

Criação laboratorial e aspectos morfológicos de *Hyperaspis pantherina* Fürsch (Coleoptera: Coccinellidae) predador de *Orthezia insignis* Browne (Homoptera: Ortheziidae)

A. P. FÉLIX, P. ROCHA, C. I. BRAZÃO, A. M. FRANQUINHO AGUIAR

Em 2002, o predador *Hyperaspis pantherina* Fürsch, foi importado do Quênia, através do Kenya Forestry Research Institute, para a Ilha da Madeira, com o objectivo de combater através de luta biológica clássica a cochonilha *Orthezia insignis* Browne, em *Jacaranda mimosifolia* D. Don.

Apresentam-se as alterações introduzidas na metodologia de criação laboratorial de *H. pantherina*, tendo como base o conhecimento da biologia, da relação praga/predador e a metodologia de criação referida por FOWLER (1993) e, de acordo com os meios disponíveis, obter uma melhor gestão do trabalho laboratorial e aumentar a produção. Referem-se ainda, aspectos morfológicos dos diferentes estados de desenvolvimento e instares larvares do coccinélídeo.

A. P. FÉLIX, P. ROCHA. Direcção de Serviços de Produção Agrícola. Divisão de Protecção Integrada. Caminho das Voltas, n.º 11. 9060-329 Funchal, Madeira, Portugal. anafelix@dgpc.min-agricultura.pt; paularocho.sra@govmadeira.pt.

C. I. BRAZÃO, A. M. FRANQUINHO AGUIAR. Direcção de Serviços de Investigação Agrícola. Divisão de Fitopatologia, Secção de Entomologia. Estrada Eng.º Abel Vieira, 9135-260 Camacha, Madeira, Portugal. celestinabrazao.sra@gov-madeira.pt ; antonioa-guiar.sra@gov-madeira.pt

Palavras-chave: *Hyperaspis pantherina*, criação laboratorial, *Orthezia insignis*, luta biológica.

INTRODUÇÃO

Na cidade do Funchal os jacarandás, *Jacaranda mimosifolia* (Bignoniaceae), ornamentam passeios e vários locais públicos das áreas urbanas da cidade, constituindo a sua floração um bonito espectáculo paisagístico. No entanto, estas árvores encontram-se infestadas por pragas das quais a mais importante é a cochonilha *Orthezia insignis* Browne (Fig. 1) a qual é responsável pelo enfraquecimento das árvores, morte de ramos e pela sujidade resultante da melada que excreta e que cai sobre os arruamentos, viaturas e pessoas.

Para combater esta praga têm sido efectuados, desde há vários anos, tratamentos com insecticidas, exigindo repetições anuais e, por vezes, mais do que um tratamento por ano, sem garantia de êxito e com os inerentes impactes negativos, para o ambiente e saúde pública.

O facto dos problemas provocados pela referida praga subsistirem, apesar de todos os esforços até agora desenvolvidos, justificou o estudo de novas estratégias de actuação, presentemente baseadas na luta biológica, inserida no contexto da Protecção Integrada.

Deste modo, para combater *O. insignis* foi importado do Quênia, através do “Kenya

Forestry Research Institute”, (KEFRI) uma joaninha, *Hyperaspis pantherina* Fürsch, cuja utilização já conduziu a êxitos na luta contra esta praga em vastos territórios de África, Peru, Havai e na Ilha de Santa Helena, conforme referenciado em BOOTH *et al.* (1995) (FÉLIX *et al.*, *em public.*). Originária do México, foi introduzida no Quênia, proveniente do Havai, como predador de *O. insignis* em jacarandás (GREATHEAD, 1971).

A criação laboratorial de *H. pantherina* tem por objectivo obter quantidades suficientes deste predador de forma a permitir a sua aclimação e estabelecimento, tendo em vista a sua utilização na limitação de *O. insignis* para níveis de abundância aceitáveis no condicionalismo regional.

