



Efeito do regime alimentar no desenvolvimento larvar de *Thaumetopoea pityocampa* e *Thaumetopoea wilkinsoni*

Susana Cristina Machado Rocha

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Florestal e dos Recursos Naturais

Orientador: Doutora Manuela Rodrigues Branco Simões

Júri:

Presidente: Doutor António Manuel Dorotêa Fabião, Professor Associado do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: Doutora Maria Rosa Santos de Paiva, Professora Catedrática da Faculdade de Ciências e tecnologia da Universidade Nova de Lisboa
Doutora Manuela Rodrigues Branco Simões, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa
Doutora Ana Paula Ferreira Ramos, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Lisboa, 2011

Agradecimentos

Ao concluir esta etapa, gostaria muito de expressar o meu agradecimento a todos os que me acompanharam e contribuíram para a realização deste trabalho.

À Prof^a Doutora Manuela Branco que, ao ter aceite orientar este trabalho, me deu a oportunidade de alargar os meus horizontes científicos, acompanhando-me e orientando-me de forma encorajadora através do seu apoio, disponibilidade, conhecimentos e amizade.

Ao Dr^o Zvi Mendel, por se ter disponibilizado a enviar de Israel as posturas de *T. wilkinsoni*, necessárias à realização deste trabalho e pela partilha de experiência e conhecimentos.

Ao Dr^o Eduardo Mateus, pela orientação e disponibilização do material necessário para análise dos compostos voláteis das agulhas.

À Helena Santos, pela partilha da sua experiência e conhecimentos sobre a Proccionária do Pinheiro e pela disponibilidade que sempre demonstrou em ajudar em qualquer das fases deste trabalho.

À Margarida, à Catarina, à Luisa e ao Tiago, pela sempre pronta disponibilidade na ajuda necessária à realização dos ensaios laboratoriais.

Ao Artur pela preciosa colaboração na análise química dos compostos voláteis.

À minha família e amigos pelo apoio e pela compreensão dos momentos em que estive menos disponível.

A todos os não mencionados, que colaboraram ou contribuíram directa ou indirectamente para a realização deste trabalho, o meu muito obrigada!

A realização deste estudo insere-se no plano de trabalhos do Projecto PTDC/AGR-CFL/73107/2006: “Análise da Especiação em Curso de um Insecto com Impacte na Saúde Pública”, financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia.

Resumo

A processionária do pinheiro, *T. pityocampa* é o mais importante desfolhador de pinheiros na Europa meridional. Em Portugal, as principais espécies afectadas são *P. pinaster* e *P. pinea*. No entanto, na região Leste do Mediterrâneo, os maiores ataques observam-se em *P. halepensis* e *P. brutia* por *T. wilkinsoni*. Para testar se as duas espécies divergem na sua *performance* quanto às plantas hospedeiras, procedeu-se a ensaios de alimentação e sobrevivência utilizando *P. pinaster* e *P. halepensis*, com diferentes proveniências. As larvas de ambas as espécies, sobreviveram e desenvolveram-se melhor em *P. halepensis* que em *P. pinaster*, tendo *T. wilkinsoni* uma melhor sobrevivência nas dietas com *P. halepensis* do que *T. pityocampa*, corroborando a hipótese de uma melhor adaptação desta espécie ao pinheiro de Alepo. Para ambas as espécies de pinheiros testadas, as plantas de viveiro permitiram melhor desenvolvimento das larvas que as de campo, concluindo-se que dentro da mesma espécie a qualidade das agulhas é um factor significativo na *performance* das larvas. A maior razão C/N nas plantas de pinheiro bravo de campo e a maior dureza das agulhas justificam, em parte, o pior desenvolvimento nesta dieta. As duas espécies diferenciaram-se nos compostos voláteis, mas sem uma relação clara com a *performance* larvar.

Palavras-chave: *Thaumetopoea pityocampa*, *Thaumetopoea wilkinsoni*, *Pinus pinaster*, *Pinus halepensis*, alimentação, sobrevivência.

Abstract

The winter pine processionary moth, *T. pityocampa* is the major pine defoliator in Southern Europe, affecting mostly *Pinus* species. In Portugal, *P. pinaster* and *P. pinea* are the main affected species. On the other hand, in eastern countries of the Mediterranean, most attacks by *T. wilkinsoni*, occur in *P. halepensis* and *P. brutia*. In order to test if the two pine processionary moths differ in their performance in relation to host pine species, feeding trials were conducted comparing *T. pityocampa* and *T. wilkinsoni*. Larvae were fed with *P. pinaster* and *P. halepensis* from different provenances and developmental conditions. Both had a better survival when fed with *P. halepensis*, and lower with *P. pinaster* from field conditions. Lower content in N and higher needle's toughness found on this diet may account for this result. Yet, survival and development of *T. wilkinsoni* on Aleppo pine diets was higher than *T. pityocampa*, agreeing with the hypothesis of a better adaptation of *T. wilkinsoni* to feed on Aleppo pine. Within each pine species, plants from nursery provided a better food than plants from the field, which may be justified by the higher N content, concluding that food quality was one of the most important factors in determining larvae performance.

Key words: *Thaumetopoea pityocampa*, *Thaumetopoea wilkinsoni*, *Pinus pinaster*, *Pinus halepensis*, feeding, survival.

Extended abstract

The winter pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* Den. & Schifft (Lepidoptera: Notodontidae) is the major pine defoliator in the Mediterranean area (Southern Europe, North Africa and Near East) (Avtzis, 1986; Douma-Petridou, 1989; Markalas, 1998; OEPP/EPPO, 2004). In Portugal, the maritime pine *Pinus pinaster* Ainton is the main host species for *T. pityocampa*, followed by *Pinus pinea* Linnaeus, especially in the southern areas. On the other hand, in eastern countries of the Mediterranean basin, from Turkey to south of Israel, a sister species, *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams (Lepidoptera: Notodontidae), which is phylogenetically very close to *T. pityocampa*, also constituting an important pest of pine forests, feeds mostly on *P. halepensis* Miller and *P. brutia* Tenore.

In the present study we aim at testing that the two pine processionary moth species, *T. pityocampa* and *T. wilkinsoni*, differ in their performance in relation to host pine species. Feeding trials were conducted using first and second instar larvae of *T. pityocampa* (obtained from egg masses collected from Portugal) and *T. wilkinsoni* (obtained from egg masses collected from Israeli). Replicas consisted of groups of 20 to 25 larvae of the same age. Larvae were fed with one of the following diets: *P. pinaster* from field (10 years old); *P. pinaster* from nursery (7 years old) (only *T. wilkinsoni* was tested with this diet); *P. halepensis* from three different provenances all kept in potted trees in nursery (5 years old); and *P. halepensis* from the field (8 years old). Survival, development, needle consumption and production of faeces were recorded. Samples of pine needles were collected and analysed for its C, N and water contents, needle toughness and terpenes.

