

Governo dos Açores



Secretaria Regional dos Recursos Naturais  
Direção Regional da Agricultura e Desenvolvimento Rural

# POPILLIA JAPONICA NEWMAN

R  
E  
L  
A  
T  
Ó  
R  
I  
O



2012

DIREÇÃO DE SERVIÇOS DE AGRICULTURA E PECUÁRIA



Laboratório Regional de Sanidade Vegetal



**Secretaria Regional dos Recursos Naturais**  
Direção Regional da Agricultura e Desenvolvimento Rural  
Direção de Serviços de Agricultura e Pecuária

***POPILLIA JAPONICA NEWMAN***

**Relatório**

**2012**

Aida Maria Correia de Medeiros

António Quintanilha de Medeiros

Carlos Eduardo Costa Santos

José Adriano Mota



Ponta Delgada

Março de 2013

## ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO .....	2
2. BIOECOLOGIA.....	3
2.1. Ciclo de vida .....	3
2.2. Plantas Hospedeiras .....	4
3. PERSPETIVA HISTÓRICA E SITUAÇÃO ATUAL NOS AÇORES .....	5
4. MÉTODO DE MONITORIZAÇÃO DE ADULTOS DE <i>POPILLIA JAPONICA</i> .....	6
4.1. Monitorização da população e da dispersão de adultos de <i>Popillia japonica</i> na ilha de São Miguel no ano de 2012.....	6
4.1.1. Armadilhas instaladas e capturas na ilha de São Miguel .....	8
4.2. Monitorização da população e da dispersão de adultos de <i>Popillia japonica</i> nas ilhas do arquipélago dos Açores, no ano de 2012 .....	14
4.3. Evolução da monitorização de adultos de <i>Popillia japonica</i> no arquipélago dos Açores no período compreendido entre os anos de 2008 e 2012 .....	19
5. LUTA BIOLÓGICA.....	22
5.1. Produção de esporos do fungo entomopatogénico <i>Metarhizium robertsii</i> .....	22
5.2. Utilização de esporos do fungo entomopatogénico <i>Metarhizium robertsii</i> .....	27
5.2.1. Técnica de autodisseminação do fungo entomopatogénico <i>Metarhizium robertsii</i> .....	28
5.2.2. Avaliação da eficácia das armadilhas do tipo <i>Ellisco</i> modificadas.....	31
5.2.3. Aplicação de esporos de fungo <i>Metarhizium robertsii</i> por pulverização.....	33
5.2.4. Incorporação no solo dos resíduos de cevada contendo esporos de <i>Metarhizium robertsii</i> .....	35
5.2.5. Avaliação da eficácia da pulverização de esporos de <i>M. robertsii</i> no combate a <i>P. japonica</i> .....	35
5.2.6. Bioensaios sobre o efeito do tempo da cultura em meio sólido na produção e viabilidade dos esporos de <i>M. robertsii</i> .....	39
6. TÉCNICOS INTERVENIENTES .....	42





## 1. INTRODUÇÃO

*Popillia japonica* Newman é um inseto que pertence à ordem Coleoptera e à família Scarabaeidae, cujo nome vulgar de escaravelho japonês reporta-nos para a sua região de origem. Atualmente, *P. japonica* encontra-se presente no continente norte-americano (EUA e Canadá), no Japão, no extremo oriente do continente Asiático (Rússia e China) e na Europa, onde se incluem as ilhas Terceira, Faial, Pico, São Miguel e Flores do arquipélago dos Açores.

O escaravelho japonês pode alimentar-se de, pelo menos, 295 espécies de plantas, tendo-se observado estragos de importância económica em 106 dessas espécies. Na legislação fitossanitária nacional e da União Europeia, *P. japonica* é considerado um organismo prejudicial existente na Comunidade e relevante para a mesma, cujas introdução e dispersão são proibidas no interior de todos os Estados Membros. (Secção II da parte A do Anexo I da Diretiva n.º 2000/29/CE, do Conselho, de 8 de maio de 2000, relativa às medidas de proteção contra a introdução na Comunidade de organismos prejudiciais aos vegetais e produtos vegetais e contra a sua propagação no interior da Comunidade). A nível nacional, *P. japonica* faz parte da Secção II do Anexo I do Decreto-Lei n.º 154/2005, de 6 de setembro, alterado e republicado pelo Decreto-Lei n.º 243/2009, de 17 de setembro, que atualiza o regime fitossanitário, criando e definindo as medidas de proteção fitossanitária destinadas a evitar a introdução e dispersão no território nacional e comunitário, incluindo nas zonas protegidas, de organismos prejudiciais aos vegetais e produtos vegetais qualquer que seja a sua origem ou proveniência. Além disso, a Organização Europeia e Mediterrânica para a Proteção das Plantas (OEPP/EPPO), da qual Portugal faz parte, também inclui o inseto *P. japonica* na sua Lista A2, isto é, a lista dos organismos nocivos presentes em território dos países que a constituem e para os quais é recomendada a sua regulamentação como organismos de quarentena. Desta forma, tanto pela lei comunitária, como pela lei nacional, é obrigatória a definição e implementação de medidas para combater e evitar a dispersão de *P. japonica*.

No ano de 2012, a Direção de Serviços de Agricultura e Pecuária, conjuntamente com os vários Serviços de Desenvolvimento Agrário da Região Autónoma dos Açores, deu continuidade aos trabalhos de monitorização, prospeção e combate a *P. japonica*, com destaque para as lutas biotécnica e microbiológica, através da instalação de armadilhas e utilização de esporos do fungo entomopatogénico *Metarhizium robertsii*.

## 2. BIOECOLOGIA

### 2.1. Ciclo de vida

O ciclo de vida de *P. japonica* é constituído pelo estado de ovo, por três estados larvares (L1, L2 e L3), pelo estado de pupa (compreendendo as fases de pré-pupa e pupa) e pelo estado adulto (Silva, 1994). Nas figuras 1 e 2 encontram-se, respetivamente, representados um desenho esquemático e um quadro-diagrama com a ocorrência dos vários estados do ciclo de vida deste inseto ao longo dos meses do ano.

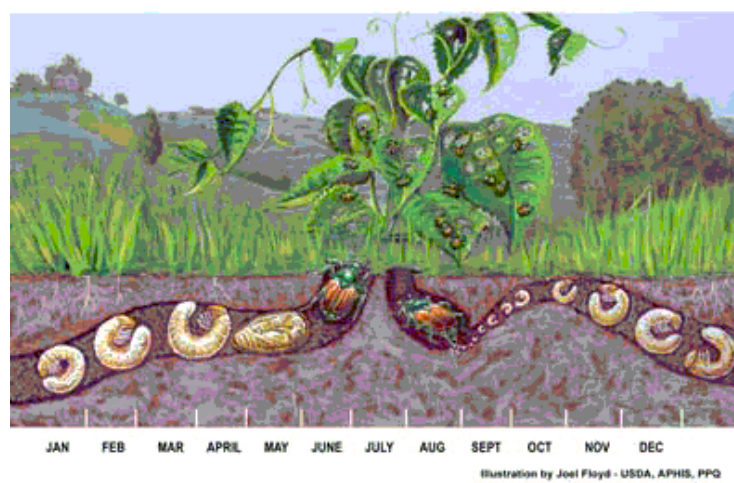


Figura 1 – Ilustração do ciclo de vida de *P. japonica*.

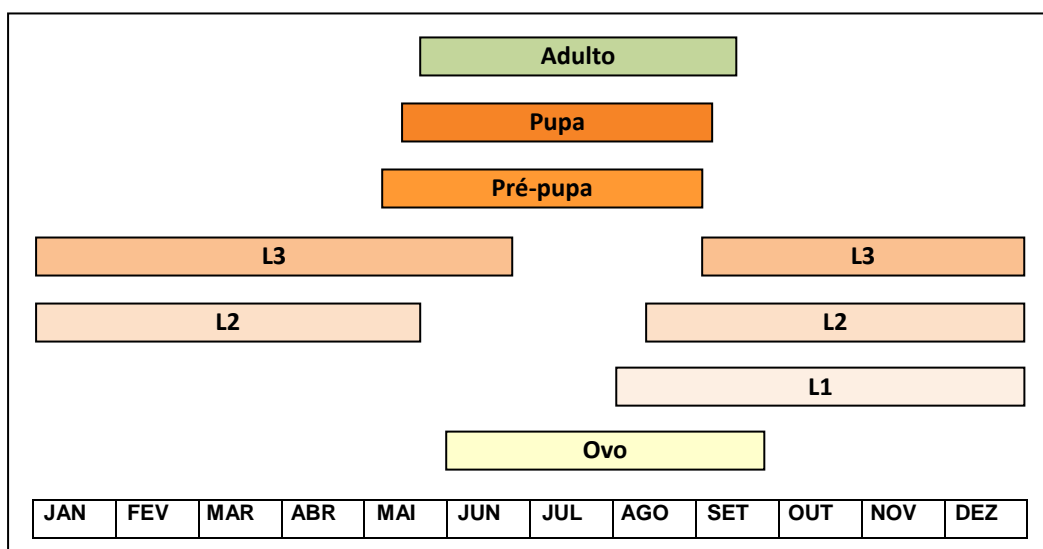


Figura 2 – Representação em diagrama do ciclo de vida de *P. japonica* na ilha Terceira (Fonte: Lopes, cit. Por Lopes, 1999).

O escaravelho japonês passa a maior parte do seu ciclo de vida no solo, sob a forma de ovo, de larva, de pré-pupa e de pupa. No início do Inverno, as larvas, geralmente do terceiro estado, descem para uma profundidade de 8 a 10 cm onde passam toda a estação. Na Primavera, sobem para uma profundidade de cerca de 5 cm e começam a alimentar-se de raízes. Ao fim de algumas semanas as larvas entram em fase de pupa e no fim de Maio ou início de Junho começam a emergir os adultos. O tempo médio de vida de cada adulto é de 30 a 45 dias. Os ovos são postos no solo e as larvas alimentam-se de raízes de plantas. Normalmente o inseto completa uma só geração por ano (OEPP, 1997).

## 2.2. Plantas Hospedeiras

O escaravelho japonês pode alimentar-se de, pelo menos, 295 espécies de plantas, mas apenas em 106 dessas espécies foram observados estragos de importância económica (OEPP, 1997).

As plantas preferidas pelos adultos pertencem aos géneros *Acer*, *Aesculus*, *Betula*, *Castanea*, *Glycine*, *Juglans*, *Malus*, *Platanus*, *Populus*, *Prunus*, *Rosa*, *Rubus*, *Salix*, *Tilia*, *Ulmus* e *Vitis* (OEPP, 1997).

Na ilha Terceira, os adultos de *P. japonica* alimentam-se sobretudo de folhas e flores de cerca de uma centena de espécies com interesse agrícola ou ornamental, incluindo a luzerna, o feijão, o plátano, o choupo, a ameixeira, o pessegueiro, a silva, os trevos encarnado e branco, a videira e o milho (Martins & Simões, 1988; Pinheiro, 1989, *vide* Lopes, 1999).

Para além destas plantas, Silva (1994) refere ainda como espécies preferidas pelos escaravelhos adultos na ilha Terceira a macieira e o marmeleiro, apontando a silva como a espécie mais afetada.



### 3. PERSPETIVA HISTÓRICA E SITUAÇÃO ATUAL NOS AÇORES

O escaravelho japonês foi detetado pela primeira vez nos Açores em 1970, na Ilha Terceira. Passados 26 anos, no ano de 1996, a sua presença na Região estendeu-se à ilha do Faial, e em 2003 foi capturado o primeiro inseto adulto na ilha de São Miguel. Com o objetivo de minimizar a expansão da área ocupada por *P. japonica* e de reduzir os respetivos níveis populacionais, a Direção de Serviços de Agricultura e Pecuária, à semelhança de anos anteriores, deu continuidade aos trabalhos de monitorização e combate da praga, fornecendo orientações aos diversos Serviços de Desenvolvimento Agrário da Região Autónoma dos Açores no âmbito das medidas a implementar.

Tal como ocorreu no ano anterior, durante o ano de 2012, não foram registadas quaisquer capturas de insetos de *P. japonica* nas ilhas de Santa Maria, Graciosa e Corvo. Na ilha de S. Jorge, onde tinham sido colhidos 2 adultos em 2011, foi registada a captura de igual número de escaravelhos. Na figura 3 indicam-se as ilhas onde foram observadas capturas de *P. japonica* em 2012 e os anos em que a sua presença foi registada pela primeira vez. Pelo reduzido número de insetos capturados em S. Jorge, optou-se, uma vez mais, por não considerar que este coleóptero se tenha estabelecido na ilha.

