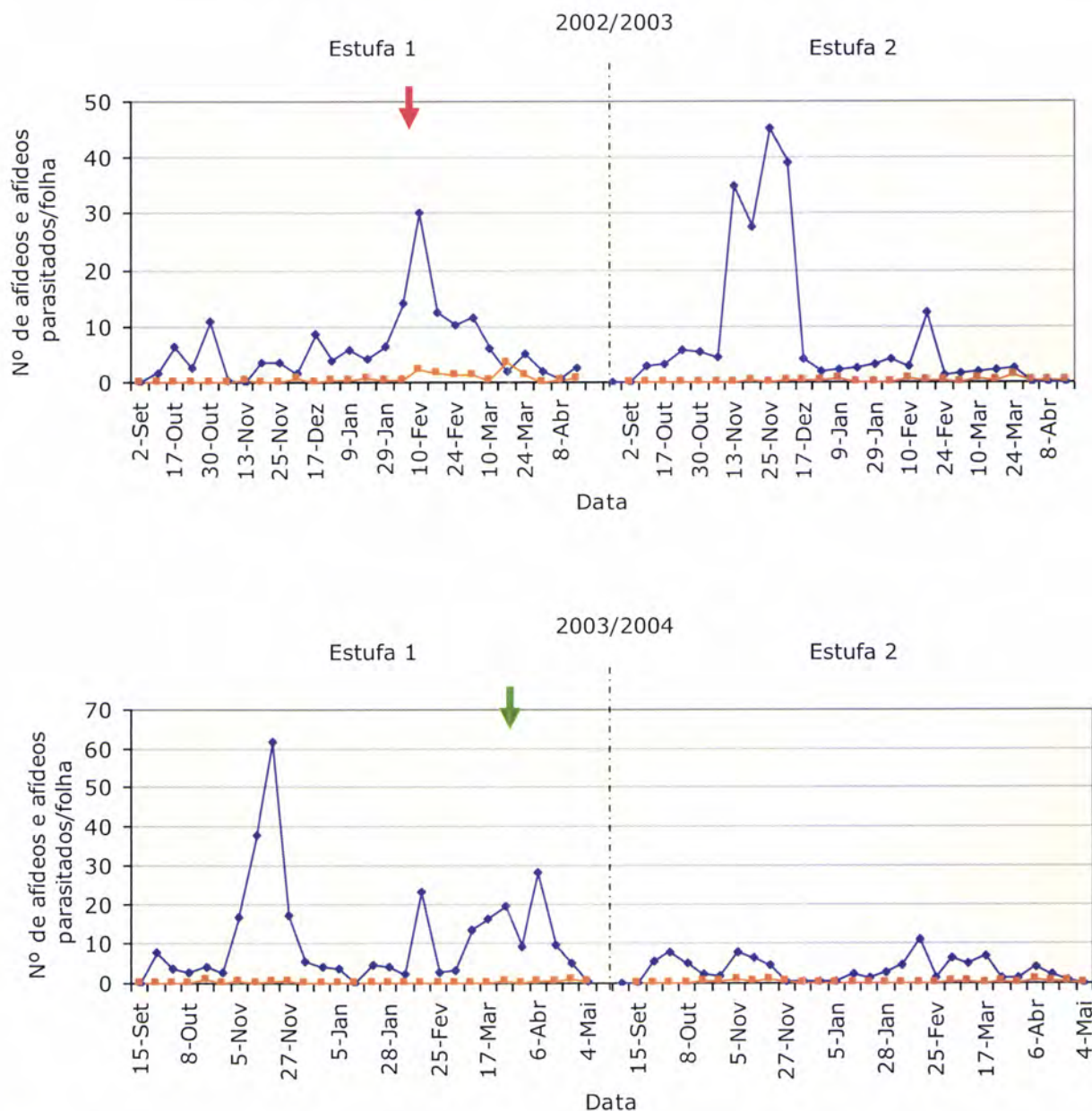


Figura 3 – Número de afídeos por folha (azul) e número de afídeos parasitados (múmias) por folha (laranja). Estufa 1 e estufa 2. Cultura protegida de morango. Anos 2002/2003 e 2003/2004. A seta vermelha indica a largada do predador *H. axyridis* e a seta verde indica a largada do predador *C. septempunctata*.

4.1.4. Cultura de tomate para indústria

Na cultura de tomate para indústria apenas se verificou parasitismo de *A. gossypii*, com níveis muito baixos e de *M. euphorbiae*, que foi o afídeo que atingiu populações mais elevadas (Quadro 4).

A actividade dos parasitóides não se manteve desde o início do aparecimento das primeiras colónias de afídeos, tendo-se verificado um aumento das taxas de parasitismo quando as populações de afídeos começaram a aumentar, contudo, não conseguiram evitar um aumento das populações de afídeos, que se verificou na mesma altura nos dois anos (Fig. 4). Este pico de afídeos está relacionado com o aumento dos níveis populacionais de *M. euphorbiae* que se verificaram na altura da floração.

Quadro 4 – Número de afídeos capturados e percentagem de parasitismo associada às espécies de afídeos. Cultura de tomate para indústria. Anos 2002 e 2003. Acr – *A. craccivora*, Af – *A. fabae*, Ag – *A. gossypii*, Me – *M. euphorbiae* e Mp – *M. persicae*.

Espécie de afídeo	Acr	Af	Ag	Me	Mp
Nº de afídeos capturados (vivos+parasitados)	2	3	164	3126	2
Nº de afídeos parasitados	0	0	1	880	0
Percentagem de parasitismo	0	0	0,61 %	28,15 %	0

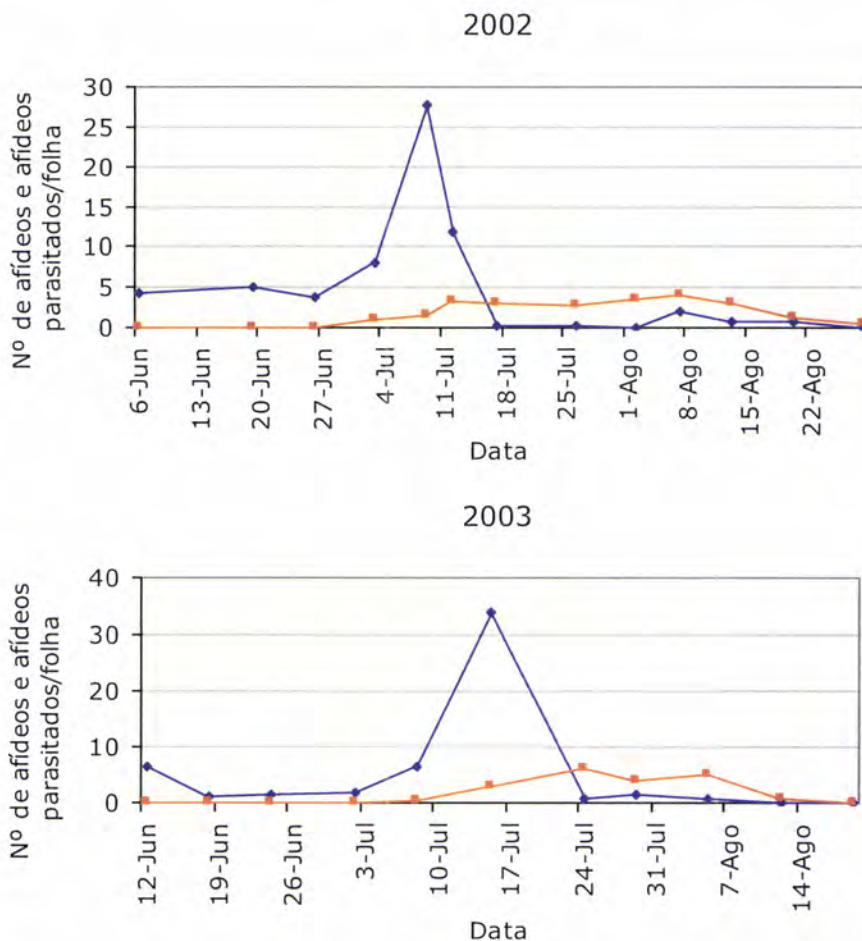


Figura 4 – Número de afídeos por folha (azul) e número de afídeos parasitados (múmiás) por folha (laranja). Cultura de tomate para indústria. Anos 2002 e 2003.

4.2. Abundância e distribuição das espécies de parasitóides

4.2.1. Cultura protegida de pimento

Identificaram-se oito espécies de parasitóides (Quadro 5), nomeadamente, *Aphidius colemani* Viereck, *Aphidius ervi* Haliday, *Aphidius matricariae* Haliday, *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson), *Praon gallicum* Starý, *Praon volucre* (Haliday), *Trioxys angelicae* (Haliday), *Aphidius* sp. e *Ephedrus* sp.. O parasitóide *P. gallicum* foi identificado pela primeira vez em Portugal.

A maior diversidade de espécies de parasitóides foi registada em 2002, na estufa 1 (Quadro 5; Fig. 5).

Quadro 5 – Número e percentagem de parasitóides primários e secundários, emergidos de múmias recolhidas no campo. Cultura protegida de pimento. Anos 2002, 2003 e 2004. Estufas 1 e 2. * Percentagem de parasitóides por espécie.

Espécies de afídeos/ espécies de parasitóides	Estufa 1						Estufa 2					
	2002	%*	2003	%*	2004	%*	2002	%*	2003	%*	2004	%*
<i>Myzus persicae</i>												
Parasitismo primário												
Braconidae (Aphidiinae)												
<i>A. colemani</i>	17	9,04	1	6,25	0	-	0	-	0	-	63	56,76
<i>A. ervi</i>	56	29,79	0	-	0	-	0	-	0	-	2	1,80
<i>A. matricariae</i>	26	13,83	2	12,50	1	33,33	6	31,58	0	-	18	16,22
<i>P. gallicum</i>	9	4,79	1	6,25	0	-	5	26,32	0	-	2	1,80
<i>P. volucre</i>	1	0,53	0	-	0	-	0	-	1	100	0	-
<i>T. angelicae</i>	1	0,53	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
<i>Aphidius</i> sp.	2	1,06	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
<i>Ephedrus</i> sp.	1	0,53	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Aphelinidae	3	1,60	0	-	0	-	5	26,32	0	-	0	-
Parasitismo secundário	72	38,30	12	75	2	66,67	3	15,79	0	-	26	23,42
<i>Aphis gossypii</i>												
Parasitismo primário												
Braconidae (Aphidiinae)												
<i>A. colemani</i>	1	6,25	0	-	33	55	0	-	0	-	0	-
<i>A. matricariae</i>	4	25	0	-	1	1,67	0	-	0	-	1	20
<i>L. testaceipes</i>	2	12,50	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Aphelinidae	2	12,50	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Parasitismo secundário	7	43,75	12	100	26	43,33	0	-	0	-	4	80
<i>Aphis craccivora</i>												
Parasitismo primário												
Braconidae (Aphidiinae)												
<i>A. colemani</i>	0	-	0	-	4	100	0	-	2	100	0	-
Aphelinidae	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Parasitismo secundário	1	100	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
<i>Aulacorthum solani</i>												
Parasitismo primário												
Braconidae (Aphidiinae)												
<i>A. colemani</i>	0	-	0	-	0	-	1	14,29	0	-	0	-
<i>A. ervi</i>	0	-	0	-	0	-	6	85,71	2	5,26	0	-
<i>A. matricariae</i>	35	97,22	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
<i>P. volucre</i>	0	-	2	28,57	0	-	0	-	8	21,05	0	-
Aphelinidae	0	-	1	14,29	0	-	0	-	0	-	0	-
Parasitismo secundário	1	2,78	4	57,14	0	-	0	-	28	73,68	0	-
<i>Macrosiphum euphorbiae</i>												
Parasitismo primário												
Braconidae (Aphidiinae)												
<i>A. colemani</i>	0	-	0	-	0	-	1	14,29	0	-	0	-
<i>A. ervi</i>	2	33,33	0	-	6	21,43	6	85,71	0	-	0	-
<i>P. volucre</i>	0	-	1	14,29	1	3,57	0	-	0	-	0	-
Aphelinidae	2	33,33	0	-	1	3,57	0	-	0	-	1	14,29
Parasitismo secundário	2	33,33	6	85,71	20	71,43	0	-	0	-	6	85,71

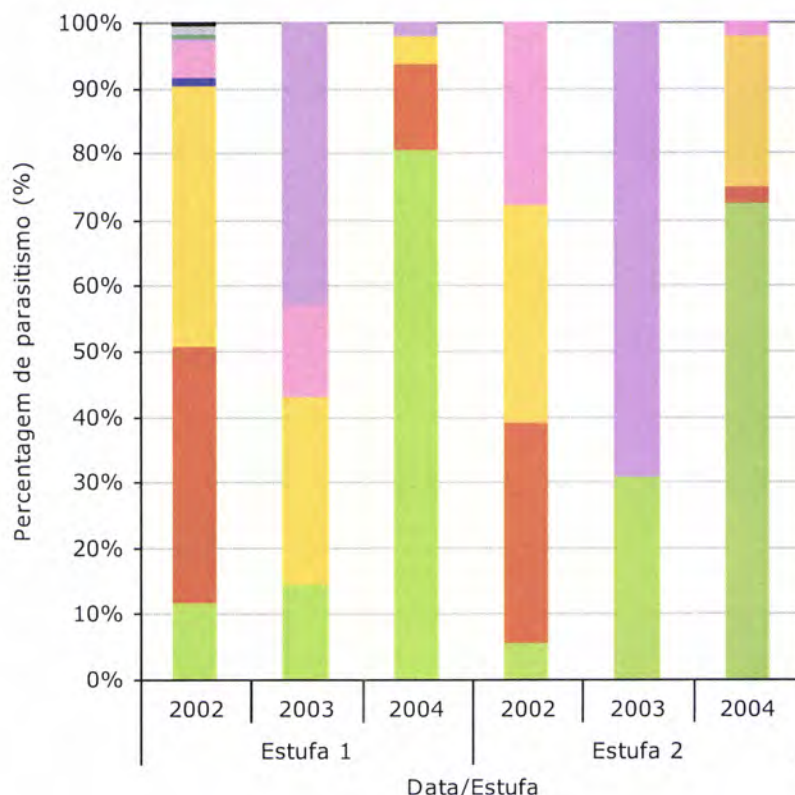


Figura 5 – Percentagem de parasitóides primários (afidiíneos), por espécie. Cultura protegida de pimento. Anos 2002, 2003 e 2004. Estufa 1 e Estufa 2. *Ac* – *A. colemani*; *Ae* – *A. ervi*; *Am* – *A. matricariae*; *Pv* – *P. volucre*; *Pg* – *P. gallicum*; *Ta* – *T. angelicae*; *Lt* – *L. testaceipes*; *A. sp.* – *Aphidius sp.* e *E. sp.* – *Ephedrus sp.*

Legenda: ■ *Ac* ■ *Ae* ■ *Am* ■ *Pv* ■ *Pg* ■ *Ta* ■ *Lt* ■ *A. sp.* ■ *E. sp.*

M. persicae foi o afídeo que apresentou mais espécies de parasitóides a parasitá-lo (Quadro 5), o que, também pode explicar o facto de ter apresentado as taxas de parasitismo mais elevadas. As largadas de *A. colemani*, que se efectuaram nas colónias de *M. persicae*, também podem ter contribuído para o aumento do parasitismo desta espécie de afídeo. No entanto, em 2002, *A. colemani* apresenta uma baixa percentagem de emergências, na ordem dos 9% quando comparado com outras espécies como, *A. ervi* com 29,79 % e *A. matricariae* com 13,83 % (Quadro 5), o que pode ser, em parte, explicado pelo facto das largadas de *A. colemani* terem ocorrido quando o afídeo *M. persicae* estava instalado e em reprodução e provavelmente as outras espécies de parasitóides já se encontravam estabelecidas a parasitar este afídeo. Por outro lado, em 2004, *A. colemani* atingiu níveis superiores a 50 %, contudo, neste ano as largadas efectuaram-se quando as populações de *M. persicae* se encontravam, no início, em níveis baixos.

Tal como verificado em trabalhos anteriores (Valério *et al.*, 2007a), com baixos níveis populacionais de afídeos, o parasitismo parece ser a melhor opção a considerar. Na região onde se efectuou o presente trabalho, a actividade dos parasitóides autóctones não se revelou suficiente para limitar as populações de *M. persicae* desde o início e foi necessário recorrer à largada de parasitóides.

O parasitóide *A. colemani* tem demonstrado eficácia a parasitar as espécies de afídeos na cultura de pimento (Rabasse *et al.*, 1983; Gilkeson, 1990; Schelt, 1990; Wick, 1992; Domagala, 1992; van Steenis & El-khawass, 1996; Sampaio *et al.*, 2001a; Valério *et al.*, 1999, 2005a). A eficácia de *A. colemani* pode estar relacionada com o facto de este parasitóide demonstrar preferência por afídeos de maiores dimensões dentro de uma população, assim, ao atacar adultos em reprodução, *A. colemani* mata afídeos que têm o maior efeito nas taxas de crescimento das populações da praga de afídeos (Lin & Ives, 2003).

As taxas de parasitismo por *A. colemani*, atingem níveis elevados em *M. persicae*, contudo, o mesmo também pode acontecer noutras espécies de afídeos, nomeadamente *A. gossypii*, como se verificou em 2004 (Quadro 5). De facto, *A. colemani* demonstra muitas vezes preferência pelo afídeo *A. gossypii* (Wellings *et al.*, 1994; Messing & Rabasse, 1995; Sampaio *et al.*, 2001b), e pode ser utilizado em programas de luta biológica para combater esta espécie de afídeo, no entanto, o sucesso de uma largada de *A. colemani* para combater *A. gossypii* está relacionado com a altura em que é feita que deve ser antes do estabelecimento e reprodução deste afídeo por possuir taxas de reprodução muito elevadas (van Steenis & El-khawass, 1996; Jacobson & Croft, 1998).

O parasitóide *A. matricariae* também revelou a sua contribuição para a limitação das espécies de afídeos da cultura protegida de pimento, principalmente no combate ao afídeo *M. persicae*, onde o parasitismo por este parasitóide se verificou nos três anos de realização deste estudo (Quadro 5). *A. matricariae* é referido em alguns trabalhos como um dos principais parasitóides de *M. persicae* (Wick, 1992; Domagala, 1992).

Os parasitóides do género *Aphidius* sp. foram os que emergiram em maior número das múmias recolhidas no campo, tendo-se seguido os do género *Praon* sp., contudo, com níveis populacionais muito inferiores aos primeiros (Quadro 5, Fig. 6). Sullivan & van den Bosch (1971) em cultura de batata também verificaram que o género *Aphidius* sp. era dominante. No género *Praon* sp., *P. volucre* foi o parasitóide com maior número de emergências, contudo, os maiores níveis populacionais deste parasitóide

verificaram-se no ano 2003, no qual não se registou um padrão normal em termos de diversidade de espécies de afídeos e parasitóides, pelas razões referidas anteriormente.

As espécies de parasitóides identificadas diferem, em proporção, das encontradas, no mesmo local, em 1998 (Valério *et al.*, 1999), principalmente no que diz respeito ao facto de *T. angelicae* e *L. testaceipes* ocuparem o 2º e 3º lugar em termos de taxa de parasitismo, nesse ano, enquanto no presente estudo apenas tiveram uma presença residual no ano 2002. Relativamente à informação anterior mantém-se o parasitóide *A. colemani* como espécie dominante. As elevadas percentagens de parasitismo que se podem observar em diferentes espécies de afídeos pode estar relacionada com o facto de *A. colemani* possuir uma ampla gama de espécies de afídeos hospedeiras o que constitui uma vantagem sobre aqueles com uma gama de hospedeiros restrita, porque eles podem mudar as espécies hospedeiras, quando um determinado hospedeiro se torna difícil encontrar (Ode *et al.*, 2005).

Os parasitóides *T. angelicae*, *L. testaceipes*, *Ephedrus* sp. e *Aphidius* sp. representaram uma pequena fracção do número total de indivíduos desta comunidade, registando-se um número bastante reduzido de efectivos ao longo do período de estudo.

Em 1996 *L. testaceipes* foi o parasitóide primário que originou níveis mais elevados de parasitismo, seguido de *T. angelicae* e mais raramente *Aphidius* sp.. Cecílio *et al.* (1994) consideraram *L. testaceipes* a espécie dominante a parasitar afídeos do género *Aphis* em Portugal, e *L. fabarum* e *T. angelicae* foram referidas como as espécies de parasitóides primários que mais frequentemente entravam em competição com *L. testaceipes* para parasitar o género *Aphis*. Ao contrário do que aconteceu nos anos em que decorreu o presente estudo em que os parasitóides do género *Aphidius* sp. demonstraram serem dominantes, não só a parasitar afídeos do género *Aphis* sp., nomeadamente, *A. gossypii* e *A. craccivora*, mas também *M. persicae*, *A. solani* e *M. euphorbiae*. Por outro lado, neste estudo, níveis de parasitismo secundário (hiperparasitismo) foram bastante elevados o que pode ter contribuído para os reduzidos níveis populacionais de *L. testaceipes*, no qual o efeito dos hiperparasitóides tem impacto bastante elevado (Chen *et al.*, 2006).

O parasitóide *P. gallicum* foi identificado pela primeira vez para Portugal e tem sido encontrado, normalmente, a parasitar os afídeos dos cereais (El-Serafy, 1999; Adisu *et al.*, 2002; Gassen, 2002; Kavallieratos, 2005).

Também foi identificado parasitismo primário por afelinídeos e parasitismo secundário por hiperparasitóides (Quadro 5; Fig. 6).

As espécies de hiperparasitóides que emergiram em laboratório, das múmias recolhidas no campo foram: *Alloxysta* Forster, *Syrphophagus aphidivorus* Mayr e *Asaphes vulgaris* Walker.

Em trabalhos realizados anteriormente (Valério *et al.*, 2004d) a fauna de hiperparasitóides em cultura protegida de pimento foi mais diversificada, tendo-se registado a presença dos géneros *Asaphes* sp., *Dendrocerus* sp., *Phaenoglyphis* sp., *Syrphophagus* sp., *Alloxysta* sp. e *Pachyneuron* sp.

A percentagem de hiperparasitismo foi elevada, tendo atingido mais de 70% nos anos 2002 (estufa 1) e 2003 (estufa 1 e 2) e mais de 30% em 2004. A única exceção foi a estufa 2 no ano 2002, que apresentou níveis baixos (Fig. 7).

Nesta região, em cultura protegida de pimento têm vindo a ser observadas taxas de parasitismo secundário bastante elevadas, as quais atingiram 82 %, em 1996 (Valério *et al.*, 1999) e 48 % em 1998 (Valério, 1999). Percentagens elevadas de hiperparasitismo foram também observadas noutros locais (Sullivan & Van den Bosch, 1971). Van Veen *et al.* (2002) referiram taxas de parasitismo secundário na ordem dos 60 %.

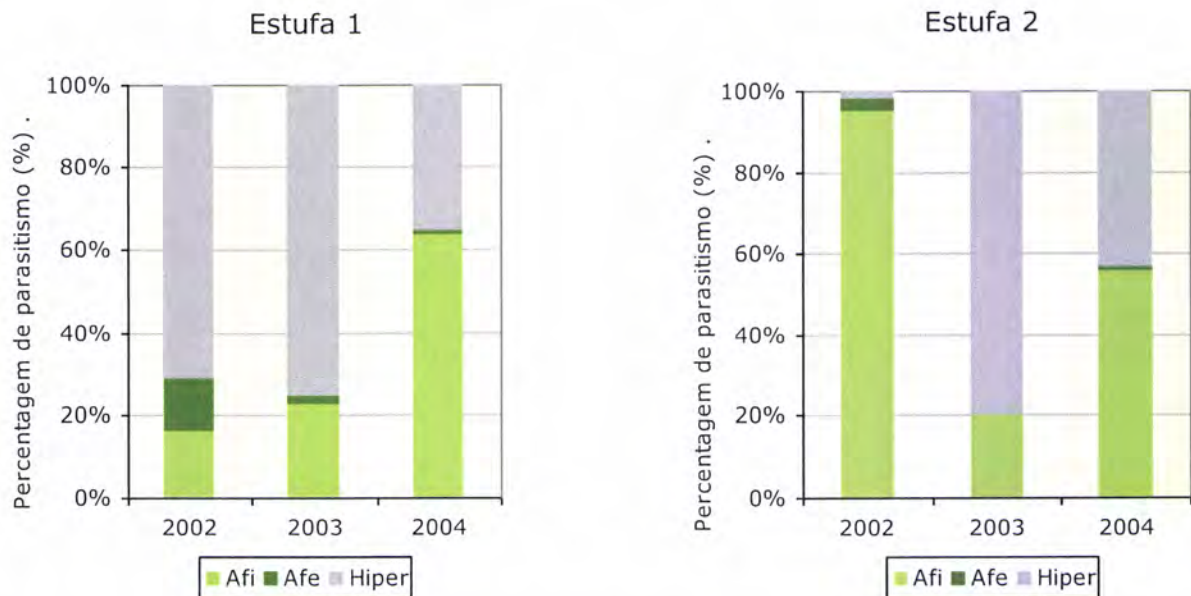


Figura 6 – Percentagem de parasitismo primário e secundário. Cultura protegida de pimento. Estufa 1 e estufa 2. Anos 2002, 2003 e 2004. Parasitóides primários: Afi – Afidiíneos; Afe – Afelinídeos; Parasitóides secundários: Hiper – Hiperparasitóides.

4.2.2. Cultura de morango de ar livre

Nesta cultura identificaram-se os seguintes parasitóides afidiíneos: *A. colemani*, *A. ervi*, *A. matricariae*, *L. testaceipes*, *T. angelicae* e *Aphidius* sp. (Quadro 6, Fig. 7).

As taxas de parasitismo atingiram níveis baixos nesta cultura, contudo foi no ano 2004, na parcela 2, onde se registaram maiores índices de parasitismo primário, principalmente pelo parasitóide *A. colemani*. A maior diversidade de espécies de parasitóides foi registada também em 2004 (Fig. 7), o que pode estar relacionado com o facto de se ter alterado o modo de produção de convencional para produção integrada e neste terceiro ano de estudos já haver um maior equilíbrio no ecossistema.

O parasitismo primário pelas outras espécies identificadas apresentou níveis baixos, contudo, as espécies *L. testaceipes* e *T. angelicae* mantiveram-se em actividade a parasitar os afídeos *A. gossypii* e *A. ruborum*, respectivamente. *A. gossypii* é um hospedeiro comum de *L. testaceipes* (Valério *et al.*, 1999). Este parasitóide foi encontrado também, com frequência, a parasitar *A. ruborum* em *rubus* sp. (Pons *et al.*, 2004).

Nesta cultura o parasitóide *A. ervi* apresentou uma taxa de parasitismo superior nas espécies de afídeos *A. solani* e *M. euphorbiae*, relativamente a outros afídeos. Na Europa, *A. ervi* tem sido observado com frequência a parasitar estas espécies de afídeos (Takada & Tada, 2000).