Both *T. wilkinsoni* and *T. pityocampa* had a higher survival when fed with *P. halepensis*, from nursery, and lowest when fed with *P. pinaster* from field conditions. Lower content in N and higher needle's toughness found on this diet may account for this result. Also, survival and development of *T. wilkinsoni* on alepo pine was significantly higher than *T. pityocampa* fed on alepo pine, agreeing with the hypothesis of a better adaptation of *T. wilkinsoni* to feed on alepo pine. Within each pine species, plants from nursery provided a better food than plants from the field, which may be justified by the higher N content, concluding that food quality was one of the most important factors in determining larval performance. Terpenes differed between pine species and provenances of alepo pine. Higher proportion of β -pinene and germacrene was found on maritime pine in comparison with alepo pine (α -pinene, myrcene, limonene and β -caryophyllene). Yet, terpene profile was similar for both *P. pinaster* from field and *P. pinaster* from nursery, whereas larval performance of *T. wilkinsoni* differed significantly between this two diets. Thus, differences on terpenes are unlike to justify larvae performance. In conclusion, the quality of pine needles was found to major determine larval performance of these two phytophagous insects, in particular N content. The two species seem further to differ on their adaptation to *P. halepensis* as food source.

Índice

AGRADECIMENTOS	ii
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
EXTENDED ABSTRACT	v
ÍNDICE	vi
ÍNDICE DE QUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
1. INTRODUÇÃO	1
Interacção Planta-Insecto	1
A processionária do pinheiro	7
2. MATERIAL E MÉTODOS	14
2.1. Hospedeiros	14
2.2. Larvas	16
2.3. Ensaio de alimentação	17
2.4. Análise de parâmetros físicos das agulhas	20
2.5. Análises químicas das agulhas	21
2.6. Análise estatística	24
3. RESULTADOS	26
3.1. Ensaio de alimentação	26
3.2. Análise de parâmetros físicos das agulhas	47
3.3. Análises químicas das agulhas	49
4. DISCUSSÃO	55
5. CONCLUSÕES	60
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
ANEXOS	67

Índice de Quadros

Quadro 1 – Densidade média de ninhos e índice de infestação de <i>Pinus</i> sp. por <i>T. wilkinsoni</i> em 3 locais distintos de Israel (\pm SD)	10
Quadro 2 – Caracterização das árvores testadas como alimento nos ensaios de alimentação de <i>T. pityocampa</i> e <i>T. wilkinsoni</i>	15
Quadro 3 – Ensaios de alimentação realizados com <i>T. pityocampa</i> e <i>T. wilkinsoni</i>	18
Quadro 4 – Tempos de retenção (RT) dos diferentes picos seleccionados e identificação dos mesmos, com base no respectivo índice de retenção linear (LRI)	51

Índice de Figuras

Figura 1 – Distribuição geográfica de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> e <i>T. wilkinsoni</i> .	7
Figura 2 – Representação esquemática do ciclo de vida de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> (Mateus, 2008).	12
Figura 3 – Sobrevivência (%) ao longo do tempo das larvas de 1º instar de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> sob diferentes dietas alimentares (média ± e.p.).	26
Figura 4 – Tempo médio (dias) (± e.p.) de sobrevivência das larvas de 1º instar de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> sob diferentes dietas alimentares.	27
Figura 5 – Sobrevivência (%) ao longo do tempo das larvas de 2º instar de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> sob diferentes dietas alimentares (média ± e.p.).	27
Figura 6 – Tempo médio (dias) (± e.p.) de sobrevivência das larvas de 2º instar de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> sob diferentes dietas alimentares.	28
Figura 7 – Sobrevivência (%) ao longo do tempo das larvas de 1º instar de <i>Thaumetopoea wilkinsoni</i> sob diferentes dietas alimentares (média ± e.p.).	28
Figura 8 – Tempo médio (dias) (± e.p.) de sobrevivência das larvas de 1º instar de <i>Thaumetopoea wilkinsoni</i> sob diferentes dietas alimentares.	29
Figura 9 – Sobrevivência (%) ao longo do tempo das larvas de 2º instar de <i>Thaumetopoea wilkinsoni</i> sob diferentes dietas alimentares (média ± e.p.).	29
Figura 10 – Tempo médio (dias) (± e.p.) de sobrevivência das larvas de 2º instar de <i>Thaumetopoea wilkinsoni</i> sob diferentes dietas alimentares	30
Figura 11 - Tempo médio (dias) (± e.p.) de sobrevivência das larvas de 1º instar de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> e <i>T. wilkinsoni</i> sob diferentes dietas alimentares.	30
Figura 12 - Tempo médio (dias) (± e.p.) de sobrevivência das larvas de 2º instar de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> e <i>T. wilkinsoni</i> sob diferentes dietas alimentares.	31
Figura 13 – Mudanças de instar cumulativas de L1 para L2, ao longo do tempo, das larvas de 1º instar de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> .	32
Figura 14 – Tempo médio (dias) (± e.p.) de desenvolvimento (mudanças de instar de L1 para L2) por dieta, das larvas de 1º instar de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> .	32
Figura 15 – Mudanças de instar cumulativas de L2 para L3, ao longo do tempo, das larvas de 2º instar de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> .	33
Figura 16 – Tempo médio (dias) (± e.p.) de desenvolvimento (mudanças de instar de L2 para L3) por dieta, das larvas de 2º instar de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> .	33
Figura 17 – Mudanças de instar cumulativas de L1 para L2, ao longo do tempo, das larvas de 1º instar de <i>Thaumetopoea wilkinsoni</i> .	34

- Figura 18** – Tempo médio (dias) (\pm e.p.) de desenvolvimento (mudanças de instar de L1 para L2) por dieta, das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni*. 35
- Figura 19** – Mudanças de instar cumulativas de L2 para L3, ao longo do tempo, das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni*. 35
- Figura 20** – Tempo médio (dias) (\pm e.p.) de desenvolvimento (mudanças de instar de L2 para L3) por dieta, das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni*. 36
- Figura 21** - Tempo médio (dias) (\pm e.p.) de desenvolvimento das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea pityocampa* e *T. wilkinsoni* sob diferentes dietas alimentares. 36
- Figura 22** - Tempo médio (dias) (\pm e.p.) de desenvolvimento das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea pityocampa* e *T. wilkinsoni* sob diferentes dietas alimentares. 37
- Figura 23** – Consumo (mm) médio (\pm e.p.) por dieta das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea pityocampa*. 38
- Figura 24** – Consumo (mm) ao longo do tempo das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea pityocampa* (média \pm e.p.). 38
- Figura 25** – Consumo (mm) médio (\pm e.p.) por dieta das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea pityocampa* 39
- Figura 26** – Consumo (mm) ao longo do tempo das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea pityocampa* (média \pm e.p.). 39
- Figura 27** – Consumo (mm) médio (\pm e.p.) por dieta das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni*. 40
- Figura 28** – Consumo (mm) ao longo do tempo das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni* (média \pm e.p.). 41
- Figura 29** – Consumo (mm) médio (\pm e.p.) por dieta das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni*. 41
- Figura 30** - Consumo (mm) ao longo do tempo das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni* (média \pm e.p.). 42
- Figura 31** – Consumo médio (\pm e.p.) das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea pityocampa* e *T. wilkinsoni* sob diferentes dietas. 42
- Figura 32** – Consumo médio (\pm e.p.) das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea pityocampa* e *T. wilkinsoni* sob diferentes dietas. 43
- Figura 33** – Produção de fezes (mg) das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea pityocampa* alimentadas com diferentes dietas (média \pm e.p.). 44
- Figura 34** – Produção de fezes (mg) das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea pityocampa* alimentadas com diferentes dietas (média \pm e.p.). 44