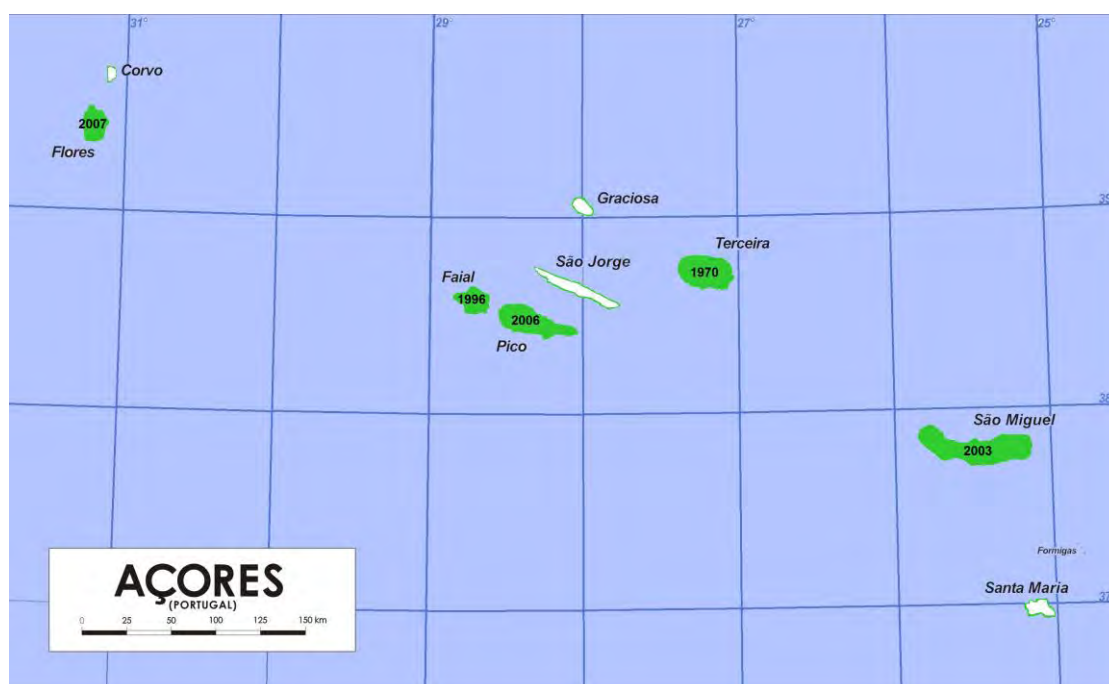


Figura 3 – Ilhas da Região Autónoma dos Açores onde se registaram capturas de insetos adultos de *Popillia japonica* em 2012, com indicação dos anos em que a sua presença foi detetada pela primeira vez.

#### 4. MÉTODO DE MONITORIZAÇÃO DE ADULTOS DE POPILLIA JAPONICA

##### 4.1. Monitorização da população e da dispersão de adultos de *Popillia japonica* na ilha de São Miguel no ano de 2012

A monitorização dos níveis populacionais e da dispersão de adultos de *P. japonica* baseou-se no número de insetos adultos capturados em armadilhas do tipo *Ellisco* (figura 4).

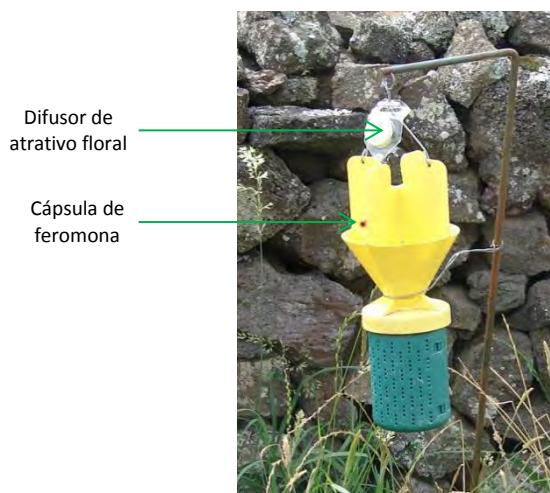


Figura 4 - Armadilha do tipo *Ellisco* utilizada para a monitorização de adultos de *Popillia japonica*.

Esta armadilha, utilizada na monitorização e captura do referido coleóptero, apresenta 37,5 cm de altura e 10 cm de diâmetro e é constituída por dois componentes de plástico rígido, resistente aos raios ultravioletas, que lhe garante um período de vida longo, apresentando o inferior forma de um copo com furos para drenagem e fluxo de ar, que serve de recipiente para os escaravelhos adultos, fácil de esvaziar e reutilizável, sem necessidade de ser substituído. A parte superior da armadilha, onde são colocados os atrativos, apresenta superfícies lisas dispostas na vertical e que afunilam para a parte inferior, permitindo a queda dos insetos adultos em direção ao recipiente de recolha. Ambos os componentes são enroscados um no outro.

A armadilha do tipo *Ellisco* é utilizada com dois atrativos químicos, um sexual (cápsula de feromona) e outro alimentar (difusor de isco floral), substituídos periodicamente de acordo com a sua durabilidade e níveis de captura verificados. A feromona sexual assemelha-se ao odor emitido pelas fêmeas, tendo um forte poder atrativo sobre os indivíduos machos, enquanto o atrativo floral exerce um efeito em ambos os sexos. Esta combinação garante um elevado número de capturas de *P. japonica*.

Às características vantajosas inerentes a este tipo de armadilha associa-se o facto de os insetos, uma vez aprisionados no seu interior, não poderem voar para o exterior.

A monitorização dos níveis populacionais e da dispersão de adultos de *P. japonica* efetuada pela Direção de Serviços de Agricultura e Pecuária baseia-se no número de insetos adultos capturados em armadilhas instaladas em fins de abril e mantidas no campo até ao mês de outubro (figura 5).



Figura 5 – Exemplos de armadilhas do tipo *Ellisco* instaladas no campo para captura de adultos de *P. japonica*.

As armadilhas utilizadas para deteção foram colocadas em zonas mais periféricas das usadas para capturas massivas. Nestas últimas, os dispositivos foram colocados, em regra, à distância de 50 a 100 m entre si, em locais devidamente identificados, junto de sebes e muros separadores das parcelas, cuja vegetação existente serve de fonte de alimentos aos adultos de *P. japonica*, com predomínio das silvas.

De um modo geral, os insetos capturados nas armadilhas foram colhidos (figura 6) e contabilizados semanalmente.



Figura 6 - Etapas da recolha dos insetos adultos de *P. japonica*: A – O recipiente é desenroscado da parte superior da armadilha; B – Copo cheio de insetos adultos; C – Transferência dos insetos para o saco de recolha.

Quando o número de insetos capturados era muito elevado, o seu cálculo foi efetuado indiretamente através de pesagem. O peso médio de cada adulto foi frequentemente aferido, dado que o seu valor varia com a época do ano e com a localização do local de captura.

#### 4.1.1. Armadilhas instaladas e capturas na ilha de São Miguel

No total foram instaladas 400 armadilhas (Quadro 1), das quais 169 foram colocadas em zonas onde a presença de *P. japonica* ainda não era conhecida (designadas como Novas Localizações Periféricas), cuja finalidade foi a de detetar a eventual presença deste inseto e/ou o início de ocupação do mesmo nesses novos locais.

Durante o mês de abril procedeu-se à instalação das armadilhas e as mesmas foram mantidas no campo até ao fim do mês de outubro. Em cada armadilha foram colocados um difusor de atrativo floral e uma cápsula de feromona (atrativo sexual), ambos substituídos de sete em sete semanas.

Quadro 1 – Listagem das zonas de monitorização, sua designação e respetivo número de armadilhas instaladas em 2012.

Zonas	Designação	N.º de armadilhas
I	Grotinha, porto, aeroporto e locais próximos	49
II	Pico Salomão, Milhafres e Monte Inglês	53
III	Recantos	75
IV	Monte João Moreira e Pau Amarelo	34
V	Outras zonas	20
	<b>Novas Localizações Periféricas</b>	<b>169</b>
<b>Total</b>		<b>400</b>

Na figura 7 representa-se a localização das armadilhas instaladas na ilha de S. Miguel no ano de 2012, com especial destaque para a zona infestada (Recantos, freguesia de Arifes), onde se procedeu à montagem de 75 armadilhas.

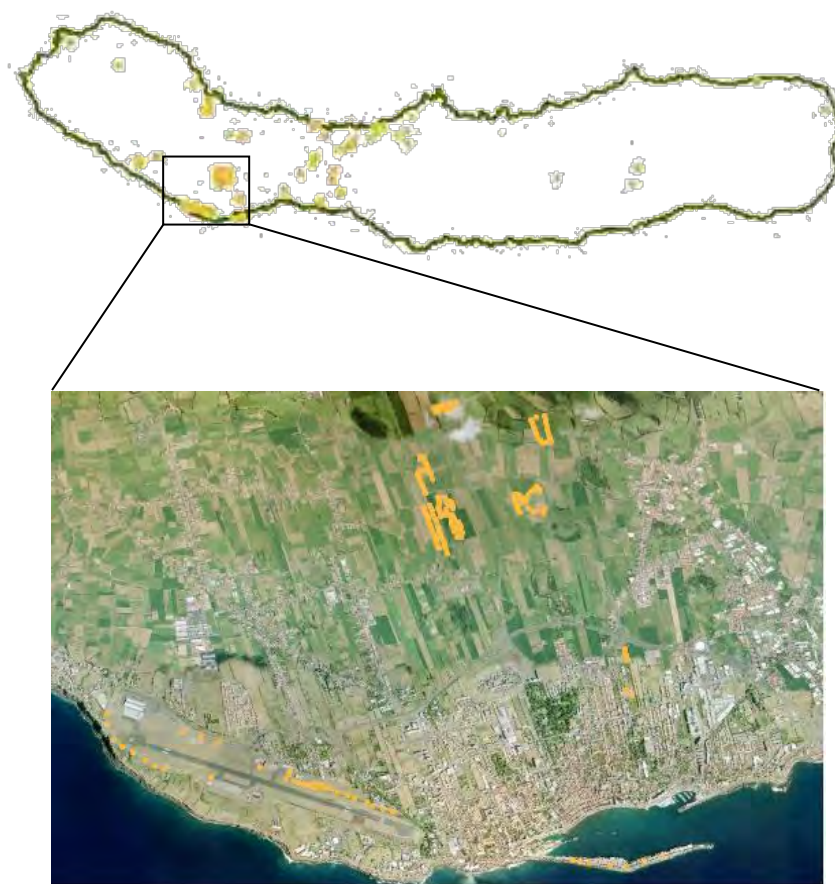


Figura 7 - Mapa da ilha de São Miguel com a localização das armadilhas (assinaladas a laranja) instaladas em 2012 para captura de *P. japonica*, destacando-se as principais zonas do concelho de Ponta Delgada.

Em 2012, as capturas de adultos de *P. japonica* na ilha de S. Miguel totalizaram o valor de 292712 indivíduos, menos cerca de 36000 que em 2011, verificando-se, assim, um ligeiro decréscimo relativamente ao ano anterior, indicador de que os níveis populacionais da praga se revelaram praticamente inalterados. Recorde-se que em 2006 esse valor foi de 59886, em 2007 foi de 111771, em 2008 foi de 180396, em 2009 foi de 262240 e em 2010 foi de 156295.

Comparativamente ao ano de 2011, continuou-se a registar capturas nas zonas de localização periférica, com destaque para as freguesias da costa norte (freguesias de Capelas, S. Vivente Ferreira, Fenais da Luz, Calheta, Pico da Pedra e Rabo de Peixe), do lado leste da ilha (freguesias de Livramento, S. Roque e Fajã de Baixo), bem como para oeste (freguesias de Relva e Covoada). Na freguesia das Sete Cidades, pela primeira vez se registou a captura de 3 adultos e em parcelas dos concelhos de Lagoa e Ribeira Grande, localizadas em zonas limítrofes com o de Ponta Delgada, foram capturados 2 e 3 insetos,

respetivamente, o que vem confirmar o aumento da área de dispersão, tal como já havia sucedido no ano anterior.