Com base no conhecimento da biologia, da relação praga/predador, na metodologia de criação referida por FOWLER (1993) relativamente à introdução de *H. pantherina* na Ilha de Stª Helena e nos reajustamentos por nós efectuados a esta metodologia inicial, deu-se início à criação laboratorial do coccinélido. Os reajustamentos foram necessários não só para colmatar a falta de recursos humanos mas, também porque se constatou, no início dos trabalhos, que quanto menor o manuseamento, dos diferentes estados de desenvolvimento de *H. pantherina*, maior a produção. No caso dos adultos verifica-se um maior número de posturas efectuadas pelas fêmeas. No que se refere aos ovos há redução na inviabilidade dos mesmos e em

relação às larvas há uma diminuição significativa da taxa de mortalidade.

MATERIAL E MÉTODOS

H. pantherina foi importado do Quênia tendo chegado à Região em Julho de 2002. O número total de exemplares enviados, no estado adulto e com alimento vivo, foi de 246, dos quais 213 estavam vivos e 33 mortos, o que dá uma taxa de sobrevivência de 86,6% numa viagem de avião com três ligações (Nairobi/Zurique/Lisboa/Funchal), que durou 2 dias.

Os 213 exemplares vivos passaram por um período de quarentena, em câmaras aclimatizadas: 25°C e 55% de H.R. (dia); 19°C e 50% de H.R. (noite); 16 horas de luz diária e 8 horas de obscuridade, de modo a proceder-se à sua criação laboratorial.

A criação laboratorial está a ser realizada em ambiente condicionado de temperatura, humidade relativa e fotoperíodo. Para tal dispõe-se de duas Câmaras Fitoclima Walkin 12500 EDTU, com 13,0m³ de volume interior cada (FÉLIX *et al.*, 2004) (Fig. 2). Estas câmaras são estanques possuem um ventilador e um extractor de ar e as condições ambientais são programáveis (Quadro 1).

Dentro de cada câmara estão situadas, em toda a volta, baterias de prateleiras em aço inoxidável com iluminação (0 a 150mE por prateleira com OSRAM cor, 21, 36 e 58 Watts), onde se colocam tabuleiros com placas de Petri (Fig. 2) contendo o predador nos diferentes estados de desenvolvimento. Atendendo às diferentes exigências em termos de humidade relativa, na câmara 1 são colocados adultos, larvas e pupas de *H. pantherina* e, na câmara 2, ovos (Quadro 1).

Na metodologia de criação de *H. pantherina* adoptada, de Julho a Setembro de 2002, com 14 casais e de acordo com FOWLER (1993), todos os estados de desenvolvimento eram manuseados. Cada casal era colocado numa placa de Petri com 12cm de diâmetro, revestida no fundo por papel de filtro, contendo fragmentos de plantas infestadas com *O. insignis*, para alimentação do predador e

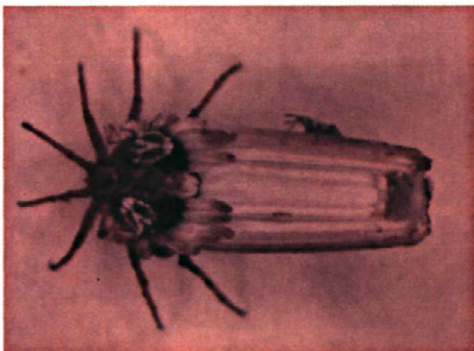


Figura 1. Fêmea adulta de *Orthezia insignis*.

Quadro 1. Programação das câmaras para a criação de *Hyperaspis pantherina*.