O parasitismo primário por afelinídeos atingiu níveis baixos, contudo, o afídeo que apresentou taxas de parasitismo, por afelinídeos, mais elevadas, foi *M. euphorbiae*, no ano 2003, o que acontece com frequência nesta espécie de afídeo (Valério *et al.*, 2006).

Por outro lado, o parasitismo secundário por hiperparasitóides atingiu níveis elevados, à semelhança do que aconteceu na cultura protegida de pimento, tendo emergido mais de 40 % de hiperparasitóides das múmias (afídeos parasitados) de *A. gossypii* e *A. ruborum* no ano 2004 e acima de 60 % no ano 2003, no afídeo *M. euphorbiae* (Quadro 6).

Quadro 6 – Número e percentagem de parasitóides primários e secundários, emergidos de múmiás recolhidas no campo. Cultura de morango de ar livre. Anos 2002, 2003 e 2004. Parcelas 1 e 2. * Percentagem de parasitóides por espécie.

Espécies de afídeos/ espécies de parasitóides	Parcela 1						Parcela 2					
	2002	%*	2003	%*	2004	%*	2002	%*	2003	%*	2004	%*
<i>Aphis gossypii</i>												
Parasitismo primário												
Braconidae (Aphidiinae)												
<i>A. colemani</i>	0	-	0	-	7	46,67	0	-	0	-	24	33,80
<i>A. ervi</i>	0	-	0	-	0	-	0	-	1	100	0	-
<i>A. matricariae</i>	0	-	0	-	7	46,67	0	-	0	-	4	5,63
<i>L. testaceipes</i>	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	9	12,68
<i>T. angelicae</i>	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	2	2,82
<i>Aphidius</i> sp.	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	1	1,41
Aphelinidae	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Parasitismo secundário	0	-	0	-	1	6,67	0	-	0	-	31	43,66
<i>Aphis ruborum</i>												
Parasitismo primário												
Braconidae (Aphidiinae)												
<i>A. colemani</i>	0	-	0	-	1	10	0	-	0	-	14	21,54
<i>A. ervi</i>	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	2	3,08
<i>A. matricariae</i>	0	-	0	-	2	20	0	-	0	-	1	1,54
<i>L. testaceipes</i>	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	13	20
<i>T. angelicae</i>	0	-	0	-	1	10	0	-	0	-	7	10,77
<i>Aphidius</i> sp.	0	-	0	-	3	30	0	-	0	-	0	-
Aphelinidae	0	-	2	100	0	-	0	-	0	-	0	-
Parasitismo secundário	0	-	0	-	3	30	0	-	1	100	28	43,08
<i>Aulacorthum solani</i>												
Parasitismo primário												
Braconidae (Aphidiinae)												
<i>A. ervi</i>	0	-	6	100	0	-	2	100	1	12,50	0	-
Aphelinidae	0	-	0	-	0	-	0	-	1	12,50	0	-
Parasitismo secundário	0	-	0	-	0	-	0	-	6	75	0	-
<i>Macrosiphum euphorbiae</i>												
Parasitismo primário												
Braconidae (Aphidiinae)												
<i>A. ervi</i>	0	-	5	23,81	3	60	0	-	4	33,33	8	66,67
<i>Aphidius</i> sp.	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	1	8,33
Aphelinidae	0	-	3	14,29	0	-	0	-	4	33,33	2	16,67
Parasitismo secundário	0	-	13	61,90	2	40	0	-	4	33,33	1	8,33
<i>Myzus persicae</i>												
Parasitismo primário												
Braconidae (Aphidiinae)												
<i>A. matricariae</i>	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	2	100
Aphelinidae	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Parasitismo secundário	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-

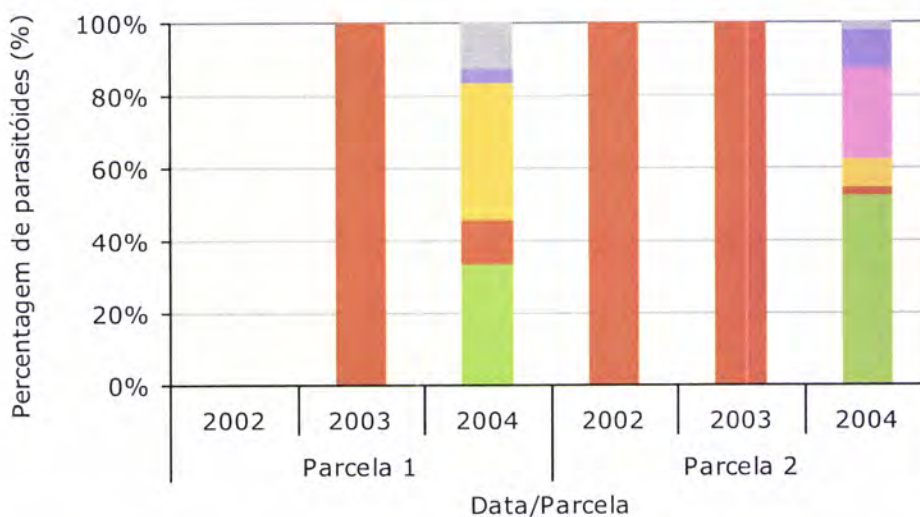


Figura 7 – Percentagem de parasitóides primários (afidiíneos) por espécie. Cultura de morango de ar livre. Anos 2002, 2003 e 2004. Parcela 1 e Parcela 2. Ac – *A. colemani*, Ae – *A. ervi*, Am – *A. matricariae*, Lt – *L. testaceipes*, Ta – *T. angelicae* e A. sp. – *Aphidius* sp.
 Legenda: Ac – *A. colemani*, Ae – *A. ervi*, Am – *A. matricariae*, Lt – *L. testaceipes*, Ta – *T. angelicae*, A. sp. – *Aphidius* sp.

4.2.3. Cultura protegida de morango

Na cultura protegida de morango, foram identificados os seguintes parasitóides afidiíneos: *A. colemani*, *A. matricariae*, *Lysiphlebus fabarum* (Marshall), *L. testaceipes*, *T. angelicae* e *Aphidius* sp. (Quadro 7, Fig. 8).

Na cultura protegida de morango, apesar de se terem verificado taxas de parasitismo baixas, o parasitóide que atingiu níveis mais elevados foi *A. colemani* (Quadro 7), tal como aconteceu na cultura protegida de pimento e na cultura de morango de ar livre. Em 2003/2004, as espécies *L. testaceipes*, *T. angelicae* e *A. matricariae* estiveram também em actividade a parasitar os afídeos praga desta cultura (Fig. 8).

O parasitismo primário por afelinídeos e o parasitismo secundário por hiperparasitóides foi baixo.

Observou-se alguma diversidade de espécies de parasitóides nos dois anos dos estudos, nas duas estufas, apesar de, no ano 2003/2004, na estufa 1, terem sido identificados apenas dois parasitóides primários (Fig. 8).

Quadro 7 – Número e percentagem de parasitóides primários e secundários, emergidos de múmias recolhidas no campo. Cultura protegida de morango. Anos 2002/2003 e 2003/2004. Estufas 1 e 2. * Percentagem de parasitóides por espécie.

Espécies de afídeos/ espécies de parasitóides	Estufa 1				Estufa 2			
	2002/2003	%*	2003/2004	%*	2002/2003	%*	2003/2004	%*
<i>Aphis gossypii</i>								
Parasitismo primário								
Braconidae (Aphidiinae)								
<i>A. colemani</i>	16	50	3	23,08	10	76,92	1	11,11
<i>A. matricariae</i>	0	-	1	7,69	0	-	1	11,11
<i>L. fabarum</i>	3	9,38	0	-	0	-	0	-
<i>L. testaceipes</i>	2	6,25	5	38,46	0	-	3	33,33
<i>T. angelicae</i>	4	12,50	3	23,08	0	-	3	33,33
Aphelinidae	6	18,75	1	7,69	1	7,69	1	11,11
Parasitismo secundário	1	3,13	0	-	2	15,38	0	-
<i>Aphis ruborum</i>								
Parasitismo primário								
Braconidae (Aphidiinae)								
<i>A. colemani</i>	4	28,57	1	16,67	7	77,78	0	-
<i>A. matricariae</i>	0	-	1	16,67	0	-	1	33,33
<i>L. fabarum</i>	0	-	1	16,67	0	-	0	-
<i>L. testaceipes</i>	0	-	2	33,33	0	-	1	33,33
<i>T. angelicae</i>	4	28,57	0	-	2	22,22	0	-
<i>Aphidius</i> sp.	3	21,43	0	-	0	-	0	-
Aphelinidae	1	7,14	0	-	0	-	1	33,33
Parasitismo secundário	2	14,29	1	16,67	0	-	0	-

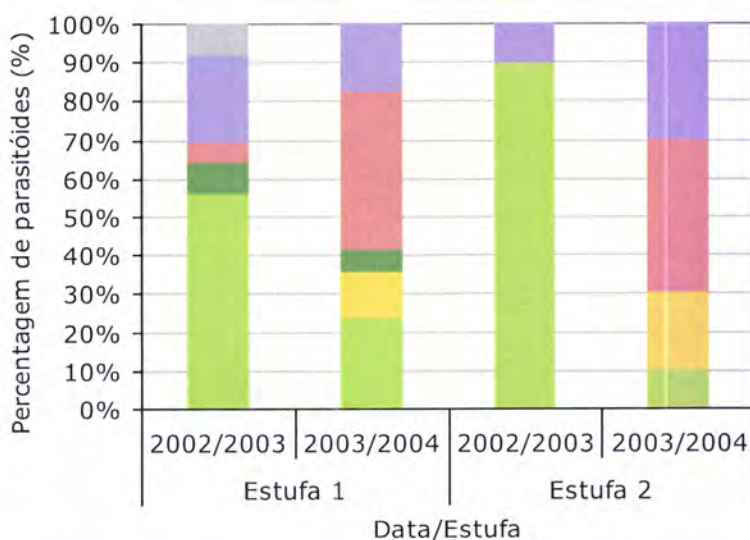


Figura 8 – Percentagem de parasitóides primários (afidiíneos) por espécie. Cultura protegida de morango. Anos 2002/2003 e 2003/2004. Estufa 1 e Estufa 2. Ac – *A. colemani*, Am – *A. matricariae*, Lf – *L. fabarum*, Lt – *L. testaceipes*, Ta – *T. angelicae* e A. sp. – *Aphidius* sp.

Legenda: Ac Am Lf Lt Ta A. sp.

4.2.4. Cultura de tomate para indústria

Na cultura de tomate para indústria, ao contrário do que se verificou nas culturas anteriores, os parasitóides primários que apresentaram níveis populacionais mais elevados foram os afelinídeos (Quadro 8, Fig. 9), a parasitar o afídeo *M. euphorbiae* (Quadro 8, Fig. 9). Este grupo de parasitóides, os afelinídeos, é referido em alguns trabalhos como um dos principais parasitóides a limitar as populações do afídeo *M. euphorbiae* (Molck *et al.*, 2000; Alomar *et al.*, 1997), informação que se reveste de importância para a utilização destes parasitóides em programas futuros de luta biológica.

O único parasitóide afidiíneo identificado foi *A. ervi* a parasitar *M. euphorbiae* (Quadro 8).

Nas múmias (afídeos parasitados) do afídeo *A. gossypii* apenas se registou uma emergência, nomeadamente um afelinídeo (Quadro 8).

Os afelinídeos, principalmente o género *Aphelinus* sp. foi estudado em pormenor para a Península Ibérica (Japoshvili & Abrantes, 2006).

Os parasitóides secundários (hiperparasitóides) apenas foram identificados no ano 2002 com percentagens inferiores a 15 %.

Quadro 8 – Número e percentagem de parasitóides primários e secundários (hiperparasitóides), emergidos de múmias recolhidas no campo. Cultura de tomate para indústria. Anos 2002 e 2003. * Percentagem de parasitóides por espécie.

Espécies de afídeos/ espécies de parasitóides	2002	%*	2003	%*
<i>Aphis gossypii</i>				
Parasitismo primário				
Braconidae (Aphidiinae)	0	-	0	-
Aphelinidae	1	100	0	-
Parasitismo secundário	0	-	0	-
<i>Macrosiphum euphorbiae</i>				
Parasitismo primário				
Braconidae (Aphidiinae)				
<i>A. ervi</i>	5	4,03	2	1,94
Aphelinidae	101	81,45	101	98,06
Parasitismo secundário	18	14,52	0	0,00

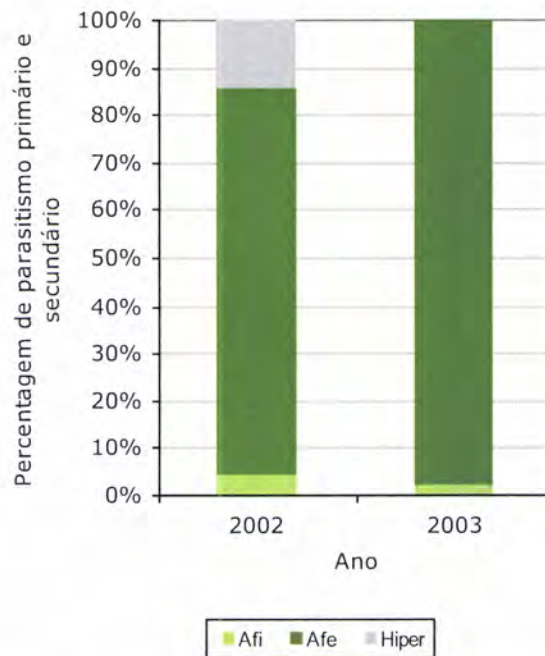


Figura 9 – Parasitóides primários e secundários (hiperparasitóides) emergidos de múmias do afídeo *M. euphorbiae*. Cultura de tomate para indústria. Anos 2002 e 2003. Afi – afidiíneos, Afe – afelinídeos, Hiper – hiperparasitóides.

4.3. Influência dos parâmetros de natureza ambiental, biológica, espacial e temporal na comunidade de espécies de parasitóides da cultura protegida de pimento

Os dois primeiros eixos do modelo base explicam 86,1 % da variação dos quais 69,3 % contribuiu o primeiro eixo e 16,8 % o segundo. A variância total associada a todas as variáveis explanatórias do modelo base (RDA) foi 51,1 %.

Deste modelo base obteve-se um modelo optimizado, com as variáveis explanatórias com maior impacto na comunidade das espécies de parasitóides que foram as variáveis espécies de afídeos (*M. persicae*, *A. gossypii* e *A. craccivora*) e as variáveis ano, estufa, com valor significativo ($p < 0,05$, teste de Monte-Carlo) e semana que apesar de não apresentar valor significativo ($p = 0,100$, teste de Monte-Carlo) foi seleccionada por apresentar uma percentagem elevada a nível de impacto nas populações de parasitóides de acordo com a percentagem explicada. Os dois primeiros eixos da ordenação, deste modelo optimizado, explicam 89,0 % da variação dos quais 76,0 % contribuiu o primeiro eixo e 13 % o segundo.

Pela análise do diagrama de ordenação (Fig. 8) podemos observar que existe uma correlação positiva ($p = 0,000$, teste de Spearman) entre as espécies de parasitóides dominantes na comunidade de afídeos, nomeadamente, *A. colemani* (P_Ac), *A. ervi* (P_Ae) e *A. matricariae* (P_Am) e as espécies de afídeos *M. persicae* (A_Mp) e *A.*

gossypii (A_Ag) (Fig. 8). Esta relação pode ser explicada pelo facto de terem sido estas espécies de parasitóides, principalmente, *A. colemani* e *A. ervi*, aquelas que mais contribuíram para a limitação dos afídeos *A. craccivora*, *A. gossypii* e *M. persicae*.

Por outro lado estas espécies de parasitóides não demonstraram estar correlacionadas com as variáveis temporais, semana e ano.

O afídeo *A. craccivora* (A_Cr) demonstra uma correlação positiva com os parasitóides secundários (P_Hip) ($p=0,001$, teste de Spearman) e negativa com a variável espacial estufa. Este facto pode estar relacionado com o facto de tanto as populações de *A. craccivora* como de hiperparasitóides ou parasitóides secundários terem sido, frequentemente, encontrados na estufa 1.

As espécies de parasitóides que se encontram aglomeradas no centro do diagrama indicam terem sido capturados em número reduzido em comparação com outras espécies como *A. matricariae* (P_Am), *A. ervi* (P_Ae) e *A. colemani* (P_Ac).

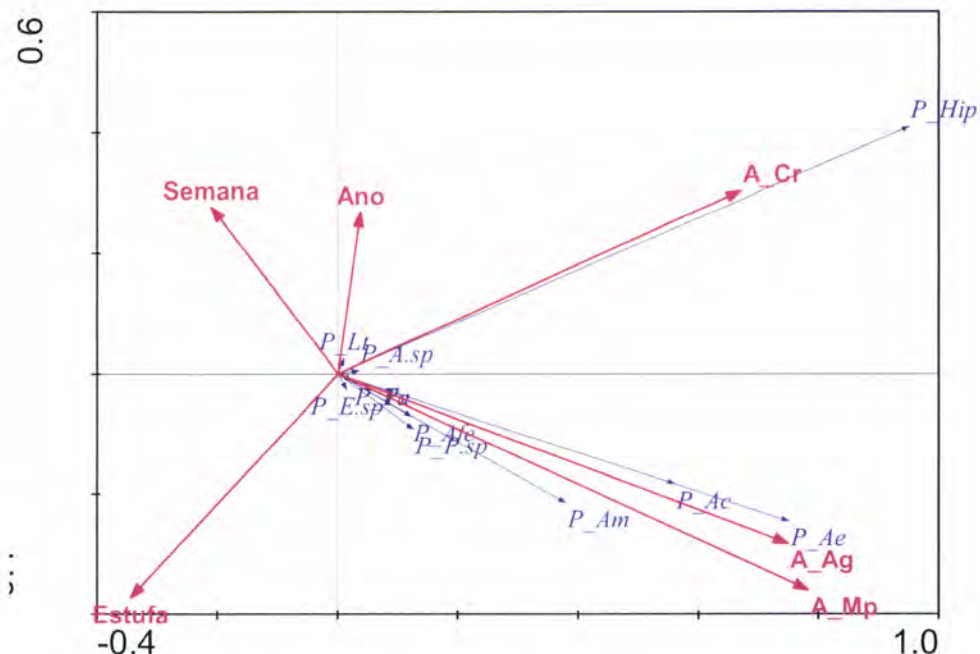


Figura 8 – Diagrama de ordenação resultante da análise de redundância (RDA) relacionada com o modelo otimizado associado à comunidade de parasitóides. Espécies de parasitóides - a azul e as variáveis explanatórias de natureza biológica (espécies de afídeos, *A. craccivora*, *A. gossypii* e *M. persicae*), espacial (estufa) e temporal (ano e semana) - a vermelho. Parasitóides: P_Ac - *A. colemani*; P_Ae - *A. ervi*; P_Am - *A. matricariae*; P_Lt - *L. testaceipes*, P_sp - *P. gallicum* e *P. volucre*, P-Ta - *T. angelicae*, P_Asp. - *Aphidius* sp. e P_Esp. - *Ephedrus* sp.; P_afe - afelinídeos e P_Hip - hiperparasitóides. Afídeos: A_Cr - *A. craccivora*; A_Ag - *A. gossypii* e A_Mp - *M. persicae*.

O resultado da análise de redundância (RDA) foi confirmado pela “partição da variância” (Fig. 9), onde podemos confirmar uma grande influência das variáveis biológicas (espécies de afídeos: *A. craccivora*, *A. gossypii* e *M. persicae*) e temporais

(ano e semana), as quais apresentam uma variabilidade associada de 38,70 %. Apenas 1,4 % da variabilidade está associada às variáveis espaciais (estufa), apesar de a interacção entre as variáveis deste modelo representar 3,8% da variabilidade.

Na selecção efectuada posteriormente verificamos que a variabilidade da comunidade de espécies de parasitóides está principalmente associada às espécies de afídeos (33,70 %) ($p < 0,05$, teste de Monte-Carlo), cujo valor é bastante elevado, enquanto que apenas 5,6 % estão associados às variáveis ano e semana ($p < 0,05$, teste de Monte-Carlo) (Fig. 9).

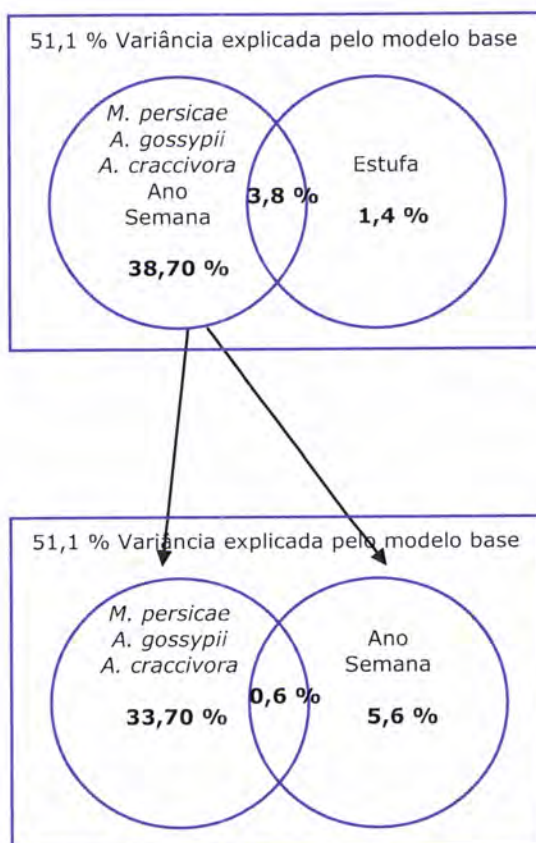


Figura 9 - "Partição da variância" associada às variáveis com maior influência na comunidade de parasitóides, nomeadamente, variáveis biológicas: *M. persicae*, *A. gossypii* e *A. craccivora* (espécies de afídeos) e variáveis temporais: ano e semana.

4.4. Lista espécie de parasitóide afidiíneo – espécie de afídeo – planta hospedeira

Apresenta-se, em seguida, uma lista das combinações espécie de parasitóide afidiíneo – espécie de afídeo – planta hospedeira, encontradas no decurso deste estudo e que actualizam a informação da colecção de afidiídeos da Estação Agronómica Nacional (EAN).

Aos trabalhos anteriormente publicados acrescentam-se novas combinações e uma **nova espécie** de parasitóide para Portugal. A informação que consta desta lista, na sua maior parte, ainda não tinha sido referenciada na colecção de afidiídeos da Estação Agronómica Nacional (EAN), com excepção da combinação: *L. testaceipes* – *A. gossypii* – *capsicum annum* que foi publicado por Cecílio *et al.* (1994).

Lista espécie de parasitóide afidiíneo – Espécie de afídeo – planta hospedeira**Aphidius colemani** Viereck

Aphis craccivora
*Capsicum annuum**
Aphis gossypii Glover
Capsicum annuum,
*Fragaria vesca**
*Aphis ruborum***
*Fragaria vesca**
Aphis spp.
Capsicum annuum
Aulacorthum solani
Capsicum annuum
Macrosiphum euphorbiae
Capsicum annuum
Myzus persicae
Lycopersicon esculentum
Capsicum annuum
*Pentatrachopus fragaefolii***
*Fragaria vesca**

Aphidius ervi Haliday

*Aphis gossypii***
*Fragaria vesca**
*Aphis ruborum***
*Fragaria vesca**
Aulacorthum solani
*Capsicum annuum**
*Fragaria vesca**
Macrosiphum euphorbiae
Capsicum annuum,
Fragaria vesca *
*Lycopersicon esculentum**
Myzus persicae
*Capsicum annuum**
*Pentatrachopus fragaefolii***
*Fragaria vesca**

Aphidius matricariae Haliday

Aphis craccivora (Koch)
*Capsicum annuum**
Aphis gossypii Glover
Capsicum annuum
Lycopersicon esculentum
*Fragaria vesca**
*Aphis ruborum***
*Fragaria vesca**
Aphis spp.
Capsicum annuum
Lycopersicon esculentum
Aulacorthum solani
*Capsicum annuum**
Myzus persicae (Sulzer)
Capsicum annuum
*Fragaria vesca**
Lycopersicon esculentum
*Pentatrachopus fragaefolii***
*Fragaria vesca**

Aphidius sp.

Macrosiphum euphorbiae
Capsicum annuum

Ephedrus sp.

Myzus persicae
Capsicum annuum

Lysiphebus fabarum (Marshall)

Aphis gossypii
Capsicum annuum
Fragaria vesca *
*Aphis ruborum***
*Fragaria vesca**
*Pentatrachopus fragaefolii***
*Fragaria vesca**

Lysiphebus testaceipes (Cresson)

Aphis craccivora
Capsicum annuum
Aphis gossypii Glover
Lycopersicon esculentum
Capsicum annuum
*Fragaria vesca**
*Aphis ruborum***
*Fragaria vesca**

Praon gallicum Starý***

*Myzus persicae***
*Capsicum annuum**

Praon volucre (Haliday)

Myzus persicae
*Capsicum annuum**

Trioxys angelicae (Haliday)

Aphis gossypii Glover
Lycopersicon esculentum
Capsicum annuum
*Fragaria vesca**
*Aphis ruborum***
*Fragaria vesca**
*Myzus persicae***
*Capsicum annuum**
*Pentatrachopus fragaefolii***
*Fragaria vesca**

* Nova cultura referenciada para a combinação espécie de parasitóide - espécie de afídeo.

** Nova combinação espécie de afídeo – espécie de parasitóide – cultura.

*****Nova espécie** de parasitóide para Portugal. Identificação do Dr. Petr Starý, do Instituto de Entomologia, Czech Academy of Sciences.

III – Caracterização morfológica e genético populacional de *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) parasitóide de afídeos das culturas de pimento, morango e tomate

1. Introdução

Na subfamília Aphidiinae, o género *Aphidius* Nees é bastante diversificado e possui um vasto leque de hospedeiros (Starý, 1976; Kavallieratos *et al.*, 2001). É ainda considerado por alguns autores (Starý, 1970) como um dos grupos cujo estudo é considerado um dos mais complexos mas tem sido bastante estudado em diversos Países, nomeadamente, Itália (Pennachio, 1990), Sérvia e Montenegro (Tomanovic *et al.*, 2003), Grécia (Kavallieratos *et al.*, 2006), Irão (Rakhshani *et al.*, 2008), Portugal (Cecílio, 1995, Cecílio *et al.*, 1998; Valério, 1999; Valério *et al.*, 1999, 2005a) e na Europa (Starý, 1973).

A comprovada eficácia das espécies pertencentes a este género na limitação de populações de afídeos (Starý, 1976; Wyatt, 1985), e o vasto leque de hospedeiros que parasitam (Kavallieratos *et al.*, 2001), faz com que sejam potenciais agentes de luta biológica (Starý, 1976; Rakhshani *et al.*, 2008).