- Figura 35** – Produção de fezes (mg) das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni* alimentadas com diferentes dietas (média ± e.p.). 45
- Figura 36** – Produção de fezes (mg) das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni* alimentadas com diferentes dietas (média ± e.p.). 45
- Figura 37** – Produção média de fezes (± e.p.) das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea pityocampa* e *Thaumetopoea wilkinsoni* sob diferentes dietas. 46
- Figura 38** – Produção média de fezes (± e.p.) das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea pityocampa* e *Thaumetopoea wilkinsoni* sob diferentes dietas. 46
- Figura 39** - Largura da cápsula cefálica (mm) das larvas de 1º e 2º instares de *Thaumetopoea pityocampa* e *Thaumetopoea wilkinsoni* (média ± e.p.). 47
- Figura 40** – Resistência à tracção (Kgf) das agulhas das diferentes dietas (média ± e.p.). 48
- Figura 41** – Teor de água (%) das agulhas das diferentes dietas alimentares (média ± e.p.). 49
- Figura 42** – Teor de azoto (%) presente nas agulhas das diferentes dietas alimentares (média ± e. p.). 50
- Figura 43** – Teor de carbono (%) presente nas agulhas das diferentes dietas alimentares (média ± e. p.). 50
- Figura 44** – Valores da razão C/N das agulhas das diferentes dietas (média ± e.p.). 51
- Figura 45** – Análise de Componentes Principais para os compostos voláteis das diferentes dietas. A variância cumulativa explicada pelos dois primeiros eixos é de 81%. 52
- Figura 46** – Concentração (µmol/mg) de açúcares solúveis das agulhas das diferentes dietas (média ± e.p.). 53
- Figura 47** - Concentração (µmol/mg) de açúcares insolúveis (amido) das agulhas das diferentes dietas (média ± e.p.). 54

1. Introdução

Interacção Planta – Insecto

Os insectos constituem comunidades de grande importância na constituição e funcionamento dos ecossistemas florestais. Muitas espécies desempenham uma função importante na regulação de populações de outras espécies, seja como predadores, parasitas ou simples competidores, contribuindo para a manutenção e estabilidade desses ecossistemas (Daly *et al.*, 1998). Todavia, outros, em particular herbívoros, têm por vezes impactes ambientais e económicos que os levam a serem considerados como nocivos.

As interacções entre as plantas e os insectos, têm, desde há muito, sido estudadas, o que se deve em grande parte à importância económica de muitos insectos fitófagos. Muitos insectos utilizam as plantas, entre outros aspectos, como habitat, fonte de alimento e oviposição (Schulz, 1998). Uma planta, sobre a qual um insecto fitófago se alimenta, desenvolve ou completa o seu ciclo de vida, é designada por planta hospedeira (Townsend *et al.*, 2008).

Os insectos herbívoros podem ser classificados, de acordo com o seu comportamento alimentar em: monófagos (quando se alimentam de diferentes espécies de plantas de um mesmo género); oligófagos (quando se alimentam de plantas de diferentes géneros, mas de uma mesma família); polífagos (quando se alimentam de plantas de diferentes famílias) (Fraenkel, 1959; Bernays & Chapman, 1994). Outro tipo de classificação agrupa os insectos monófagos e oligófagos em especialistas e os insectos polífagos em generalistas (Daly *et al.*, 1998; Townsend *et al.*, 2008). Os diferentes padrões de alimentação dos insectos são considerados como o resultado de adaptações específicas às diferentes espécies hospedeiras (Schulz, 1998).

A qualidade do alimento, mais do que a quantidade, determina a distribuição e abundância de muitos insectos fitófagos (Berryman, 1986; Townsend *et al.*, 2008). Desta forma, a qualidade das folhas como alimento para insectos desfolhadores é influenciada directamente pelos nutrientes que a planta obtém do solo e pelas condições atmosféricas do lugar onde se encontra inserida (Berryman, 1986). Os insectos fitófagos necessitam de inúmeros elementos minerais para desempenharem os processos fisiológicos, pelo que as alterações na composição da química foliar podem afectar o seu desempenho (Bernays & Chapman, 1994). Os tecidos vegetais constituem por vezes alimento de pouca qualidade, uma vez que usualmente contêm baixos níveis de azoto bem como substâncias tóxicas, inibidores da digestão ou materiais indigestíveis (Mattson, 1980). Assim, adultos, larvas ou ambos, deverão reconhecer o melhor alimento disponível e escolhê-lo para oviposição e alimentação (Bernays & Chapman, 1994; Wainhouse, 2005).

Muitos estudos identificam os primeiros instares larvares de muitos insectos fitófagos, como um período crítico, durante o qual ocorre grande mortalidade (Zalucki *et al.*, 2002). Tal mortalidade é devida a uma complexa interacção entre a planta onde as larvas recém-

eclodidas se desenvolvem, a habilidade comportamental e fisiológica das larvas jovens para ultrapassar uma série de barreiras da planta, bem como os efeitos das condições climáticas, todos actuando em simultâneo (Daly *et al.*, 1998).

Durante o longo percurso de evolução das relações planta-insectos, as plantas desenvolveram mecanismos sofisticados de defesa para repelir os ataques de insectos protegendo-se assim do seu consumo (Schulz, 1998; Read *et al.*, 2009; Simon *et al.*, 2010). As defesas surgem de diversas formas, desde físicas, químicas, fisiológicas, comportamentais e morfológicas, actuando directa e indirectamente para dissuadir os herbívoros (Zalucki *et al.*, 2002; Read *et al.*, 2009). As respostas das plantas à herbivoria, variam também consoante o clima e a disponibilidade em recursos do local (Berryman, 1986; Townsend *et al.*, 2008).

Todas as plantas possuem barreiras físicas, existindo evidências consideráveis de que as características mecânicas das folhas, constituem uma barreira significativa (Read *et al.*, 2009). A superfície das folhas de várias plantas está normalmente coberta por ceras, que consistem numa mistura de compostos lipofílicos representando a primeira barreira à fixação dos insectos fitófagos (Bernays & Chapman, 1994; Zalucki *et al.*, 2002); por pêlos, que dificultam o progresso das larvas ao longo da folha restringindo o acesso à sua superfície, assim como por epidermes compostas por células por vezes com paredes espessas e reduzido conteúdo em água, conferindo maior dureza à folha (Zalucki *et al.*, 2002). Todos estes aspectos constituem barreiras importantes que os insectos fitófagos têm de ultrapassar para se alimentarem.