		Câmara 1	Câmara 2
T(°C)	dia	25	25
	noite	19	19
HR (%)	dia	55	60
	noite	50	60
Fotoperíodo (horas)		16 luz: 8 obscuridade	16 luz: 8 obscuridade
<i>Hyperaspis pantherina</i>		adultos, larvas e pupas	ovos

para garantir a postura. As tampas destas placas possuíam no centro um orifício circular, com 5cm de diâmetro, coberto com rede de malha fina para permitir a circulação de ar. Sobre esta rede era colocado um suplemento alimentar à base de agar (15g de mel, 3g de açúcar, 1g de agar e 100ml de água). Diariamente cada casal era transferido para uma nova placa de Petri limpa e com material vegetal fresco e infestado. Os ovos eram separados e colocados, cerca de 5 por placa de Petri. Após eclosão individualizavam-se as larvas e procedia-se diariamente à limpeza das placas e colocação de novo alimento até surgirem as pupas (FÉLIX, *et al.*, 2004).

Com a nova metodologia, também com 14 casais de *H. pantherina*, duas vezes por semana cada casal era transferido para uma nova placa de Petri limpa e com material vegetal fresco. As placas, de onde se retira-

vam os adultos, eram observadas à lupa para detectar a presença de ovos. Verificando-se a existência destes, todo o material permanecia intacto sem ser manuseado substituindo-se apenas as tampas das respectivas placas por outras sem orifícios, nas quais era anotada a data da postura, sendo de seguida colocadas na câmara de criação 2 (Quadro 1). Caso não se verificasse a existência de ovos, todo o material era eliminado.

Cerca de cinco dias após a data da postura, as placas eram observadas diariamente à lupa para verificar o aparecimento de larvas. Quando estas surgiam, eram colocados fragmentos de plantas infestadas com *O. insignis*, anotada a data e as placas posteriormente levadas para a câmara 1 (Quadro 1).

A cada placa com larvas era fornecido alimento fresco uma vez por semana. À medida que surgiam pupas removiam-se das pla-

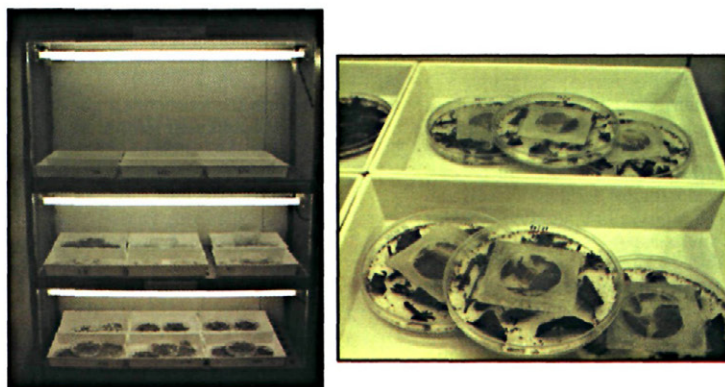


Figura 2. Interior da câmara da criação de *Hyperaspis pantherina* e placas de Petri com adultos.

Quadro 2. Número de ovos, larvas e adultos obtidos, de Julho a Dezembro de 2002, com 14 casais de *Hyperaspis pantherina*, segundo as duas metodologias de criação utilizadas.

Metodologia	Mês	Ovos (n°)	Larvas (n°)	Taxa mortalidade (%)	Adultos (n°)	
Fowler (1993)	Julho	680	200	70,6	-	
	Agosto	515	211	59,0	61	
	Setembro	1 408	736	47,7	59	
					total	120
Actual	Outubro	-	-	-	511	
	Novembro	-	-	-	1 076	
	Dezembro	-	-	-	5 000	
					total	6587

cas todos os fragmentos de plantas que não continham pupas aderentes. Estas placas eram posteriormente colocadas na câmara 1 (Quadro 1).