No género *Aphidius* sp., *A. colemani* Viereck é uma espécie muito utilizada em programas de luta biológica (Starý, 1976), principalmente porque possui inúmeros hospedeiros (Starý, 1975, 1987) e porque tem demonstrado contribuir para a limitação de algumas espécies de afídeos praga das culturas, como *Aphis gossypii* Glover (Messing & Rabasse, 1995; van Steenis, 1995; van Steenis & El-khawass, 1996; Jacobson & Croft, 1998; Perdikis *et al.*, 2004; Vasquez *et al.*, 2006), *Myzus persicae* Sulzer (Messing & Rabasse, 1995; Sampaio *et al.*, 2001a; Douloumpaka & van Emden, 2003; Perdikis *et al.*, 2004; Bilu *et al.*, 2006), *Rhopalosiphum padi* (Messing & Rabasse, 1995; Adisu *et al.*, 2002; Ode, 2004; Bilu *et al.*, 2006), *Toxoptera aurantii* (Messing & Rabasse, 1995).

Apesar de se encontrarem de forma natural nos ecossistemas, nos últimos anos os horticultores da região do Ribatejo e Oeste têm adquirido *A. colemani* a empresas comerciais para utilização em programas de luta biológica, com o objectivo de manter as populações de afídeos abaixo do nível económico de ataque.

Nesta região, os parasitóides locais, nomeadamente, *A. colemani* Viereck, *A. ervi* Haliday, *A. matricariae* Haliday, *L. fabarum* (Marshall), *L. testaceipes* (Cresson), *T. angelicae* (Haliday), *Praon* sp. e *Ephedrus* sp. parasitam as espécies de afídeos praga,

contudo, normalmente, aparecem no ecossistema agrário quando a praga já se encontra instalada (Valério *et al.* 1999, 2005a, 2007ab) e conseqüentemente são, nessa altura, em número insuficiente para limitar as populações da praga, o que leva à necessidade de se efectuarem largadas de parasitóides, nomeadamente *A. colemani* adquirido a empresas comerciais.

Além dos estudos morfológicos, os estudos moleculares também têm vindo a contribuir para o enriquecimento da informação a nível taxonómico, sistemático e biológico, pela utilização de métodos baseados em electroforeses, como utilizado por Castanera *et al.* (1983) na identificação taxonómica de parasitóides nos afídeos dos cereais, métodos baseados em testes de PCR (polymerase chain reactions) que podem ser uma ferramenta muito útil para separar estirpes de parasitóides mais eficazes na limitação das pragas, relativamente a outras menos eficazes (Roehrdanz, 1993). Análises de microsátélites para determinação de variabilidade genética em espécies de parasitóides (Baker *et al.*, 2003). Espera-se que estas tecnologias no ramo da entomologia providenciem uma nova direcção no estudo dos genomas dos insectos de uma forma inovadora, nos próximos anos (Behura, 2006).

Tendo em conta o que foi exposto anteriormente, o objectivo deste trabalho consiste, por um lado, na caracterização morfológica das populações de *A. colemani* e por outro lado, num estudo genético-populacional para determinação da variabilidade genética após a realização de largadas de *A. colemani* adquirido à empresa Koppert.

2. Aspectos gerais

2.1. Posição sistemática

Aphidius colemani pertence ao grupo dos afidiíneos que se caracterizam por serem parasitóides exclusivos de afídeos (Starý, 1966). Os afidiíneos pertencem à ordem Hymenoptera, subordem Apócrita e superfamília Ichneumonoidea e família Braconidae.

A posição sistemática deste grupo de insectos (Afidiíneos) não tem reunido consenso dos diversos autores (Tremblay, 1967; Mackauer & Starý, 1967; Starý, 1970; Marsh, 1971) ao nível da família.

Tremblay (1967) e Marsh *et al.* (1987), consideraram os afidiíneos como uma subfamília, e incluíram-na na família Braconidae. Mackauer & Starý (1967) e Starý (1970), nessa altura, consideraram os afidiíneos como uma família independente, os Aphidiidae e dividiram este grupo em quatro subfamílias Ephedrinae, Prainae, Aclitinae e Aphidiinae.

Quicke & van Achterberg (1990) fizeram o primeiro esforço em larga escala para determinar a filogenia dos Braconídeos utilizando informação acerca da evolução das características morfológicas com derivação comum (sinapomorfias) usando princípios cladísticos, a qual foi complementada por análises informáticas. Apesar de este estudo ser motivo de discórdia (Wharton *et al.*, 1992; van Achterberg & Quicke, 1992), o mesmo veio servir de incentivo a alguns trabalhos cujo objectivo se centra no esclarecimento da filogenia das subfamílias dos Braconídeos, os quais recorreram não só a aspectos morfológicos mas também a informação molecular (Belshaw & Quicke, 1997; Belshaw *et al.*, 1998; Dowton *et al.*, 1998; Dowton, 1999; Mardulyn & Whitfield, 1999; Quicke & Belshaw, 1999; Quicke *et al.*, 1999; Kambhampati *et al.*, 2000; Sanchis *et al.*, 2000; Belshaw *et al.*, 2001; Dowton *et al.*, 2002; Belshaw *et al.*, 2003).

Aproximadamente 40 subfamílias são geralmente reconhecidas no grupo dos Braconídeos, muitas delas descobertas nos últimos 15 anos (Mason, 1983; Quicke, 1987; Whitfield & Mason, 1994). A nível das subfamílias existe normalmente consenso. Apesar de se tratar de um grupo com a posição sistemática sujeita a discussão, a maioria dos autores tem vindo a considerar os Aphidiinae como uma subfamília da família Braconidae, classificação que foi seguida neste trabalho.

Cerca de 100 espécies de Aphidiinae estão reconhecidas na região Mediterrânica e 30 em Portugal Continental, assim como, as suas relações tritróficas (Costa, 1988; Costa & Starý, 1988; Cecílio, 1992; 1991/1995; Vieira *et al.*, 1996; Cecílio *et al.*, 1998, 1994; Valério *et al.*, 1999, 2005a, 2006; Cecílio & Ilharco, 2002).

2.2. Taxonomia

A posição taxonómica de *A. colemani* foi sempre muito incerta desde o início do seu estudo (Starý, 1975). No entanto, estudos mais recentes vieram esclarecer algumas dúvidas existentes, principalmente no que diz respeito à distinção entre os parasitóides *A. colemani* e *A. transcaspicus* (Kavallieratos & Lykouressis, 1999) que até então eram considerados como espécies idênticas (Starý, 1975). Kavallieratos *et al.* (2001) apresenta uma chave com características que permitem distinguir as espécies *A. colemani* e *A. transcaspicus*. Os novos estudos taxonómicos apresentados reúnem consenso entre os diversos autores.

Por outro lado, além das características morfológicas, o leque de hospedeiros também difere nas duas espécies, sendo que *A. transcaspicus* é um parasitóide específico de *Hyalopterus pruni* Geoffroy na região Mediterrânica (Mackauer & Starý, 1967; Kavallieratos & Lykouressis, 1999) e *A. colemani* é uma espécie introduzida e tem uma lista de hospedeiros mais alargada como está referido anteriormente neste

trabalho. A presença de *A. transcaspicus* foi observada em *H. pruni* em Portugal continental desde 1983, sendo referido como *A. colemani* (Costa, 1988).

2.3. Largadas de *Aphidius colemani*

O parasitóide *A. colemani* tem sido utilizado em programas de luta biológica na Europa há alguns anos. Hofsvang & Hagvar (1975) refere a sua introdução em Inglaterra e na Noruega para combater *Myzus persicae* em cultura protegida, através de populações multiplicadas no Paquistão.

Em Portugal, em observações realizadas em 1996, em culturas hortícolas, na região Oeste de Portugal (Valério, 1997), não foi encontrado o parasitóide *A. colemani*. O primeiro registo de *A. colemani* a parasitar afídeos das culturas hortícolas na região Oeste de Portugal Continental consta de 1998, tendo sido encontrado a parasitar os afídeos, *Aphis craccivora*, *Aphis gossypii*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus persicae* e *Aulacorthum solani* (Valério, 1999; Valério et al., 1999, 2005a, 2006). O primeiro registo de largadas de *A. colemani*, proveniente da empresa comercial Koppert, na região Oeste de Portugal, data do ano 1994, em Mafra (informação pessoal de técnicos da região).

3 - Estudo morfológico do parasitóide *A. colemani*

3.1. Material e métodos

3.1.1. Obtenção de espécimes

Os espécimes utilizados para o estudo de *A. colemani* foram obtidos a partir de colheitas de amostras de afídeos parasitados efectuadas em culturas hortícolas e de parasitóides provenientes de multiplicação laboratorial.

3.1.1.1. Colheitas de amostras de afídeos parasitados e sua manipulação em laboratório

As amostras de afídeos parasitados (múmias) foram recolhidas nos locais e anos referidos no capítulo I, no entanto, para este estudo utilizaram-se amostras de mais dois locais e duas culturas: cultura protegida de pimento (local 6 - Stª Cruz, nos anos 1998 e 2006) e cultura protegida de pepino (local 7 - Mafra/Bracial, no ano 1998) (Fig.

1). As amostras colhidas em 1998 encontravam-se conservadas em álcool a 96%, desde essa altura.



Figura 1 – Locais de colheitas de amostras. Anos 1998, 2002, 2003, 2004, 2005 e 2006. Cultura protegida de pimento (Local 1 - Silveira); cultura de morango de ar livre (Local 2 - Almeirim); cultura protegida de morango - estufa (Local 3 - Caldas da Rainha); cultura de tomate para indústria (Local 4 - Vila Franca de Xira); cultura de tomate para indústria (Local 5 - Valada do Ribatejo); Cultura protegida de pimento (Local 6 - Sta Cruz) e Cultura protegida de pepino (Local 7 - Mafra/Bracial). As distâncias entre locais são as seguintes: (1 - 3) - 52 Km; (3 - 2) - 66 Km; (2 - 5) - 16 Km; (5 - 4) - 45 Km; (4 - 1) - 56 Km; (1 - 6) - 11 Km; (1 - 7) - 29 Km.

Com exceção das amostras de afídeos parasitados recolhidas nos locais 6 e 7, os afídeos parasitados por *A. colemani* tiveram origem nas amostras de parasitóides do estudo realizado no capítulo II, contudo consideraram-se apenas exemplares de *A. colemani* amostrados 30 dias após as largadas de *A. colemani* (vide metodologia utilizada nas largadas de *A. colemani* - capítulo II). As largadas efectuaram-se nos locais 1 (anos 2002 a 2006), 6 (anos 2004 e 2006) e 7 (ano 1998).

Controlou-se diariamente a emergência de parasitóides adultos e, logo após a emergência, procedeu-se à identificação e separação dos espécimes pertencentes à espécie *A. colemani*, tendo-se separado também machos e fêmeas. Os espécimes foram conservados em álcool a 70 %, ou mantidos a seco, para posterior identificação e análise.

3.1.1.2. Multiplicação de *A. colemani* em laboratório

As populações de *A. colemani* foram estabilizadas antes da sua introdução nas câmaras de multiplicação, tendo-se utilizado o seguinte procedimento: colocaram-se as múmias de *M. persicae*, recolhidas em cultura protegida de pimento, em caixas de Petri, onde se adicionou uma gota de mel, após a emergência dos parasitóides identificaram-se e separaram-se fêmeas da espécie *A. colemani*, as quais foram colocadas em novas caixas de Petri onde se encontravam órgãos vegetais com afídeos, nomeadamente, faveira (afídeo hospedeiro - *Aphis fabae*) e trigo (afídeo hospedeiro - *Rhopalosiphum padi*), o que se repetiu até à 2ª geração de parasitóides.

Após a estabilização das populações, *A. colemani* foi introduzido e mantido nas câmaras de multiplicação, tendo-se proporcionado as seguintes condições: 18 – 22°C, cerca de 70% de humidade relativa e iluminação luz do dia (lâmpada fluorescente Phillips TLD 18W/54) correspondente a 18h de luminosidade.

A metodologia consistiu na manutenção de plantas envasadas de faveira (afídeo hospedeiro - *Aphis fabae*) e trigo (afídeo hospedeiro - *Rhopalosiphum padi*) como suporte à multiplicação de *A. colemani*.

Os parasitóides emergidos foram recolhidos para álcool a 70% ou separados em Eppendorf, a seco.

Por outro lado, adquiriram-se parasitóides da espécie *A. colemani* à empresa comercial Koppert, no ano 2006. Estabilizaram-se as suas populações, tendo-se utilizado a metodologia acima descrita, seguindo-se a sua introdução nas câmaras de multiplicação. Após a emergência, os parasitóides foram recolhidos para álcool a 70% para posterior análise e estudo morfológico.

3.1.2. Manipulação dos espécimes para o estudo morfológico

3.1.2.1. Preparação de insectos para observação em lupa binocular

A preparação dos espécimes para análise em microscopia óptica consistiu na sua montagem ou na simples fixação em cartão ou esferovite com álcool a 20%.

Antes de se proceder à montagem dos parasitóides conservados a seco efectuou-se uma hidratação prévia para permitir colocá-los na posição correcta sem os danificar. Assim, recorreu-se a uma câmara húmida à qual se adicionou previamente duas a três gotas de ácido acético. Os parasitóides conservados em álcool a 70% não necessitaram deste procedimento.

Na montagem de parasitóides utilizaram-se as metodologias descritas em Cecílio, 1987. Descrevem-se em seguida os procedimentos adoptados, que consistiram em: colocar os espécimes na posição correcta (lado direito do tórax virado para baixo, asas distendidas e para cima, abdómen dobrado para baixo de modo a ser fácil a observação do propodeum e do tergito e as patas colocadas de modo a não impedirem a observação lateral do tergito) com o auxílio de alfinetes entomológicos e de um cartão húmido com álcool a 20%.

Numa fase final os insectos foram fixados no quarto superior da etiqueta pelo lado direito do tórax. Nas etiquetas informativas colocou-se a seguinte informação: Local de colheita, data, colector; habitat; hospedeiro vegetal; espécie de afídeo hospedeiro; número da amostra e espécie de parasitóide, nome do identificador e ano de identificação.

3.1.2.2. Preparação de insectos para observação em microscópio electrónico de varrimento

Os parasitóides seleccionados para observação em microscopia electrónica de varrimento foram fixados horizontalmente em porta-objectos condutores de cargas eléctricas específicos para o efeito, tendo-se seguido um banho de ouro para permitir maior condutividade. As observações foram feitas no microscópio electrónico de varrimento JSM (*Jeol Scanning Microscope*), modelo: 6410 e foi operado a 10 KV.

3.2. Características morfológicas do parasitóide *A. colemani*

As principais características morfológicas utilizadas na identificação dos adultos de *A. colemani* são apresentadas em seguida. Este estudo baseou-se nos trabalhos de Costa (1989), Kavallieratos & Lykouressis (1999), Kavallieratos *et al.* (2001, 2005, 2006), Pennacchio (1989) e Starý (1961, 1966, 1970, 1973).

3.2.1. Características morfológicas

Os Aphidiinae, microhimenópteros adultos constituem um grupo muito homogéneo morfológicamente provavelmente devido à sua total adaptação a um único grupo de hospedeiros, os afídeos. O tamanho do adulto depende do tamanho do afídeo hospedeiro porque está relacionado com a quantidade de nutrientes que o hospedeiro pode fornecer. O tamanho do hospedeiro influencia também a coloração do parasitóide. Outros aspectos que influenciam a coloração estão relacionados com a área de distribuição, sendo os mais escuros encontrados mais a Norte e os mais claros a Sul,

por outro lado, a estação do ano também influencia a cor, encontrando-se os mais claros no Verão e os mais escuros na Primavera e Outono (Starý, 1970). Costa (1989) refere ainda que a coloração pode variar dentro da mesma espécie, sendo frequente verificarem-se diferenças entre machos e fêmeas, sendo estas mais claras que os machos. A cor mais comum é o castanho, contudo, pode ser preta, alaranjada, amarela, ou ter combinações entre estas cores.

3.2.1.1. Morfologia externa das fêmeas

O corpo é constituído por cabeça, tórax e abdómen (Starý, 1966).

A **cabeça** (Fig. 2) é hipognata - transversa e é constituída pela cápsula cefálica, um par de olhos compostos, três ocelos e os apêndices constituídos pelas antenas e armadura bucal (Starý, 1966, 1970).

As antenas são filiformes e estão inseridas nas fossas antenais que se situam na região frontal, entre os dois olhos compostos (Fig. 2a). O número de segmentos varia com a espécie, e podem ser 12-21 no caso dos *Aphidius* (Pennacchio, 1989), sendo de 15 em *A. colemani* (Kavallieratos & Lykouressis, 1999; Kavallieratos *et al.*, 2001). O primeiro segmento das antenas tem um bolbo basal que se movimenta na fossa antenal e designa-se por escapo. O segundo segmento é o pedicelo e os seguintes constituem o flagelo (conjunto de vários segmentos) (Fig. 2a). O último segmento do flagelo pode encontrar-se fundido com o anterior. Ao longo do flagelo podem-se observar os rinários (designados por placa multiporosa de sensórios) (Fig. 2c), cujas características morfológicas e distribuição têm valor taxonómico e variam com as espécies.

A armadura bucal consiste no labrum, nas mandíbulas e no complexo lábio-maxilar, formado pela união através de membranas do maxilar e do labium. A maxila é formada pelo cardo que está ligado ao hipostoma. A estipe liga-se, por sua vez, ao cardo e possui o palpo maxilar no seu ápex (Fig. 2b). As mandíbulas são normalmente bidentadas. Os palpos maxilares possuem 3 a 4 segmentos e os palpos labiais 2-3 segmentos. Segundo Pennacchio (1989) *A. colemani* é caracterizado por apresentar palpos maxilares com 4 segmentos e os palpos labiais possuem 2 segmentos (Pennacchio, 1989; Kavallieratos & Lykouressis, 1999; Kavallieratos *et al.*, 2001)

Outro aspecto taxonómico importante que pode ser medido na cabeça é o "índice tentorial" (Fig. 2 e,f) que segundo Kavallieratos *et al.* (2001) é inferior ou igual a 0.6 no género *Aphidius* Nees.

A segunda parte do corpo, o **tórax** (Fig. 3), é constituída por três partes principais: protórax, mesotórax e metatórax, os quais possuem ainda três zonas, o

tergum, o sternum e as pleuras. Possui como apêndices, três pares de patas e dois pares de asas.

O protórax consiste no pronotum o qual se liga ao mesonotum na parte superior. Está ligado ao mesosternum pela face ventral e à cabeça através de uma membrana, formando a zona prosternum-pleural que compreende as propleuras e entre estas pode-se observar o prosternum. No protórax articulam-se as patas anteriores.

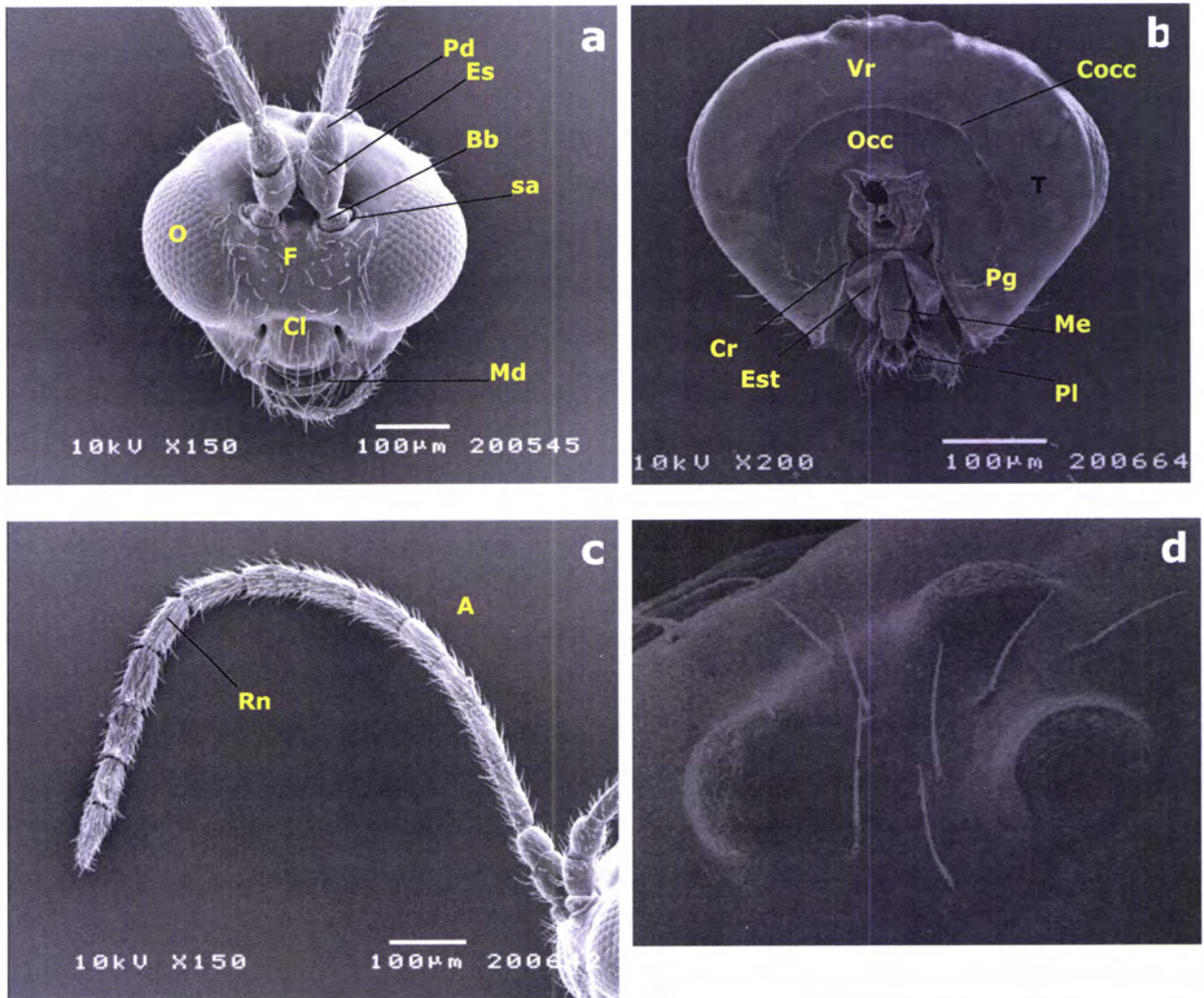


Figura 2 – Pormenores da cabeça de *A. colemani*

2a – Vista frontal da cabeça (**Pd** - pedicelo, **Es** - escapo, **Bb** - bolbo basal, **Sa** - sutura antenal, **Md** - mandíbula, **Cl** - clypeus, **F** - face, **O** - olhos compostos)

2b – Vista posterior da cabeça (**Vr** - vértex, **Occ** - ocelos, **Cocc** - carena occipital, **T** - têmporas, **Pg** - postgena, **Me** - mentum, **PI** - palpo labial, **Est** - estipe, **Cr** - cardo)

2c – Pormenor da antena (**A** - antena, **Rn** - rinário)

2d – Vista de topo da cabeça (pormenor dos ocelos). X 800

2e, f – Pormenor da armadura bucal (a seta maior indica a linha intertentorial e a seta menor indica a linha tentório-ocular).

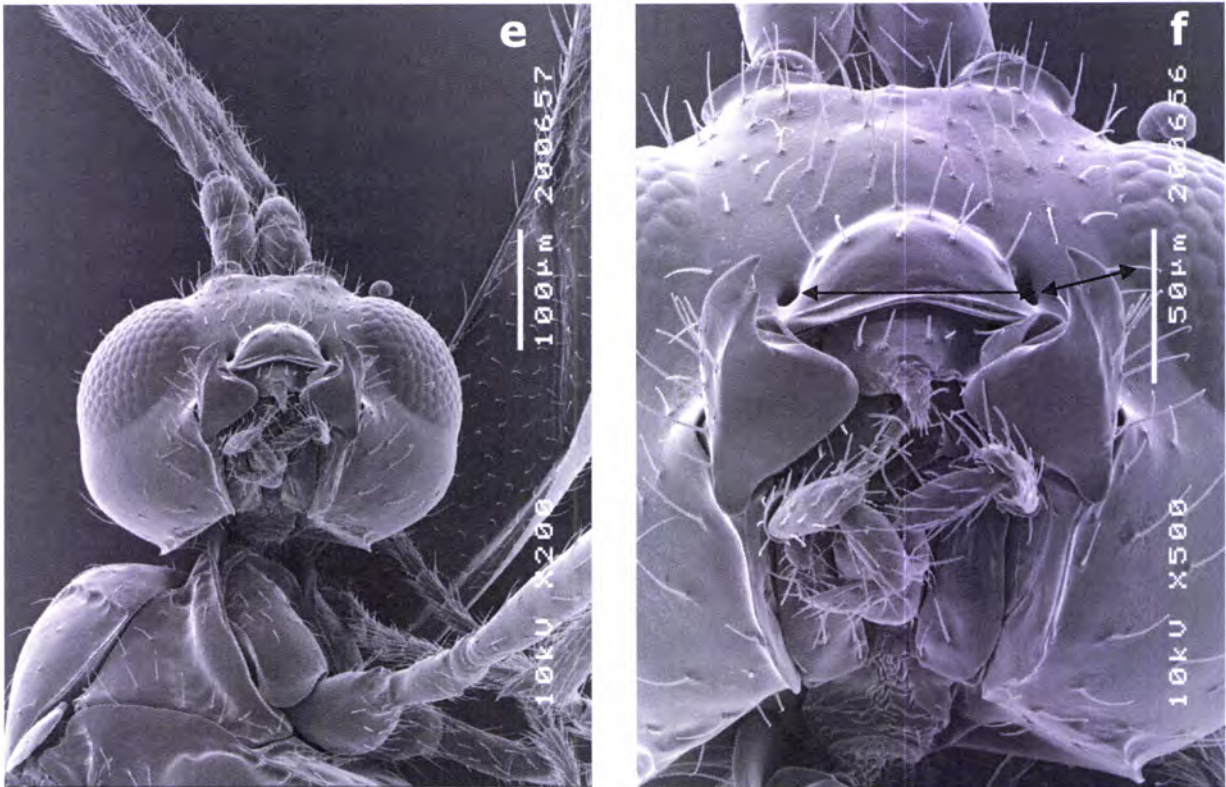


Figura 2 – Pormenores da cabeça de *A. colemani* (continuação)

2e, f – Pormenor da armadura bucal (a seta maior indica a linha intertentorial e a seta menor indica a linha tentorio-ocular)

A parte dorsal do mesotórax é o mesonotum, o qual se encontra dividido em dois tergitos principais: o mesoscutum e o mesoscutellum (Fig. 2). A pubescência do mesoscutum é muito variável desde densa a apenas algumas sedas. Podem ser observados nesta estrutura dois notálices ou sutura notal que no caso do género *Aphidius* encontram-se quase na totalidade apagados na parte basal e é uma característica taxonómica utilizada por alguns sistematas como Pennacchio (1989).

O Mesoscutellum é convexo, triangular e mais ou menos liso. Lateralmente em relação ao mesoscutellum observam-se as zonas denominadas parascutellum e as axilas e a zona de inserção das asas anteriores. O par de patas médio articula-se entre a mesopleura e o mesosternum.

O metatórax é constituído pelo metanotum, as metapleuras e o metasternum. As asas posteriores inserem-se entre o metanotum e a metapleura.