Assim, localizar um meio adequado para se alimentarem, é um aspecto crítico para as larvas recém-eclodidas de muitos insectos fitófagos. Muitas larvas recém-eclodidas têm uma fase de movimento pré-alimentar, seja localmente a explorar a folha, seja por dispersão a mais longa distância até encontrarem alimento adequado (Zalucki *et al.*, 2002). Os mecanismos de orientação pelos quais as larvas recém-eclodidas localizam hospedeiros adequados, relacionam-se com pistas visuais, tácteis, químicas, aspectos físicos da planta, etc. (Zalucki *et al.*, 2002). Uma vez rompida a epiderme da folha, várias respostas químicas da planta são desencadeadas, o que influenciará a habilidade das larvas para continuarem a alimentar-se.

As plantas produzem uma grande variedade de compostos químicos, alguns dos quais são essenciais para a sua sobrevivência (metabolitos primários), enquanto que outros, não sendo essenciais, apresentam uma importância fundamental na interacção das plantas com o seu ambiente (metabolitos secundários) (Bernays & Chapman, 1994).

Os metabolitos primários são compostos essenciais para as plantas por estarem directamente envolvidos nos processos biológicos primários, nomeadamente crescimento, desenvolvimento e reprodução da planta (Bernays & Chapman, 1994). Entram na constituição de amino-ácidos, hidratos de carbono, lípidos, proteínas e ácidos nucleicos, todos essenciais à sobrevivência das plantas (Bernays & Chapman, 1994).

O azoto e o carbono são dois dos elementos nutritivos mais importantes, envolvidos nos processos do metabolismo primário das plantas. O carbono é um elemento que a planta extrai da atmosfera pelo processo da fotossíntese, resultando na formação dos hidratos de carbono, o armazém de energia da planta. Entra também na composição dos tecidos estruturais da planta e na constituição dos compostos secundários. Os hidratos de carbono têm um efeito significativo na relação entre fotossíntese e biomassa (Mandre *et al.*, 2002), incluindo a distribuição entre processos de respiração, crescimento e reprodução bem como na distribuição morfológica entre as várias estruturas da planta, como raízes, caules e folhas (Mandre *et al.*, 2002).

O azoto encontra-se na planta em quantidades que, referidas à matéria seca, são da ordem de 1% a 5% do total e 40% a 50% do protoplasma das células (Santos, 1996). É um constituinte de compostos e complexos organominerais de interesse vital para a planta, de entre os quais se salientam os aminoácidos, as proteínas, os ácidos nucleicos e a clorofila (Santos, 1996). O azoto, não só é um importante recurso limitante que influencia o crescimento e reprodução das plantas, como também funciona como um sinal que permite reprogramar o metabolismo de N e C, a alocação de recursos e o desenvolvimento radicular (Lou & Baldwin, 2004).

A disponibilidade de azoto pode influenciar a resistência da planta contra o ataque de insectos fitófagos, tendo sido propostas várias hipóteses para explicar os padrões de produção de compostos de defesa sob diferentes disponibilidades de nutrientes (Lou & Baldwin, 2004). Por exemplo, a hipótese do balanço “carbono-nutriente” defende que a planta deverá alocar mais azoto para compostos de defesa à base de azoto, quando tem quantidades elevadas deste elemento à sua disposição; contrariamente, deverá alocar mais carbono para a constituição de compostos de defesa à base de carbono, quando as quantidades de azoto são limitadas (Bryant *et al.*, 1983; Throop & Lerdau, 2004).

As plantas têm capacidade de absorver o azoto em quantidades superiores às que lhes são necessárias para o seu metabolismo normal, podendo ocorrer alguns inconvenientes, sobretudo se essa maior disponibilidade de azoto não for acompanhada de maiores disponibilidades de outros nutrientes. O excesso de azoto traduz-se por plantas mais verdes e de maior vigor vegetativo e embora o azoto aumente a área das folhas e consequentemente a superfície disponível para a fotossíntese, e portanto a síntese de glúcidos, quando existe um teor mais elevado daquele nutriente, os glúcidos são convertidos em proteína e protoplasma, ficando uma proporção menor disponível para formar as paredes celulares. Esse efeito do excesso de azoto no aumento da proporção de protoplasma em relação às paredes celulares tem algumas consequências, sob certos aspectos desfavoráveis, como sejam a formação de células maiores e de paredes mais finas, o que torna as folhas mais suculentas, menos duras e consequentemente menos resistentes ao ataque de insectos e fungos, e a condições climáticas adversas, como sejam a secura e a geada. Um excesso de azoto tende também a desfavorecer a formação de tecidos de estrutura e a retardar a maturação, fenómeno que pode atribuir-se, por um lado, ao facto de as folhas se manterem verdes durante mais tempo e, por outro, ao seu maior teor em glúcidos livres e a uma diminuição do teor de açúcares (Santos, 1996).

Deste modo, a concentração de azoto no tecido vegetal é, em geral, um indicador consistente da qualidade do tecido para a herbivoria (Throop & Lerdau, 2004), verificando-se uma relação positiva entre a concentração de azoto foliar e a sobrevivência, o desenvolvimento e o crescimento dos insectos fitófagos (Mattson, 1980). Contudo, as respostas dos insectos ao teor de azoto nos tecidos vegetais, podem variar em termos das taxas individuais de consumo (Throop & Lerdau, 2004). Assim, algumas espécies aumentam a taxa de consumo na presença de alimento rico em azoto, enquanto que noutras essa taxa diminui, por forma a manter constante a absorção de azoto (Woods, 1999). No entanto, para a maior parte das espécies de insectos existe provavelmente uma concentração óptima de azoto na folhagem, sendo expectável uma diminuição do seu desempenho quando o azoto foliar excede este nível óptimo (Mattson, 1980). Esta concentração óptima de azoto foliar varia consideravelmente para diferentes espécies de fitófagos, sendo que as suas diferentes respostas poderão estar relacionadas com a presença de metabolitos azotados secundários, ou com a acumulação de nitratos nas folhas (Throop & Lerdau, 2004).

Além dos metabolitos primários, as plantas são capazes de sintetizar uma grande variedade de compostos com baixo peso molecular – os metabolitos secundários (Bernays & Chapman, 1994). Estes compostos não têm importância vital para as plantas, mas desempenham um papel ecológico importante na selecção das plantas hospedeiras por insectos fitófagos e na defesa das próprias plantas contra insectos herbívoros (Bernays & Chapman, 1994; Schulz, 1998).

Enquanto os metabolitos primários são universais, variando pouco entre as espécies de plantas, os metabolitos secundários estão restritos a certos *taxa* existindo numa vasta gama de composições e concentrações (Bernays and Chapman, 1994; Gershenson, 1994). A produção destes compostos é geralmente baixa, representando em média menos de 1% do peso seco da planta, e depende muito do seu estado de desenvolvimento fisiológico (Dixon, 2001).