Alguns dias depois, as placas com pupas passavam a ser observadas diariamente para retirar os adultos emergidos. Estes eram colocados em novas placas, com alimento vegetal infestado com a cochonilha, para serem largados nos jacarandás ou, quando necessário, seleccionavam-se casais para manutenção da colónia de criação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na metodologia de criação de *H. pantherina* adoptada, de Julho a Setembro de 2002, e de acordo com FOWLER (1993), todos os estados de desenvolvimento eram manuseados. Com esta metodologia foi possível contabilizar o número de ovos, larvas e adultos (Quadro 2 e Fig. 3). No entanto, tal como se pode observar no Quadro 2 e figura 3, obteve-se um reduzido número de adultos, no mesmo período de tempo, como resultado da

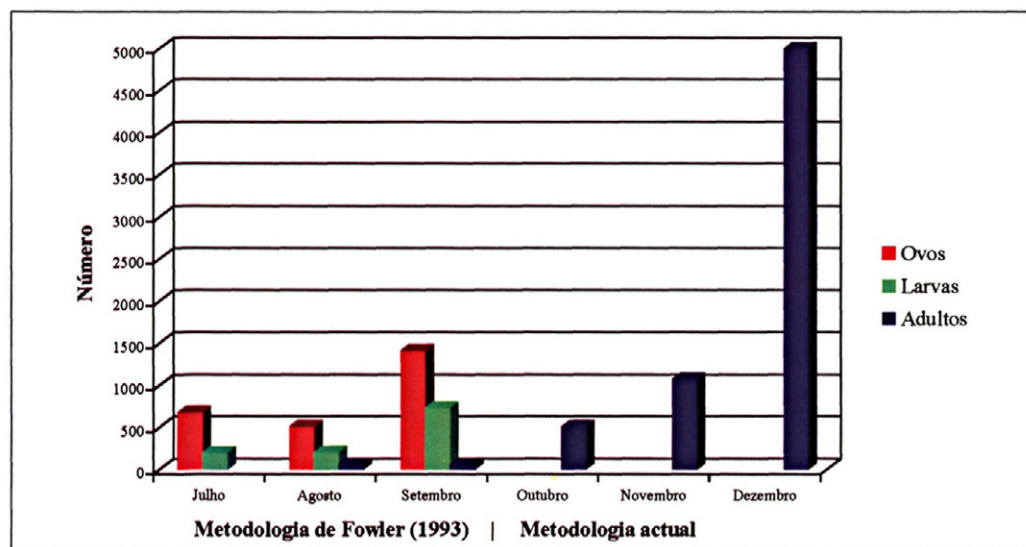


Figura 3. Número de ovos, larvas e adultos de *Hyperaspis pantherina* obtidos de Julho a Dezembro de 2002, com 14 casais do coccinélido predador.

alta taxa de mortalidade verificada em cada um dos meses.

Após alterações na metodologia de criação, baseadas essencialmente no não manuseamento dos diferentes estados de desenvolvimento (daí não haver valores para o número de ovos, larvas e taxa de mortalidade, no Quadro 2 (referente aos meses de Outubro a Dezembro de 2002), constata-se que, para igual período de tempo (Outubro a Dezembro) e com o mesmo número de casais, o número de adultos obtidos foi largamente superior (Quadro 2 e Fig. 3).

Organigrama da criação laboratorial

Actualmente existem na câmara de criação 1, trinta casais de adultos que constituem a colónia de criação. Cada casal permanece na colónia durante o período em que as fêmeas efectuam posturas o que, nas nossas condições laboratoriais, corresponde a cerca de 90 dias. As fêmeas são libertadas quando baixam as posturas ou até mesmo quando deixam de pôr ovos. A figura 4 representa o organigrama relativo aos trinta casais da colónia de criação, com a duração de cerca de 90 dias.

Com base na experiência já adquirida, se cada casal colocar cerca de 500 ovos, obtém-se no total 15 000 ovos, pelo que se estima obter, aproximadamente, 12 869 adultos (cerca de 4 289 adultos do coccinelídeo/mês) (Fig. 4).