O propodeum faz parte do tórax contudo, morfologicamente constitui o primeiro segmento do abdómen. Possui forma sub-quadrada com tamanho variável nos espécimes do grupo *Aphidius* e possui um esculpido característico em que as carenas formam uma pequena aréola central sub-pentagonal (Starý, 1961, 1970; Pennacchio, 1989; Kavallieratos *et al.*, 2001).

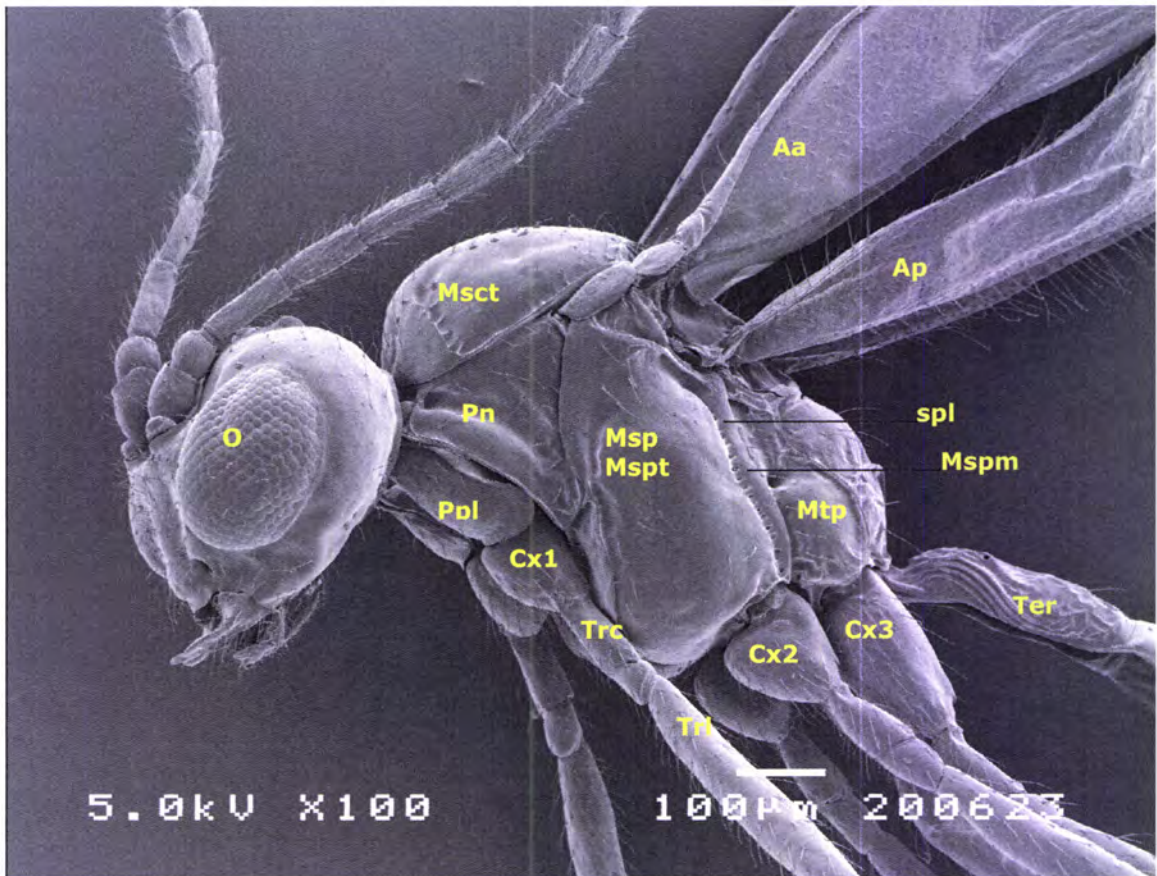


Figura 3 – Vista lateral da cabeça, tórax e do 1º segmento do abdómen.

(**Aa** – asa anterior, **Ap** – asa posterior, **Cx1** – coxa da pata anterior, **Cx2** – coxa da pata média, **Cx3** – coxa da pata posterior, **Msct** – Mesoscutum, **Msp** – mesopleura, **Mspm** – mesepimeron, **Mspt** – mesepisternum, **Mtp** – metapleura, **O** – olho composto, **Pn** – pronotum, **Ppl** – propleura, **Spl** – sutura pleural, **Ter** – tergito 1, **Trc** – trocânter, **Trl** – trocantellus)

As asas são muito importantes taxonomicamente. São caracteristicamente transparentes e hialinas, cobertas por sedas curtas e densas. Nalgumas espécies as sedas das asas das fêmeas podem encontrar-se mais desenvolvidas do que nos machos (Costa, 1989). Em vida e em descanso os afidiídeos dispõem as asas horizontalmente (Fig. 4a).

A nomenclatura relativa à nervação das asas dos afidiíneos está longe de chegar a um consenso. Costa (1989) fez uma comparação entre alguns dos critérios apresentados. Optámos, neste trabalho, por seguir a nomenclatura utilizada por Kavallieratos & Lykouressis (1999) e Kavallieratos *et al.* (2001).

A asa anterior (Figura 4b e 5) dos espécimes do género *Aphidius* sp. possui a nervação incompleta. A nervura 1/Rs não atinge a margem da asa. As nervuras M e m-cu encontram-se unidas formando a nervura M+m-cu. A asa anterior possui 4 células: radial (R), primeira cubital (1 Cu), segunda cubital (2 Cu) e a célula 1M+1R1+(1+2Rs)

originada pela confluência da primeira célula mediana (1 M), primeira célula radial 1 (1 R1) e primeiro + segundo sector radial (1+2 Rs). A abscissa distal de R1 (metacarpo) é longa. O Pterostigma é triangular em *A. colemani*.

A asa posterior tem a nervação muito reduzida e não é tão utilizada como critério para identificação. Pennacchio (1989) refere que o género *Aphidius* possui uma célula basal praticamente completa.

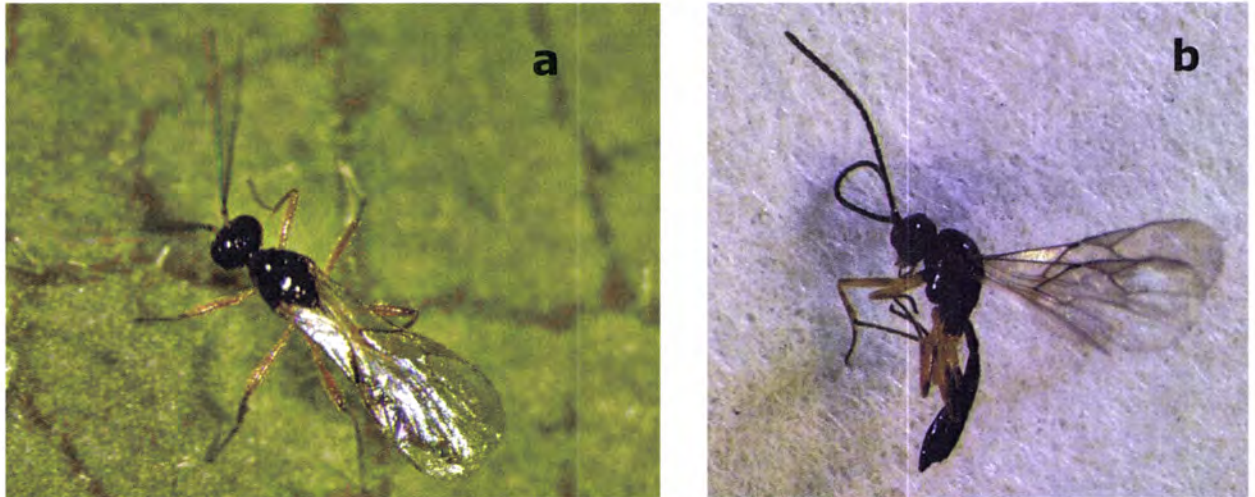


Figura 4a – Fêmea de *A. colemani* em posição de descanso, com colocação das asas horizontalmente.
b – Fêmea de *A. colemani* conservada em álcool. Pormenor das asas.

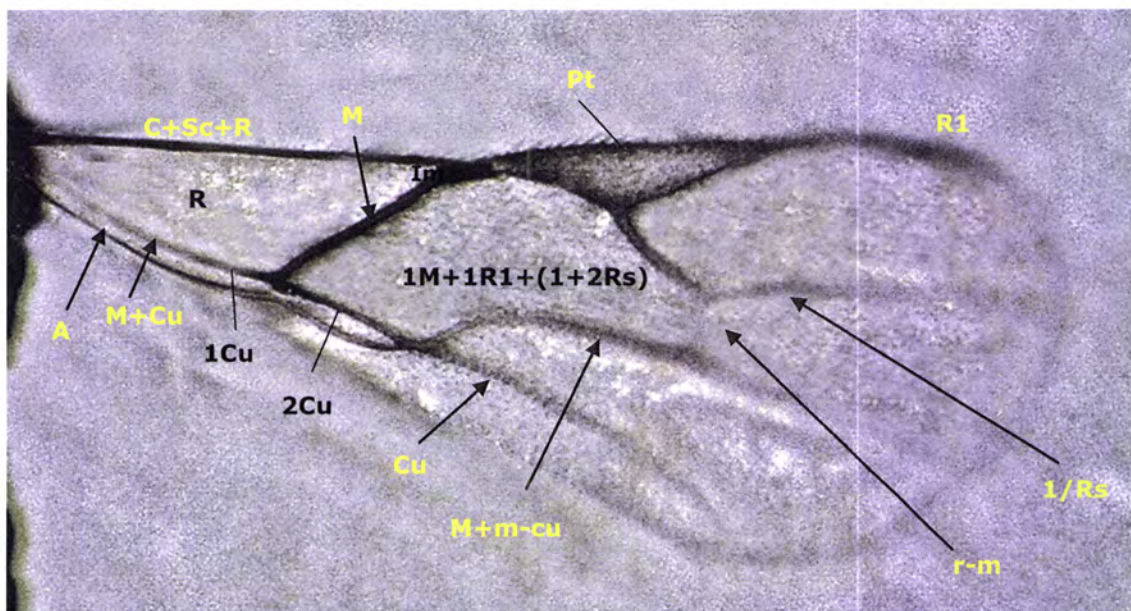


Figura 5 - Nomenclatura seguida (segundo Kavallieratos, 2001), e abreviações utilizadas para designar as estruturas morfológicas consideradas na descrição da asa anterior de *A. colemani*.

Pt - pterostigma; **R1** - metacarpo; **R** - célula radial; **C+Sc+R** - nervura costal, subcostal e radial; **M** - Nervura mediana; **M+Cu** - nervura mediana e cubital; **A** - nervura anal; **1Cu**- primeira célula cubital; **2Cu**- segunda célula cubital; **Cu** - nervura cubital; **M+m-cu** - nervura mediana e intercubital; **r-m**- nervura interradianal e mediana; **1/Rs** - nervura terceiro sector radial; **1M+1R1+(1+2Rs)** - célula originada pela confluência da primeira célula mediana (1 M), primeira célula radial 1 (1 R1) e primeiro + segundo sector radial (1+2 Rs).

O abdómen tem forma alongada (Fig. 4b) e é constituído por dez segmentos. O primeiro segmento é o propodeum (Fig. 6a). O segundo segmento do abdómen mas considerado normalmente como o primeiro é o tergito 1 (Fig. 6b,c), o qual tem forma estreita e alongada mais ou menos convexa. Tem a superfície dorsal e lateral com um esculpido variável que constitui uma característica de identificação, que no caso de *A. colemani* é caracterizado por um esculpido na área anterolateral do tipo costado (Figura 6 b e c).

Os segmentos do **abdómen** têm um formato normal e o ovipositor encontra-se levemente curvado para cima e possui poucas sedas (Pennacchio, 1989). A forma da extremidade do abdómen é uma característica sexual, sendo pontiaguda nas fêmeas (Fig. 6d,e) (Starý, 1966, 1970).

3.2.1.2. Morfologia externa dos machos

Os machos dos afidiíneos são considerados de menor interesse para a identificação das espécies (Costa, 1989). No entanto, continuam a ser utilizados por alguns autores como Pennacchio (1989), principalmente no que diz respeito às características do aedagus.

Segundo Pennacchio (1989), os machos do género *Aphidius* sp. pertencentes a uma determinada espécie apresentam características semelhantes às fêmeas da mesma espécie, apenas diferindo delas nos seguintes aspectos: maior número de segmentos das antenas (15-24), os quais são claramente mais robustos e possuem mais rinários; tergito 1 do abdómen mais robusto; cor usualmente negra. A genitália externa possui o par mediano dos apêndices genitais e gonocoxopodites fundidas, dedos muito bem definidos, cúspides reduzidos, aedagus de diferentes formas.

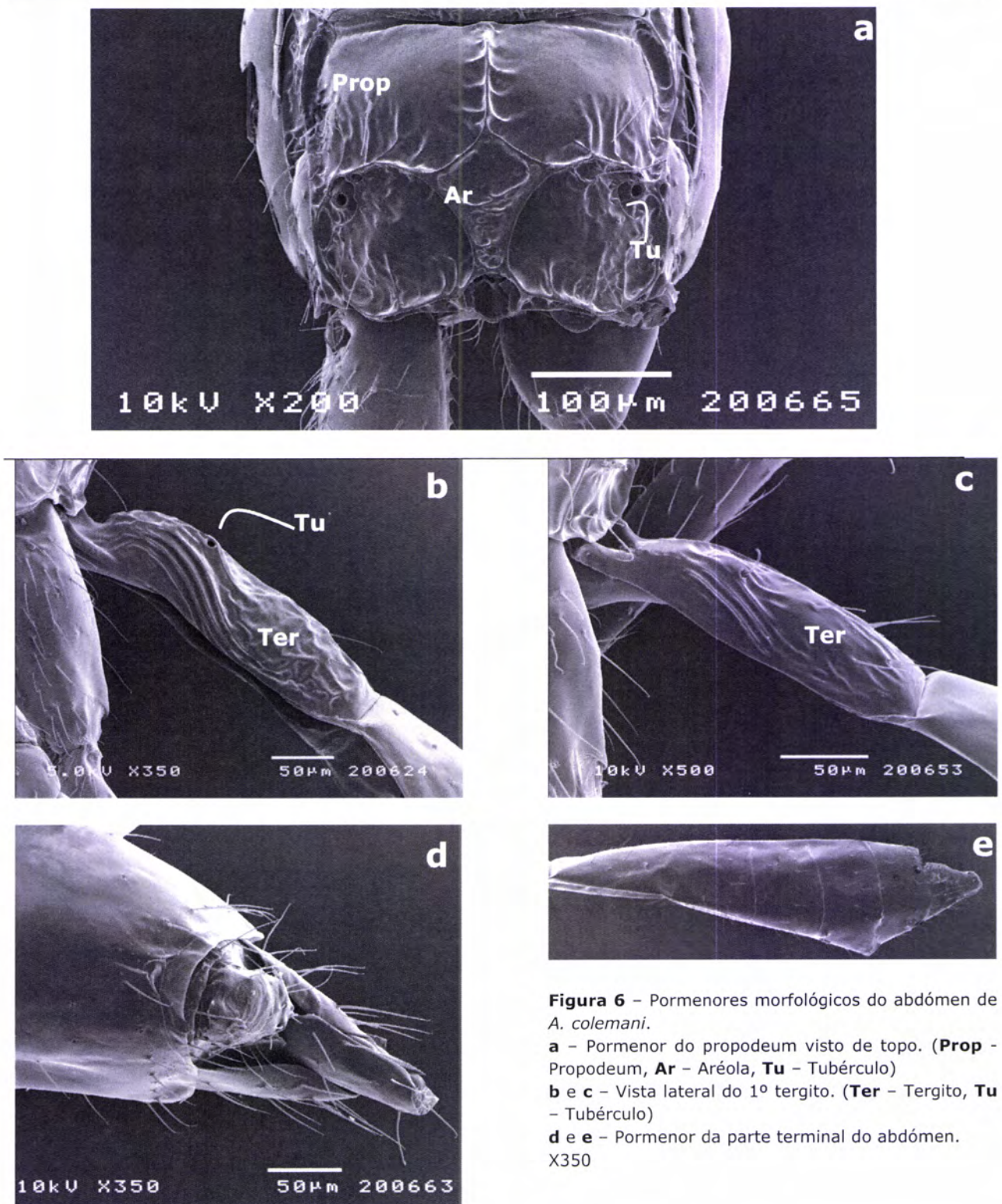


Figura 6 – Pormenores morfológicos do abdômen de *A. colemani*.

a – Pormenor do propodeum visto de topo. (**Prop** - Propodeum, **Ar** - Aréola, **Tu** - Tubérculo)

b e c – Vista lateral do 1º tergite. (**Ter** - Tergito, **Tu** - Tubérculo)

d e – Pormenor da parte terminal do abdômen. X350

Apesar das características apresentadas serem as mais frequentemente utilizadas na identificação de parasitóides do género *Aphidius* sp., Pungert (1983, 1986) considera que algumas características tradicionalmente utilizadas para separar espécies dentro do género *Aphidius* são mais variáveis do que anteriormente se suspeitava e devem ser utilizados com precaução.

4 – Caracterização genético populacional do parasitóide *A. colemani*

4.1. Material e métodos

4.1.1. Obtenção de espécimes

4.1.1.1. Colheitas de amostras de afídeos parasitados e sua manipulação em laboratório

Os espécimes utilizados para o estudo genético populacional de *A. colemani* tiveram a mesma origem dos parasitóides utilizados no estudo morfológico (*vidé* ponto 3.1.1. e 3.1.1.1. deste capítulo).

Na fig. 1 podem-se observar os locais de colheitas de amostras que têm a seguinte correspondência às populações (1 a 5) utilizadas neste estudo:

- População **1** – Local 1 (cultura protegida de pimento)
- População **2** – Local 6 (cultura protegida de pimento)
- População **3** – Local 7 (cultura protegida de pepino)
- População **4** – Local 3 (cultura protegida de morango)
- População **5** – Local 2 (cultura de morango de ar livre)

Após as emergências e identificação seleccionaram-se as fêmeas de *A. colemani* para o estudo genético-populacional, as quais foram conservados em álcool a 96° para posterior análise.

4.1.1.2. Multiplicação de *A. colemani* adquirido à empresa comercial Koppert

A população 6 resultou de multiplicações, em laboratório, de parasitóides da espécie *A. colemani* que foram adquiridos à empresa comercial Koppert, no ano 2006. A metodologia utilizada é referida no ponto 3.1.1.2. deste capítulo. Após a emergência dos parasitóides estes conservaram-se em álcool a 96% para posterior análise.

4.1.1.3. *A. colemani* proveniente das amostras de Valência

As amostras de parasitóides provenientes de Valência (população 7) encontravam-se conservadas em álcool a 96% e foram cedidas pelo Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva.

4.1.2. Análises biomoleculares

Este estudo realizou-se na Unidade Associada IVIA-CIB, Valência – Espanha.

Cada parasitóide foi, individualmente, sujeito a extracção de DNA seguido de amplificação por PCR e análise de restrição, de acordo com os procedimentos que a seguir se explicam.

4.1.2.1. Extracção de DNA

O DNA foi extraído utilizando-se o método "Salting out" de Sunnucks & Hales (1996), ao qual se fizeram ligeiras adaptações. A metodologia consistiu no seguinte: desfazer um parasitóide com uma vareta estéril (descartável de polipropileno, cat no. Z359947, SIGMA-ALDRICH Co., St Louis, CA, EUA), num Eppendorf, ao qual se adicionou 100 µl de solução TNES (50 mM Tris-HCl pH 7.5; 400mM NaCl; 20mM EDTA pH 8.0; 0,5% SDS) e 3 µl de proteinase K (10 mg/ml). Em seguida adicionou-se, a cada Eppendorf, 200 µl de solução TNES e incubou-se numa estufa a 37° C, durante toda a noite. As proteínas foram precipitadas com 85 µl NaCl 5M e centrifugou-se a 14000 rpm, 10 minutos, temperatura ambiente (25°C) (Hettich Universal 32R, Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Alemanha). O sobrenadante (cerca de 300 µl) retirou-se para Eppendorfs limpos e o DNA foi precipitado juntando 250 µl de isopropanol frio (-20°C) e incubado 1h a - 20° C, após o qual foi centrifugado 12000 rpm durante 10 minutos à temperatura ambiente (25°C).

Eliminou-se o EtOH (etanol) por decantação e lavou-se o sedimento adicionando 200 µl de EtOH 70% frio (-20°C), seguindo-se nova centrifugação a 12000 rpm, durante 5 minutos, à temperatura ambiente (25°C). Decantou-se o etanol e suspendeu-se o sedimento, depois de seco (5-20 minutos em bomba de vácuo), em 20 µl de tampão LTE (Tris HCl 10 mM [pH 7.5], EDTA 1 mM [pH 8.0]). Colocaram-se os Eppendorfs a -4 °C durante uma noite, os quais foram posteriormente conservados a -20°C.

4.1.2.2. Amplificação por PCR (Polymerase chain reaction)

As reacções de PCR realizaram-se para um volume total de 20 µl, que consistia em 16,25 µl de mQH₂O, 2,0 µl 10x tampão (Biotools B&M labs S.A., Madrid, Espanha), 1 µl de DNA genómico, 0,15 µl *Taq polimerase* (5 m/ µl) (Biotools B&M labs S.A., Madrid, Espanha), 0,2 µl de primer HCO 2198 (10 mM) (Folmer *et al.*, 1994; Simon *et al.*, 1994), 0,2 µl de primer LCO 1490 (10mM) (Folmer *et al.*, 1994; Simon *et al.*, 1994) e 0,2 µl dNTPs (10 mM).

O programa de PCR consistiu no seguinte ciclo: 1 h a 72°C; 30 min. a 94°C; 30 min. a 51°C; 1h a 72°C; 4h a 72°C e a 4°C, até à sua utilização. A amplificação

realizou-se no termociclador GeneAmp® 9700 (Applied Biosystems TM, Foster city, CA, EUA).

A confirmação do sucesso da amplificação realizou-se através de electroforese em gel de agarose a 2 % (Pronadisa, Sumilab S.L., Madrid, Espanha) in 0.5x TBE buffer. A electroforese realizou-se numa Sub Cell GT ® (BIORAD Lab. Hercules, CA, EUA).

4.1.2.3. Análise de restrição (RFLP)

A análise de PCR-RFLP incidiu sobre o gene COI.

Os produtos de PCR foram digeridos com quatro enzimas de restrição, nomeadamente, Alu I, Taq I, PshB I e Dra I (Takara Bio Inc. Shiga, Japão). Para as enzimas, Alu I, Taq I, PshB I preparou-se um volume de 13 µl, com 3 µl do produto de PCR, 1,0 µl tampão de reação (10 mg / ml), 0,3 µl de enzima de restrição (Alu I, Taq I e PshB I) e 11,7 µl de mQH2O. Para a enzima Dra I preparou-se 13 µl, com 3 µl do produto de PCR, 1,0 µl tampão de reação (10 mg / ml), 0,2 µl de enzima de restrição (Dra I), 1,5 µl de BSA (0,1 %) e 10,3 µl de mQH2O.

A digestão realizou-se a 37°C, durante 16h (durante a noite) após o que foram coradas com 4 µl de corante e executados em um gel de agarose 2% (Alu I, Taq I, e Dra I) e 2,5 % (PshB I).

Para visualizar o DNA, o géis tingiram-se em banho de brometo de etídio a 0.05 ug/ml. Posteriormente num sistema de captação de imagem efectuou-se a visualização em luz ultravioleta (GelPrinter II; TDI, Madrid, Espanha).

4.1.2.4. Tratamento de dados

Para fazer uma estimativa do número de pares de bases que apresentam os fragmentos de DNA digeridos, utilizámos uma recta de calibração (para cada gel) tendo em conta o padrão de peso molecular e a distância percorrida pelos fragmentos.

O procedimento consistiu em medir, a distância em centímetros entre os “poços” e as bandas de DNA correspondentes. Em seguida, assinalaram-se no gráfico *logaritmo₁₀ das dimensões moleculares / distância percorrida em cm*, construído em papel milimétrico, os pontos correspondentes aos padrões moleculares observados. Com uma régua, traçou-se a recta que melhor se ajustava ao conjunto de pontos assinalados no gráfico. Determinou-se a dimensão dos fragmentos resultantes da digestão do DNA pelas quatro enzimas utilizadas (Alu I, Taq I, PshB I e Dra I) e definiu-se um mapa de restrição.

4.2. Resultados e discussão

Com bases nas análises biomoleculares realizadas e cujo procedimento se refere acima, diferenciaram-se nove genótipos nas amostras de *A. colemani* (Quadro 1).

Quadro 1 – Genótipos diferenciados das amostras de *A. colemani*, número de parasitóides (*A. colemani*) e espécies de afídeos hospedeiras. Cultura protegida de pimento (população 1 e 2), cultura protegida de pepino (população 3), cultura protegida de morango (população 4), cultura de morango de ar livre (população 5), população 6 (resultante de multiplicação de *A. colemani* adquirido à empresa Koppert) e população 7 (resultante das amostras de Valência).

População	Cultura	Genótipos	Nº de parasitóides (<i>A. colemani</i>)	Espécies de afídeos hospedeiras	
1	Pimento	cbca	17	<i>M. persicae</i>	
			12	<i>A. gossypii</i>	
			4	<i>A. craccivora</i>	
		baba	1	<i>A. gossypii</i>	
			cbba	1	<i>M. persicae</i>
				?bca	3
2	Pimento	cbca	16	<i>A. gossypii</i>	
			4	<i>M. persicae</i>	
3	Pepino	aaaa	2	<i>A. gossypii</i>	
			3	<i>A. gossypii</i>	
			1	<i>A. gossypii</i>	
			4	<i>A. gossypii</i>	
			1	<i>A. gossypii</i>	
4	Morango	caba	1	<i>A. gossypii</i>	
			1	<i>A. ruborum</i>	
5	Morango	cbca	2	<i>A. gossypii</i>	
6	-	aaaa	20	Ver material e métodos	
7	Pimento	aaba	16	<i>M. persicae</i>	

A variabilidade genética encontrada foi bastante elevada quando comparada com estudos similares realizados na Republica Checa, onde se identificaram apenas duas estirpes, a que o autor chamou estirpe Koppert e estirpe Chile (Starý, 2002).

Os genótipos, **cbba**, **acba**, **?aba** e **caba** foram obtidos a partir de um só indivíduo, respectivamente (Quadro 1), pelo que deveremos analisar com cuidado este resultado.

O genótipo **cbca** foi encontrado nas populações 1, 2, 4 e 5, nos anos 2002, 2004 e 2006, na cultura protegida de pimento, cultura protegida de morango e cultura de morango de ar livre (Quadro 1). No ano 2004 apresentou carácter dominante e em 2006 observou-se o mesmo genótipo em todos os indivíduos capturados (Fig. 7 e 8).