Nas figuras que se seguem representam-se o mapa de pormenor das áreas mais infestadas de S. Miguel, com a indicação dos diferentes níveis da quantidade de insetos presentes nas armadilhas, e o mapa onde se evidenciam as freguesias da citada ilha com registo de captura de adultos de *P. japonica*.

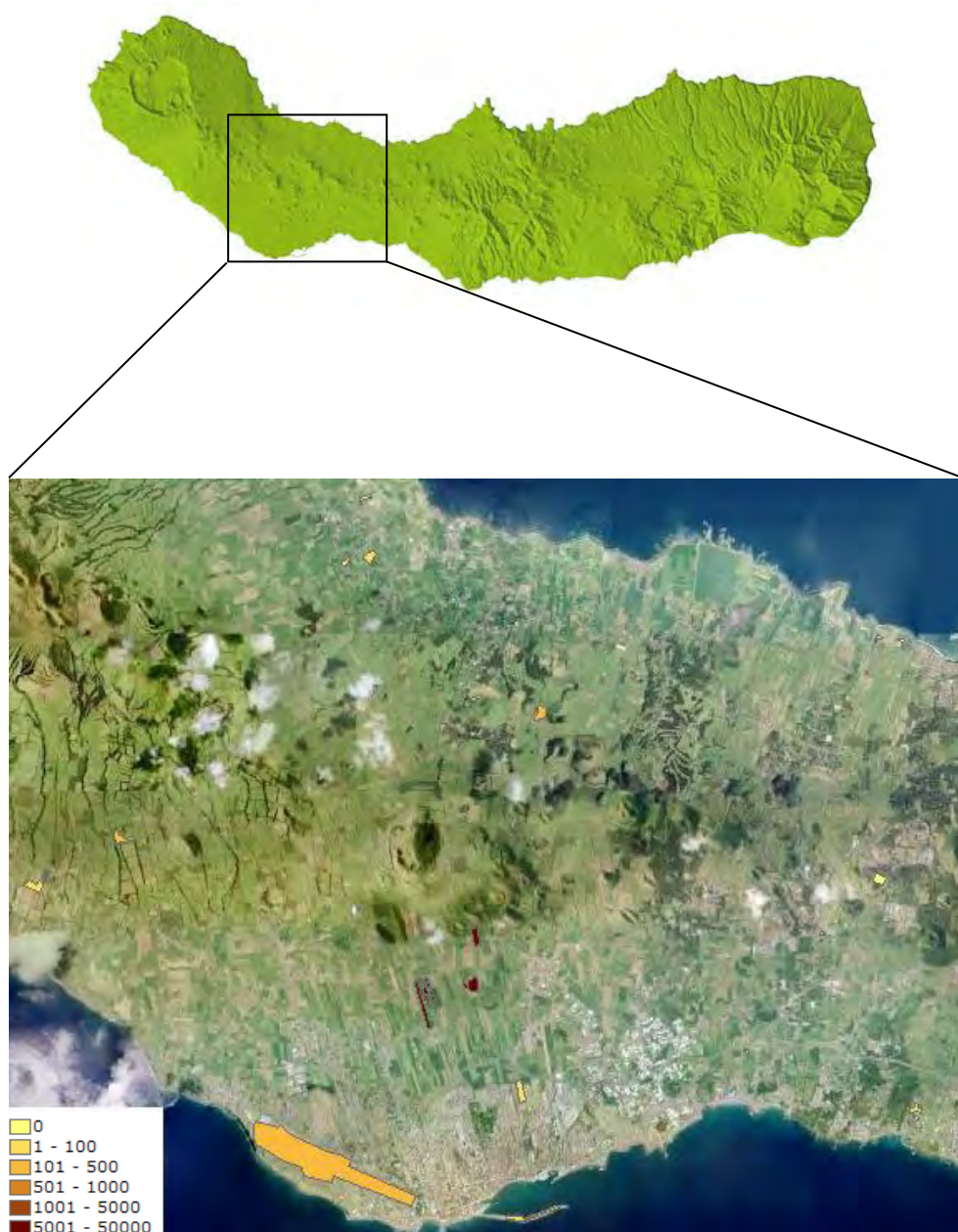


Figura 8 – Níveis de capturas totais de *P. japonica* por parcela na área mais infestada da ilha de São Miguel.

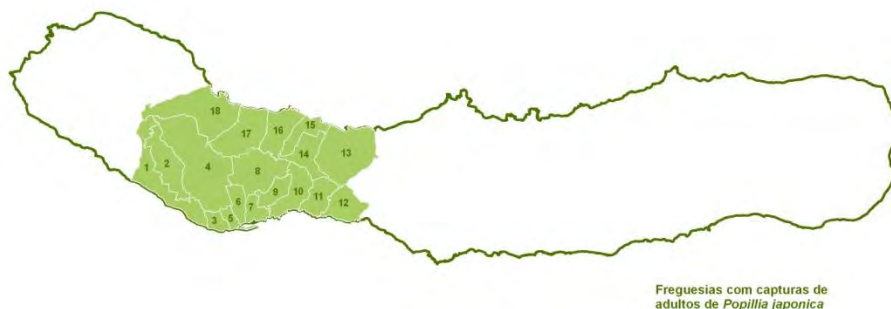


Figura 9 – Freguesias da ilha de São Miguel onde se registaram capturas de adultos de *P. japonica*.

As primeiras capturas registaram-se na semana 22 (entre 25 de maio e 1 de junho), com o número de 53 adultos (52 em armadilhas situadas no Pico Salomão e 1 numa instalada nos Recantos), tendo as últimas ocorrido na semana 42 (11 – 18 de outubro), cerca de uma semana mais cedo do que em 2011, com a recolha de 10 adultos na zona dos Recantos. O número máximo de capturas foi registado na semana 29, entre 11 e 18 de julho (duas semanas mais cedo do que em 2011), na qual foram capturados 76185 escaravelhos. O gráfico da figura 10 representa o número total de insetos adultos capturados na ilha de S. Miguel, no período compreendido entre 2006 e 2012.

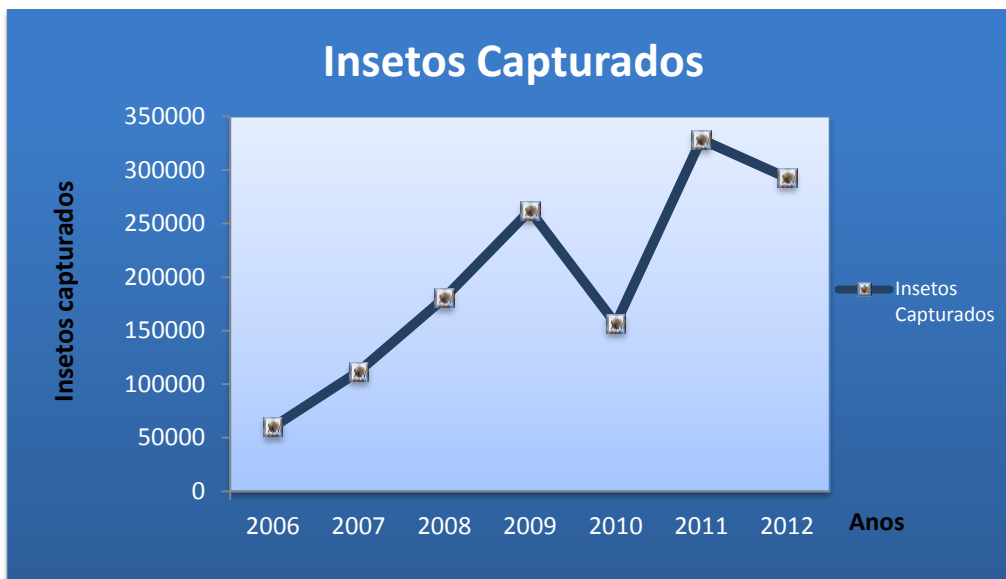


Figura 10 – Gráfico do número total de adultos de *P. japonica* capturados durante os anos de 2006 a 2012 na ilha de S. Miguel.

É possível verificar o decréscimo de capturas em cerca de 11% comparativamente com o registado em 2011, valores que se aproximaram dos do ano de 2009, apesar do número de 400 armadilhas instaladas em 2012 corresponder a menos 254 do número utilizado em 2009, como se pode observar no gráfico da figura 11.

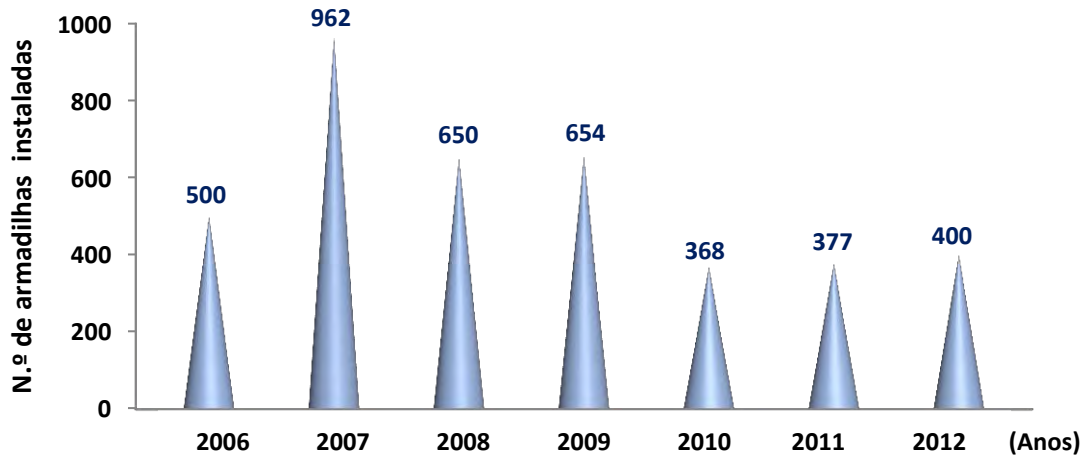


Figura 11 - Gráfico representativo do número de armadilhas de captura instaladas na ilha de São Miguel no período compreendido entre 2006 e 2012.

Recorde-se que o número de armadilhas instaladas foi sensivelmente o mesmo nos últimos 3 anos (2010, 2011 e 2012) para a captura deste coleóptero (368, 377 e 400, respetivamente).

O gráfico representado na figura 12 demonstra a repartição da percentagem de insetos capturados em cada mês durante o período de voo de *P. japonica* para os anos de 2006 a 2012, para a ilha de S. Miguel.

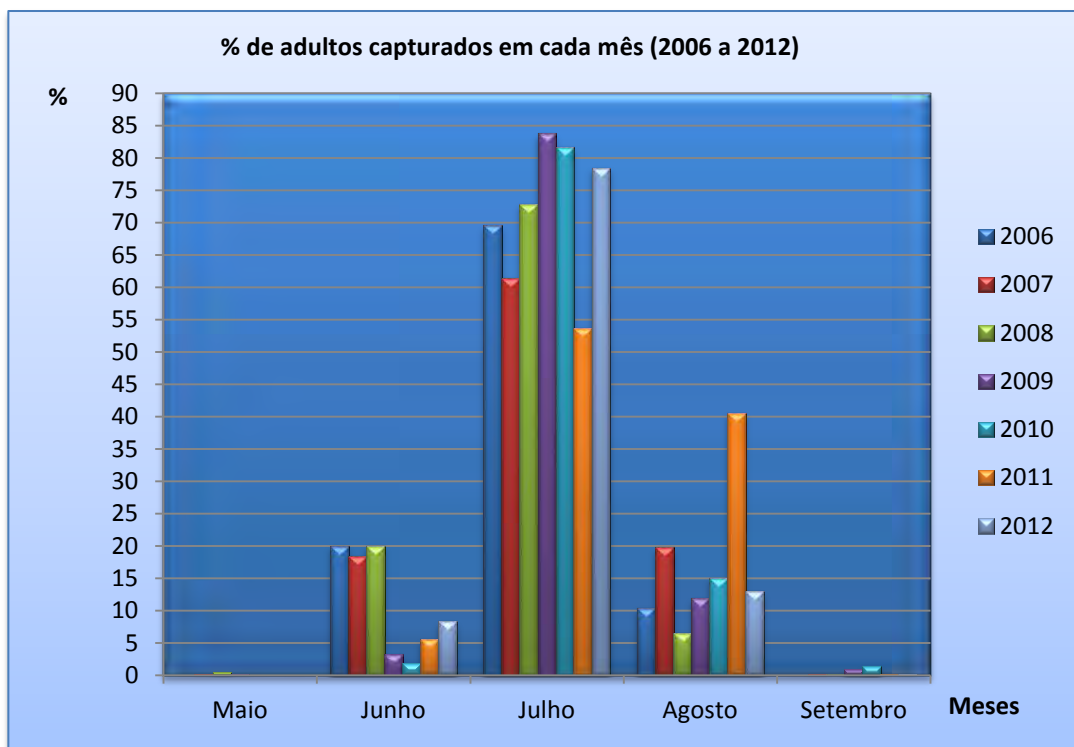


Figura 12 - Gráfico da distribuição mensal da percentagem do número de insetos capturados durante o período de voo de *P. japonica*, nos anos de 2006 a 2012, na ilha de S. Miguel.