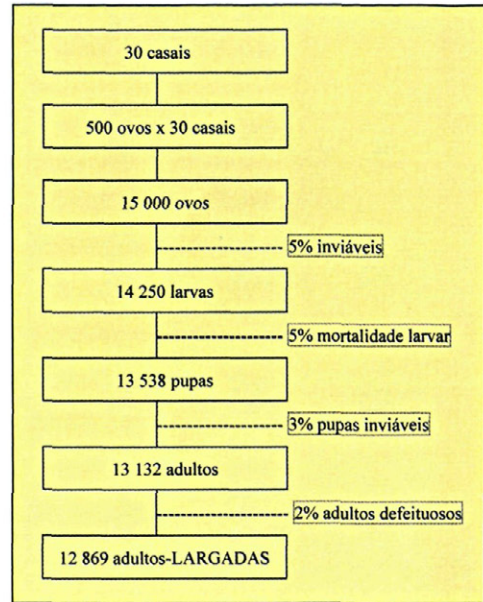


Fig. 4. Organigrama representativo dos 30 casais da colónia de criação e respectiva produção, em 90 dias, a 25°C e 55% dia e 19°C e 50% noite.

Ao longo deste processo, verifica-se uma quebra na produção em consequência da presença de alguns predadores de ovos e larvas de *H. pantherina*, nomeadamente crisopídeos (Neuroptera: Chrysopidae), que vêm juntamente com o hospedeiro vegetal utilizado como alimento, os quais provocam o apare-

Quadro 3. Produção de ovos, larvas, pupas e adultos, obtida em 90 dias a partir de 30 casais de *Hyperaspis pantherina* e respectiva percentagem de quebras ocorridas.

Estado de desenvolvimento	Produção (n°)	Inviáveis		Mortalidade		Defeituosos	
		%	n°	%	n°	%	n°
Ovos	15 000	5	750				
Larvas	14 250			5	712,5		
Pupas	13 538	3	406				
Adultos	13 132					2	262.64
Adultos-LARGADAS	12 869						



Figura 5. Ovos de *Hyperaspis pantherina*, com diferentes tonalidades o que evidencia os diferentes estados de amadurecimento, sobre fêmea adulta de *Orthezia insignis*.



Figura 6. Larva de *Hyperaspis pantherina* no 1º instar com coloração cinzenta, sendo visíveis os três pontos escuros no lado direito do tórax.

cimento de ovos inviáveis (cerca de 5%) e uma taxa de mortalidade nas larvas correspondente a cerca de 5% (Quadro 3). Tem-se, também, observado uma taxa de mortalidade, de cerca de 5%, nas pupas devido, não só a pupas inviáveis como, também, ao aparecimento esporádico de um fungo (ainda não identificado) sobre as mesmas e, ainda, à emergência de aproximadamente 2% de adultos defeituosos (Fig. 4 e Quadro 3).

Aspectos morfológicos de *Hyperaspis pantherina*

H. pantherina passa por quatro estados de desenvolvimento: ovo, larva, pupa e adulto.

- Os ovos são ovais (0,7x0,3mm), fortemente achatados dorso-ventralmente. Inicialmente são cremes e opacos, escurecendo à medida que amadurecem (se viáveis), adquirem coloração verde-acinzentado escura (BOOTH *et al.*, 1995) (Fig. 5).

Antes de ocorrer a eclosão tornam-se visíveis através do corion três pontos escuros. As larvas eclodem por um orifício longitudinal característico na superfície dorsal do ovo.

- A larva recém eclodida tem coloração verde a cinzenta escura com três pontos mais escuros nos segmentos torácicos do lado direito, apresentando patas transparentes, que ficam, posteriormente, mais escuras (Fig. 6).

A partir do segundo instar perde os três pontos referidos anteriormente e assume, até ao quarto instar, a mesma coloração esverdeada uniforme. Após cada muda desenvolve um espesso revestimento de substâncias cerosas brancas, segregadas pela cutícula, que vai cobrindo todo o corpo excepto a zona ventral.

No segundo instar, a substância cerosa confere um aspecto enfarinhado à larva, contrariamente aos seguintes instares larvares que apresentam esta substância sob a forma de filamentos muito bem organizados em cada um dos segmentos, especialmente, no quarto instar. Esta substância cerosa só se forma algum tempo após a muda (Fig. 7).