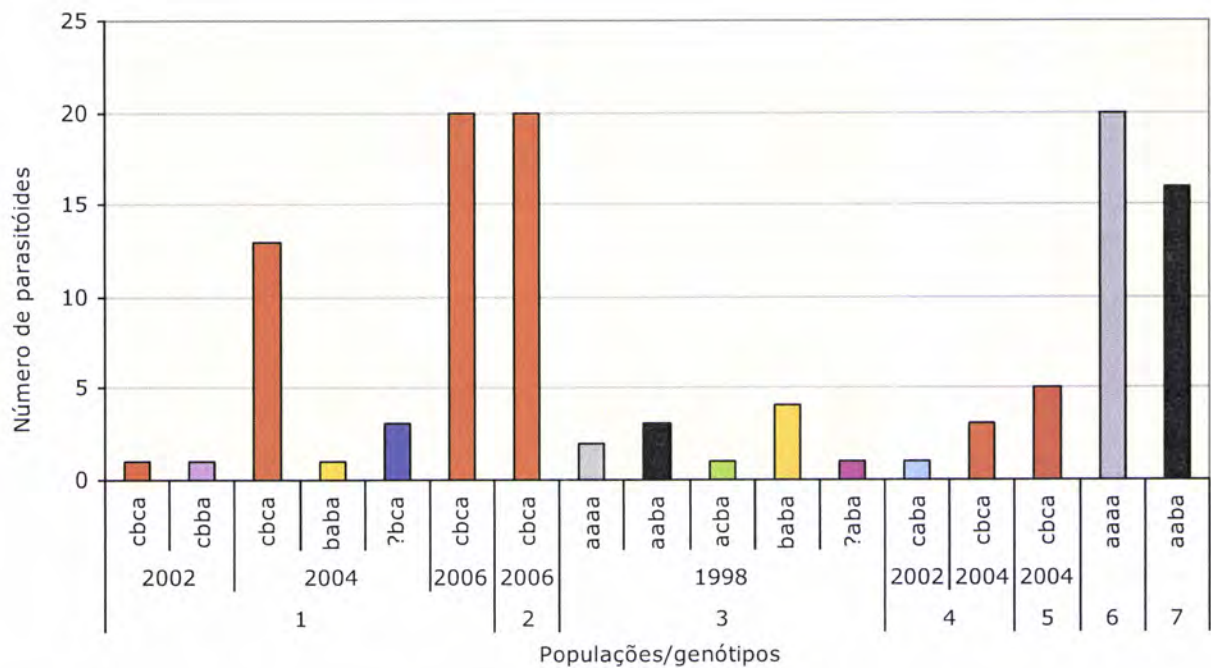


Figura 7 – Número de parasitoides (*A. colemani*) por cada genótipo diferenciado. Anos 1998, 2002, 2004 e 2006. Populações 1, 2, 3, 4, 5, 6 (resultante da multiplicação de *A. colemani* adquirido à empresa Koppert) e 7 (resultante das amostras de Valência).

A população 3 apresentou uma grande diversidade genética, tendo sido diferenciados cinco genótipos diferentes. Dois dos genótipos (**acba**; **?aba**) não foram identificados em mais nenhuma população; o genótipo **baba** foi também diferenciado na população 1 (Fig. 7 e 8). Nesta população diferenciou-se ainda o genótipo **aaaa**.

Neste local, apesar das largadas efectuadas com parasitoides comercializados pela empresa Koppert, a diversidade genética verificada foi bastante grande, com cinco genótipos diferentes, o que é muito importante tendo em conta que a variabilidade genética presente influencia a capacidade que uma população de parasitoides tem para responder a um novo hospedeiro (Hopper *et al.*, 1993; Baker, *et al.* 2003) e a novos organismos patogénicos (Hopper *et al.*, 1993).

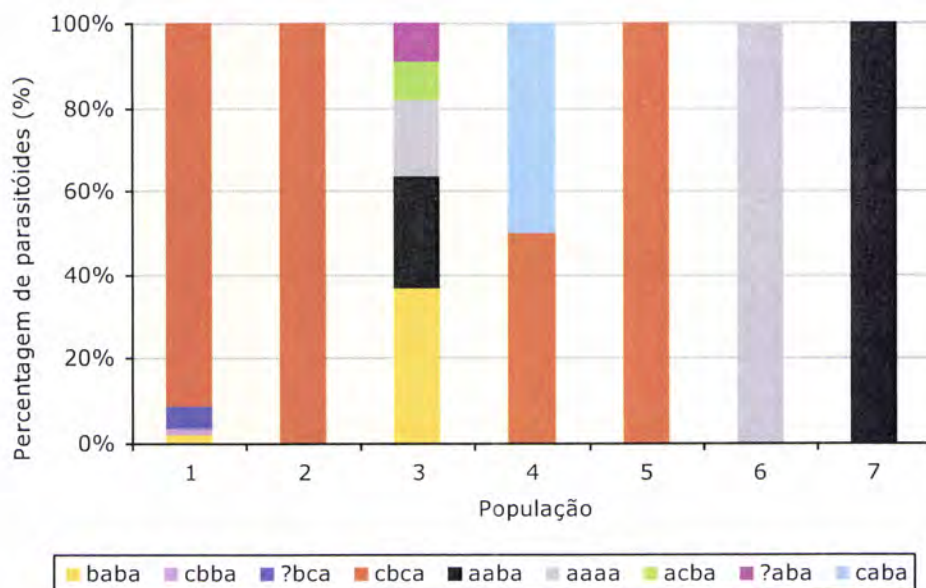


Figura 8 – Percentagem de parasitóides diferenciados em cada genótipo. População 1, 2, 3, 4, 5, população 6 (resultante da multiplicação de *A. colemani* adquirido à empresa Koppert) e população 7 (resultante das amostras de Valência).

Em 2006 capturaram-se indivíduos pertencentes apenas a um genótipo (**cbca**) o que pode estar relacionado com o fenómeno dos estrangulamentos populacionais (Nei *et al.*, 1975) que ocorre quando são retiradas pequenas amostras de grandes populações, o que acontece frequentemente em espécies invasivas ou organismos que são introduzidos para luta biológica (Roderick *et al.*, 2003; Roderick, 2004).

Apesar de a maior parte dos programas de luta biológica envolverem um grande número de indivíduos para evitar a perda de variabilidade genética que pode ser associada aos estrangulamentos populacionais, mesmo quando uma colecção inicial é grande o suficiente para evitar este fenómeno a redução da variabilidade genética pode ocorrer (Hufbauer *et al.*, 2004). No entanto, mesmo quando as populações fundadoras são pequenas perde-se menos variabilidade se a taxa de crescimento da população for grande, após a introdução (Nei *et al.*, 1975; Merila, 1996; Roderick, 2004). Quanto maior for o tamanho da população fundadora, mais tempo demorará para que a população se diferencie geneticamente da fundadora (Roderick, 2004).

Identificaram-se quatro afídeos, hospedeiros de *A. colemani*, com o genótipo dominante (**cbca**), nomeadamente, *Aphis craccivora*, *Aphis gossypii*, *Aphis ruborum* e *Myzus persicae* (Quadro 1).

O parasitóide *A. colemani* apresenta um comportamento típico de uma espécie introduzida. Em registos anteriores das espécies de parasitóides identificados nos locais 1 e 2, no ano de 1996, não foi encontrado o parasitóide *A. colemani* (Valério, 1997). O primeiro registo de *A. colemani* a parasitar afídeos das culturas hortícolas na região

Oeste de Portugal consta de 1998 (Valério, 1999), tendo sido encontrado a parasitar *Myzus persicae*, *Aphis gossypii*, *Macrosiphum euphorbiae* e *Aulacorthum solani*. O comportamento agressivo deste parasitóide, o qual alterna de hospedeiro, e aumenta o leque de hospedeiros em novas áreas é um fenómeno típico de parasitóides oligófagos introduzidos em novas áreas (Starý, 2002), comportamento que demonstrou claramente o genótipo dominante, ao ser encontrado em quatro afídeos hospedeiros, *A. craccivora*, *A. gossypii*, *A. ruborum* e *Myzus persicae*.

Não existem dúvidas quanto ao facto do genótipo dominante, **cbca** (proveniente da população 1) diferir do genótipo **aaaa** (correspondente à população 6, resultante da multiplicação de *A. colemani* adquirido à empresa Koppert). Através da análise das bandas obtidas na análise de RAPD-RFLP, podemos verificar que existe uma diferença nítida entre os parasitóides com o genótipo **cbca**, e os parasitóides que apresentam o genótipo **aaaa** (Fig. 9).

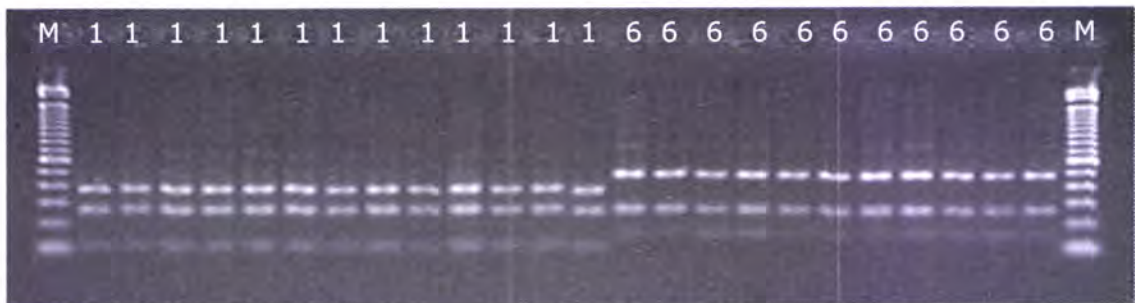


Figura 9 – Análise RAPD-RFLP com enzima de restrição *AluI* - diferenciação entre duas estirpes de *A. colemani*, provenientes das populações 1 e população 6 (resultante da multiplicação de *A. colemani* adquirido à empresa Koppert). M – marcadores.

Apesar das largadas efectuadas com *A. colemani* (Koppert), nos locais 1, 2 e 3, nas populações 1 e 2 não foi encontrado o genótipo **aaaa** população 6 (resultante da multiplicação de *A. colemani* adquirido à empresa Koppert) (Fig. 8 e 10). As largadas de parasitóides estão normalmente associadas a incrementos nas taxas de parasitismo, contudo, as características das estufas da região, as quais possuem aberturas laterais, podem facilitar a saída dos parasitóides pelas aberturas laterais, o que pode explicar, em parte, o facto de não se terem amostrado parasitóides com o genótipo **aaaa**. Por outro lado, podem apresentar uma menor agressividade que outros genótipos adaptados.

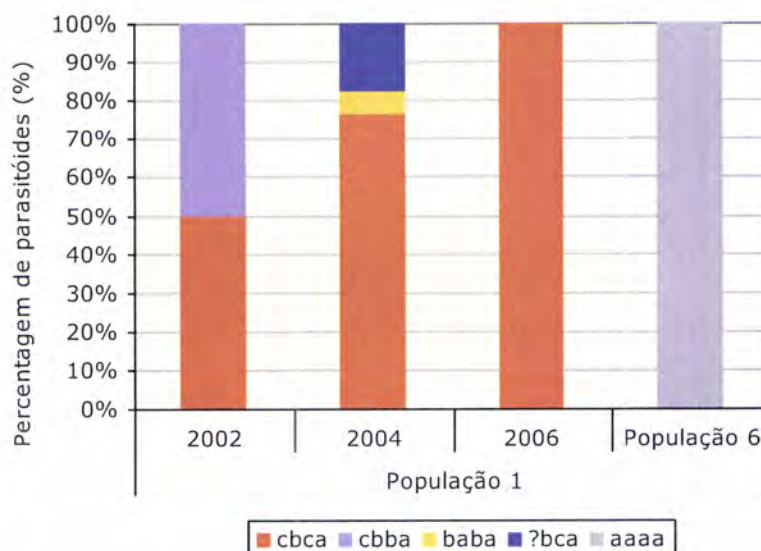


Figura 10 – Diferenças entre as populações 1 e 6, relativamente aos genótipos diferenciados. População 1 (anos 2002, 2004 e 2006) e população 6 (proveniente de multiplicações de *A. colemani* adquirido à empresa Koppert).

As largadas de *A. colemani* proveniente da empresa Koppert” iniciaram-se na região Oeste, nomeadamente no local 3, em 1994 (informação pessoal de técnicos da região). Apesar de não termos informação acerca do genótipo da população utilizada nestas largadas, em 1998 os parasitoides comercializados pela Koppert já possuíam o mesmo genótipo que em 2006, tal como se pode verificar pela informação obtida dos dados da população 3. Portanto, o facto de a população dominante, **cbca**, apresentar um genótipo diferente de **aaaa** (população 6 - resultante da multiplicação de *A. colemani* adquirido à empresa Koppert) pode ser devido ao facto da população de origem ser, de facto, diferente ou as populações introduzidas terem evoluído geneticamente até um genótipo diferente da sua população de origem, tal como referido por Roderick (2004).

Por outro lado, na população 3, registou-se a presença do genótipo **aaaa**, o que leva a supor que esta população se manteve a parasitar os afídeos pragas destas culturas, após as largadas. Este local é bastante isolado e rodeado por vegetação natural o que pode ter contribuído para a manutenção dos parasitoides perto das estufas por possuírem locais de abrigo, alimento e hibernação (Ferreira, 1998; Ramos, 2006). Considera-se portanto que a luta biológica através das largadas efectuadas foi bem sucedida porque o inimigo natural utilizado se adaptou à praga alvo e ao novo ecossistema (Hopper *et al.*, 1993; Roderick, 1996).

O conhecimento da variabilidade genética e a provável eficiência de espécies ou genótipos dos parasitoides, nativos ou importados, contra as pragas é muito importante

para o sucesso dos programas de luta biológica, principalmente a longo prazo (Baker, 2003).

IV – Biodiversidade de predadores de afídeos nas culturas de pimento, morango e tomate

1. Introdução

Os afídeos possuem numerosos inimigos naturais que contribuem para a limitação das suas populações sendo os mais eficazes os predadores (Ilharco, 1992; Valério *et al.* 2007 a,b), que, em Portugal, podem pertencer às seguintes ordens: Diptera, Coleoptera, Neuroptera, Heteroptera e Mecoptera, demonstrando maior eficácia os dípteros (Ilharco, 1992).

Valério *et al.* (2007a,b) em cultura protegida de morango e pimento verificaram actividade predatória afidífaga por parte de antocorídeos, cecidomiídeos, coccinelídeos, crisopídeos, sirfídeos e aranhas. Por outro lado, em ensaios realizados em cultura de tomate para indústria, identificaram-se predadores pertencentes aos mesmos grupos, com excepção dos antocorídeos (Valério *et al.*, 2006).

A importância da biodiversidade dos inimigos naturais num dado ecossistema depende das características das espécies de predadores mas também das espécies da praga das quais se alimentam (Wilby *et al.*, 2005). Os aspectos positivos do aumento da diversidade dos predadores estão relacionados com um aumento das taxas de predação devido, por exemplo, à indução de comportamentos na presa que a colocam em grande risco para predadores secundários ou quando o aumento da diversidade está associada a alterações na distribuição da presa (Cardinale *et al.*, 2002), apesar de, com o aumento da diversidade de predadores existir uma combinação entre competição e predação, no fundo, a morte e alimentação de espécies que usam os mesmos recursos e que são potenciais competidores (Polis, 1989).

A biodiversidade nos ecossistemas agrários diminuiu durante as últimas décadas principalmente devido à intensificação da exploração da terra (Krebs *et al.*, 1999; Tilman *et al.*, 2002). Os campos de cultura são anualmente caracterizados por uma elevada frequência e intensidade de distúrbios e os organismos têm que se adaptar a estes distúrbios ou recolonizar os campos adjacentes (Vorgelegt, 2005). É essencial tentar o restabelecimento do equilíbrio biológico (Ilharco, 2003).

Tendo em conta a importância que os predadores têm na limitação das populações de afídeos, realizou-se este estudo com o objectivo principal de fazer uma inventariação da fauna de predadores de afídeos presentes em cinco ecossistemas agrícolas sujeitos à prática da protecção integrada ou modo de produção biológico. Estudou-se ainda a evolução da biodiversidade de predadores na cultura de morango

de ar livre, em termos de biodiversidade, após a alteração do modo de produção de agricultura convencional para produção integrada.

2. Aspectos gerais

2.1. Os predadores como inimigos naturais de afídeos

Os predadores de afídeos contribuem para a limitação das suas populações em vários ecossistemas. No entanto, apesar da sua eficácia, os predadores têm que estar adaptados com táticas e estratégias para explorar as oportunidades e ultrapassar os desafios colocados, por um lado, pelos afídeos enquanto presa (Evans, 2003), como por exemplo a capacidade de algumas espécies produzirem descendência alada na presença de coccinélídeos (Minoretti & Weisser, 2000). Por outro lado, pelos fenómenos de canibalismo e predação inter-específica que aumentam quando as populações de afídeos diminuem (Schellhorn & Andow, 1999). Interações entre agentes de luta biológica e os seus próprios inimigos naturais podem prejudicar o controlo efectivo de populações de herbívoros (Rosenheim, 1998).

A eficácia dos predadores está também intimamente relacionada com a criação de adequadas infra-estruturas ecológicas nos sistemas agrícolas de forma a garantir recursos, como alimento para os inimigos naturais adultos, presas alternativas ou hospedeiros e abrigos (Ferreira, 1998; Landis *et al.*, 2000; Ramos *et al.*, 2006).

Dentro do grupo dos predadores afidípagos consideram-se por vezes grupos de predadores generalistas e predadores especialistas. A limitação das populações de afídeos, logo no início do seu aparecimento, através de predadores generalistas faz com que haja mais tempo para que os predadores e parasitóides especialistas cheguem (Harwood & Obrycki, 2005).

Apesar de os coccinélídeos (afidípagos), sirfídeos, crisopídeos e outros predadores serem frequentemente considerados polípagos por apresentarem outras presas além de afídeos na sua dieta (Toft, 2005), a maior parte das presas "não afídeos" são presas secundárias (Evans & Gunther, 2005). Por outro lado, as aranhas são consideradas polípagas (Toft, 2005) e o mesmo autor divide os predadores em dois grupos: um que denomina "verdadeiros predadores generalistas", onde inclui as aranhas, e "predadores especialistas afidípagos", onde considera coccinélídeos, sirfídeos e crisopídeos.

2.2. Relações tróficas nos ecossistemas

O estudo das relações tróficas de um determinado ecossistema deverá ser feito com algum cuidado. Estudos recentes revelam que a teoria das interações tróficas é por vezes insuficiente para explicar as interações presa – predador (Harmon & Andow, 2002). Teorias de luta biológica relativas à interação entre predadores e presas têm sido baseadas segundo um modelo de comunidade composta por três discretos níveis tróficos – plantas, herbívoros e predadores – no qual agentes de luta biológica são o topo dos consumidores e as espécies de predadores interactuam apenas através da competição pela presa partilhada (Rosenheim et al., 1999). O modelo de Lotka-Volterra para presa-predador também tem algumas deficiências, nomeadamente o facto de não considerar a competição entre as presas ou predadores. Como resultado, a população de presas pode crescer infinitamente. Os predadores não têm saturação: a sua taxa de consumo é ilimitada (Begon et al., 1996). Estes modelos, como todos os outros são uma simplificação do sistema real (Harmon & Andow, 2002). Um bom modelo deve ser simples o suficiente para ser matematicamente tratável, mas complexo o suficiente para representar um sistema realista.

3. Material e métodos

3.1. Metodologia e locais de amostragem

As observações, *in situ*, e as colheitas de amostras realizaram-se nos anos 2002 a 2005, nos locais referidos no capítulo I (*vidé* material e métodos do cap. I), nas culturas protegidas de pimento e morango, cultura de morango de ar livre e cultura de tomate para indústria.

As observações, *in situ*, realizaram-se de acordo com o procedimento adoptado para as colheitas de amostras de afídeos e afídeos parasitados. Neste estudo, a metodologia utilizada para as colheitas de amostras consistiu em percorrer duas vezes a parcela onde estava instalada a cultura, tendo-se definido dois percursos diferentes para maximizar a área observada. Efectuaram-se três amostragens ao longo do ciclo vegetativo de cada cultura.

Pesquisaram-se atentamente plantas com colónias de afídeos para detecção de predadores (coccinelídeos, crisopídeos, antocorídeos, aranhas quer adultos quer estados imaturos), os quais, quando presentes foram recolhidos juntamente com as colónias de afídeos onde se estavam a alimentar e acondicionados em sacos ou caixas de plástico identificadas. Os adultos de sirfídeos e crisopídeos foram capturados com

uma rede de malha fina sempre que visualizados e acondicionados em caixas de plástico.

No laboratório, os adultos foram identificados até à espécie ou ao género (antocorídeos), com excepção dos aracnídeos, tendo-se recorrido a chaves para o efeito. As larvas foram alimentadas com afídeos até atingirem o estado adulto e os ovos foram separados até à emergência das larvas, seguindo-se o procedimento anterior. Sempre que necessário procedeu-se à montagem de espécimes (ver procedimento abaixo) para facilitar a identificação.

Para a identificação das espécies de coccinélídeos e de crisopídeos foram usadas as seguintes chaves: Raimundo & Alves (1986) e Brooks & Barnard (1990), respectivamente.

Os sirfídeos e cecidomiídeos foram identificados por Alexandre Gomes e os antocorídeos pela DGPC-Direcção Geral de Protecção das Culturas, (actualmente DGADR – Direcção Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural).

Apenas se capturaram adultos de antocorídeos e aracnídeos, enquanto sirfídeos e os coccinélídeos foram capturados e recolhidos nos estados de adulto, pupa, larva e ovo. Os cecidomiídeos foram recolhidos no estado de larva e os crisopídeos foram recolhidos enquanto ovo, com excepção de um adulto na cultura de pimento e uma larva na cultura do morango.

3.2. Montagem de predadores de afídeos (sirfídeos, coccinélídeos e crisopídeos)

Os espécimes foram colocados em posição favorável à identificação. Sempre que se verificou alguma resistência dos órgãos, utilizou-se uma câmara húmida durante o período considerado necessário para conseguir manusear o insecto sem o quebrar. Para a montagem procedeu-se da seguinte forma:

1 – Espetou-se um alfinete entomológico no meio do protórax do lado esquerdo da linha mediana (sirfídeos); no élitro direito, perto da base (coccinélídeos) ou no meio do tórax (crisopídeos);

2 – Colocaram-se os espécimes em posição favorável à identificação, colocando os órgãos com características morfológicas importantes em posição que permitia a sua visualização e, em seguida, colocaram-se numa estufa a 35° C durante 2 dias ou mais para secarem mais rapidamente na posição desejada (sempre que necessário, retiraram-se previamente as genitálias para posterior observação).

Não se procedeu à preparação dos cecidomiídeos, os quais foram conservados em Eppendorffs com álcool a 70 % até serem identificados por Alexandre Gomes, por outro lado, os antocorídeos foram conservados a seco até à sua identificação na actual DGADR. As aranhas não foram preparadas e aguardam identificação.

3.3. *Análise estatística*

Utilizaram-se os índices de diversidade Shannon–Wiener; Simpson e equitabilidade segundo Pielou (1977), Vieira da Silva (1979), Krebs (1994), Pité & Avelar (1996), sendo:

Índice de Shannon-Wiener (H')

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i \quad \text{com } p_i = n_i/N$$

Índice de Simpson ($1/D$)

$$1/D = 1 / \sum_{i=1}^S p_i^2$$

e

Equitabilidade = $H'/H \text{ max.}$ Com $H \text{ max.} = \log_2 S$

em que n_i corresponde ao número de indivíduos da espécie, N o número total de indivíduos capturados e S a riqueza específica.

Os índices foram calculados para a comunidade de insectos predadores, pois a identificação específica não foi realizada em todos os grupos.

Os índices foram calculados através de uma aplicação elaborada para o efeito pelo Eng. Carlos Valério. A mesma foi desenvolvida na linguagem de programação JAVA, e foi executada no programa Apache Tomcat 6.0 (servidor web Java).

4. Resultados e discussão

4.1. *Caracterização da biodiversidade de predadores*

Nas cinco culturas onde se realizaram as prospecções de predadores de afídeos, foram identificados predadores pertencentes a seis grupos: Antocorídeos, aracnídeos, cecidomiídeos, coccinelídeos, crisopídeos e sirfídeos (Fig. 1). A maior percentagem de coccinelídeos capturados verificou-se na cultura protegida de pimento, cultura protegida de morango e cultura de morango de ar livre, o que acontece frequentemente

nestes ecossistemas, principalmente associados a populações de espécies de afídeos com elevadas taxas reprodutivas como *A. gossypii* e *A. ruborum* (Valério *et al.*, 2007a,b). Na cultura de morango a percentagem de antocorídeos também atingiu níveis elevados. Por outro lado, na cultura de tomate para indústria, principalmente em modo de produção biológico os predadores predominantes foram os sirfídeos.

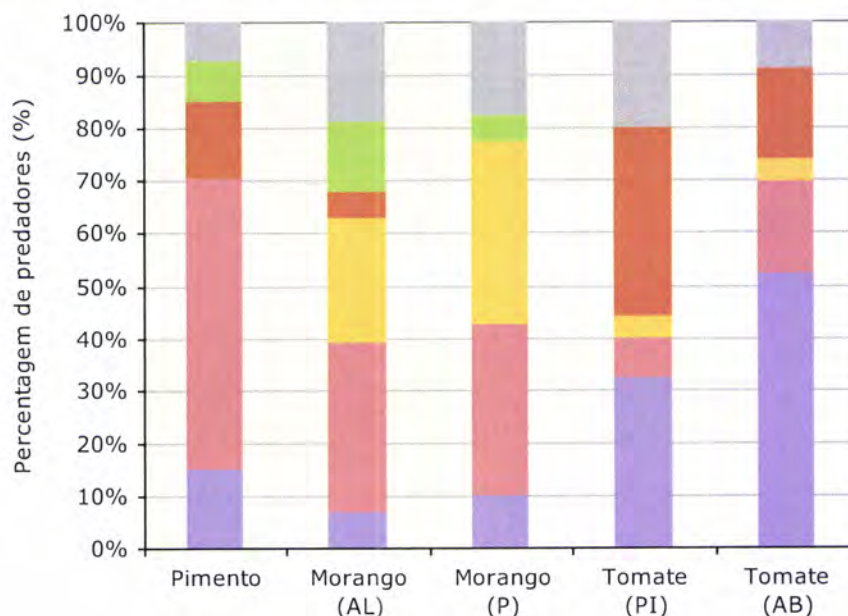


Figura 1 – Percentagem de predadores observados, *in situ*, por família, nas cinco culturas onde se realizaram as prospecções de predadores: Cultura protegida de pimento, cultura de morango de ar livre, cultura protegida de morango, cultura de tomate para indústria em protecção integrada e cultura de tomate para indústria em modo de produção biológico. Anos 2002 a 2005. AL – Ar livre; P – protegida; PI – Protecção integrada; AB – Agricultura biológica.