No mês de julho o número de insetos capturados aumentou relativamente ao mesmo mês de 2011, para níveis próximos dos verificados em 2009 e 2010, embora inferiores, vindo esta variação resultar num decréscimo acentuado de adultos colhidos em agosto para mais de metade, comparativamente com a 2011. A oscilação ocorrida poderá ter-se ficado a dever a fatores climáticos mais favoráveis na primeira metade do verão e condições mais adversas na segunda metade da estação, caracterizada por dias ventosos e precipitação frequente, em consequência da passagem de algumas perturbações frontais, como foi o caso da tempestade Gordon. Verifica-se, também, que nos meses de maio e setembro, o número de insetos capturados é bastante reduzido, situação recorrente no decurso dos anos.

De uma forma geral, a curva de voo de *P. japonica* tem-se mantido sensivelmente a mesma, com início em maio e termo em setembro. O maior número de capturas verifica-se nos meses de junho, julho e agosto, embora seja no mês de julho que o número de insetos capturados atinja os valores mais elevados (78,45% do total em 2012, 53,72% do total em 2011, 81,67% em 2010, 83,79% em 2009, 72,90 % em 2008, 61,4 % em 2007 e 69,5% em 2006).

De salientar que mais de 90% das capturas verificam-se no conjunto dos meses de julho e agosto.

#### 4.2. Monitorização da população e da dispersão de adultos de *Popillia japonica* nas ilhas do arquipélago dos Açores, no ano de 2012

Para além de São Miguel, em 2012 foram registadas capturas de adultos de *P. japonica* nas ilhas Terceira, Faial, Pico e Flores, sendo que, à semelhança dos anos anteriores, não se verificaram quaisquer capturas de insetos de *P. japonica* nas ilhas de Santa Maria, Graciosa e Corvo. Na ilha de S. Jorge, onde tinham sido colhidos 2 adultos em 2011, foi registada a captura de igual número de escaravelhos em 2012.

Quadro 2 - Número de armadilhas instaladas e insetos adultos capturados no arquipélago dos Açores, no ano de 2012.

Ilhas	N.º de armadilhas	N.º de adultos capturados
Santa Maria	34	0
São Miguel	400	292722
Terceira	101	209071
Faial	54	369521
Pico	138	110900
São Jorge	81	2
Graciosa	41	0
Flores	79	389
Corvo	14	0
<b>Total</b>	<b>942</b>	<b>982605</b>

Nas figuras 13 e 14 encontram-se indicados graficamente o número de armadilhas instaladas em cada ilha, bem como a percentagem que representam, respetivamente.

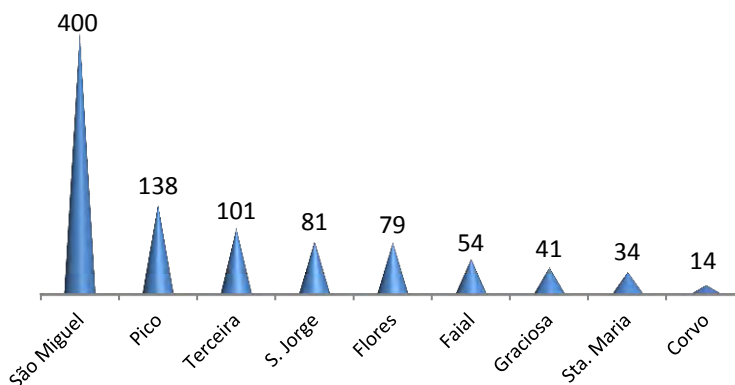


Figura 13 - Distribuição do número de armadilhas instaladas nas várias ilhas do arquipélago dos Açores em 2012.

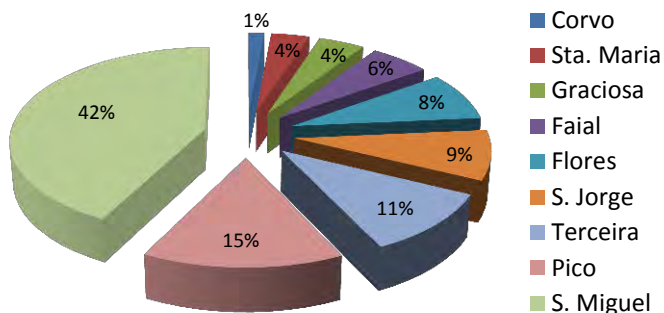


Figura 14 – Percentagem do total de armadilhas instaladas, em 2012, nas várias ilhas do arquipélago

No que concerne ao número de insetos capturados, no gráfico da figura seguinte distribuem-se os valores registados, em 2012, nas várias ilhas dos Açores.

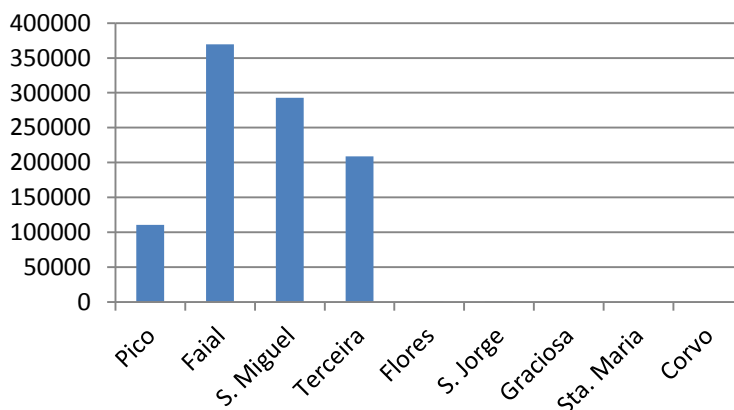


Figura 15 – Número total de adultos de *P. japonica* capturados nas várias ilhas do arquipélago dos Açores em 2012.

Tal como sucedeu em 2011, o número total de insetos capturados foi mais elevado na ilha do Faial, mas ao contrário do verificado no ano anterior, seguiu-se São Miguel. Na Terceira, registou-se uma diminuição de 73 % no total de capturas comparativamente a 2011 (figura 15). Os 2 adultos capturados em São Jorge não foram considerados por não constituírem uma confirmação do estabelecimento de *P. japonica* nesta ilha.

A seguir, apresentam-se os mapas das várias ilhas do arquipélago dos Açores (à exceção dos de S. Miguel, que se encontram em secção própria deste relatório) com a localização das armadilhas instaladas, assim como o mapa com as projeções da dispersão de *P. japonica* para a ilha do Faial.

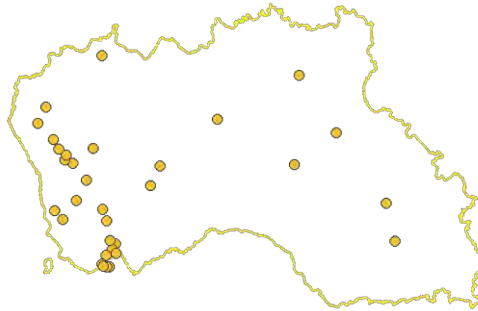


Figura 16 - Localização das armadilhas instaladas na ilha de Santa Maria em 2012.

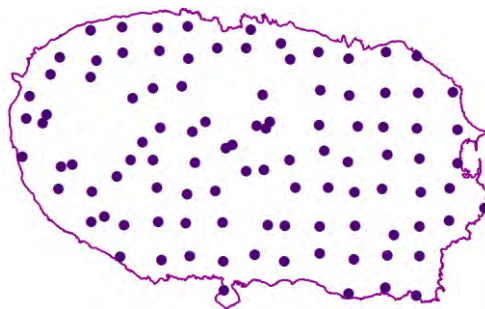


Figura 17 - Localização das armadilhas instaladas na ilha de Terceira em 2012.

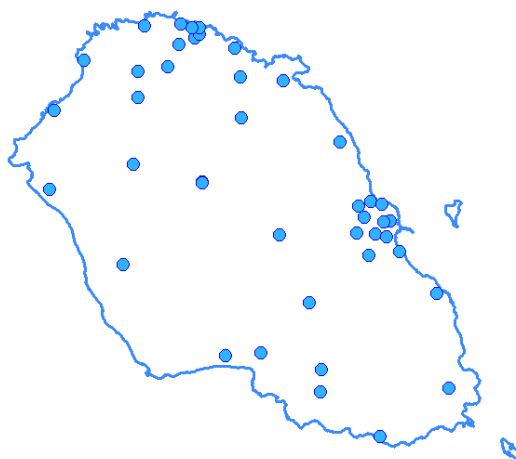


Figura 18 - Localização das armadilhas instaladas na ilha Graciosa em 2012.



Figura 19 - Localização das armadilhas instaladas na ilha de São Jorge em 2012.

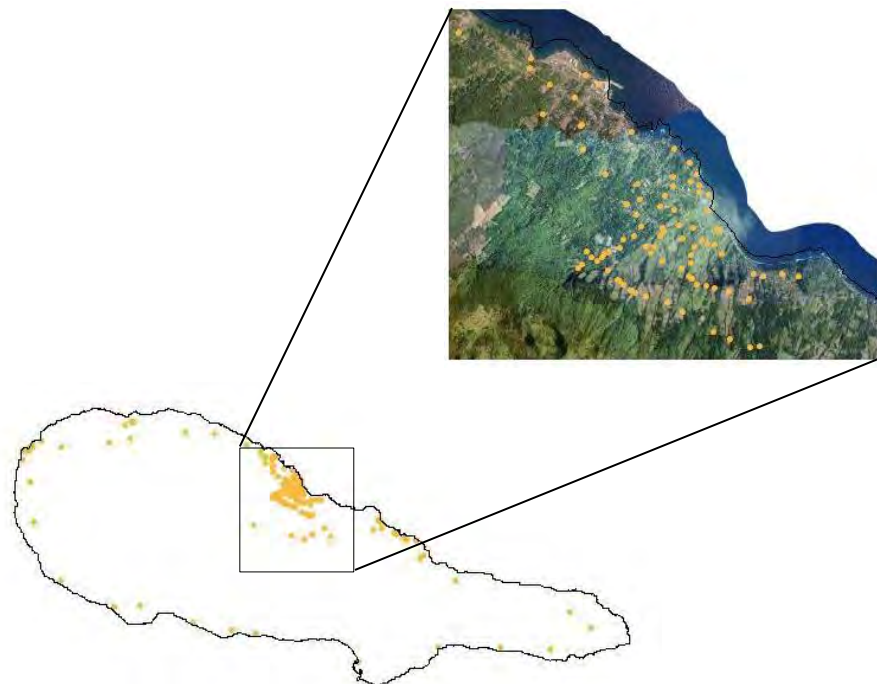


Figura 20 - Mapa da ilha do Pico com a localização das armadilhas (assinaladas a laranja) instaladas em 2012 para captura de *P. japonica*, destacando-se a zona de maior concentração de armadilhas no concelho de São Roque.

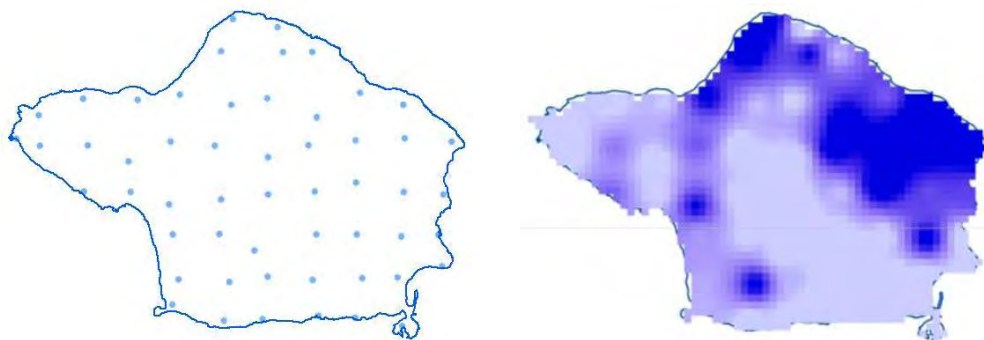


Figura 21 - Localização das armadilhas instaladas (à esquerda) e projeção da dispersão de *P. japonica* (à direita) na ilha do Faial em 2012.