Os terceiro e quarto instares apresentam duas filas de sedas em cada uma das margens laterais da parte dorsal do corpo, tornando-se imperceptíveis quando se forma o revestimento de substâncias cerosas sobre o corpo da larva.

Em todos os instares são bem visíveis segmentos perpendiculares ao comprimento do corpo da larva.

- Na fase de pré-pupa, a larva fixa-se ao substrato (Fig. 8), através de uma secreção escura libertada pelo ânus, contraindo-se longitudinalmente e entra em pupa após cerca de um dia (FOWLER, 1993). Os filamentos cerosos unem-se adoptando o aspec-

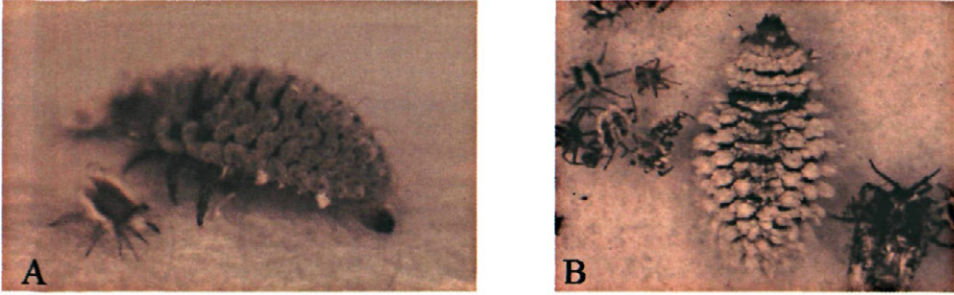


Figura 7. Larva de *Hyperaspis pantherina* após muda para o 3º instar (A) e a mesma larva 5 dias depois, com o corpo revestido de substância cerosa (B).

to de tufos, acabando por cair a partir da parte central até revelar a pupa com coloração que varia de verde-claro a verde-azui-tona, a qual escurece à medida que se transforma no adulto

- O adulto depois de completamente formado, ainda dentro da exúvia da pupa, e antes de iniciar a emergência tem uma coloração amarelo-esverdeada. A coloração definitiva torna-se evidente 12-24 horas após ter iniciado a emergência (FOWLER, 1993) (Fig. 9).

O adulto emerge através de um orifício semi-circular na margem da zona ventral da exúvia. Segundo BOOTH *et al.* (1995) apresenta o corpo pequeno, com 2,3-2,7mm de comprimento e 1,7-2,3mm de largura, oval e convexo, élitros pretos, cada um com cinco pintas claramente demarcadas que variam

de branco a amarelo pálido. Em ambos os sexos o labro, as antenas e os palpos são de cor amarela e apresentam antenas com 11 segmentos (BOOTH *et al.*, 1995). Os sexos podem facilmente distinguir-se pela coloração existente entre os olhos apresentando as fêmeas uma coloração escura ou preta. Nos machos pode variar de amarelo a castanho pálido e os olhos podem ter uma coloração mais clara, por vezes de tom esverdeado (FOWLER, 1993) (Fig. 10).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Iniciou-se a criação do predador *H. pantherina*, com o objectivo de manter uma colónia saudável e obter, semanalmente, adultos para largadas seguindo a metodologia descri-

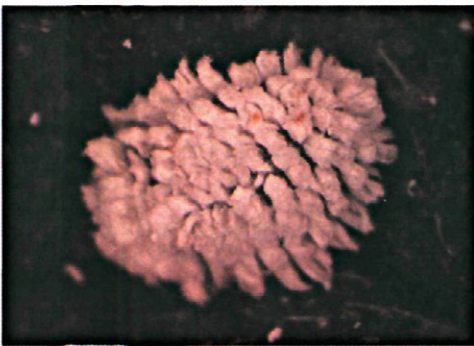


Figura 8. Pré-pupa de *Hyperaspis pantherina*.