Legenda: ■ Sirfídeos ■ Coccinelídeos ■ Antocorídeos ■ Cecidomiídeos ■ Crispóideos ■ Aracnídeos

A lista faunística de predadores capturados apresenta-se no quadro 1. Amostraram-se um total de 16 espécies diferentes, das quais, sete espécies pertencentes à família Syrphidae, seis espécies da família Coccinellidae e uma espécie de cada uma das famílias: Anthocoridae, Cecidomiidae e Chrysopidae. O maior número de sirfídeos, principalmente pertencentes à espécie *Eupeodes corollae*, foi capturado na cultura de tomate para indústria. Por outro lado, na cultura de morangueiro foram capturados 31 coccinelídeos pertencentes a cinco espécies diferentes, enquanto na cultura de pimento e de tomate para indústria encontraram-se 15 e seis espécies de coccinelídeos pertencentes a quatro e duas espécies, respectivamente. Na cultura do morango foi onde se detectaram com maior frequência, *Orius sp.*, *Aphidoletes aphidimyza* e aracnídeos.

As espécies de predadores identificados no decurso deste estudo já tinham sido referenciadas anteriormente para Portugal, nomeadamente as espécies de sirfídeos e A.

aphidimyza por Gomes (1992), as espécies de coccinelídeos por Raimundo & Alves (1986), *C. carnea* por Pantaleão, (1994) e *Orius* sp. por Marques *et al*, (1999).

Quadro 1 – Lista de espécies capturadas nas culturas de morango; pimento e tomate para indústria. P – cultura protegida; AL – Cultura de ar livre; I – Cultura para indústria; C- Número de espécimes capturados.

Espécies de predadores	C	Cultura
Syrphidae		
<i>Episyrphus balteatus</i> (De Geer, 1776)	1	Pimento (P)
<i>Eupeodes corollae</i> (Fabricius, 1794)	2	Morango (P+AL)
	3	Pimento (P)
	12	Tomate (I)
<i>Meliscaeva auricollis</i> (Meigen, 1822)	1	Morango (P)
<i>Melanostoma scalare</i> (Fabricius, 1794)	1	Morango (P)
<i>Paragus quadrifasciatus</i> Meigen, 1822	1	Tomate (I)
<i>Sphaerophoria rueppelli</i> (Wiedmann, 1830)	2	Morango (P+AL)
	3	Tomate (I)
<i>Sphaerophoria scripta</i> (Linnaeus, 1758)	2	Morango (P+AL)
	4	Tomate (I)
Coccinellidae		
<i>Adalia bipunctata</i> (Linnaeus, 1758)	1	Morango (AL)
	5	Pimento (P)
<i>Coccinella septempunctata</i> Linnaeus, 1758	10	Morango (P+AL)
	7	Pimento (P)
	1	Tomate (I)
<i>Hippodamia variegata</i> (Goeze, 1777)	2	Pimento (P)
<i>Propylea quattuordecimpunctata</i> (Linnaeus, 1758)	4	Morango (AL)
<i>Scymnus interruptus</i> (Goeze, 1777)	8	Morango (P+AL)
	1	Pimento (P)
	5	Tomate (I)
<i>Stethorus punctillum</i> (Weise, 1891)	8	Morango (P+AL)
Anthocoridae		
<i>Orius</i> sp.	12	Morango (P+AL)
Cecidomyiidae		
<i>Aphidoletes aphidimyza</i> (Rondani)	28	Morango (P+AL)
	2	Tomate (I)
Chrysopidae		
<i>Chrysoperla carnea</i> (Stephens)	3	Morango (AL)
	4	Pimento (P)
	13	Tomate (I)
Arachnidae		
	29	Morango (P+AL)
	2	Pimento (P)
	7	Tomate (I)

Os sirfídeos são os predadores de afídeos mais activos em Portugal (Ilharco, 1992). Segundo estudos realizados por Dixon *et al.* (2005), os primeiros predadores a aparecerem no campo, quando a temperatura começa a aumentar, são os sirfídeos, os quais aparecem antes e completam o seu desenvolvimento mais rapidamente que os coccinelídeos. Em Portugal, os sirfídeos têm sido objecto de estudo e inventariação mais intensivo desde a década de 70 do séc. passado (Gomes, 1978, 1980 a,b, 1981, 1985, 1992), estando referenciadas para Portugal continental 86 espécies de sirfídeos (Carles *et al.*, 2002) das quais, 28 espécies de sirfídeos com larvas afidífangas (Gomes, 1992).

Neste estudo as espécies de sirfídeos mais abundantes foram *E. corollae*, seguida de *S. scripta*. *E. corollae* é uma espécie bastante estudada em todo o mundo (Gilbert, 2005). *S. scripta* é referida nalguns trabalhos como sendo a espécie afidífaga mais abundante (Rossi *et al.*, 2006) ou uma das mais abundantes (Burgio & Sommaggio, 2002).

Os coccinelídeos identificados constam da relação das principais espécies que ocorrem em Portugal (Raimundo & Alves, 1986; Raimundo, 1992), sendo considerados muito comuns, com excepção de *S. punctillum* e *P. quatuordecimpunctata* que são considerados apenas comuns. Estas espécies habitualmente estão associadas a afídeos, com excepção de *S. punctillum* que é normalmente encontrado a alimentar-se de ácaros e cochonilhas (Raimundo, 1992) ou exclusivamente de ácaros (Blackman, 1974). Contudo, quando o alimento principal (ácaros) escasseia também se pode alimentar de afídeos (Bakr, 2009).

A espécie de coccinelídeo mais abundante nas culturas de pimento e morango foi *C. septempunctata*, tal como acontece com outras culturas como a luzerna (Evans, 1991) e muitas outras culturas agrícolas e ecossistemas não agrícolas (Triltsch, 1999). *C. septempunctata* foi também referida como predador dominante em morango na Sérvia (Cross *et al.*, 2001). Na República Checa, o alimento preferido de *C. septempunctata* são os afídeos dos cereais, pelo que uma modificação na área de cereais devido a alterações no uso da terra e práticas culturais provocou um decréscimo das populações de *C. septempunctata* (Honek & Martinková, 2005).

Nos países europeus *C. septempunctata*, juntamente com os sirfídeos são considerados os predadores mais importantes a limitar populações de afídeos nos cereais (Triltsch, 1997).

Em estudos realizados no Japão verificou-se que *C. septempunctata* é mais eficiente a reduzir as populações de afídeos que *A. bipunctata* (Kajita *et al.*, 2006). Os baixos níveis populacionais de *A. bipunctata* podem ser devidos a um efeito de

predação por parte de *C. septempunctata* em comunidades afidípagas em que co-habitam (Kajita *et al.*, 2006). *C. septempunctata* é conhecida por causar diminuição de populações de coccinelídeos (Gupta *et al.*, 2006), no entanto, quando co-habita com *Harmonia axyridis* (Pallas) há uma tendência para que a primeira actue como presa e a segunda como predador (Yasuda & Ohnuma, 1999; Yasuda & Kimura, 2001). As larvas de *C. septempunctata* adoptaram o sistema de defesa de se deixar cair do hospedeiro vegetal quando são ameaçadas por *H. axyridis* (Sato *et al.*, 2005).

Apesar das largadas, de *H. axyridis*, efectuadas em cultura protegida de morango, este coccinelídeo não foi encontrado durante as prospecções. *H. axyridis* apesar de possuir uma elevada eficácia na redução das populações de *A. gossypii* (Kuroda, 2003; Rondon, 2005) e de outros afídeos em cultura de morangueiro (Koch, 2003), tem também alguns efeitos adversos, os quais têm sido frequentemente mencionados por vários autores (Koch, 2003; Osawa, 2003; Kuroda, 2003; Fernandes, 2005; Majerus, 2006), nomeadamente, a contribuição para a diminuição da biodiversidade de outras espécies de coccinelídeos e o facto de se poder alimentar, inadvertidamente, de afídeos parasitados (Koch, 2003). Por outro lado, nos seres humanos, interferem com a vida normal ao entrarem nas habitações e podem ainda provocar alergias (Huelsman *et al.*, 2003), enquanto nas plantas tem vindo a adquirir o estatuto de praga potencial.

Tal como acontece com *C. septempunctata*, em que os afídeos parecem ser a sua presa preferida (Kalaskar & Evans, 2001), também se verifica o mesmo no caso de *H. variegata* o que pode ser muito útil no combate a pragas de afídeos (Franzmann, 2002); porém o seu estabelecimento num ecossistema pode ser afectado por outros coccinelídeos (Franzmann, 2002). Neste estudo *H. variegata* foi identificada apenas em cultura protegida, o que pode estar relacionado com o facto de a temperatura ter grande influência no desenvolvimento e na quantidade de presa consumida, sendo o óptimo para desenvolvimento e voracidade cerca de 26° C (El Habi *et al.*, 2000).

P. quatuordecimpunctata é um dos coccinelídeos afidípagos mais abundante na Bulgária; contudo não é considerado um promissor candidato para luta biológica devido à sua pequena voracidade (Kalushkov & Hodek, 2005).

O único heteróptero encontrado no decurso deste trabalho foi *Orius sp.* Apesar de ser encontrado normalmente a alimentar-se de tripes, também se alimentam de afídeos e ácaros (Helyer *et al.*, 2003).

A. aphidimyza é a espécie de cecidomiídeo assinalada em Portugal (Gomes, 1992). Noutros Países *A. aphidimyza* tem vindo a ser utilizado em programas de luta biológica em cultura protegida para limitar as populações de afídeos (Hansen, 1983; Van Schelt *et al.*, 1990, Van Schelt & Mulder, 2000; Chambers, 1990). São predadores de muitas

espécies de afídeos de culturas protegida, mas também de afídeos que se alimentam em culturas de ar livre (Helyer *et al.*, 2003). Os cecidomídeos e os himenópteros (Braconidae: Aphidiinae) são considerados eficientes agentes na limitação de pragas de afídeos (Havelka & Zemek, 1999). Uma das vantagens deste predador está relacionada com o facto de *A. aphidimiza* ser um predador especializado em afídeos (Lucas, 2005). Os adultos são nocturnos (Helyer *et al.*, 2003), razão provável pela qual não foram capturados no decurso deste trabalho.

Durante a realização deste estudo, observou-se um elevado número de ovos de crisopídeo, quando comparado com as larvas e as pupas. Este facto pode ser devido, em parte a uma grande mobilidade que possuem as larvas deste predador. Por outro lado, Rosenheim (1999) refere que o facto de se observarem mais ovos do que larvas e pupas de crisopídeos pode estar relacionado com um importante factor de mortalidade nos primeiros estados de desenvolvimento e que não está relacionado com canibalismo ou predação interespecifica na família Chrysopidae. Nas culturas em estudo os crisopídeos, provavelmente contribuíram para a redução das populações das pragas de afídeos, principalmente na cultura de tomate para indústria, onde se registaram maior número de capturas. Rosenheim (1993) testou os crisopídeos e vários predadores generalistas incluindo predadores da ordem hemiptera, e verificou que apenas as larvas de crisopídeos são efectivas a reduzir as populações de afídeos.

A actividade das aranhas a preda as espécies de afídeos da cultura de morangueiro parece ter sido importante tendo em conta o número de capturas realizado (Quadro 1). A actividade das aranhas como predadores pode revestir-se de grande importância, nomeadamente no início do crescimento das populações das pragas de afídeos (Cecílio *et al.*, 2005; Toft, 2005), antes que outros predadores, mais exigentes em relação à temperatura e densidade das populações a preda, se tornem activos, como os coccinelídeos e os sirfídeos (Cecílio *et al.*, 2005). O aumento da densidade de aranhas resulta numa redução das populações das pragas (Sunderland & Samu, 2000). Harwood & Obrycki (2005) referem *Pachygnatha degeeri* como uma espécie que pode ser um excelente auxiliar no combate de praga de afídeos, por estes constituírem uma grande porção da sua dieta.

Em todas as culturas amostradas, verificou-se um aumento do número de espécimes capturados ao longo dos anos em que se realizaram amostragens (Quadro 3). Na cultura de morangueiro verificou-se ainda um aumento na diversidade de espécies, tendo-se observado quatro espécies no ano 2002 e 11 no ano 2004 (Quadro 3).

Quadro 3 – Número de espécimes e espécies capturadas ao longo do período das amostragens. P – cultura protegida; AL – Cultura ar livre; PRODI – produção integrada; PI – protecção integrada; MPB – Modo de produção biológico.

Cultura	Ano	Total de espécimes	Total de espécies
Morango (AL-PRODI)	2002	7	4
	2003	20	6
	2004	22	11
Morango (P-PRODI)	2002/2003	8	5
	2003/2004	25	6
Pimento (P-PI)	2002	7	4
	2003	7	6
	2004	11	6
Tomate para indústria (PI)	2002	8	4
	2003	12	4
Tomate para indústria (MPB)	2003	5	3
	2004	7	6
	2005	9	6

A maior diferença em termos de biodiversidade de espécies de predadores observou-se na cultura de morango de ar livre e de tomate para indústria em modo de produção biológico.

O aumento da biodiversidade de espécies de predadores na cultura de morango de ar livre, tal como aconteceu na cultura de tomate para indústria em modo de produção biológico, pode estar relacionado com o facto de se ter alterado o modo de produção de Convencional para Produção Integrada e Modo de produção biológico, contudo, e apesar das duas alternativas de agricultura sustentável, produção integrada e modo de produção biológico, terem em comum alguns princípios sendo um o aumento expectável a diversidade biológica (Amaro, 2003), devemos ter algum cuidado na análise dos dados por se terem efectuado prospecções apenas num local em cada ano.

A alteração para modos de produção mais “amigos” do ambiente como a produção integrada e o modo de produção biológico provoca, normalmente, um aumento da riqueza de espécies, havendo em média cerca de mais 30 % de riqueza de espécies em

modo de produção biológico do que nos sistemas convencionais (Bengtssone *et al.*, 2005; Vorgelegt, 2005).

Contudo, em estudos realizados com morfoespécies de coleópteros, heterópteros e homópteros em pomóideas do Oeste e Beiras e vinha na região dos vinhos verdes, Douro, Dão e Alentejo, no decurso do projecto Agro 545, na maior parte dos casos, os campos de agricultura biológica não apresentaram maior número de espécies que os outros campos em protecção integrada e agricultura convencional.

4.2. Estudo da biodiversidade de espécies de predadores na cultura de morango de ar livre

Os índices de Shannon-Wiener e de Simpson tiveram valores mais elevados no último ano de amostragens (2004) quando comparados com o primeiro ano (2002) (Quadro 4). Verificou-se um aumento dos índices de Shannon e de Simpson ao longo dos anos. Por outro lado, a equitabilidade foi igual nos anos 2002 e 2004.

Quadro 4 - Índices de biodiversidade de insectos predadores nos três anos de amostragens na cultura de morangueiro de ar livre. S – Nº de espécies diferentes

Ano	S	Índice de Shannon-Wiener	Índice de Simpson	Equitabilidade
2002	4	1,84	3,23	0,92
2003	6	2,06	3,23	0,80
2004	11	3,17	7,69	0,92

Pela análise dos índices de biodiversidade verificou-se que existe uma oscilação da equitabilidade (Quadro 4), no entanto, encontra-se próxima de 1, ou seja, existe uma grande homogeneidade na distribuição das espécies na comunidade estudada. Os índices de Shannon-Wiener e Simpson tiveram valores mais elevados, no ano 2004, que poderá ter ocorrido por se verificar, neste ano, a presença de três espécies de sirfídeos e mais duas espécies de coccinelídeos (Quadro 5) que não se identificaram nos anos anteriores. Um índice Shannon-Wiener máximo, de uma determinada população, é obtido apenas se cada espécie representada é composta pelo mesmo número de indivíduos.

Duarte *et al.* (2005), em cultura de tomate para indústria, verificaram a existência de índices de Simpson e Shannon-Wiener mais elevados em campos de Luta química relativamente a campos em modo de produção biológico e protecção integrada. Por outro lado, a equitabilidade oscilou pouco, nesses campos, mantendo-se perto dos 0,70.

No quadro 5 podemos observar que só após três anos (no ano 2004) de condução da cultura em produção integrada é que se detectou a presença de sirfídeos. O número de espécies de coccinélídeos capturadas aumentou ao longo dos anos em que decorreram as amostragens, tendo passado de duas, no ano 2002, a cinco no ano 2004.

Quadro 5 – Capturas de predadores, por espécie, das famílias Coccinellidae e Syrphidae. Cultura de morango de ar livre. *Ec* – *E. corollae*; *Sr* – *S. rueppelli*; *Ss* – *S. scripta*; *Ab* – *A. bipunctata*; *Cs* – *C. septempunctata*; *Pq* – *P. quattuordecimpunctata*; *Sci* – *S. interruptus* e *S. punctillum*.

Ano	Sirfídeos			Coccinélídeos				
	<i>Ec</i>	<i>Sr</i>	<i>Ss</i>	<i>Ab</i>	<i>Cs</i>	<i>Pq</i>	<i>Sci</i>	<i>Stp</i>
2002						1		2
2003					1	1	2	
2004	1	1	2	1	4	2	1	5

VII – Conclusões gerais

As principais conclusões deste estudo foram as seguintes:

- Identificaram-se oito espécies de afídeos nas culturas em estudo, nomeadamente, *Aphis craccivora*, *Aphis fabae*, *Aphis gossypii*, *Aphis ruborum*, *Aulacorthum solani*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus persicae* e *Pentatrachopus fragaefolii*, sendo todas polífagas, com excepção de *A. ruborum* e *P. fragaefolii*. De um modo geral, os afídeos que se comportaram como praga foram *A. craccivora*, *A. gossypii* e *M. persicae*. *M. euphorbiae* atingiu também populações elevadas, principalmente na cultura de tomate para indústria e *A. ruborum* em cultura de morango.

- A parasitar as espécies de afídeos das culturas em estudo foram encontrados parasitóides primários, nomeadamente, Afidiíneos e Afelinídeos, e parasitóides secundários (hiperparasitóides). Os parasitóides primários mantiveram-se activos, contudo, com níveis populacionais baixos em quase todas as culturas. Por outro lado, os níveis populacionais dos parasitóides secundários (hiperparasitóides) foram bastante elevados o que pode ter contribuído para a diminuição da eficácia dos parasitóides primários. Os parasitóides primários afelinídeos parecem ter um papel importante na limitação do afídeo *M. euphorbiae*, na cultura de tomate para indústria.

- Com baixos níveis populacionais de afídeos, o parasitismo parece ser a melhor opção a considerar, por outro lado, para limitar as espécies de afídeos com taxas reprodutivas muito elevadas, como *A. craccivora* e *A. gossypii*, o parasitismo não é, normalmente, suficiente pelo que se deverá ponderar efectuar largadas de predadores, devido à sua maior eficácia a limitar populações elevadas de afídeos.

- As espécies de parasitóides afidiíneos identificadas foram *Aphidius colemani*, *Aphidius ervi*, *Aphidius matricariae*, *Aphidius sp.*, *Ephedrus sp.*, *Lysiplebus fabarum*, *Lysiplebus testaceipes*, *Praon gallicum*, *Praon volucre* e *Trioxys angelicae*. *M. persicae* foi o afídeo onde se observaram mais espécies de parasitóides a parasitá-lo. Os parasitóides do género *Aphidius sp.* foram aqueles que se mostraram mais activos a limitar as espécies de afídeos da cultura de pimento. Nas culturas em estudo, o parasitóide que atingiu níveis populacionais mais elevados foi *A. colemani*.

A espécie *P. gallicum* é pela primeira vez referenciada para Portugal e acrescentaram-se novas combinações parasitóide afidiíneo – espécie de afídeo – planta hospedeira, à informação existente anteriormente.

- Na cultura de pimento, das variáveis analisadas, a variável estufa foi a que apresentou maior influência na comunidade de espécies de afídeos, o que pode estar relacionado com o facto de os maiores níveis populacionais terem ocorrido nas estufas com as aberturas laterais viradas aos ventos dominantes. Por outro lado, as espécies de afídeos foram as variáveis que mais influenciaram as populações de parasitóides.

- Apesar do estudo morfológico de *A. colemani* não ter revelado diferenças entre os espécimes analisados, o estudo genético-populacional revelou a diferenciação de nove genótipos nas amostras de *A. colemani*. O genótipo dominante foi encontrado em quatro afídeos hospedeiros, *A. craccivora*, *A. gossypii*, *A. ruborum* e *Myzus persicae*, o que demonstra uma boa adaptação a diferentes espécies de afídeos. Os parasitóides utilizados nas largadas não possuíam este genótipo dominante e não foram encontrados na maior parte das populações, o que aconteceu apenas numa das populações cujo local se encontra isolado e rodeado por vegetação natural o que pode ter contribuído para a manutenção dos parasitóides perto das estufas por possuírem locais de abrigo, alimento e hibernação.

- Amostraram-se um total de 16 espécies diferentes de predadores, das quais, sete espécies pertencentes à família Syrphidae: *Episyrphus balteatus*, *Eupeodes corollae*, *Meliscaeva auricollis*, *Melanostoma scalare*, *Paragus quadifasciatus*, *Sphaerophoria rueppelli* e *Sphaerophoria scripta*; seis espécies da família Coccinellidae: *Adalia bipunctata*, *Coccinella septempunctata*, *Hippodamia variegata*, *Propylea quattuordecimpunctata*, *Scymnus interruptus* e *Stethorus punctillum* e ainda uma espécie de cada uma das famílias, Anthocoridae: *Orius sp.*; Cecidomiidae: *Aphidoletes aphidimyza* e Chrysopidae: *Chrysoperla carnea*. Foram ainda encontrados aracnídeos.

- No Estudo efectuado na cultura de morango de ar livre observou-se que a diversidade de espécies de predadores aumentou ao longo dos anos de condução da cultura em produção integrada. Assim, só no terceiro ano é que foi detectada a presença de sirfídeos, por outro lado, o número de espécies de coccinélídeos capturados aumentou ao longo dos anos em que decorreram as amostragens, tendo passado de duas, no primeiro ano, a cinco no último ano.

VI - Referências bibliográficas

- Adisu, B., Starý, P., Freier, B. & Buttner, C. 2002. *Aphidius colemani* Vier. (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) detected in cereal fields in Germany. *Anzeiger für Schadlingskunde*, 75: 89-94.
- Aldryhim, Y.N. & Khalil, A.F. 1993. Influence of temperature and day length on population development of *Aphis gossypii* on *Curcubita pepo*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 67:167-172.
- Alomar, O., Gabarra, R. & Castané, C. 1997. The parasitoid *Aphelinus abdominalis* (Hym.: Aphelinidae) for biological control of *Macrosiphum euphorbiae* on tomatoes grown in unheated plastic greenhouses. *IOBC/WPRS bulletin*, 20 (4): 203-206.
- Álvarez-Álvarez, A., Feito, I. & Seco-Fernández, M.V. 2004. Dinâmica de vuelo de los áfidos (Homoptera: Aphididae) plaga de la júdia de Asturias (*Phaseolus vulgaris* L.) y su relación con las condiciones ambientales. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas*, 30: 533-546.
- Amaro, P. (2003). *A Protecção Integrada*. ISA Press. Lisboa. 446 pp.
- Annan, I.B., Schaefer, G.A. & Tingey, W.M. 1996. Impact of density of *Aphis craccivora* (Aphididae) on growth and yield of susceptible and resistant cowpea cultivars. *Annals of Applied Biology*, 128 (2): 185-193.
- Auclair, J.L. 1989. Host plant resistance. In A.K. MINKS & P. Harrewijn eds. *World Crop Pests - Aphids, their biology, natural enemies and control*, Elsevier. Amsterdam - Oxford - New York - Tokyo, 2c: 225-265.
- 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. *Molecular Ecology*, 12: 3303-3311.
- Barbagallo, S. 1966. L'afidofauna degli agrumi in sicilia. *Entomologica*, 2: 201-260.
- Barratt, B.I.P., Phillips, C.B., Ferguson C.M., Goldson S.L. 2003. Predicting non-target impacts of parasitoids: where to go from here? USDA Forest Service-FHTET Publication. *1st International Symposium on Biological Control of Arthropods*, Hawaii, USA, 378-386.
- Barrenechea, I.V., Sobrino, C.C. & López, B.M. 2004. Empleo de aceites de distinto origen, en programas de manejo interado en pimiento para el control del pulgón *Myzus persicae* (Sulzer). *Boletín Sanidad Vegetal Plagas*, 30: 185-195.
- Begon, M., JL Harper & CR Townsend. 1996. *Ecologia: indivíduos, populações e comunidades*, 3a edição. Blackwell Science Ltd., Cambridge, MA.
- Behura, S.K. 2006. Molecular marker systems in insects: current trends and future avenues. *Molecular Ecology*, 15: 3087-3113.
- Belshaw, R. & Quicke, D.L.J. 1997. A molecular phylogeny of the Aphidiinae (Hymenoptera: J. Braconidae). *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 7: 281-293.
- Belshaw, R., M. Fitton, E. Herniou, C. Gimeno & Quicke D. L. J.. 1998. A phylogenetic reconstruction of the Ichneumonoidea (Hymenoptera) based on the D2 variable region of 28S ribosomal RNA. *Systematic Entomology*, 23: 109-123.
- Belshaw, R., C. Lopez-Vaamonde, N. Degerli & Quicke D. L. J. 2001. Paraphyletic taxa and taxonomic chaining: evaluating the classification of braconine wasps (Hymenoptera: Braconidae) using 28S D2-3 rDNA sequences and morphological characters. *Biological Journal of the Linnean Society*, 73: 411-424.
- Belshaw, R., Grafen, A. & Quicke, D.L.J. 2003. Inferring life history from ovipositor morphology in parasitoid wasps using phylogenetic regression and discriminant analysis. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 139: 213-228.
- Bengtssone, J.; Ahnstrom J. & Weibull A.C. 2005. The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: a meta-analysis. *Journal of Applied Ecology*, 42: 261-269.
- Bilu, E., Hopper, K.R. & Coll, M. 2006. Host choice by *Aphidius colemani*: effects of plants, plant-aphid combinations and the presence of intra-guild predators. *Ecological Entomology*, 31: 331-336.
- Blackman, R.L. 1974. *Aphids*. Ginn & Company, Ltd., London and Aylesbury. 169 pp.