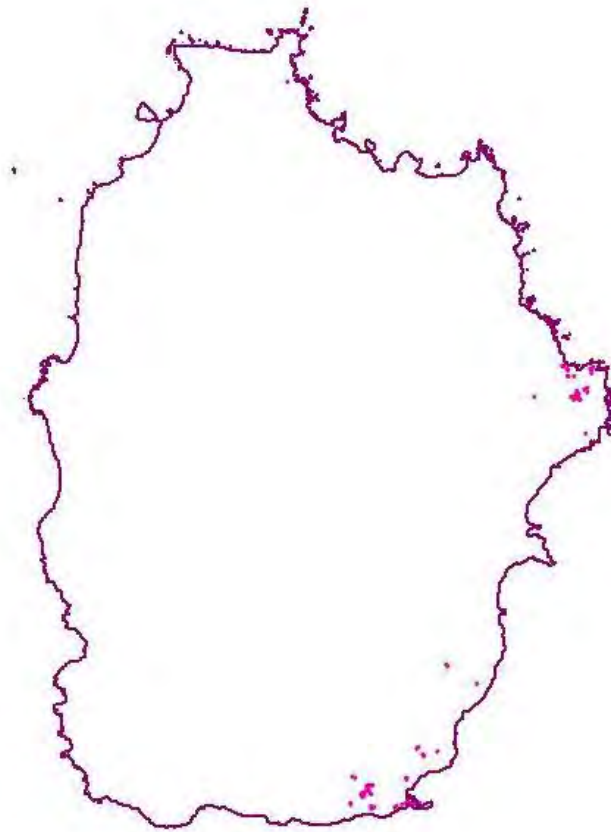


Figura 22 – Localização das armadilhas instaladas na ilha das Flores em 2012.

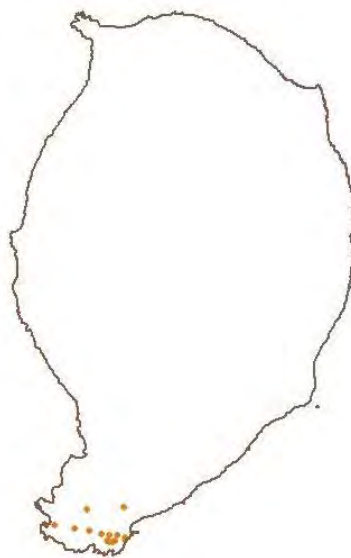


Figura 23 – Localização das armadilhas instaladas na ilha do Corvo em 2012.

#### 4.3. Evolução da monitorização de adultos de *Popillia japonica* no arquipélago dos Açores no período compreendido entre os anos de 2008 e 2012

No Quadro 3 indicam-se as quantidades de armadilhas do tipo *Ellisco* instaladas nas várias ilhas dos Açores, bem como o número de insetos adultos de *P. japonica* capturados, no decurso do período compreendido entre 2008 e 2012.

Quadro 3 – Número de armadilhas instaladas e insetos adultos capturados no arquipélago dos Açores entre os anos 2008 e 2012.

Ilhas	N.º de armadilhas					N.º de adultos capturados				
	2008	2009	2010	2011	2012	2008	2009	2010	2011	2012
Santa Maria	33	39	35	34	34	0	0	0	0	0
São Miguel	650	654	368	377	400	180396	262240	156295	328514	292722
Terceira	101	101	101	101	101	236294	219388	641740	775626	209071
Faial	54	54	54	54	54	581450	277276	871143	798458	369521
Pico	128	130	135	142	138	665753	1061226	383870	138945	110900
São Jorge	64	63	63	62	81	1	0	0	2	2
Graciosa	41	42	42	41	41	0	0	0	0	0
Flores	114	123	134	124	79	129	236	385	678	389
Corvo	13	14	13	14	14	6	0	0	0	0
<b>Totais</b>	<b>1198</b>	<b>1220</b>	<b>945</b>	<b>949</b>	<b>942</b>	<b>1664029</b>	<b>1820366</b>	<b>2053433</b>	<b>2042223</b>	<b>982605</b>

O número de armadilhas instaladas nas várias ilhas da Região tem variado entre um máximo de 1220 em 2009 e um mínimo de 942 em 2012, correspondendo a uma diferença de 423 armadilhas (figura 24).

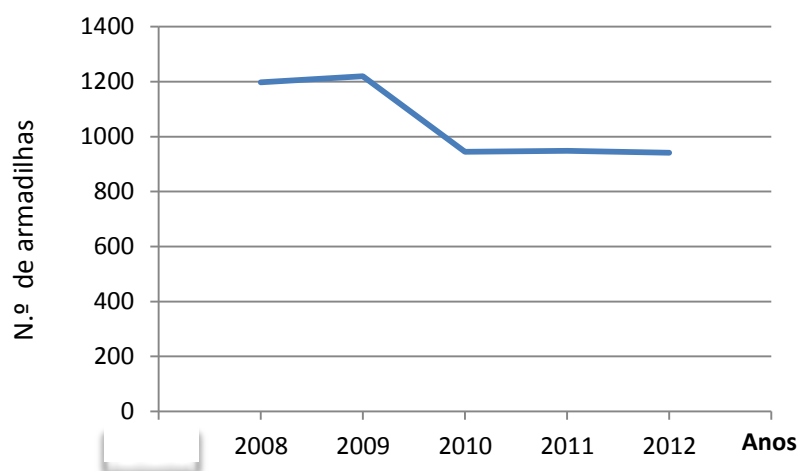


Figura 24 – Evolução do total de armadilhas do tipo *Ellisco* para captura de *P. japonica* instaladas no arquipélago dos Açores entre os anos 2008 e 2012.

Da interpretação do gráfico seguinte (figura 25), pode-se verificar que entre os anos 2008 e 2010 ocorreu um aumento do número de escaravelhos capturados, valor que estabilizou no ano seguinte, assistindo-se a um decréscimo acentuado no ano 2012 (aproximadamente 1 milhão de indivíduos).

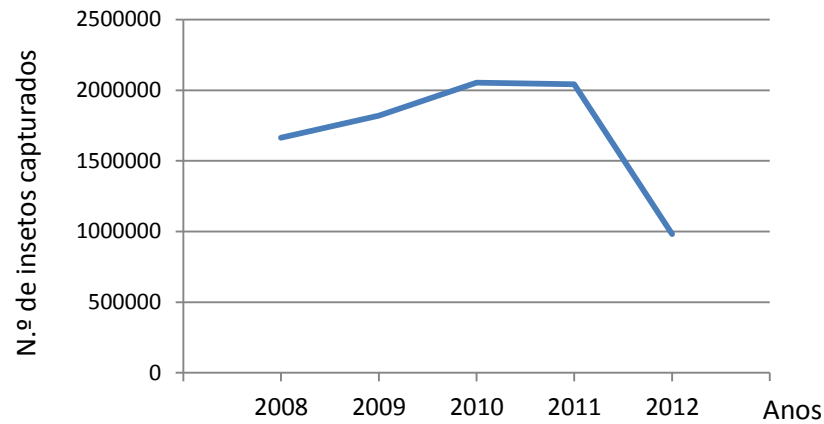


Figura 25 - Evolução do total de adultos de *P. japonica* capturados no arquipélago dos Açores entre os anos 2008 e 2012.

Não é possível estabelecer uma relação direta entre o total de armadilhas utilizadas na monitorização e o número de adultos de *P. japonica* capturados, pois a diminuição verificada na quantidade de capturas não é proporcional ao decréscimo de armadilhas montadas no terreno, conforme é possível concluir dos dados apresentados no Quadro 3 e nos gráficos ilustrados nas figuras 24 e 25. Neste sentido, é possível constatar que no ano de 2010 foram colocadas no campo menos 275 armadilhas relativamente ao ano de 2009, assistindo-se, pelo contrário, a um aumento de capturas da ordem dos 233067 escaravelhos, o que extrapolando para o decréscimo acentuado de capturas ocorrido em 2012 este não pode ser justificado pelo menor número de armadilhas utilizadas, valor que se situou em 817, apenas menos 133 comparativamente ao ano anterior (2011).

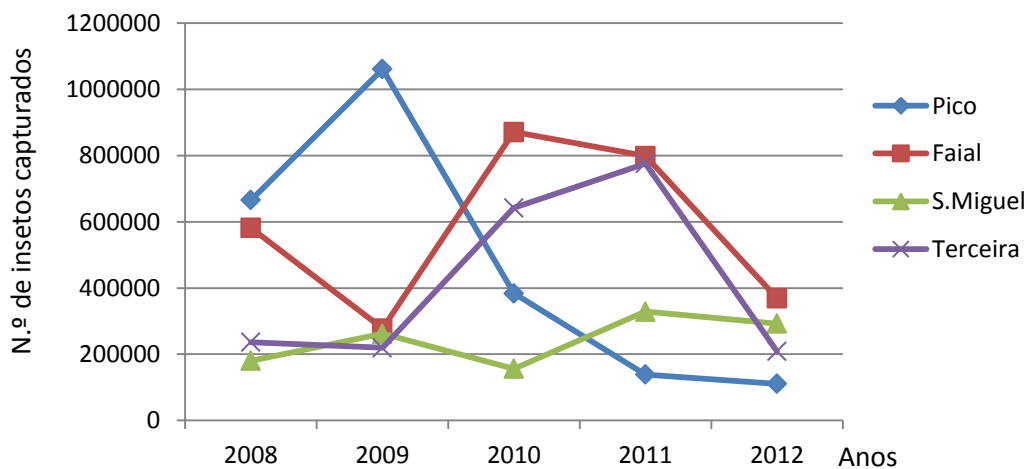


Figura 26 - Evolução do total de adultos de *P. japonica* capturados nas ilhas Pico, Faial, S. Miguel e Terceira, entre os anos 2008 e 2012.



A partir do gráfico da figura 26 pode-se constatar que a ilha onde se registou maior decréscimo de capturas no decurso do período considerado foi a do Pico, seguindo-se as de Faial e Terceira. Na ilha de S. Miguel, o total de escaravelhos capturados revelou uma menor oscilação em relação às restantes ilhas, sendo um aspeto comum a diminuição verificada no nível de capturas observado no último ano.

Devido ao significativo menor número de capturas de insetos adultos de *P. japonica* verificado na ilha das Flores entre os anos de 2008 e 2012, comparativamente às de Pico, Faial, S. Miguel e Terceira, cujos valores oscilaram entre o mínimo de 129 (em 2008) e o máximo de 678 indivíduos (em 2011), os mesmos são representados separadamente no gráfico da figura 27.

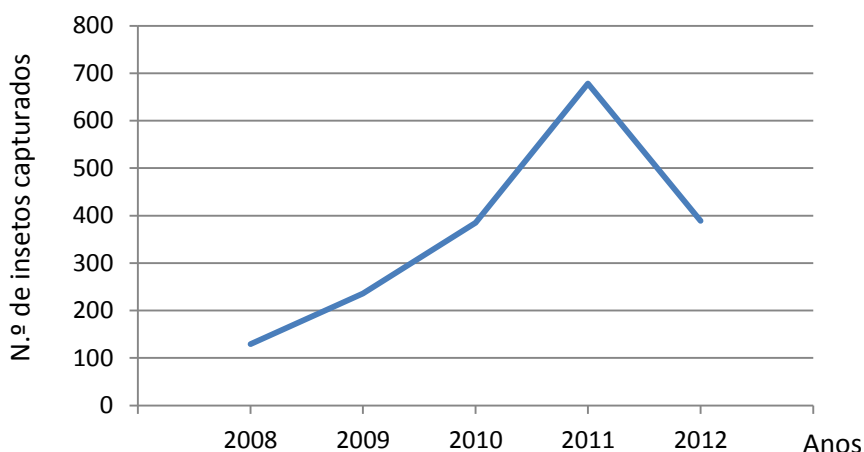


Figura 27 - Evolução do total de adultos de *P. japonica* capturados na ilha das Flores, no período compreendido entre 2008 e 2012.