Figura 9. Adulto completamente formado no interior da pupa.

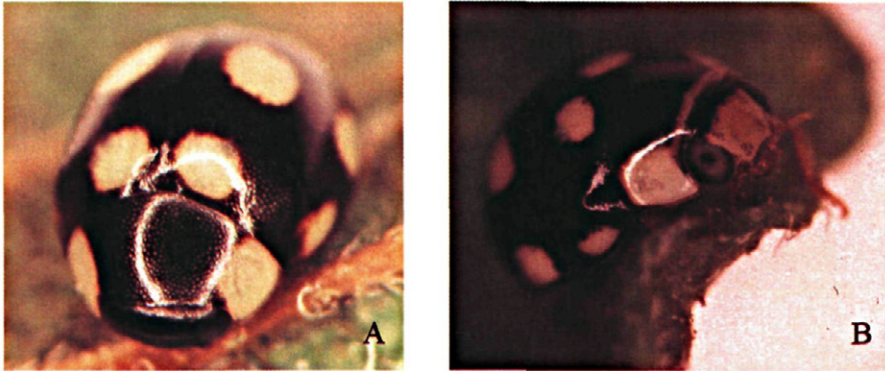


Figura 10. Fêmea (A) e macho (B) de *Hyperaspis pantherina*.

ta na bibliografia. No entanto, introduziram-se alterações tendo-se conseguido estabelecer uma metodologia de criação, simplificada e económica em termos de recursos humanos, comparada à utilizada em Stª Helena.

As alterações introduzidas basearam-se no não manuseamento nas diferentes fases de desenvolvimento de *H. pantherina*, o que permitiu reduzir a mortalidade. Verificou-se, assim, um aumento do número de adultos obtidos (em cerca de 75%) para o mesmo período de tempo. Refere-se, ainda, que relativamente a aspectos bioecológicos reduziu-se a duração, em dias, entre os estados de ovo e adulto (FÉLIX *et al.*, 2004.).

As largadas do predador visam contribuir para que o seu nível populacional ultrapasse, em condições naturais, o limiar crítico de abundância indispensável para o estabelecimento da espécie.

As largadas de *H. pantherina*, iniciadas a 27 de Agosto de 2002 com 61 adultos de criação, estão a ser efectuadas semanalmente com cerca de 600 adultos. Até ao momento já foram largados aproximadamente 32 000 adultos.

Pretende-se na última fase do projecto, abranger vários arruamentos da cidade do

Funchal, onde existam jacarandás e plantas ornamentais hospedeiras de *O. insignis*, de modo a dispersar o predador e reduzir os tratamentos fitossanitários normalmente utilizados para combater esta praga.

Para verificar a aclimação de *H. pantherina* e a sua acção sobre *O. insignis* iniciaram-se amostragens em ramos de jacarandá, tendo-se confirmado a presença de ovos e larvas deste predador. No entanto, o estabelecimento de um equilíbrio biológico só se tornará perceptível a médio/longo prazo.

Este predador por ser específico poderá, após a sua expansão, que certamente depende do factor tempo sobre a evolução do complexo processo dos equilíbrios biológicos, fazer com que *O. insignis* se torne uma praga com menor importância sobre os hospedeiros em causa.

Paralelamente à acção deste predador deverá ser dada continuidade às medidas profiláticas, nomeadamente podas de limpeza em época oportuna, não só nos jacarandás como também nas várias plantas ornamentais existentes nas zonas ajardinadas, que constituem também hospedeiros preferenciais de *O. insignis*.

RESUMEN

FÉLIX A. P., P. ROCHA, C. I. BRAZÃO, A. M. FRANQUINHO AGUIAR. 2005. Multiplicación en laboratorio y aspectos morfológicos de *Hyperaspis pantherina* Fürsch (Coleoptera: Coccinellidae) depredador de *Orthezia insignis* Browne (Homoptera: Ortheziidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, 31: 473-481.