- Blackman, R.L. & Eastop, V.F. 1984. *Aphids on the world's crops*. John Wiley & Sons, Chichester, 466 pp..
- Blackman, R.L. & Eastop, V.F. 2000. *Aphids on the world's crops - An identification and information guide*. 2nd edition. John Wiley & Sons, Lda. Chichester, 466 pp.
- Borcard, D., P. Legendre & P. Drapeau. 1992. Partialling Out the Spatial Component of Ecological Variation. *Ecology* **73**:1045-1055.
- Brooks, S.J. & Barnard, P. C. 1990. The green lacewings of the world: a generic review (Neuroptera: Chrysopidae). *Bulletin Brazilian Museum Natural History (Ent.)*, **59** (2): 117-286.
- Burgio, G., Ferrari, R. & Nicoli G. 1994. Biological and integrated control of *Aphis gossypii* in protected cucumber and melon. *Bulletin IOBC/WPRS*, **17** (5):192-197.
- Burgio, G. & Ferrari, R. 1996. Binomial sampling of *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) infesting watermelon in open field in Northern Italy. *Bulletin IOBC/WPRS - Integrated control in glasshouses*, **19** (1):27-30.
- Burgio, G. & Sommaggio, D. 2002. Diptera Syrphidae caught by Malaise trap in Bologna province and new record of *Neoascia interrupta* in Italy. *Bulletin of Insectology*, **55**(1-2): 43-47.
- Cardinale, B.J., Palmer, M.A. & Collins, S.L. 2002. Species diversity enhances ecosystem functioning through interspecific facilitation. *Nature*, **415**: 426-429.
- Cecílio, A. 1991-1995. Aditamentos à 1ª lista de afidiídeos de Portugal (Hymenoptera, Aphidiidae). *Agronomia Lusitana*, **45** (1-3): 185-202.
- Cecílio, A. 1992. Espécies de afídeos novas para Portugal (Hymenoptera, Aphidiidae). V Congresso Ibérico de Entomologia. Suplemento 3 *Boletim da Sociedade Portuguesa de Entomologia*.
- Cecílio, A., Vieira, M.M., Fernandes, J.E. & Neves A. 1994. The control of aphids on protected melon crop in Algarve. *Bulletin IOBC/WPRS*, **17** (5):170-175.
- Cecílio, A. 1995. Espécies de afidiídeos novas para Portugal Continental (Hymenoptera, Aphidiidae). *Avances en Entomologia Ibérica*. 217-220.
- Cecílio A., Ilharco, F.A. & Pinto, J. 1998. Aphid parasitoids of *Prunus* and their relations with the ecosystem in Portugal (Aphidoidea; Aphidiidae). *Aphids in natural and managed ecosystems*. Nieto Nafria, J.M. & Dixon, A.F.G. eds. Léon (Spain), 133-140.
- Cecílio, A. & Ilharco, F. A. 2002. Parasitóides urbanos de afídeos e as suas relações com o ecossistema (Hymenoptera, Aphidiidae; Homoptera, Aphidoidea). *Agronomia Lusitana*, **50** (1-2): 5-12.
- Cecílio, A.; Valério, E. & Ferreira, M.A., 2005. Protecção fitossanitária no âmbito da protecção integrada, Auxiliares. *Manual do Morangueiro*, projecto PO AGRO DE&D 193, INIAP/EAN, 89-98
- Chambers, R.J. 1990. The use of *Aphidoletes aphidimyza* for aphid control under glass. *SROP/WPRS Bulletin*, **XIII** (5): 51-54.
- Chen, Y., Pike, K., Greenstone, M. & Shufran, K. 2006. Molecular markers for identification of the hyperparasitoids *Dendrocerus carpenteri* and *Alloxysta xanthopsis* in *Lysiphlebus testaceipes* parasitizing cereal aphids. *Biocontrol*, **51**: 183-194.
- Ciglar, I. & Baric, B. 1996. Problems related to the control of the peach-potato aphid, *Myzus persicae* Sulz. (Homoptera: Aphididae) in Croatia. In P. CRAVEDI, C. HARTFIELD & E. Mazzoni eds, Zaragoza (Spain), 71-77.
- Collar, J.L., Avilla, C., Duque, M. & Federes, A. 1997. Behavioral response and virus vector ability of *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) probing on pepper plants treated with aphicides. *Journal of Economic Entomology*, **90** (6):1628-1634.
- Costa, A. 1987. *Relatório de um estágio sobre parasitóides de afídeos realizado no Instituto de Entomologia da Academia de Ciências da Checoslováquia. Técnicas de criação, colheita e montagem de parasitóides*. INIA, Estação Agronómica Nacional (ciclostilado).
- Costa, A. & Starý, P. 1988. *Lysiphlebus testaceipes*, an introduced aphid parasitoid in Portugal (Hym.: Aphidiidae). *Entomophaga*, **33** (4): 403-412.

- Costa, A. 1988. Nota sobre os afidiídeos (Hymenoptera: Aphidiidae) de Portugal. *Agronomia Lusitana*, **43** (1-4): 151-160.
- Costa, A. 1989. *Os afidiídeos em equilíbrio biológico de afídeos*. Instituto nacional de investigação agrária, EAN, Oeiras.
- Cravedi, P. & Cervato, P. 1994. Evaluation of resistance to insecticides in *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) by biochemical assays. *OILB SROP Bulletin*, **18** (2): 8-11.
- Cross, J.V., Easterbrook, M.A., Crook, A.M., Crook, D., Fitzgerald, J.D., Innocenzi, P.J., Jay, C.N. & Solomon, M.G. 2001. Review: Natural enemies and biocontrol of pests of strawberry in Northern and Central Europe. *Biocontrol Science and Technology*, **11**: 165-216.
- Delorme, R. 1996. Résistance aux insecticides chez les pucerons. *PHM Revue Horticole*, **369**:29-33.
- Denslow, J.S. & D'Antonio, C.M. 2005. After biocontrol: Assessing indirect effects of insects releases. *Biological Control*, **35**: 307-318.
- Devonshire, A.L. 1989. Resistance of aphids to insecticides. In A.K. Minks & P. Harrewijn (eds.). *Aphids, their biology, natural enemies and control*. Série World Crop Pests. Elsevier Science Publishers, Amsterdam. **2C**: 123-139.
- Dixon, A.F.G., Jarosik, V. & Honek, A. 2005. Thermal requirements for development and resource partitioning in aphidophagous guilds. *European Journal of Entomology*, **102**: 407-411.
- Domagala, T. 1992. Use of *Aphidius matricariae* in integrated control of *Myzus persicae* on capsicum in glasshouses. *OEPP/EPPO bulletin*, **22**: 449-453.
- Douloumpaka, S. & van Emden, H.F. 2003. A maternal influence on the conditioning to plant cues of *Aphidius colemani* Viereck, parasitizing the aphid *Myzus persicae* Sulzer. *Physiological Entomology*. **28**:108-113.
- Dowton, M., A. D. Austin & M. F. Antolin. 1998. Evolutionary relationships among the Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) inferred from partial 16S rDNA gene sequences. *Insect of Molecular Biology*, **7**: 129-150.
- Dowton, M. 1999. Relationships among the cyclostome braconid (Hymenoptera: Braconidae) subfamilies inferred from a mitochondrial tRNA gene rearrangement. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, **11**: 283-287.
- Dowton, M., R. Belshaw, A. D. Austin & Quicke D. L. J. 2002. Simultaneous molecular and morphological analysis of braconid relationships (Insecta: Hymenoptera: Braconidae) indicates independent mt-tRNA gene inversions within a single wasp family. *Journal of Molecular Evolution*, **54**: 210-226.
- Duarte, S; Gonçalves, C.; Figueiredo, E.; Queirós, M.; Godinho, M.C.; Mexia, A. & Amaro, F. 2005. Índices de biodiversidade em campos de tomate para indústria sujeitos a diferentes estratégias de protecção. In: Cunha, M.J. (coord.). *A Produção Integrada e a Qualidade e Segurança Alimentar - Actas VII Encontro Nacional de Protecção Integrada*, IPC, Coimbra, **2**: 184-191.
- Dufour, R. 2001. Biointensive integrated pest management (IPM). *Fundamentals of sustainable agriculture*. *ATTRA*, 1-52.
- Eastop, V.F. 1966. A taxonomic study of Australian Aphidoidea (Homoptera). *Australian Journal of Zoology*, **14**: 399-592.
- El Habi, Sekkat, A., El Jadd, L. & Boumezzough, A. 2000. Biologie d'*Hippodamia variegata* Goeze (Col., Coccinellidae) et possibilités de son utilisation contre *Aphis gossypii* Glov (Hom., Aphididae) sous serres de concombre. *Journal of Applied Entomology*, **124**: 365-374.
- El-Serafy, H.A. 1999. Population density of cereal aphids parasitoids and their role in suppressing cereal aphids on wheat plantations at Mansoura district. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, **32** (3): 257-264.
- Evans, E.W. 1991. Intra versus interspecific interactions of ladybeetles (Coleoptera : Coccinellidae) attacking aphids. *Oecologia*, **87** (3): 401-408.
- Evans, E.W. 2003. Searching and reproductive behaviour of female aphidophagous ladybirds (Coleoptera : Coccinellidae) : a review. *European Journal of Entomology*, **100**: 1-10.

- Evans, E.W. & Gunther, D.I. 2005. The link between food and reproduction in aphidophagous predators: a case study with *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology*, **102**: 423-430
- Fereres, A., Blua, M.J. & Perring, T.M. 1992. Retention and transmission characteristics of Zucchini yellow mosaic virus by *Aphis gossypii* and *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, **85** (3): 759-765.
- Ferrari, R. & Nicoli G. 1994. Ciclo biológico e nemici naturali di *Aphis gossypii* Glover: prime osservazioni. *Informatore fitopatológico*, 5:59-62.
- Ferreira, J., Strecht, A., Ribeiro, J., Soeiro, A. & Cotrim, G., 1998. *Manual de Agricultura Biológica*. Agrobio - Associação Portuguesa de Agricultura Biológica, Lisboa, 431 pp.
- Follett, P.A. & Duan, J.J. (Eds.). 2000. *Nontarget effects of biological control*. Kluwer Academic Publishers. Boston, Dordrecht, London, 316 pp.
- Folmer, O, Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. & Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3 (5): 294-299.
- Foster, S.P. Harrington, R., Devonshire, A.L., Denholm, I., Devine, G.J. & Kenward, M.G. 1996. Comparative survival of insecticide-susceptible and resistant peach-potato aphids, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae), in low temperature field trials. *Bulletin of Entomological Research*, **86** (1):17-27.
- Franzmann, B.A. 2002. *Hippodamia variegata* (Goeze) (Coleoptera: Coccinellidae), a predacious ladybird new in Australia. *Australian Journal of Entomology*, **41**: 375-377.
- Furk, C. & Hines C.M. 1993. Aspects of insecticide resistance in the melon and cotton aphid, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae). *Annals of Applied Biology*, **123** (1): 9-17.
- García, T.C. 2001. Problemática de plagas en cultivos hortícolas en invernaderos: evolución y situación actual. *Agrícola Vergel*, 239: 621-625.
- Gassen, D. 2002. Inverno com pulgões. *Cultivar*, 12-14.
- Gilbert, F. 2005. Syrphid aphidophagous predators in a food-web context. *European Journal of Entomology*, **102**: 325-333.
- Gilkeson, L.A. 1990. Biological control of Aphids in Greenhouse Sweet Peppers and tomatoes. *Bulletin SROP/WPRS*, **XIII** (5):64-70.
- Giunchi, P. 1969. "Resistance du *Myzus* (*Myzodes*) *persicae* Sulzer aux aficides. " Avignon (France).9-12.
- Gomes, A. 1978. Notas sobre os sirfídeos de Portugal (Díptera, Syrphidae). *Agronomia Lusitana*, **39** (1): 5-28.
- Gomes, A. 1980a. Sirfídeos de Portugal existentes nas colecções entomológicas do centro de zoologia (Diptera, Syrphidae). *Boletim da Sociedade Portuguesa de Entomologia*, 5: 1-5.
- Gomes, A. 1980b. Notícia sobre a sirfidofauna (Diptera, Syrphidae) do Arquipélago dos Açores. *Boletim da Sociedade Portuguesa de Entomologia* 7 (suplemento A): 293-299.
- Gomes, A. 1981. Sirfídeos colhidos em Portugal durante 1977 (Diptera, Syrphidae). *Agronomia Lusitana*, **41**: 5-24.
- Gomes, A. 1985. Notícia sobre a sirfidofauna do Arquipélago da Madeira (Diptera, Syrphidae). II Congresso Ibérico de Entomologia, Lisboa. *Boletim da Sociedade Portuguesa de Entomologia*, 76:72.
- Gomes, A. 1992. Sirfídeos, camemiídeos e cecidomiídeos (Dípteros). *Revista de Ciências Agrárias*, **15** (1-2): 83-86.
- Gouveia, M.A. & Araújo, J. 1985. Estudo da acção dos himenópteros parasitóides de afídeos, numa seara de trigo, na região de Évora (Hymenoptera; Homoptera, Aphidoidea). *Resúmenes de las comunicaciones, III Congreso Ibérico de Entomologia*, Granada.
- Greer, L. 2000. Greenhouse IPM: sustainable aphid control. Pest Management Technical Note. *ATTRA*, 1-12.
- Greer, L. & Diver, S. 1999. Integrated pest management for greenhouse crops. Pest management systems guide. *ATTRA*, 1-34.
- Guenaoui, Y. & Ait Chaabane, A. 1991. Les pucerons des cultures maraichères sous abris, un sérieux problème en Algérie. *Bulletin SROP/WPRS*, **13** (5):64-70.

- Guenauoui, Y., Mahiout, R., Boualem, M. & Kerachi R. 1994. Recherches de moyens biologiques pour lutter contre *Aphis gossypii* Glover (Hom.: Aphididae) en cultures protégées. Première évaluation de l'action parasitaire d'une souche thélytoque de *Lysiphlebus fabarum* Marshall (Hym.: Aphidiidae) d'origine algérienne sur son hôte *A. gossypii*. *Integrated Control in Protected Crops - Mediterranean climate*, **17** (5):165-169.
- Gupta, A.K., Srivastava, S., Mishra, G., Singh, K. & Omkar. 2006. Survival, development and life tables of two congeneric ladybirds in aphidophagous guilds. *Insect Science*, **13**: 119-126.
- Hansen, L.S. 1983. Introduction of *Aphidoletes aphidimyza* (Rond.) (Diptera: Cecidomyiidae) from an open rearing unit for the control of aphids in glasshouses. *SROP/WPRS Bulletin*, **VI** (3): 146-150.
- Harmon, J.P. & Andow, D.A. 2002. Alternative foods as a mechanism to enhance a generalist ladybird's predation of target prey. *1st International Symposium on Biological Control of Arthropods*. 244-249.
- Harwood J.D. & Obrycki, J.J. 2005. Quantifying aphid predation rates of generalist predators in the field. *European Journal of Entomology*, **102**: 335-350.
- Havelka, J. & Zemek, R. 1999. Life table parameters and oviposition dynamics of various populations of the predacious gall-midge *Aphidoletes aphidimyza*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **91**: 481-484.
- Heie, O.E. 1986. The Aphidoidea (Hemiptera) of Fennoscandia and Denmark. III. *Fauna Entomologica Scandinavica*, **17**: 287 pp.
- Helyer, N., Brown, K. & Cattlin, N.D. 2003. A Colour Handbook of Biological Control in Plant Protection. Manson. *The Royal Horticultural Society*, 118 pp.
- Hermoso de Mendoza, A., La Spina, M., Marco, F., Tabanera, S., Vinaches, P. 2005. Nível de dano económico para *Aulacorthum solani* (Kaltenbach) (Hemiptera, Aphididae) sobre pimento em invernadero comercial. Record of proceedings of *IV Congreso Nacional de Entomología Aplicada, X Jornadas científicas de la SEEA, I Jornadas portuguesas de entomología aplicada*. Bragança (Portugal), 112pp.
- Hille Ris Lambers, D. 1959. Notes on European aphids with descriptions of new genera and species (Homoptera, Aphididae). *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft* **37**: 271-286.
- Hofsvang, T. & Hagvar, E.B. 1975. Duration of development and longevity in *Aphidius ervi* and *Aphidius platensis* (Hym.: Aphidiidae), two parasites of *Myzus persicae* (Hom.: Aphididae). *Entomophaga*. **20**: 11-22.
- Holler, C., Christiansen-Weniger, P., Micha, S. G., Siri, N. & Borgemeister, C. (1991). Hyperparasitoid-Aphid and Hyperparasitoid-primary parasitoid relationships. *Redia*, **LXXIV** (3): 153-161
- Hollingsworth, R.G., Tabashnik, B.E., Johnson, M.W., Messing, R. H. & Ullman D.E. 1997. Relationship between susceptibility to insecticides and fecundity across populations of cotton aphid (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, **90** (1):55-58.
- Holman, J. 1974. *Los afidos de Cuba*. Instituto cubano del libro. La Habana, Cuba. 154 pp
- Hommes, M. 1992. Biological control of aphids on capsicum. *OEPP/EPPO bulletin*. **22** (3): 421-427.
- Honek, A. & Martinková, Z. 2005. Long term changes in abundance of *Coccinella septempunctata* (Coleoptera: Coccinellidae) in Czech Republic. *European Journal of Entomology*, **102**: 443-448.
- Hopper, K.R., Roush, R.T. & Powell, W. 1993. Management of Genetics of Biological - Control Introductions. *Annual Review of Entomology*, **38**: 27-51.
- Huelsman, M.F.; Kovach, J.; Jasinski, J.; Young, C. & Easley, B. 2002. Multicolored Asian lady beetle (*Harmonia axyridis*) as a nuisance pest in households in Ohio. In: Jones S.C.; Zhai, J. & Robinson W.H., editors. Proceedings of 4th International Conference on Urban Pests, 243-250.
- 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. *Molecular Ecology*, **13**: 337-348.
- Hummel, N.A., Salmo, F.G., Miyao, G.M., Underwood, N.C. & Villalobos, A. 2004. Potato aphid, *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas), in tomatoes: Plant Canopy distribution and binomial sampling on processing tomatoes in California. *Journal of Economic Entomology*, **97**(2): 490-495.
- Idris, A.B., Mohamad Roff, M.N. & Fátima, S.G. 2001. Effects of chilli plant architecture on the population abundance of *Aphis gossypii* Glover, its coccinellid predator and relationship with virus disease incidence on chilli (*Capsicum annum*). *Pakistan Journal of Biological Science*, **4** (11): 1356-1360.
- Ilharco, F.A. & Gomes, A. 1966. Montagem de afídeos para observação microscópica. Introdução de uma nova operação. *Agronomia Lusitana* **23** (1): 41-45.
- Ilharco, F.A. 1973. *Catálogo dos afídeos de Portugal Continental*. Estação Agronómica Nacional. 134 pp. Oeiras.
- Ilharco, F.A. & Lemos, A. 1981. Algumas notas sobre a montagem de afídeos para observação microscópica (Homoptera, Aphidoidea). *Agronomia Lusitana*, **41** (1): 53-57.
- Ilharco, F.A. 1985a. *Identificação de afídeos por via macroscópica*. Instituto Nacional de Investigação Agrária e de Extensão rural. EAN, Oeiras.
- Ilharco, F.A. 1985b. Características morfológicas usadas na taxonomia dos afídeos (Homoptera, Aphidoidea). Instituto Nacional de Investigação Agrária e de Extensão rural. EAN, Oeiras. 80 pp.
- Ilharco, F.A. & van Harten, A. 1987. Systematics. In A.K.Minks & P. Harrewijn eds. *World Crop Pests*. Elsevier Science Publishers. Amsterdam, 51-77.
- Ilharco, F.A. 1992. *Equilíbrio biológico de afídeos*. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa. 303 pp
- Ilharco, F.A. 2003. *Os afídeos em agricultura biológica*. Agricultura sustentável – Ciclo de seminários. Vítor Coelho Barros & José Brito Ramos (coord.). Instituto Nacional de Investigação Agrária e das Pescas. 99-111.
- Jacobson, R. J. & Croft, P. 1998. Strategies for the control of *Aphis gossypii* Glover (Hom.: Aphididae) with *Aphidius colemani* Viereck (Hym.: Braconidae) in Protected Cucumbers. *Bicontrol Science and Technology*, **8**: 377-387.
- Japoshvili, G. & Abrantes, I. 2006. *Aphelinus* species (Hymenoptera: Aphelinidae) from the Iberian Peninsula, with the description of one new species from Portugal. *Journal of Natural History*, **40** (13-14): 855-862.
- Kajita, Y, Takano, F., Yasuda, H. & Evans, E. 2006. Interactions between introduced and native predatory ladybirds (Coleoptera, Coccinellidae): factors influencing the success of species introductions. *Ecological Entomology*, **31**: 58-67.
- Kalaskar, A. & Evans, E.W. 2001. Larval responses of aphidophagous lady beetles (Coleoptera: Coccinellidae) to weevil larvae versus aphids as prey. *Annals of Entomological Society of America*, **94** (1): 76-81.
- Kalushkov, P. & Hodek, I. 2005. The effects of six species of aphids on some life history parameters of the ladybird *Propylea quatuordecimpunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology*, **102**: 449-452.
- Kambhampati, S., Voelkl, W. & Mackauer, M. 2000. Phylogenetic relationships among genera of Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae) based on DNA sequence of the mitochondrial 16S rRNA gene. *Systematic Entomology*, **25**: 437-445.
- Kavallieratos, N. & Lykouressis, D. 1999. Redescription of *Aphidius transcaspicus* Telenga (Hymenoptera: Braconidae) and its distinction from *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae). *Boll. Lab. Entomol. Agr. Portici*, **55**: 105-112.
- Kavallieratos, N.G., Lykouressis, D.P., Sarlis, G.P., Stathas, G.J., Sanchis Segovia, A. & Athanassiou, C.G. 2001. The Aphidiinae (Hymenoptera: Ichneumonoidea: Braconidae) of Greece. *Phytoparasitica*, **29** (4): 306-340.
- Kavallieratos, N.G., Tomanovic, Z., Athanassiou, C.G., Starý, P., Zikic, V., Sarlis, G.P. & Fasseas, C. 2005. Aphid parasitoids infesting cotton, citrus, tobacco, and cereal crops in

- southeastern Europe: aphid-plant associations and keys. *Canadian Entomologist*, 137: 516-531.
- Kavallieratos, N.G., Tomanovic, Z., Sarlis, G.P., Fasseas, C. & Emmanouel, N.E. 2006. A review of the genus *Aphidius* Nees in Greece (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) with the description of a new species.
- Krebs, C.J. 1994. *Ecology: The Experimental Analysis of Distribution and Abundance*. 4th edition, Harper Collins, New York. 801 pp.
- Krebs, J.R., Wilson, J.D., Bradbury, R.B., Siriwardena, G.M. 1999. The second silent spring? *Nature* 400, 611-612.
- Kuroda, T. & Miura, K. 2003. Comparison of the effectiveness two methods for releasing *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) against *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) on cucumbers in a greenhouse. *Applied Entomology and Zoology*, **38**: 271-274.
- Landis D.A., Wratten, S.D. & Gurr G.M. 2000. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual Review of Entomology*, **45**: 175-201.
- Lavandero, B.; Wratten, S.; Hagler, J. & Jervis M. 2004. The need for effective marking and tracking techniques for monitoring the movements of insect predators and parasitoids. *International Journal of pest management*, **50** (3): 147-151.
- Leclant, F. 1996. Dégâts et identification des pucerons. *PHM Revue Horticole*, 369:19-23.
- Lee, H.T., Idris, A.B., Mohamad Roff, M.N. 2002. The population abundance of *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) in different chilli (*Capsicum annum*) planting densities. *Online Journal of Biological Science*, **2** (5): 293-294.
- Leps, J. & Smilauer, P. 1999. Multivariate analysis of ecological data. Faculty of Biological Sciences, University of South Bohemia. Rep. Checa. 110 pp.
- Leps, J. & Smilauer, P. 2003. Multivariate analysis of ecological data using Canoco. Faculty of Biological Sciences, University of South Bohemia. Rep. Checa. 110 pp.
- Lin, L.A. & Ives, A.R. 2003. The effect of parasitoid host-size preference on host population growth rates: an example of *Aphidius colemani* and *Aphis glycines*. *Ecological Entomology*, **28**: 542-550.
- Louda, S.M., Pemberton R. W., Johnson, M.T., Follett, P.A. 2002. Nontarget effects-the Achilles' heel of biological control? Retrospective analyses to reduce risk associated with biocontrol introductions. *Annual Review of Entomology*, **48**: 365-396.
- Lucas, E. 2005. Intraguild predation among aphidophagous predators. *European Journal of Entomology*, **102**: 351-364.
- Lykoyressis, D.P., Perdikis D.CH, Chalkia CH.A. & Vardaki.S.C. 1993. Comparisons between alate aphids caught in yellow water traps and aphid populations on tomato plants. *Entomologica Hellenica*, 11:29-34.
- Mackauer, M. & Stary, P. 1967. World Aphidiidae (Hymenoptera, Ichneumonoidea), in *Index of Entomophagous Insects*. Le François, Paris. **2**.
- Majerus, M.; Strawson, V. & Roy, H. 2006. The potential impacts of the arrival of the harlequin ladybird, *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae), in Britain. *Ecological Entomology*, **31**: 207-215.
- Mardulyn, P. & Whitfield J. B. 1999. Phylogenetic signal in the COI, 16S and 28S genes for inferring relationships among genera of Microgastrinae (Hymenoptera: Braconidae): evidence of a high diversification rate in this group of parasitoids. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 12: 282-294.
- 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 hortícolas protegidas – Principais pragas e auxiliares da região Oeste*. Instituto Superior de Agronomia. Projecto PAMAF 2034. 61 pp, Lisboa.
- Marsh, P.M. 1971. Key to the genera of the families Braconidae, Aphidiidae and Hybrizontidae. *Annals of the Entomological Society of America*, 64: 841-850.

- Marsh, P.M., Shaw, S.R. & Wharton, R.A. 1987. An identification manual for the north American genera of the family Braconidae (Hymenoptera). *Memoirs of the Entomological Society of Washington*, 13: 1-98.
- Mason, W. R. M. 1983. A new South African subfamily related to Cardiochilinae (Hymenoptera: Braconidae). *Contrib. Amer. Entomol. Inst.* 20: 49-62.
- McLeod, P. 1987. Effect of low temperature on *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) on overwintering spinach. *Environmental Entomology*, 16:796-801.
- Mellinger, H.C. & Bottenberg, H. 2000. *Commercial implementation of biointensive IPM in pepper production systems*. SBIR phase II final report. 34 pp.
- Merila, J., Bjorklund, M. & Baker, A.J. 1996. The successful founder: genetics of introduced *Carduelis chloris* (greenfinch) populations in New Zealand. *Heredity*, **77**, 410-422.
- Mesfin, T., Thottappilly, G. & Singh, S.R. 1992. Feeding behaviour of *Aphis craccivora* (Koch) on cowpea cultivars with different levels of aphid resistance. *Annals of Applied Biology*, 121:493-501.
- Messing, R.H. & Rabasse, J.M. 1995. Oviposition behaviour of the polyphagous aphid parasitoid *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae). *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 52: 13-17.
- Mier-Durante, M.P. 1978. Estudio de la afidofauna de la provincia de zamora. In Caja de Ahorros Provincial (ed.), editor, 226 pp.
- Millar, I.M. 1990. *The aphids (Homoptera: Aphidoidea) of South Africa*. An identification guide. Entomology Memoir of the Department of Agricultural Development of the Republic of South Africa, 78: 1-105.
- Minoretti, N. & Weisser, W.W. 2000. The impact of individual ladybirds (*Coccinella septempunctata*, Coleoptera: Coccinellidae) on aphid colonies. *European Journal of Entomology*, **97**: 475-479.
- Mittler, T.E. 1973. Aphid polymorphism as affected by diet. In A.D.Lowe, ed. Perspectives in aphid biology. *Entomological Society of New Zealand*, pp 65-75.
- Molck, G., Pinn, H. & Wyss, U. 2000. Manipulation of plant odour preference by learning in the aphid parasitoid *Aphelinus abdominalis* (Hymenoptera: Aphelinidae). *European Journal of Entomology*, 97: 533-538.
- Nei, M., Maruyama, T. & Chakraborty, R. 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*, **29** (1): 1-10.
- Nieto Nafria, J.M. 1974. *Aphidinea de la cordillera central y provincia de Salamanca*. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Madrid.
- Nieto Nafria, Mier-Durante M.P. & Carnero-Hernández, A. 1977. *Estudios afidológicos de las islas Canarias y de la Macaronesia*. Aula de Cultura del Excelentísimo Cabildo Insular de Tenerife, Salamanca y La Laguna, 91 pp.
- Nieto Nafria, J.M., Gonzalez, T.E.D. & Meier-Durante, M.P. 1984. Catalogo de los pulgones (Homoptera: Aphidoidea) de España y de sus plantas hospedadoras. Universidad de Leon.174 pp.
- Nieto Nafria, J.M. & Mier Durante, M.P. 1998. Hemiptera, Aphididae I. *Fauna Ibérica* 11: 1-424.
- O'Brien, P.J., Abdel-Aal, Y.A., Ottea, J.A. & Graves, J.B. 1992. Relationship insecticide resistance to carboxylesterases in *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) from Midsouth cotton. *Journal of Economic Entomology*, **85** (3):651-657.
- Obrycki, J.J. & Kring, T.J. 1998. Predaceous coccinellidae in biological control. *Annual Review of Entomology*, **43**: 295-321.
- Ode, P.J., Hopper, K.R. & Coll, M. 2005. Oviposition vs. offspring fitness in *Aphidius colemani* parasitizing different aphid species. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 115: 303-310.
- Östman, Ö., Ekborn, B. & Bengtsson, J. 2001. Landscape heterogeneity and farming practice influence biological control. *Basic Applied Ecology*, **2**: 365-371.