Estas substâncias químicas secundárias sintetizadas pelas plantas, são capazes de deter uma grande variedade de insectos herbívoros, através dos seus efeitos de toxicidade e redução na digestibilidade (Berryman, 1986; Schulz, 1998). Nesta escala podem causar problemas principalmente em herbívoros generalistas (Zalucki *et al.*, 2002). São essas substâncias químicas da planta que desempenham um papel importante nas relações planta-insecto (Fraenkel, 1959; Schulz, 1998; Lagalante & Montgomery, 2003). Muitos destes compostos medeiam a comunicação química entre as plantas e os insectos, tanto herbívoros como os seus predadores (Webster *et al.*, 2010).

A comunicação olfactiva é um aspecto sensorial fundamental que permite aos insectos obter informações cruciais do ambiente que os rodeia (Webster *et al.*, 2010). Essa comunicação é veiculada por substâncias semioquímicas, que são conhecidas por feromonas quando se trata de comunicação intra-específica, e por substâncias aleloquímicas quando dizem respeito à comunicação inter-específica (Tumlinson, 1988; Paiva, 1996). São substâncias aleloquímicas as substâncias produzidas por indivíduos de uma espécie com o objectivo de afectar o

crescimento, vigor, comportamento, ou biologia populacional de outra espécie (Whittaker & Feeny, 1971; Reddy & Guerrero, 2004). Consoante as respostas que induzem no comportamento dos insectos, os sinais químicos emitidos pelas plantas, podem ser classificados como atraentes (eliciam o movimento em direcção ao emissor, como por exemplo os polinizadores e dispersores de sementes), agregadores (provocam a agregação dos indivíduos), estimulantes (eliciam a alimentação, oviposição, etc.), repelentes (causam o movimento para longe da fonte emissora), inibidores (inibem a alimentação e/ou oviposição) Nordlund, 1981 cit por Mateus, 2008; Berryman, 1986; Ryan, 2002; Reddy & Guerrero, 2004).

Os insectos, atraídos pelos *bouquets* olfactivos emitidos pelas plantas, são capazes de localizar a planta hospedeira, para efeitos de alimentação e oviposição, mesmo que esta se encontre misturada com outras plantas não hospedeiras (Woods, 1972). Esta percepção é mediada por células olfactivas altamente especializadas presentes nas antenas dos insectos (Woods, 1972; Webster *et al.*, 2010), que convertem os estímulos químicos em respostas bioeléctricas (Schneider, 1970).

Quando as plantas são atacadas por insectos, emitem compostos voláteis que são claramente distintos dos libertados pelas plantas não atacadas (Paré & Tumlinson, 1999; Reddy & Guerrero, 2004). Estes compostos podem ser sintetizados constitutivamente em órgãos específicos da planta em fases específicas do seu desenvolvimento, estando permanentemente presentes, ou a sua produção pode ser induzida por ataques de herbívoros (alimentação ou oviposição), por agentes patogéneos ou por danos mecânicos (Gershenson *et al.*, 2000; Reddy & Guerrero, 2004). Estas defesas induzidas desempenham um importante papel nas interações entre plantas e insectos fitófagos, entre insectos fitófagos e os seus inimigos naturais e mesmo entre plantas permitindo-lhes responder mais rapidamente a futuros ataques por herbívoros (Paré & Tumlinson, 1999).

Quando a síntese dos compostos defensivos ocorre exclusivamente após um ataque inicial, os custos metabólicos são reduzidos, uma vez que as defesas são produzidas apenas quando necessário (Gershenson, 1994; Wittstock & Gershenson, 2002). No entanto, plantas que sofrem ataques frequentes e intensos, estarão melhor protegidas ao investir em compostos constitutivos defensivos (Wittstock & Gershenson, 2002).

As coníferas produzem oleoresinas como principais defesas constitutivas, que consistem numa mistura complexa de compostos secundários: terpenos (monoterpenos e sesquiterpenos), ácidos resínicos (diterpenos) e compostos fenólicos (taninos) (Semiz *et al.*, 2007), importantes no seu sistema defensivo, actuando como inibidores ou atraentes, para a grande variedade dos herbívoros generalistas e especialistas (Gershenson & Croteau, 1991).

Os terpenos são uma grande classe de hidrocarbonetos produzidos por uma grande variedade de plantas, representando uma das maiores e mais diversas classes de metabolitos secundários implicados nas estratégias defensivas das plantas contra uma grande variedade de herbívoros

e agentes patogénicos (Bernays & Chapman, 1994; Paiva, 1996). Como metabolitos secundários, os terpenos tanto existem como compostos constitutivos das plantas, constituindo uma defesa directa, como estão também envolvidos na atracção de inimigos naturais dos insectos fitófagos, como predadores ou parasitóides, constituindo assim uma defesa indirecta (Tumlinson, 1988; Reddy & Guerrero, 2004).

Do ponto de vista dos mecanismos químicos de defesa das plantas e portanto da comunicação olfactiva, quer entre plantas, quer entre as plantas e insectos, os terpenos mais importantes são os monoterpenos e os sesquiterpenos (Gershenzon & Croteau, 1991). Os monoterpenos são compostos responsáveis por muitos dos odores característicos das plantas, sendo frequentemente encontrados em óleos essenciais e resinas e a sua síntese e acumulação está frequentemente associada a estruturas secretoras específicas, como tricomas glandulares, cavidades secretoras, ou vasos resinosos (Kesselmeier & Staudt, 1999; Gershenzon *et al.*, 2000). A maioria dos pinheiros possuem monoterpenos como fitoquímico volátil predominante (Lagalante & Montgomery, 2003; Reddy & Guerrero, 2004), de entre os quais se destacam como mais abundantes o α -pineno, β -pineno, mirceno, ocimeno, α -terpineno e limoneno (Nunes *et al.*, 2005 cit por Mateus, 2008). A emissão destes compostos é frequentemente dependente de factores abióticos, como a temperatura e a luz, bem como do estado fisiológico e fisico-químico da própria planta (Staudt *et al.*, 1997; Kesselmeier & Staudt, 1999; Gershenzon *et al.*, 2000; Llusà & Peñuelas, 2000; Noe *et al.*, 2006).

Muitos estudos evolucionistas têm considerado a evolução das relações entre as plantas e os herbívoros para explicar a diversidade de substâncias químicas secundárias e a especialização dos herbívoros (Dicke, 2000). No entanto, a evolução é um processo dinâmico e os insectos fitófagos também desenvolveram adaptações aos mecanismos de defesas das plantas, através das quais se tornaram especialistas (Berryman, 1986; Bernays & Chapman, 1994; Wittstock & Gershenzon, 2002). Segundo Harborne (2001) citado por Mateus (2008), certos lepidópteros nas suas fases larvares, desenvolveram a habilidade de capturar e armazenar substâncias químicas de defesa emitidas pelas suas plantas hospedeiras e reutilizá-las para sua própria protecção, evitando a predação. Outros, são capazes de capturar substâncias semioquímicas libertadas pelas plantas hospedeiras para as transformar em feromonas sexuais, ou precursores de feromonas sexuais (Reddy & Guerrero, 2004).