En 2002 el depredador *Hyperaspis pantherina* Fürsch, fue importado de Kenia, por medio del KEFRI (Kenya Forestry Research Institute), para la Isla de Madeira con el objetivo de utilización, en control biológico clásico, contra la cochinilla *Orthezia insignis* Browne, en *Jacaranda mimosifolia* D. Don.

Se presentan las modificaciones a la metodología descrita por FOWLER (1993) para la multiplicación en laboratorio del *H. pantherina*, para incrementar la producción del depredador, basadas en el conocimiento de su biología e interacción depredador-presa. Asimismo se describen detalladamente los aspectos morfológicos de las diferentes etapas del desarrollo del coccinelido.

Palabras clave: *Hyperaspis pantherina*, multiplicación en laboratorio, *Orthezia insignis*, control biológico.

ABSTRACT

FÉLIX A. P., P. ROCHA, C. I. BRAZÃO, A. M. FRANQUINHO AGUIAR. 2005. Laboratory culturing and morphological aspects of *Hyperaspis pantherina* Fürsch (Coleoptera: Coccinellidae) a predator of the *Orthezia insignis* Browne (Homoptera: Ortheziidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, 31: 473-481.

The ladybird *Hyperaspis pantherina* Fürsch, was imported from Kenya, through KEFRI (Kenya Forestry Research Institute), to Madeira Island in 2002 to be used as a predator in the biological control of *Orthezia insignis* Browne, an homopteran infesting *Jacaranda mimosifolia* D. Don trees.

A new rearing methodology to increase the production of this predator is presented based on the knowledge of its biology, predator-prey interaction and earlier rearing methodologies like that described in FOWLER (1993). Morphological aspects of the different development stages are described in detail.

Key-words: *Hyperaspis pantherina*, laboratory culturing, *Orthezia insignis*, biological control.

REFERENCIAS

- BEGGS J. (2001). Biological control - A success Story. *Stowaways*. (1): 15.
- BOOTH, R. G.; CROSS, A. E.; FOWLER, S. V. & SHAW, R. H. (1995). The biology and taxonomy of *Hyperaspis pantherina* (Coleoptera: Coccinellidae) and the classical biological control of its prey, *Orthezia insignis* (Homoptera: Ortheziidae). *Bulletin entomological Research*, 85, 307-314.
- FÉLIX, A. P., VASCONCELOS, J.; BRAZÃO, C.; AGUIAR, A. M. FRANQUINHO & ROCHA, P. 2004. Aspectos bioecológicos de *Hyperaspis pantherina* Fürsch (Coleoptera: Coccinellidae) predador de *Orthezia insignis* Browne (Homoptera: Ortheziidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, 30: 347-354.
- FOWLER, S. V. (1993). *Report on a visit to St Helena, 6-25 June 1993*. International Institute of Biological Control, Silwood Park, UK, 36pp.
- GREATHEAD, D. J. (1971). *A review of biological control in the Ethiopian region*. Communication Commonwealth Institute of Biological Control, Farnham Royal, UK, Commonwealth Agricultural Bureaux. (5): 162pp. (cit. in Hagen et al., 1999).
- HAGEN, K. S.; MILLS, N. J.; GORDH, G. & MCMURTRY, J. A. (1999). Terrestrial arthropods predators of insect and mite pests. In: Bellows, T. S. & Fisher, T. W (Eds.). *Handbook of biological control, Principles and applications of biological control*. Academic Press, USA, 383-503.
- VIEIRA, R. M. S.; CARMONA, M. M. & PITTA, M. S. (1983). Sobre os coccídeos do Arquipélago da Madeira (Homoptera: Coccoidea). *Bol. Museu Mun. Funchal*. (XXXV, Art. 153): 81-162.

(Recepción: 30 agosto 2004)

(Aceptación: 14 septiembre 2005)