- Pantaleão, F.M.C. 1994. *Crisopídeos associados à biocenose de dois pomares de citrinos na região de Setúbal*. Relatório de trabalho de fim de curso de Engenharia Agronómica, ISA, Lisboa.
- Patti, I. 1983. *Gli Afidi degli agrumi*. CNR. Instituto di Entomologia, facoltà di agraria, Università degli studi. Catania. 45 pp
- Pearson, D.E. & Callaway, R.M. 2004. Indirect nontarget effects of host-specific biological control agents: implications for biological control. *Biological Control*, **35**: 288-298.
- Pennachio, F. 1989. The Italian species of the genus *Aphidius* Nees (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae). *Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria "Filippo Silvestri"*. 46: 75-106.
- Perdikis, D.Ch., Lykouressis, P., Garantonakis, N.G. & Iatrou, S.A. 2004. Instar preference and parasitisation of *Aphis gossypii* and *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) by the parasitoid *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiidae). *European Journal of Entomology*. **101**: 333-336.
- Pérez, P., Gemeno, C., Verdugo, M., Soto, M.J., Ponz F. & Fereres A. 1992. Dinámica de poblaciones de vectores y transmisión del virus Y de la patata en cultivos de pimiento. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas*, 18:225-235.
- Pielou, E.C. 1975. *Ecology diversity*. New York: John Wiley & Sons. 165 pp.
- Pielou, E.C. 1977. *An introduction to mathematic ecology*. New York: John Wiley & Sons, 308-330.
- Pité, M.T. & Avelar, T. 1996. Ecologia das populações e das comunidades - Uma abordagem evolutiva do estudo da biodiversidade. *Fundação Calouste Gulbenkian*, 315 pp.
- Polis, G.A.; Myers C.A.; & Holt R.D. 1989. The ecology and evolution of intraguild predation: potential competitors that eat each other. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **20**: 297-330.
- Pons, X., Lumbierres, B. & Stary, P. 2004. Expansión de *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hym., Braconidae, Aphidiinae) en el Noroeste de la Península Ibérica. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, **30**: 547-552.
- Projecto Agro 545. 2008. Relatório Final. Os indicadores ambientais para avaliar a prática da protecção integrada, da produção integrada e da agricultura biologia e o uso sustentável de pesticidas em Portugal AGRO 545 (2004 - 2007), , ISA, Lisboa, 37+anexos
- Pungerl, N. B. 1983. Variability in characters commonly used to distinguish *Aphidius* species (Hymenoptera: Aphidiidae). *Systematic Entomology*. **8** (4): 425-430.
- Pungerl, N.B. 1986. Morphometric and electrophoretic study of *Aphidius* species (Hymenoptera: Aphidiidae) reared from a variety of aphid hosts. *Systematic Entomology*. **11** (3): 327-354.
- Quicke, D. L. J. 1987. A new subfamily of Braconidae, the Vaepellinae, based on a new genus and species from Ghana (Insecta, Hymenoptera). *Zool. Script*. 16: 73-77.
- Quicke, D. L. J. & van Achterberg, C. 1990. Phylogeny of the subfamilies of the family Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea). *Zool. Verhand*. 258: 1-95.
- Quicke, D. L. J. & Belshaw, R. 1999. Incongruence between morphological data sets: an example from the evolution of endoparasitism among parasitic wasps (Hymenoptera: Braconidae). *Systematic Biology*, 48: 436-454
- Quicke, D. L. J., H. H. Basibuyk, M. G. Fitton & Rasnitsyn, A. P.. 1999. Morphological, palaeontological and molecular aspects of ichneumonoid phylogeny (Hymenoptera, Insecta). *Zoologica Scripta*, 28: 175-202.
- Rabasse, J.M., Lafont, J.P., Delpuech, I. & Silvie, P. 1983. Progress in aphid control in protected crops. *SROP/WPRS bulletin*, **VII** (3): 151-162.
- Rabasse, J.M. & Wyatt, I.J. 1985. Biology of aphids and their parasites in greenhouses. In N.W.Hussey & N.Scopes, eds, *Biological pest control - The glasshouse experience*, 66-73.
- Rabasse, J.M., Lafont, J.P. & Molinari, J. 1985. Colonisation et developpement des populations de pucerons sur tomate en serre dans le sud de la France. *IOBC/WPRS bulletin*. 14-16 / V:27-43.
- Raimundo, A.A.C. & Alves, M.L.L.G. 1986. Revisão dos Coccinelídeos de Portugal, Évora, 103 pp.

- Raimundo, A.A.C. 1992. Os coccinelídeos e a sua importância como auxiliares em Portugal. *Revista de Ciências Agrárias*, **XV** (1 e 2): 57-66.
- Rakhshani, E., Talebi, A.A., Stary, P., Tomanovic, Z., Kavallieratos, N.G. & Manzari, S. 2008. A review of *Aphidius* Nees (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) in Iran: host, associations, distribution and taxonomic notes
- Ramakers, P.M.J. 1987. Biological control in greenhouses. In A.K.Minks & P. Harrewijn eds. *World Crop Pests – Aphids, Their Biology, natural enemies and control*. Elsevier Science Publishers. Amsterdam, **2C**: 199-208.
- Ramos, A.P., Caetano, M.P., Merali, Z.P., Vasconcelos T., Moreira, I. & Franco J.C. 2006. Sebes e cortinas de abrigo. In: Franco J.C., Ramos A.P. & Moreira I. (eds) (2006) *Infra-estruturas ecológicas e protecção biológica: caso dos citrinos*. ISA Press, Lisboa, 55-74.
- Remaudière, G. & Remaudière, M. 1997. *Catalogue of the world's Aphididae*. Institut National de la Recherche Agronomique. Versailles, Cedex, France. 473 pp.
- Roderick, G.K. 1996. Geographic structure of insect populations: gene flow, phylogeography and their uses. *Annual Review of Entomology*, **41**: 325-352.
- Roderick, G.K. & Navajas, M. 2003. Genes in new environments: genetics and evolution in biological control. *Nature Reviews Genetics*, **4**: 889-899.
- Roderick, G.K. 2004. Tracing the origin of pests and natural enemies: genetic and statistical approaches. In L. E. Ehler, R. Sforza, and T. Mateille (eds.), *Genetics, evolution, and biological control*. CABI Publishing, Cambridge, MA, 97-112.
- Roehrdanz, R.L., Reed, D.K. & Burton, R.L. 1993. Use of polymerase chain reaction and arbitrary primers to distinguish laboratory-raised colonies of parasitic hymenoptera. *Biological Control*, **3**: 199-206.
- Rondon, S.I., Cantliffe, D.J. & Price, J.F. 2003. Biological control for insect management in strawberries. *University of Florida – Institute of Food and Agricultural Sciences*, HS923, 1-5.
- Rondon, S.I. & Cantliffe, D.J. 2004. *Chaetosiphon fragaefolii* (Homoptera: Aphididae): a potential new pest in Florida? *Florida Entomologist*, **87** (4): 612-615.
- Rondon, S.I., Cantliffe, D.J. & Price, J.F. 2005. Population dynamics of the cotton aphid, *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae), on strawberry grown under protected structure. *Florida Entomologist*, **88** (2): 152-158.
- Rosenheim, J., Lawrence, R.W. & Armer, C.A. 1993. Influence of intraguild predation among generalist insect predators on the suppression of an herbivore population. *Oecologia*. Berlin, **96**: 439-449.
- Rosenheim, J.A., Wilhoit, L.R. & Goodell, P.B. 1997. Plant compensation, natural biological control, and herbivory by *Aphis gossypii* on pre-reproductive cotton: the anatomy of a non-pest. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **85**: 45-63.
- Rosenheim, J.A. 1998. Higher-order predators and the regulation of insect herbivore populations. *Annual Review of Entomology*, **43**: 421-447.
- Rosenheim, J.A., Limburg, D.D. & Colfer, R.G. 1999. Impact of generalist predators on a biological control agent, *Chrysoperla carnea*: direct observations. *Ecological Applications*, **9** (2): 409-417.
- Rossi, J., Gamba, U., Pinna, M., Spagnolo, S., Visentin, C. & Alma, A. 2006. Hoverflies in organic apple orchards in north-western Italy. *Bulletin of Insectology*, **59** (2): 111-114.
- Sampaio, M.V., Bueno, V.H.P. & Pérez-Maluf, R. 2001a. Parasitismo de *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae) em diferentes densidades de *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae).
- Sampaio, M.V., Bueno, V.H.P. & van Lenteren, J.C. 2001b. Preferência de *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae) por *Myzus persicae* (Sulzer) e *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). *Neotropical Entomology*, **30** (4): 655-660.
- Sánchez, J.A., Cánovas, F. & Lacasa, A. 2005. Estratégias de manejo y umbrales de intervención para *Aulacorthum solani* (Hemiptera: Aphididae) en cultivos de pimiento en invernadero. *Record of proceedings of IV Congreso Nacional de Entomología Aplicada, X Jornadas*

- científicas de la SEEA, I Jornadas portuguesas de entomologia aplicada*. Bragança (Portugal), p. 114.
- Sanchis, A., A. LaTorre, F. Gonzalez-Candelas & Michelena J. M. 2000. An 18S rDNA based molecular phylogeny of Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae). *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 14: 180-194.
- Santos, T.M., Costa, N.P., Torres, A.L. & Júnior, A.L.B. 2004. Effect of neem extract on the cotton aphid. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39 (11): 1071-1076.
- Sato, S., Yasuda, H. & Evans, E.W. 2005. Dropping behaviour of larvae of aphidophagous ladybirds and its effects on incidence of intraguild predation: interactions between the intraguild prey, *Adalia bipunctata* (L.) and *Coccinella septempunctata* (L.), and the intraguild predator, *Harmonia axyridis* Pallas. *Ecological Entomology*, 30: 220-224.
- Schellhorn, N.A. & Andow, D.A. 1999. Mortality of coccinellid (Coleoptera: coccinellidae) larvae and pupae when prey becomes scarce. *Environmental Entomology*, 28 (6): 1092-1100.
- Shanks, C.H. & Finnigan, B. 1970. Probing behavior of the strawberry aphid. *Annals of the Entomological Society of America*, 63 (3): 734-737.
- Simberloff, D. & Stiling, P. 1996. Risks of species introduced for biological control. *Biological Conservation*, 78:185-192.
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H. & Flook, P. 1994. Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of Entomological Society of America*, 87 (6): 651-701.
- Singh, S.R. & van Emden, H.F. 1979. Insect pests of grain legumes. *Annual Review of Entomology* 24:255-278
- Starý, P. 1961. Two new species of *Praon* Haliday from Czechoslovakia (Hymenoptera: Aphidiidae), *Acta Soc. Entomol. Cechoslov.* 58 (1961), pp. 340-343
- Starý, P. 1966. *Aphid parasites of Czechoslovakia. A review of the Czechoslovak Aphidiidae (Hymenoptera)*. Dr. W. Junk, Publishers, The Hague.
- Starý, P. 1970. *Biology of aphid parasites (Hymenoptera: Aphidiidae) with respect to integrated control*. Series Entomologica 6. Dr. W. Junk Publishers, The Hague.
- Starý, P. 1973. A review of the *Aphidius* species (Hymenoptera, Aphidiidae) in Europe. *Annotationes Zoologicae et Botanicae*. 84: 1-85.
- Starý, P. 1975. *Aphidius colemani* Viereck: its taxonomy, distribution and host range (Hymenoptera, Aphidiidae). *Acta Entomologica Bohemoslovaca*. 72: 156-163
- Starý, P. 1976. *Aphid parasites (Hymenoptera, Aphidiidae) of the Mediterranean area*. Dr. Junk B. V., The Hague.
- Starý, P. & Erdelen, Ch. 1982. Aphid parasitoids (Hym.: Aphidiidae, Aphelinidae) from the Yemen Arab Republic. *BioControl*. 27 (1): 105-108.
- Starý, P. 1987. Aphidiids. In A.K.Minks & P. Harrewijn eds. *World Crop Pests*. Elsevier Science Publishers. Amsterdam.
- Starý, P., Lyon, J.P. & Leclant, F. 1988. Post-colonisation host range of *Lysiphlebus testaceipes* in the Mediterranean area (Hymenoptera: Aphidiidae). *Acta Entomologica Bohemoslov*, 85:1-11.
- Starý, P., Cecílio, A. & Franquinho Aguiar, A.M. 1996. *Lysiphlebus testaceipes* (Cr.), an exotic parasitoid biocontrol agent of aphids in Madeira Island. *Agronomia Lusitana*, 45 (4): 327-336.
- Starý, P. 2002. Field establishment of *Aphidius colemani* Vier. (Hym., Braconidae, Aphidiinae) in the Czech Republic. *Journal of Applied Entomology*, 126: 405-408.
- Stroyan, H.L.G. 1984. Aphids - Pterocommatinae and Aphidinae (Aphidini) - Homoptera, Aphididae. *Handbooks for the Identification of British insects*, 2 (6): 1-232.
- Sullivan, D.J. & Van den Bosch, R. 1971. Field ecology of the primary parasites and hyperparasites of the potato aphid, *Macrosiphum euphorbiae*, in the East San Francisco Bay Area. *Entomological society of America*, 64 (2): 389-394.
- Sullivan, D.J. 1987. Insect hyperparasitism. *Annual Review of Entomology*, 32: 49-70.

- Sullivan, D.J. 1988. Hyperparasites. In A.K.Minks & P. Harrewijn eds. *World Crop Pests*. Elsevier Science Publishers. 189-203. Amsterdam.
- Sullivan, D.J. & Volkl, W. 1999. Hyperparasitism: Multitrophic ecology and behavior. *Annual Review of Entomology*, 44: 291-315.
- Sunderland, K. & Samu F. 2000. Effects of agricultural diversification on the abundance, distribution, and pest control potential of spiders: a review. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **95** (1): 1-13.
- Sylvester, E.S. 1954. Insectary life history and apterous instar morphology of *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera, Aphidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 47:397-406.
- Tilman, D., Cassman, K.G., Matson, P.A., Naylor, R. & Polasky, S. 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418, 671-677.
- Toft, S. 2005. The quality of aphids as food for generalist predators: implications for natural control of aphids. *European Journal of Entomology*, **102**: 371-383.
- Tomanovic, Z., Kavallieratos, N.G., Stary, P., Athanassiou, C.G., Zikic V., Petrovic-Obradovic, O. & Sarlis, G.P. 2003. *Aphidius* Nees aphid parasitoids (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) in Serbia and Montenegro: Tritrophic associations and key. *Acta Entomologica Serbica*. **8** (1/2): 15-39.
- Tremblay, E. 1967. Sulla posizione sistematica degli Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae). *Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria "Filippo Silvestri"*, 25: 93-108
- Triltsch, H. 1997. Gut contents in field sampled adults of *Coccinella septempunctata* (Col.: Coccinellidae). *Entomophaga*, **42** (1/2): 125-131.
- Triltsch, H. 1999. Food remains in the guts of *Coccinella septempunctata* (Coleoptera: Coccinellidae) adults and larvae. *European Journal of Entomology*, **96**: 355-364.
- Trumble, J.T. 1982. Within-plant distribution and sampling of aphids (Homoptera: Aphididae) on broccoli in Southern California. *Journal of Economic Entomology*, 75:587-592.
- Valério, E., Cecílio, A., Ilharco, F. A. & Mexia, A. 1997. Os parasitóides e o seu potencial na limitação da afidofauna em duas estufas da região Oeste de Portugal. Livro de resumos do *II Congresso Iberoamericano e III Congresso Ibérico de Ciências Hortícolas*. P. 384.
- Valério, E. 1997. Os parasitóides (Hymenoptera: Aphidiidae) e o seu potencial na limitação natural de afídeos (Homoptera: Aphidoidea) em culturas protegidas na região Oeste, Universidade de Évora, 97 pp.
- Valério, E., Cecílio, A., Ilharco, F.A. & Mexia, A. 1999. Dinâmica das populações de afídeos (Homoptera: Aphidoidea) e seus parasitóides (Hymenoptera: Aphidiidae) em cultura protegida de pimento. *Suplemento Nº6 ao Boletim da SPEN*, 79-84.
- Valério, E. 1999. Os parasitóides e o seu potencial na limitação natural de afídeos (Homoptera: Aphidoidea) em culturas protegidas na região Oeste. *Rel. Final PRAXIS XXI/BIC/16990/98*. 46 pp.
- Valério, E., Cecílio, A., Andrade, C., Ilharco, F.A. & Palha, G. 2004a. A cultura de morangueiro em sistema de semi-forçagem: limitação de pragas de afídeos, numa perspectiva de Protecção Integrada. *Actas do II Colóquio Nacional da Produção de Morangos e Outros Pequenos Frutos*, 77-83.
- Valério, E., Cecílio, A., Andrade, C., Ilharco, F.A. & Palha, G. 2004b. A protecção contra pragas de afídeos da cultura de morangueiro de ar livre em dois sistemas de protecção: Luta química e Protecção Integrada. *II Colóquio Nacional da Produção de Morangos e Outros Pequenos Frutos. Actas Assoc. Port. Horticultura*, 95-100.
- Valério, E., Cecílio, A. & Mexia, A. 2004c - Procedimientos para el muestreo de poblaciones de áfidos y sus enemigos naturales en el cultivo de la fresa. *Phytoma - 15º Symposium Internacional Phytoma - Evolución del riesgo de plagas y enfermedades, el muestreo como herramienta esencial em la protección integrada*, 163-164.
- Valério, E., Cecílio, A. & Mexia, A. 2004d. Interacções entre hiperparasitóides, parasitóides primários e afídeos (Homoptera, Aphididae) em cultura protegida de pimento. *Record of proceedings of XI Congresso Ibérico de Entomologia*, p. 153.

- Valério, E., Cecílio, A. & Mexia, A. 2005a. Biodiversidade de parasitismo espontâneo de afídeos em horticultura protegida em diferentes sistemas de protecção das plantas. *Actas do 6º Encontro Nacional de Protecção Integrada*, Castelo Branco, 2003, 210-216. (Suporte digital).
- Valério, E., Cecílio, A. & Mexia, A. 2005b. Estratégias de Protecção Integrada para pragas de afídeos em cultura protegida de pimento. *Record of proceedings of VII Encontro Nacional de Protecção Integrada – A Produção Integrada e a Qualidade e Segurança Alimentar*. M^a José Moreno da Cunha (coord.). Col. Práticas-Conhecimento-Pensamento, Ed. IPC (Instituto Politécnico de Coimbra), **1** (9): 98 – 105.
- Valério, E. & Cecílio, A. 2005c. Protecção fitossanitária no âmbito da protecção integrada, Pragas, Afídeos (Piolhos). *Manual do Morangueiro*, projecto PO AGRO DE&D 193, INIAP/EAN, 35-43.
- Valério, E.; Cecílio, A. & Ilharco, F.A. 2005d. Estratégia de protecção integrada para pragas de afídeos na cultura de tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller) para indústria. *V Congresso Ibérico de Ciências Hortícolas - IV Congresso Iberoamericano de Ciências Hortícolas. Actas Port. Horticultura*, Porto, **3**: 218-223.
- Valério, E., Cecílio, A. & Mexia, A., 2006. Importância das pragas de afídeos na cultura de tomate para indústria em modo de produção biológico. *II Colóquio Nacional de Horticultura Biológica*. Cristina Cunha-Queda & Maria de Fátima Rodrigues (coord.). Col. Actas Portuguesas de Horticultura, 10: 166-172.
- Valério, E., Cecílio, A. & Mexia, A., 2007a. Interactions between aphid species and beneficial organisms in sweet pepper protected crop. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 2º Trimestre, **33** (2): 143-152.
- Valério, E., Cecílio, A. & Mexia, A. 2007b. Population dynamics of aphids (Homoptera: Aphididae) and beneficial organisms on protected strawberry crops. *Boletín de Sanidad Vegetal – Plagas*, 2º Trimestre, **33** (2): 153-161.
- van Achterberg, C. & Quicke D. L. J. 1992. Phylogeny of the subfamilies of the Braconidae: a reassessment assessed. *Cladistics*, 237-264.
- van Lenteren, J.C. 1996. Quality control tests for natural enemies used in greenhouse biological control. *OILB/WPRS bulletin* **19** (1): 83-86.
- van Lenteren, J.C.; Babendreier, D.; Bigler, F.; Burgio, G.; Hokkanen, H.M.T.; Kuske, S.; Loomans, A.J.M.; Menzler-Hokkanen, I.; Van Rijn, P.C.J.; 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.
- van Schelt, J., Douma, J.B. & Ravensberg W.J. 1990. Recent developments in the control of aphids in sweet peppers and cucumbers. *SROP/WPRS Bulletin*, **XIII** (5): 190-193.
- van Schelt, J. & Mulder, S. 2000. Improved methods of testing and release of *Aphidoletes aphidimyza* (Diptera: Cecidomyiidae) for aphid control in glasshouses. *European Journal of Entomology*, **97**: 511-515.
- van Steenis, M.J. 1995. Evaluation of four aphidiine parasitoids for biological control of *Aphis gossypii*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **75** (2): 151-157.
- van Steenis, M.J. & El-khawass, K.A.M.H. 1996. Different parasitoid schemes determine the success of biological of *Aphis gossypii* with the parasitoid *Aphidius colemani*. *IOBC/WPRS bulletin*, **19** (1): 159-162.
- van Veen, F.J.F., Rajkumar, A., Muller, C.B. & Godfray, H.C.J. 2001. Increased reproduction by pea aphids in the presence of secondary parasitoids. *Ecological entomology*, **26**: 425-429.
- van Veen, F.J.F., Muller, C.B., Adriaanse, I.C.T. & Godfray, H.C.J. 2002. Spatial heterogeneity in risk of secondary parasitism in a natural population of an aphid parasitoid. *Journal of Animal Ecology*, **71**: 463-469.
- Vasicek, A., De La Rossa, F. & Paglioni, A. 2001. Aspectos biológicos y poblacionales de *Aulacorthum solani*, *Myzus persicae* y *Macrosiphum euphorbiae* (Homoptera: Aphidoidea) en pimiento (*Capsicum annum* L.). *Boletín Sanidad Vegetal Plagas*, 27: 439-446.

- Vasquez, G.M., Orr, D.B. & Baker, J.R. 2006. Efficacy assessment of *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae) for suppression of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) in greenhouse-grown chrysanthemum. *Journal of Economic Entomology*, **99** (4): 1104-1111.
- Vieira da Silva, J. 1979. Introduction à la théorie écologique. Masson, Paris. 112 pp.
- Vieira, M.M., Cecílio, A., Ilharco, F.A. 1996. Flora adventícia em pomares de pomóideas e o seu papel no equilíbrio biológico de afídeos (Homoptera, Aphidoidea) *Agronomia Lusitana*, **45** (4): 387-396.
- Vorgelegt, 2005. *Farming systems and landscape context: effects on biodiversity and biocontrol*. Dissertation Doktorgrades. Gottingen. 152 pp.
- Walgenbach, J.F. 1997. Effect of potato aphid (Homoptera: Aphididae) on yield, quality, and economics of staked-tomato production. *Journal of Economic Entomology*, **90** (4): 996-1004.
- Wellings, P.W., Hart, P.J., Morneau, D.C. & Kami, V. 1994. The introduction and establishment of *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiinae) in Tonga. *Journal of Applied Entomology*, **118**: 419-428.
- Wharton, R. A., S. R. Shaw, M. J. Sharkey, D. B. Wahl, J. B. Woolley, J. B. Whitfield, P. M. Marsh & Johnson J. W. 1992. Phylogeny of the subfamilies of the family Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea): a reassessment. *Cladistics*, **8**: 199-235.
- Whitfield, J.B. & Mason, W.R.M. 1994. Mendesellinae, a new subfamily of braconid wasps (Hymenoptera, Braconidae) with a review of relationships within the microgastroid assemblage. *Systematic Entomology*, **19**: 61-76.
- Wick, M. 1992. Release of *Aphidius matricariae* for control of *Myzus persicae* in glasshouses. *OEPP/EPPO bulletin*, **22**: 437-444.
- Wilby, A., Villareal, S.C., Lan, L.P., Heong, K.L. & Thomas, M.B. 2005. Functional benefits of predator species diversity depend on prey identity. *Ecological Entomology*, **30**: 497-501.
- Wyatt, I.J. 1985. Aphid control by parasitics. In N. W. Hussey & N. Scopes, *Biological pest control, the glasshouse experience*. *OILB/SROP bulletin*. 134-141.
- Yasuda, H. & Ohnuma, N. 1999. Effect of cannibalism and predation on the larval performance of two ladybird beetles. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **93**: 63-67.
- Yasuda, H. & Kimura, T. 2001. Interspecific interactions in a tri-trophic arthropod system: effects of a spider on the survival of larvae of three predatory ladybirds in relation to aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **98**: 17-25.
- Zagonel, J., Reghin, M.Y., Pria, M.D. & Kunz, R.P. 2002. Avaliação de insecticidas no controle de *Myzus persicae* (Sulz.) (Homoptera: Aphididae) na cultura da alface. *Horticultura Brasileira*, **20** (3): 514-515.
- Zhang, R., Liang, H., Tian, C. & Zhang, G. 2000. Biological mechanism of controlling cotton aphid (Homoptera: aphididae) by the marginal alfalfa zone surrounding cotton field. *Chinese Science Bulletin*, **45** (4): 355-357.