Pode-se constatar que nos primeiros 4 anos indicados no gráfico foi notório o aumento de capturas registado, na ordem dos 100 indivíduos nos 3 anos iniciais, passando para cerca do dobro em 2011. Tal como sucedeu nas ilhas Pico, Faial, S. Miguel e Terceira, cuja evolução temporal de capturas está representada graficamente na figura 26, em 2012 a ilha das Flores acompanhou a variação registada, cujo número de insetos adultos de *P. japonica* presentes nas armadilhas caiu para cerca de metade relativamente ao ano anterior (2011).

## 5. LUTA BIOLÓGICA

### 5.1. Produção de esporos do fungo entomopatogénico *Metarhizium robertsii*



Figura 28 - Diversas fases da produção de esporos do fungo *Metarhizium robertsii*. A - inoculação em meio líquido; B - preparação do meio sólido (cevada); C - crescimento do fungo em sacos com cevada; D - fase de secagem em ambiente controlado; E - preparação para extração dos esporos; F - agitador de crivos; G - esporos do fungo extraídos no crivo; H - recolha dos esporos extraídos.

No ano de 2009, a Direção de Serviços de Agricultura e Pecuária (DSAP) deu início à produção em massa do fungo entomopatogénico *Metarhizium robertsii* com o intuito de o utilizar em luta biológica no combate a *P. japonica*, através da técnica de autodisseminação, programa que tem tido continuidade ao longo dos últimos anos.

No decurso do ano de 2012 foram produzidas, no Laboratório Regional de Sanidade Vegetal, 6554 gramas de esporos, conforme indicado no quadro seguinte (Quadro 4), onde se discriminam, para cada isolado do fungo de *M. robertsii*, a quantidade de esporos produzida.

Quadro 4 - Produção de esporos do fungo *M. robertsii* no decurso do ano de 2012.

Ciclos de produção	Isolados	Data de inoculação da cevada	Quantidade de esporos (g)
C1	09/06	26-04-2012	418
C2	09/06	04-05-2012	168
C3	09/06	15-05-2012	42
C4	09/06	21-05-2012	198
C5	09/06	29-05-2012	122
C6	09/06	04-06-2012	282
C7	09/06	11-06-2012	278
C8	10/04	20-06-2012	510
C9	10/04	28-06-2012	686
C10	10/04	05-07-2012	660
C11	10/04	12-07-2012	538
C12	10/04	19-07-2012	680
C13	10/04	26-07-2012	52
C14	10/04	03-08-2012	20
C15	10/04	10-08-2012	34
<b>Quantidade total (ciclos)</b>			4688
<b>Bioensaios</b>			1866
<b>Total</b>			<b>6554</b>

O total de esporos obtidos resultou dos ciclos de produção (4688 g) que decorreram entre os meses de abril e agosto de 2012, bem como de bioensaios (1866 g) que se realizaram entre os meses de novembro de 2011 e maio de 2012, e no mês de novembro de 2012.

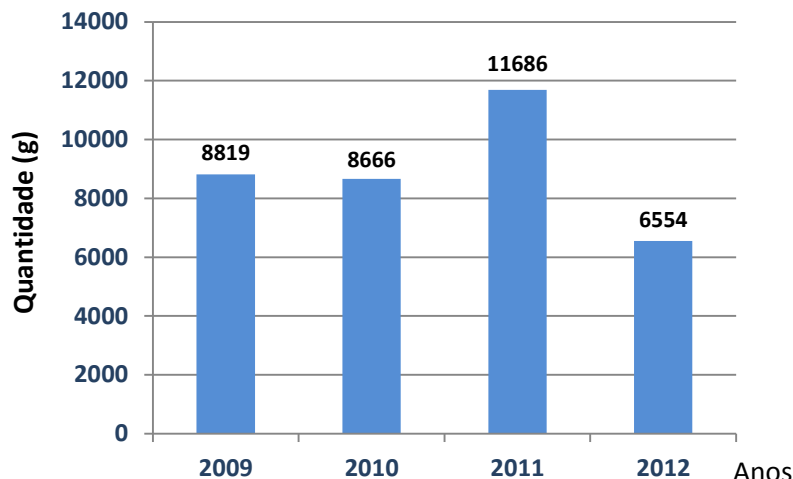


Figura 29 – Evolução da quantidade de esporos do fungo *M. robertsii* entre os anos de 2009 e 2012.

No período compreendido entre os anos de 2009 e 2012 foram produzidos mais de 35 Kg de esporos do fungo *M. robertsii* (mais precisamente 35725 g), registando o pico de produção em 2011 com 11686 g (figura 29). O decréscimo verificado em 2012 deveu-se ao facto de haver parte da produção de 2011 armazenada, que adicionada à obtida em 2012 preenchia as necessidades exigidas para a implementação das medidas de luta biológica previamente estabelecidas.

No ano de 2012, a Direção de Serviços de Agricultura e Pecuária implementou novos procedimentos para determinação e controlo das condições de humidade após a extração dos esporos de *M. robertsii* no agitador de crivos. Para tal, foi adquirido um aparelho de medição da humidade (figura 30), possibilitando a leitura do valor deste parâmetro físico nas amostras representativas dos esporos obtidos nos vários ciclos de produção, quer no momento da sua extração quer após secagem na sílica.



Figura 30 – Aparelho de medição de humidade.



Figura 31 – Aparelho de ultrassons.

Na fase de procedimentos que antecedem a contagem dos esporos para efeitos de cálculo da sua concentração relativa no total do sólido extraído, passou a ser utilizado um aparelho de ultrassons (figura 31), adquirido com o intuito de garantir uma melhor desagregação dos grânulos de esporos que se formam aquando da dissolução em Silwet L77, antes das diluições subsequentes, permitindo uma regular distribuição dos mesmos no hemocitômetro.

Paralelamente, registaram-se melhorias nos procedimentos adotados na manipulação dos esporos aquando da transferência dos crivos para as embalagens onde são armazenados e, posteriormente, conservados. Para o efeito, o Laboratório Regional de Sanidade Vegetal adquiriu sacos de café *Doypack* de polietileno, com revestimento metálico de alumínio e fecho *zip*, de dois tamanhos, permitindo melhorar as condições de armazenamento dos esporos. Assim, a transferência dos esporos extraídos do crivo inferior do agitador é realizada diretamente para os referidos sacos, sendo depois colocados abertos em caixas com sílica no fundo (a sílica encontra-se debaixo de um estrado improvisado), para proporcionar o efeito de desumidificação provocado pela sílica (figura 32). As caixas são devidamente fechadas com o encaixe das respetivas tampas para o adequado acondicionamento (figura 33).



Figura 32 – Caixa aberta para visualização da secagem dos esporos..



Figura 33 – Caixa devidamente tapada com os sacos de esporos no interior.

Imediatamente após a fase de secagem dos esporos em sílica, uma vez atingidos índices de humidade inferiores a 0.30 (30%) e realizadas as contagens para determinação da concentração de esporos e da sua taxa de germinação, procede-se à selagem e etiquetagem dos sacos (figura 34). A etiqueta criada para o efeito contém os elementos identificativos da entidade responsável pela produção (Laboratório Regional de Sanidade Vegetal), bem como do isolado, lote e peso dos esporos contidos nos sacos. Por último, procede-se à sua transferência para arca congeladora, de modo a garantir as melhores condições de preservação no frio até à altura de utilização dos esporos.



Figura 34 – Etiquetagem dos sacos de esporos de *M. robertsii*: A – Etiqueta concebida pela DSAP para rotulagem; B – Saco devidamente etiquetado com esporos no seu interior; C – Conjunto de sacos de esporos.

Os sacos de esporos com destino a outras ilhas são embalados no interior de um saco transparente, devidamente rotulado, tendo-se, para o efeito, criado uma outra etiqueta (figura 35), na qual constam os respetivos elementos identificadores do seu conteúdo. Os mesmos fazem-se acompanhar das respetivas declarações que autorizam o seu transporte.



Figura 35 - Exemplo de etiqueta produzida para envio dos sacos de esporos.

## 5.2. Utilização de esporos do fungo entomopatogénico *Metarhizium robertsii*

Na ilha de S. Miguel foram utilizadas cerca de 4826 g de esporos de *M. robertsii*, tendo sido enviadas 1058 g para a ilha do Faial, 918 g para a ilha do Pico e 500 g para a ilha das Flores.

A seguir apresenta-se o quadro-síntese (Quadro 5) da utilização dos esporos de *M. robertsii* em 2012, nos domínios das técnicas de autodisseminação, através do recurso a armadilhas modificadas, e tratamentos por pulverização. Encontram-se, também, indicadas as quantidades de fungo armazenado em arca congeladora.

Quadro 5 - Quantidade de esporos de *M. robertsii* produzidos, utilizados e armazenados em 2012.

Produção (g)	Utilizada de 2011	Produzida em 2012	Total (g)
	2139	6554	8693
Envio para outras ilhas	Faial	1058	2476
	Pico	918	
	Flores	500	
Utilizados em armadilhas modificadas instaladas na ilha de São Miguel (entre 04-07-2012 e 05-09-2012)			3200
Utilizados em pulverização (entre 05-07-2012 e 30-07-2012)			1626
Armazenados na arca congeladora			1391

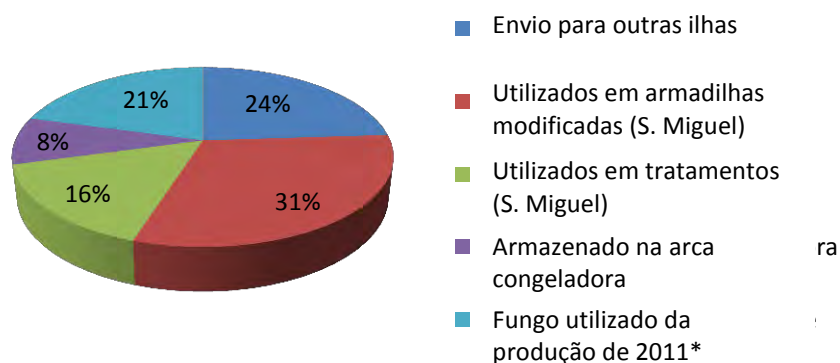


Figura 36 - Distribuição, em percentagem, dos esporos de *M. robertsii*, de acordo com a utilização de que foi alvo em 2012.

Da totalidade dos esporos disponíveis, a maior fração tem como finalidade a sua aplicação nas armadilhas modificadas, de modo a potenciar a sua dispersão no ecossistema pelos próprios adultos de *P. japonica*. Para este fim foram destinados 55% dos esporos disponíveis, se somarmos as quantidades aplicadas na ilha de São Miguel, às que foram enviadas para as ilhas Faial, Pico e Flores. O restante foi empregue em tratamentos por pulverização, sobrando uma pequena porção que foi armazenada no frio.

### 5.2.1. Técnica de autodisseminação do fungo entomopatogénico *Metarhizium robertsii*

Para a dispersão do fungo *M. robertsii* recorre-se a armadilhas do tipo *Ellisco* modificadas (figura 37). Em cada armadilha é colocada uma cápsula de feromona (atrativo sexual) e um difusor de atrativo floral, substituídos de acordo com a durabilidade do seu potencial de ação sobre os escaravelhos durante o período de tempo em que decorre a execução da técnica. Estas armadilhas possuem duas aberturas, uma superior por onde entram os adultos de *P. japonica*, que depois passam por uma zona com esporos do fungo e ficam contaminados, e outra de saída (inferior). Deste modo são os próprios insetos adultos que, ao abandonarem a armadilha, promovem a disseminação dos esporos de *M. robertsii* pelo habitat.



Figura 37 - Armadilha do tipo *Ellisco* modificada para autodisseminação dos esporos do fungo *M. robertsii*.

Para a autodisseminação dos esporos do fungo *M. robertsii* foram instaladas 150 armadilhas do tipo *Ellisco* modificadas, que se mantiveram no campo desde finais do mês



de junho até inícios de setembro. Os atrativos sexuais e florais foram substituídos duas vezes durante a campanha (a 4 de julho e 8 de agosto).

Em cada armadilha modificada, e usando uma pequena concha de plástico, foram colocadas 3 gramas de mistura de esporos com areia (figura 38), preparada previamente em laboratório, na proporção de 150 g de esporos para 300 g de areia. A substituição dos esporos de *M. robertsii* nas armadilhas foi feita semanalmente, no período compreendido entre 4 de julho e 7 de setembro de 2012.