Alguns insectos fitófagos têm a capacidade de localizar olfactivamente as suas plantas hospedeiras e de avaliar o estado fisiológico em que se encontram, com base nas substâncias voláteis emitidas. Esta emissão varia em situações de *stress*, indicando aos fitófagos o estado de vigor ou fragilidade da planta que se poderá tornar assim mais susceptível a um ataque em massa (Zalucki *et al.*, 2002).

Na relação insecto-planta, podem assim ocorrer desequilíbrios que favoreçam a dinâmica populacional do insecto que pode atingir densidades populacionais tais, que as taxas de herbivoria excedem largamente a capacidade de regeneração das plantas. Existem múltiplos factores que podem influir e alterar essa relação, originando consequências para ambos.

Quando a população de um insecto atinge níveis elevados causando estragos significativos nas plantas, produzindo impactes ambientais e económicos nos ecossistemas, é usual dar-se-lhe a designação de praga, como é o caso da processionária do pinheiro (*Thaumetopoea pityocampa*) em ecossistemas florestais.

A processionária do pinheiro

Os lepidópteros do género *Thaumetopoea* (Lepidoptera: Notodontidae), são insectos desfolhadores representados por várias espécies que apresentam características etológicas e biológicas comuns, embora cada uma delas tenha o seu padrão específico (Douma-Petridou, 1989), apresentando variações nos seus ciclos biológicos em função de factores climáticos e geográficos (Devkota & Schmidt, 1990). Encontram-se bem distribuídos pela Europa e países da bacia do mediterrâneo, atacando várias espécies florestais, constituindo um sério problema económico. De entre os insectos deste género, destaca-se a processionária do pinheiro, *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.), como sendo o desfolhador mais importante na Europa meridional e Norte de África (Fig. 1), atacando preferencialmente espécies do género *Pinus* sp. e por vezes também *Cedrus* sp., *Larix* sp., *Abies* sp. e *Quercus* sp. (Douma-Petridou, 1989; Devkota & Schmidt, 1990; Masutti & Battisti, 1990; Hóðar *et al.*, 2002; OEPP/EPPO, 2004), embora certas espécies sejam mais susceptíveis do que outras (Devkota & Schmidt, 1990). Mesmo entre as diferentes espécies de *Pinus* sp., a sua capacidade de desenvolvimento depende do hospedeiro e das condições edafo-climáticas (Devkota & Schmidt, 1990; Masutti & Battisti, 1990), sendo certas espécies mais vulneráveis a esta praga e outras mais resistentes. Vários estudos têm classificado os pinheiros da Europa e região mediterrânica de acordo com a sua susceptibilidade de serem atacados pela processionária, distinguindo, por ordem decrescente de susceptibilidade: *P. nigra*, *P. sylvestris*, *P. pinea*, *P. halepensis*, *P. pinaster* e *P. canariensis* (OEPP/EPPO, 2004).

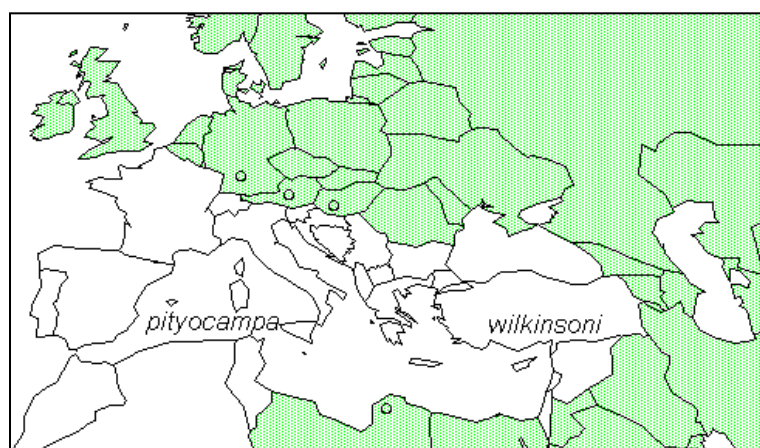


Figura 1 – Distribuição geográfica de *Thaumetopoea pityocampa* e *T. wilkinsoni* (Fonte: <http://www.daapv.unipd.it/promoth/biology.htm>).

A sua área de distribuição, e consequentemente os seus estragos, está fortemente condicionada pelo clima, desempenhando a temperatura um papel importante, contribuindo os verões quentes e secos para a sua dispersão (Ferreira, 1992).

Outra espécie de grande importância nos países da bacia do mediterrâneo e muito próxima de *T. pityocampa* em termos filogenéticos é *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams (Lepidoptera: Notodontidae) (Simonato *et al.*, 2007). Esta espécie está distribuída desde a Turquia ao Sul de Israel (Schmidt, 1989; Mendel, 1990) (Fig. 1), atacando especificamente duas espécies bastante dispersas nesta parte do Mediterrâneo - *P. halepensis* e *P. brutia* (Halperin, 1990; Houry & Doughan, 2006). Durante muito tempo estas duas espécies de processionária foram consideradas sinónimos, mas estudos sobre diferenciação genética permitiram concluir que são duas espécies irmãs com diferenciação genética significativa que se separaram antes do Quaternário (Salvato *et al.*, 2002; Simonato *et al.*, 2007). Tal facto justifica a ausência de *T. pityocampa* na parte mais oriental da bacia do mediterrâneo, onde *T. wilkinsoni* está presente (Simonato *et al.*, 2007).

T. wilkinsoni foi inicialmente descrita em Israel (Anónimo, 1939 In: Mendel, 1990), em 1937 numa plantação jovem perto de um povoamento natural de *P. halepensis*, localizado perto de Jerusalém. Após pouco tempo, expandiu-se para outras áreas, aumentando a sua distribuição com a do aumento das áreas plantadas devido às reflorestações em grande escala de pinheiros, conduzidas a partir de 1910 (Mendel, 1990). Esta intensa reflorestação em Israel criou um corredor adequado que permitiu à espécie alcançar povoamentos de *P. halepensis* mais a Sul (Simonato *et al.*, 2007). Actualmente, *T. wilkinsoni*, uma das três espécies indígenas de *Thaumetopoea* que ocorrem em Israel, constitui uma praga importante das florestas deste país (Halperin, 1990; Mendel, 1990).

Apesar de estarem descritas pela Europa e países da bacia do mediterrâneo várias espécies de processionária, atacando diversas espécies florestais, em Portugal apenas se conhece *T. pityocampa* associada ao género *Pinus*, atacando tanto espécies endémicas (*P. pinaster* e *P. pinea*), como espécies introduzidas (*P. radiata* e *P. nigra*) (Zhang & Paiva, 1998; Paiva & Branco, 2008), e de preferência povoamentos jovens entre os 10 e os 25 anos (Ferreira & Ferreira, 2001).