Figura 38 - Colocação numa armadilha do tipo Ellisco modificada do inóculo com os esporos do fungo *M. robertsii*.

Os locais onde as armadilhas modificadas foram instaladas coincidiram, tanto quanto possível, com aqueles em que as capturas de adultos de *P. japonica* foram mais elevadas. As armadilhas modificadas foram dispostas de forma intercalada entre cada duas armadilhas *Ellisco* usadas para a captura dos insetos a uma distância de aproximadamente 20 a 30 metros. As zonas e locais da ilha de S. Miguel onde estas armadilhas foram montadas encontram-se indicados no Quadro 6 e representados na figura 39.

Quadro 6 – Listagem das zonas, localizações e número de armadilhas modificadas instaladas em 2012 na ilha de São Miguel.

Zonas	Localização	N.º de armadilhas modificadas
<b>I – Pico Amarelo</b>	A – Paulo Ferreira	7
	B – Celso (Velho)	10
<b>II - Milhafres</b>	A - Hermínio Sousa Ferreira	6
	B - Hermínio Sousa Ferreira	3
	C -Hermínio Sousa Ferreira	10
	D - Leonardo	20
	E - Gil Eduardo Massa	12
<b>III - Recantos</b>	A - Luís Emanuel Melo Massa	20
	B - Lázaro Manuel Cordeiro	12
	C - Luís Emanuel Melo Massa	15
	D - João Borges	5
	E - José Dinis	10
	F - Raposos	20
<b>Total</b>		<b>150</b>

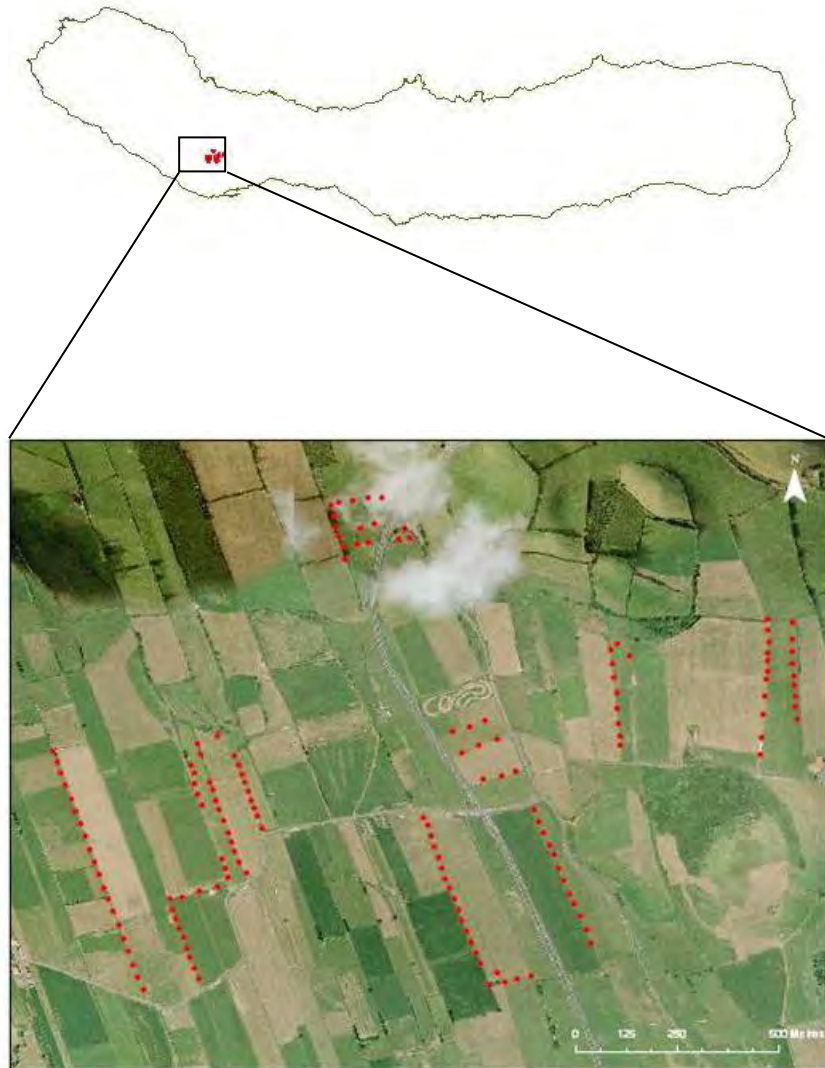


Figura 39 – Mapa da ilha de São Miguel com a zona onde foram instaladas as armadilhas modificadas, destacando-se os respetivos locais georreferenciados (pontos de coloração vermelha).

### 5.2.2. Avaliação da eficácia das armadilhas do tipo *Ellisco* modificadas

Para a avaliação da eficácia da utilização do fungo *M. robertsii*, em 30 das 150 armadilhas modificadas instaladas no campo, foram adaptados sacos, presos na abertura de saída das mesmas, de forma a averiguar a quantidade de adultos de *P. japonica* que entram em contato com o fungo nas armadilhas destinadas à sua dispersão. Este processo foi efetuado na última semana do mês de julho.

O Quadro 7 mostra, para cada local onde se encontravam as armadilhas, quantos adultos de *P. japonica* foram capturados.

Quadro 7 – Quantidade de adultos de *P. japonica* capturados em armadilhas modificadas na ilha de S. Miguel em 2012.

Zonas	Localização	N.º de armadilhas modificadas	Armadilhas modificadas com saco	Adultos de <i>P. japonica</i> capturados
<b>I - Pico Amarelo</b>	A - Paulo Ferreira	7	1	842
	B - Celso (Velho)	10	2	1572
<b>II - Milhafres</b>	A - Hermínio Sousa Ferreira	6	2	1031
	B - Hermínio Sousa Ferreira	3	1	427
	C - Hermínio Sousa Ferreira	10	2	524
	D - Leonardo	20	4	881
	E - Gil Eduardo Massa	12	2	182
<b>III - Recantos</b>	A - Luís Emanuel Melo Massa	20	4	177
	B - Lázaro Manuel Cordeiro	12	2	175
	C - Luís Emanuel Melo Massa	15	3	351
	D - João Borges	5	2	31
	E - José Dinis	10	2	60
	F - Raposos	20	3	162
<b>Total</b>		<b>150</b>	<b>30</b>	<b>6415</b>

Na referida semana (última de julho) foram recolhidos nas 164 armadilhas de captura instaladas na mesma zona onde se encontram as armadilhas modificadas, um total de 29 817 insetos. Assim sendo, a média de insetos capturados por armadilha nesta semana foi de aproximadamente 182 insetos. Por outro lado, nas 30 armadilhas modificadas às quais foram adaptados os sacos, recolheu-se uma média de 214 insetos. Este valor indica que a quantidade de adultos de *P. japonica* que passam pelas armadilhas modificadas é aproximadamente idêntica à de adultos capturados nas armadilhas não modificadas, facto revelador de que muitos destes coleópteros são infetados e dispersam o fungo (embora haja alguns que fiquem retidos nas armadilhas modificadas e outros que depois de saírem destas são atraídos para as armadilhas de captura).

Estes dados demonstram que as armadilhas modificadas não constituem um obstáculo à passagem dos adultos de *P. japonica* pela mistura de esporos nelas aplicada, permitindo assim a disseminação do fungo *M. robertsii*.

### 5.2.3. Aplicação de esporos de fungo *Metarhizium robertsii* por pulverização

Atendendo à inexistência de produtos fitofarmacêuticos homologados para o combate a coleópteros em pastagens e ao comportamento gregário manifestado pelos insetos adultos de *P. japonica*, bem como à sua elevada preferência pelas silvas como fonte de alimento, procedeu-se à aplicação de esporos do fungo *M. robertsii* através da pulverização de uma calda previamente preparada, contendo água, óleo de verão, detergente e esporos do referido fungo entomopatogénico, cuja quantidade foi calculada com base nos valores de concentração anteriormente determinados (Quadro 8).

Quadro 8 - Aplicação de esporos de *M. robertsii* no ano de 2012, através da técnica de pulverização.

Parcelas	Área (m <sup>2</sup> )	Quantidade de calda aplicada (litros)	N.º de aplicações
1	41502	260	3
2	14184	100	2
3	37123	130	1
4	18564	160	2
5	31339	100	1
6	7672	30	1
7	31350	390	3
8	12327	130	1
9	32352	130	1
10	12464	130	2

O volume total de calda utilizado nas várias aplicações, executadas entre 5 e 30 de julho, foi de 1560 litros, sendo 10 as parcelas alvo de tratamento, com a área total de 238877 m<sup>2</sup> (figura 40).

As pulverizações (figura 41) foram dirigidas apenas às silvas e a outras plantas espontâneas existentes junto aos muros e/ou divisórias das pastagens e respetivos caminhos de acesso, tendo-se aplicado no total 1626 gramas de esporos.



Figura 40 – Mapa com a localização das parcelas alvo de tratamento por pulverização de esporos do fungo *M. robertsii*, situadas na zona dos Arrifes.



Figura 41 - Tratamento por pulverização de calda contendo esporos de *M. robertsii*.

#### 5.2.4. Incorporação no solo dos resíduos de cevada contendo esporos de *Metarhizium robertsii*

Aproveitando os esporos presentes nos resíduos de cevada sobranes nos crivos do agitador, após as várias extrações resultantes dos bioensaios e ciclos de produção, procedeu-se ao seu espalhamento numa parcela de terreno, de modo a ser incorporado na fase de mobilização do solo para posterior sementeira de milho forrageiro, conforme ilustrado na figura 42.



Figura 42 - Disseminação de esporos de *M. robertsii* presentes em resíduos de cevada para posterior incorporação no solo: A – Parcela alvo de aplicação. B – Transferência do saco de armazenamento para a bolsa de distribuição; C – Espalhamento da cevada; D - Resíduos de cevada com esporos à superfície para posterior incorporação aquando mobilização do solo.

#### 5.2.5. Avaliação da eficácia da pulverização de esporos de *M. robertsii* no combate a *P. japonica*

Para a prossecução deste objetivo foi adotada a seguinte **metodologia**:

1. Pulverizar as silvas (*Rubus* sp.) com uma calda resultante da mistura de esporos de *M. robertsii* e óleo de verão;
2. 24 horas após o tratamento recolher 30 adultos de *P. japonica* em silvas pulverizadas e igual número em silvas não pulverizadas (Testemunha) e levar para o laboratório. Repetir esta operação 48 horas após o tratamento;

3. Manter os insetos no laboratório durante 10 dias com folhas de silvas não pulverizadas, observando-se e registando-se a mortalidade;
4. Desinfetar os insetos mortos por imersão em NaOCl 0.5% - 0.6% com adição de uma gota de sabão líquido e em seguida lavar 2 vezes com água e secar em folha de papel absorvente;
5. Colocar estes insetos em câmara húmida para averiguar se há desenvolvimento de fungo *M. robertsii*.



Figura 43 - Ilustração das diferentes etapas do trabalho experimental para avaliação da eficácia das pulverizações de esporos de *M. robertsii* no combate a *P. japonica*: A a D - Manutenção dos insetos em laboratório, alimentando-os com folhas de silva (*Rubus* sp.); E - Desinfecção dos adultos de *P. japonica*; F - Insetos desinfetados em câmara húmida.



Nos Quadros 9 e 10, apresentam-se os resultados obtidos.

**Quadro 9 – N.º total de insetos mortos, percentagem de mortalidade, n.º de insetos com desenvolvimento de fungo e respetiva percentagem, observados nas diversas amostras do ensaio testemunha.**

Observações	Amostras							Total
	1	2	3	4	5	6	7	
<b>Início</b>	30	30	30	30	30	30	30	210
<b>Dia 1</b>	0	0	0	0	0	1	5	6
<b>Dia 2</b>	0	1	1	0	0	1	16	19
<b>Dia 3</b>	0	1	0	1	0	1	0	3
<b>Dia 4</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Dia 5</b>	0	0	0	0	2	0	8	10
<b>Dia 6</b>	0	4	0	2	0	1	0	7
<b>Dia 7</b>	0	1	0	2	3	1	0	7
<b>Dia 8</b>	2	3	0	0	6	2	0	13
<b>Dia 9</b>	0	3	0	0	2	6	0	11
<b>Dia 10</b>	0	1	1	0	0	3	0	5
<b>Dias 11 a 14</b>	0	7	0	0	16	6	1	30
<b>N.º total de insetos mortos</b>	2	21	2	5	29	22	30	111
<b>Mortalidade (%)</b>	6,7	70,0	6,7	16,7	96,7	73,3	100,0	52,9
<b>N.º de insetos com desenvolvimento de fungo</b>	0	14	1	2	21	17	2	57
<b>% de insetos com fungo</b>	0,0	66,7	50,0	40,0	72,4	77,3	6,7	51,4

Quadro 10 – N.º total de insetos mortos, percentagem de mortalidade, n.º de insetos com desenvolvimento de fungo e respetiva percentagem, observados nas diversas amostras do ensaio em que se utilizaram adultos de *P. japonica* colhidos em silvas tratadas.