Os ataques destes desfolhadores são responsáveis por graves perdas económicas e ecológicas (Devkota & Schmidt, 1990; Hódar *et al.*, 2002; Hódar *et al.*, 2003; OEPP/EPPO, 2004). As desfolhas causadas por estas espécies reduzem a biomassa foliar (Estampa I a), Anexo 28) conduzindo a situações de *stress* fisiológico, o que se reflecte em perdas de crescimento radial com conseqüente enfraquecimento dos pinheiros, aumentando-lhes a susceptibilidade a pragas secundárias e doenças (Markalas, 1998; Hódar *et al.*, 2003), o que por sua vez se traduz em elevadas perdas de produtividade. No entanto, as árvores podem progressivamente recuperar todo o seu sistema de folhagem, mas até todo este processo se completar crescerão a uma taxa inferior à normal. Os efeitos da desfoliação perdurarão dependendo do tempo que as árvores

levem a recuperar a sua biomassa foliar. Por exemplo, a desfoliação afecta muito mais fortemente *P. pinaster* que *P. halepensis*, uma vez que o primeiro necessita de 5 anos para recuperar a sua biomassa foliar enquanto o segundo apenas necessita de um par de anos (Romanyk & Cadahia, 1992). Quando o ataque é muito severo podem ocorrer desfolhas completas (Ferreira & Ferreira, 2001), sobretudo se se tratar de povoamentos jovens e monoespecíficos (Hódar *et al.*, 2002). Desfolhas muito intensas e em anos sucessivos, são causadoras da morte do arvoredo (Vasconcelos *et al.*, 2008a), principalmente quando se combinam com situações climáticas extremas, como podem ser as secas.

Para além dos danos nas plantas, as larvas de processionária possuem pêlos urticantes nos últimos instares, responsáveis por irritações na pele e mucosas, por vezes graves (Démolin, 1969; Arnaldo & Torres, 2006), constituindo um problema de saúde pública, sobretudo em locais como parques e jardins.

Os pinheiros são hoje amplamente cultivados dentro e fora da sua área de distribuição natural, encontrando-se em Portugal espécies nativas da Península Ibérica, como *P. pinaster* e *P. pinea*, e espécies não nativas, como *P. nigra*, *P. brutia*, *P. halepensis*, *P. sylvestris* e *P. radiata*, que apresentam uma distribuição geográfica restrita, formando geralmente povoamentos mistos com pinheiro bravo (Vasconcelos *et al.*, 2008b). No nosso país, a expansão do pinheiro bravo foi, em grande parte, devida à intervenção humana a partir do séc. XVIII, por ter sido utilizado na arborização das dunas do litoral (Vasconcelos *et al.*, 2008b), encontrando-se actualmente por todo o Norte e Centro do País, onde foi amplamente utilizado no repovoamento florestal a partir de finais do século XIX.

Em Portugal, o pinheiro bravo constitui uma espécie florestal de grande importância económica, ocupando 885 019 ha, o que representa cerca de 27% da área floresta nacional (AFN, 2010), contribuindo para os 3% do PIB nacional que o sector representa, o que permite compreender a importância que os danos provocados por esta praga assumem na economia do sector florestal no nosso país. Os prejuízos de saúde pública causados pelos pêlos urticantes constituem um problema agravante (Arnaldo & Torres, 2006). Em Portugal, os ataques de processionária do pinheiro são mais intensos em *P. pinaster* e *P. pinea*, e muito residuais ou nulos em *P. halepensis* (Branco, com. pessoal).

Em Israel, *P. pinaster* e *P. pinea* são espécies introduzidas (Mendel, com. pessoal). A primeira é bastante comum como ornamental e de uso silvícola, embora de menor importância que *P. halepensis* e *P. brutia*, e a segunda ocorre principalmente como ornamental em zonas costeiras, sendo raro encontrar esta espécie em povoamentos. Neste país, as principais espécies atacadas por *T. wilkinsoni*, são *P. brutia* e *P. halepensis*, duas espécies nativas desta região do Mediterrâneo, não se registando ataques relevantes nas espécies introduzidas (Quadro 1).

Quadro 1 – Densidade média de ninhos e índice de infestação de *Pinus* spp. por *T. wilkinsoni* em 3 locais distintos de Israel (\pm SD) (entre parênteses está o número de indivíduos amostrados por espécie) (amostragem efectuada nos finais de 1980 e início de 1990 em diferentes locais; dados não publicados disponibilizados por Zvi Mendel, 2010)

Espécies de pinheiro	1) Ramat Hanadiv	2) Nachshon	3) Petah Tiquva
	Densidade média de ninhos	Densidade média de ninhos	Índice de infestação
<i>P. halepensis</i>	4.3 \pm 2.1 (80)	5.3 \pm 1.1 (80)	2.2 \pm 1.8 (36)
<i>P. brutia</i> ssp. <i>brutia</i>	3.3 \pm 2.3 (80)	2.4 \pm 2.1 (80)	1.8 \pm 1.3 (14)
<i>P. brutia</i> ssp. <i>eldarica</i>	5.2 \pm 3.0 (80)	6.1 \pm 2.7 (80)	-
<i>P. canariensis</i>	3.8 \pm 2.0 (80)	-	2.8 \pm 1.4 (37)
<i>P. pinea</i>	0.1 \pm 0.1 (80)	> 0.1 (80)	0 (44)
<i>P. pinaster</i>	> 0.1 (80)	0 (80)	0 (56)

Como se observa no Quadro 1, ao contrário do que acontece em Portugal, as espécies mais afectadas em Israel são *P. halepensis* e *P. brutia*, não se registando ataques significativos em *P. pinaster* e *P. pinea*, o que revela que as mesmas espécies de pinheiro têm diferentes graus de susceptibilidade de acordo com o local onde se encontram.

O ciclo biológico das diferentes espécies de *Thaumetopoea* sp. apresenta variações intraespecíficas na duração dos diferentes estádios de desenvolvimento, relacionadas com factores climáticos (temperatura e insolação) e geográficos (altitude e latitude dos locais) (Démolin, 1969; Douma-Petridou, 1989; Schmidt, 1989; Masutti & Battisti, 1990).

O ciclo de *T. pityocampa* completa-se com uma geração anual, emergindo os adultos no início do Verão (Julho-Agosto) (Démolin, 1969; Zhang & Paiva, 1998; Arnaldo & Torres, 2006), ocorrendo a cópula poucos dias depois, após a qual as fêmeas se deslocam em busca de um local adequado para deixarem os ovos, orientando-se e distinguindo as diferentes espécies de pinheiro mediante os órgãos sensoriais (Paiva *et al.*, 2008). A selecção do hospedeiro pelas fêmeas para oviposição, é mediada por estímulos olfactivos relacionados com os compostos voláteis emitidos pelas árvores hospedeiras e será essa escolha que vai determinar a sobrevivência das larvas jovens e os níveis populacionais da geração seguinte (Tumlinson, 1988; Tiberi *et al.*, 1999; Paiva *et al.*, 2008). Quando as fêmeas (Estampa I c), Anexo 28) encontram um par de agulhas de espessura e comprimento adequados, começam a depositar os ovos de forma ordenada, cobrindo-os com escamas que retiram do abdómen (Estampa I b), Anexo 28), deixando-os assim protegidos dos predadores (Démolin, 1969; Douma-Petridou, 1989; Schmidt, 1989). As posturas ocorrem principalmente de Agosto a Setembro (Arnaldo & Torres, 2006) e o número de ovos por postura oscila entre 70-300, normalmente uma postura por fêmea (Arnaldo & Torres, 2006), de tal forma que o número de posturas corresponde ao número de fêmeas reproduzidas numa região (Douma-Petridou, 1989). Ao fim de 30-45 dias