Observações	Amostras							
	A	B	C	D	E	F	G	Total
Início	30	30	30	30	30	30	30	210
Dia 1	0	5	2	0	18	1	0	26
Dia 2	0	0	0	0	1	0	0	1
Dia 3	0	1	0	1	0	0	0	2
Dia 4	0	0	0	0	0	0	0	0
Dia 5	0	0	0	0	0	0	2	2
Dia 6	0	1	0	2	0	5	0	8
Dia 7	0	0	1	5	1	2	3	12
Dia 8	2	0	2	0	1	1	1	7
Dia 9	1	1	0	0	0	2	2	6
Dia 10	0	0	1	0	0	2	2	5
Dias 11 a 14	3	3	1	7	2	8	6	30
n.º Total de insetos mortos	6	11	7	15	23	21	16	99
Mortalidade (%)	20,0	36,7	23,3	50,0	76,7	70,0	53,3	47,1
N.º de insetos com desenvolvimento de fungo	2	4	3	14	3	10	6	42
% de insetos com fungo	33,3	36,4	42,9	93,3	13,0	47,6	37,5	42,4

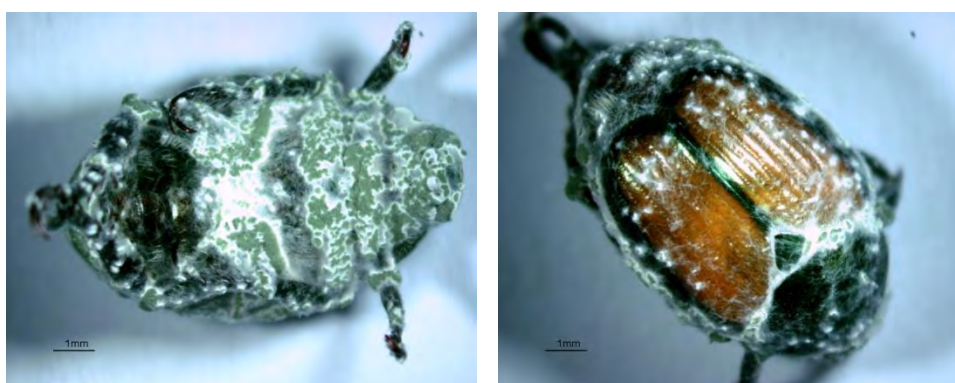


Figura 43 – Fotografias de insetos adultos de *P. japonica* revestidos de fungo *M. robertsii* obtidas à lupa.

De uma forma geral, verificou-se uma maior mortalidade de *adultos de P. japonica* colhidos em parcelas não tratadas (52.9%) em comparação aos colhidos nas parcelas em que foi aplicado o tratamento (47.1%). Além disto, 51.4% dos insetos mortos na testemunha estavam infetados com o fungo *Metarhizium robertsii*, enquanto que esta percentagem foi apenas de 42.4% nas parcelas tratadas. De uma forma geral, tanto na amostra de insetos colhida em parcelas tratadas (210 insetos) como na amostra testemunha (210 insetos), aproximadamente 50% morreram e em 50% destes houve desenvolvimento de fungo.

Estes valores tão aproximados de mortalidade e de percentagem de insetos em que o fungo se desenvolveu entre as duas situações (tratadas e testemunha) podem dever-se à própria mobilidade dos insetos e ao facto destes terem sido colhidos em parcelas que não sofreram qualquer tratamento este ano mas que nos 3 anos anteriores tinham sido instaladas armadilhas de dispersão deste fungo, o que nos indica que este agente entomopatogénico poderá estar a subsistir nestas parcelas (Pico Salomão, Daciel e Morgado).

Embora os resultados deste ensaio não sejam muito conclusivos acerca do real benefício de um tratamento deste tipo, há que ter em conta que sendo o escaravelho japonês um inseto de difícil combate, o tratamento com fungo através da incorporação em óleo de verão vem revelar-se como mais um método a utilizar no controlo integrado da *Popillia japonica*.

#### **5.2.6. Bioensaios sobre o efeito do tempo da cultura em meio sólido na produção e viabilidade dos esporos de *M. robertsii***

No decurso do período compreendido entre novembro de 2011 e dezembro de 2012, foram realizados 15 bioensaios, cujo objetivo foi determinar o efeito que o tempo da cultura de fungo *M. robertsii* em substrato sólido (cevada), após inoculação, tem na quantidade de esporos produzida ao longo do ciclo de produção (aos 5.º, 7.º e 12.º dias de crescimento), e correspondentes viabilidades. Para tal, procedeu-se à inoculação de diferentes isolados obtidos previamente de larvas infetadas e devidamente identificados e catalogados pela DSAP. No total foram utilizados 11 isolados dos disponíveis no Laboratório Regional de Sanidade Vegetal, sendo alguns deles testados repetidamente nos ensaios executados, segundo o quadro ilustrado abaixo e protocolo laboratorial descrito a seguir.

Quadro 11 - Quantidade de esporos produzida, por isolado, nos bioensaios realizados entre novembro de 2011 e novembro de 2012.

Bioensaios	Isolados	Data de inoculação em meio sólido (cevada)	Quantidade de esporos (g)
B1	08/08	17-11-2011	143
B2	09/06	05-12-2011	123
B3	11/02	05-01-2012	144
B4	11/02	12-01-2012	148
B5	11/01	02-02-2012	138
B6	08/08	09-02-2012	90
B7	11/03	16-02-2012	112
B8	11/01	01-03-2012	136
B9	10/03	22-03-2012	110
B10	10/04	29-03-2012	124
B11	08/06	02-04-2012	108
B12	09/04	09-04-2012	186
B13	09/11	08-05-2012	116
B14	08/05	08-11-2012	84
B15	08/05	15-11-2012	104
<b>Total</b>			<b>4688</b>

No total foram testados 11 isolados diferentes, tendo-se procedido à determinação da viabilidade dos esporos em meio de cultura PDAY (*Potato dextrose agar* com levedura) nos diferentes dias (5.º, 7.º e 12.º), após a data do início de cada bioensaio.

Os dados são apresentados no Quadro 12 e estão representados graficamente na figura 44.

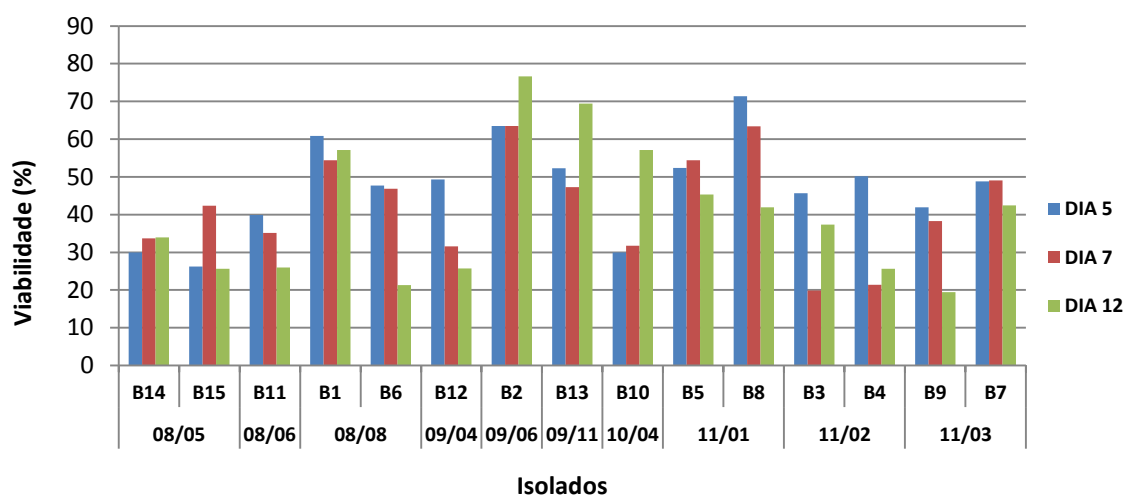


Figura 44 - Viabilidades dos diferentes isolados utilizados em bioensaios para avaliação do efeito do tempo da cultura de *M. robertsii* em meio sólido.

Quadro 12 - Viabilidades determinadas em diferentes dias no decurso dos bioensaios realizados para avaliação do efeito do tempo da cultura de *M. robertsii* em meio sólido (cevada) na germinação dos esporos.

Bioensaios	Isolados	Viabilidades em diferentes tempos de cultura em meio sólido (cevada)		
		Dia 5	Dia 7	Dia 12
B1	08/08	60,83012	54,42473	57,13086
B2	09/06	63,49818	63,48647	76,62971
B3	11/02	45,68552	19,84389	37,32479
B4	11/02	50,19425	21,38046	25,591
B5	11/01	52,38728	54,3672	45,35878
B6	08/08	47,69462	46,83378	21,26036
B7	11/03	48,78611	49,05859	42,43163
B8	11/01	71,39627	63,36966	41,94274
B9	10/03	41,94274	38,30178	19,4333
B10	10/04	29,96958	31,72217	57,10686
B11	08/06	39,88295	35,17648	25,99162
B12	09/04	49,28144	31,57244	25,67948
B13	09/11	52,28516	47,24573	69,40219
B14	08/05	29,99205	33,70839	33,94517
B15	08/05	26,25067	42,34968	25,63559

Podemos verificar que os isolados 08/08, 09/06, 09/11 e 11/01 registaram, maioritariamente, taxas de viabilidade próximas ou superiores a 50%. As produções de esporos mais expressivas tiveram origem nos isolados 09/06 e 10/04 (figura 45), cujas viabilidades determinadas nos bioensaios efetuados se apresentaram elevadas (conforme gráfico da figura 44), razão pela qual foram estes os isolados produzidos para utilização no âmbito da luta biológica contra a *P. japonica*.

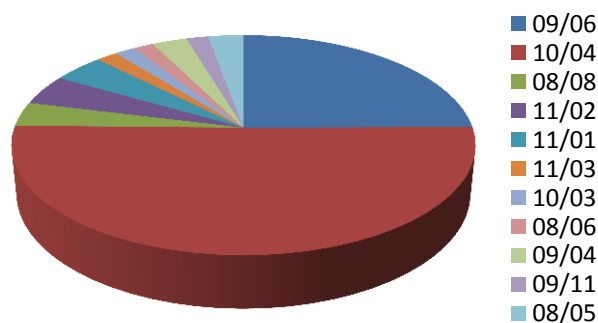


Figura 45 - Diagrama representativo da produção de esporos *M. robertsii*, obtida a partir dos vários isolados utilizados nos ciclos de produção e bioensaios, no decurso do ano de 2012.

## 6. TÉCNICOS INTERVENIENTES

### Direção de Serviços de Agricultura e Pecuária:

Dr. Carlos Santos  
Eng.º José Adriano Mota  
Eng.ª Aida Medeiros  
Dr. António Quintanilha  
Dr.ª Laura Tavares  
Maria Eduarda Oliveira  
Sónia Lopes  
Fábio Carvalho  
Hilário Arruda  
João Botelho

### Serviço de Desenvolvimento Agrário de Santa Maria:

Eng.ª Isabel Mendes

### Serviço de Desenvolvimento Agrário da Terceira:

Eng.ª Dulce Silva

### Serviço de Desenvolvimento Agrário da Graciosa:

Eng.ª Isabel Goulart  
José Orlando Bettencourt dos Santos

### Serviço de Desenvolvimento Agrário de S. Jorge:

Eng.ª Catarina Cabeceiras  
Eng.º Paulo Silveira

### Serviço de Desenvolvimento Agrário do Pico:

Eng.º Raul Jorge  
Eng.º Vasco Paulos

### Serviço de Desenvolvimento Agrário do Faial:

Eng.º Luís Goulart  
Eng.º Luís Rego

### Serviço de Desenvolvimento Agrário das Flores e Corvo:

Eng.º Gabriel Calado