de desenvolvimento embrionário eclodem as larvas (Démolin, 1969), as quais se caracterizam por possuírem um comportamento gregário durante toda a vida passando por 5 instares até atingirem a maturidade (Démolin, 1969; Schmidt, 1989), mudando de forma e côr, distinguindo-se as larvas dos diferentes instares pelo tamanho da cápsula cefálica e pela côr do corpo (Douma-Petridou, 1989). Depois de eclodirem, as larvas do 1º instar agregam-se e alimentam-se das agulhas mais próximas, consumindo unicamente as partes mais tenras da epiderme e do parênquima (Douma-Petridou, 1989; Romanyk & Cadahia, 1992), começando do ápice para a base da agulha (Douma-Petridou, 1989). O desenvolvimento larvar é influenciado pela qualidade nutricional do hospedeiro sob o qual se desenvolvem (Devkota & Schmidt, 1990). As larvas permanecem agregadas num ninho de seda construído pelas próprias até terem agulhas disponíveis, altura em que se movem para outro local e constroem um novo ninho (Douma-Petridou, 1989). Quando mudam para o 3º instar adquirem o seu aspecto definitivo, aparecendo os pêlos urticantes que permanecerão até ao último instar (Douma-Petridou, 1989; Romanyk & Cadahia, 1992), responsáveis por causar sérias irritações dérmicas e respiratórias em pessoas e animais (Démolin, 1969). Durante os 3 primeiros instares agrupam-se em ninhos provisórios de consistência ténue correspondendo cada um deles a uma zona de alimentação. A partir do 4º instar constroem ninhos definitivos ou ninhos de inverno (Estampa I d), Anexo 28), de maior dimensão e mais espessamente tecidos, normalmente na parte apical dos ramos expostos ao sol, por forma a manter a temperatura por mais tempo. A fase larvar dura cerca de 6 meses mas depende da temperatura, podendo os últimos dois instares ser prolongados quando as condições climáticas não são favoráveis (Masutti & Battisti, 1990). Em Janeiro-Março, as larvas dos 4º e 5º instares intensificam a sua alimentação, consumindo completamente as agulhas (Démolin, 1969; Douma-Petridou, 1989; Romanyk & Cadahia, 1992), sendo neste período do ano que ocorrem as maiores desfolhas (Hódar *et al.*, 2003). No final do 5º instar (finais de Março), quando as larvas estão totalmente desenvolvidas, abandonam o ninho procurando em procissão um local apropriado para pupar (Estampa I f), Anexo 28), geralmente perto da árvore hospedeira (Schmidt *et al.*, 1989; Hódar *et al.*, 2003; Arnaldo & Torres, 2006; Houri & Doughan, 2006). Cada procissão (Estampa I e), Anexo 28) pode consistir em 10-200 indivíduos (Douma-Petridou, 1989), constituindo uma expressão do comportamento social desta espécie. Os locais preferidos são áreas ensolaradas e solos macios ou arenosos nos povoamentos ao longo dos caminhos, onde as larvas se enterram a uma profundidade que varia com a estrutura do solo, mas geralmente de 5-20 cm (Douma-Petridou, 1989; Romanyk & Cadahia, 1992), onde sofrem profundas transformações passando pelo estado de pré-pupa e pupa. As pupas (Estampa I g), Anexo 28), desenvolvem-se num casulo subterrâneo (Douma-Petridou, 1989), entrando num período de diapausa de duração muito variável com factores climáticos (Schmidt, 1989; Masutti & Battisti, 1990), mas normalmente de 3-5 meses nas zonas mais temperadas (Schmidt *et al.*, 1989). No entanto, a diapausa pode prolongar-se por mais de um ano, vindo os adultos a eclodir na geração do ano seguinte ou mesmo vários anos depois até as condições climáticas serem adequadas para o seu desenvolvimento (Démolin, 1969; Devkota & Schmidt, 1990; OEPP/EPPO, 2004), o que conduz a que em cada ano, a população anual possa ser adicionada de um contingente de indivíduos saídos de uma diapausa bienal ou trienal. Este aspecto é extremamente importante no planeamento das

medidas de gestão deste insecto. As diferentes fases do ciclo de vida desta espécie encontram-se representados na Fig. 2.

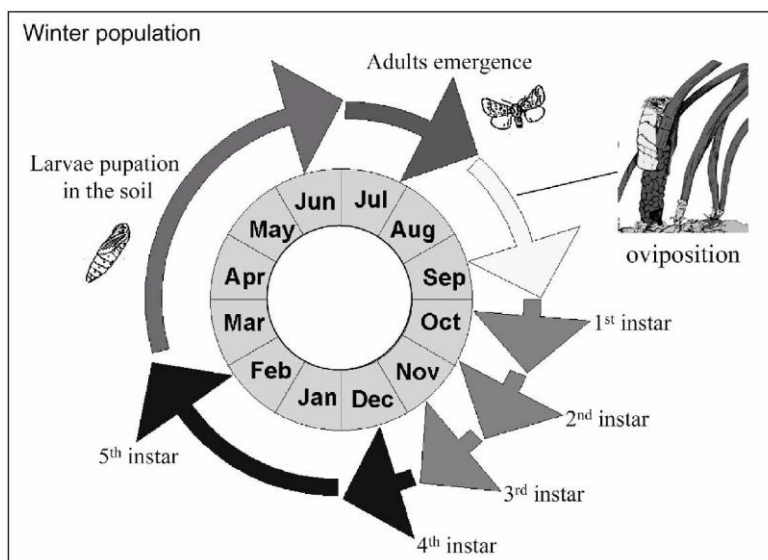


Figura 2 – Representação esquemática do ciclo de vida de *Thaumetopoea pityocampa* (Mateus, 2008).

A agregação é um comportamento social de alguns lepidópteros extremamente importante para a sua sobrevivência (Pérez-Contreras *et al.*, 2003). A processionária do pinheiro é uma espécie com um forte comportamento gregário nas fases larvares. A agregação confere numerosas vantagens tais como aumento da eficiência alimentar, defesa contra inimigos naturais e termorregulação (Zalucki *et al.*, 2002). Para muitos lepidópteros o papel da agregação no aumento da eficiência alimentar é mais evidente nos primeiros instares (Zalucki *et al.*, 2002), através de uma maior capacidade para localizar o alimento (Pérez-Contreras *et al.*, 2003). Os indivíduos que vivem em grupo têm um menor risco de serem atacados por predadores devido a fortes sinais de aviso, defesas químicas e comportamentais ou simplesmente devido ao efeito da diluição. As desvantagens de viver em grupo incluem maior risco de doenças infecciosas e parasitismo, maior competição intraespecífica pelo alimento quando os recursos adequados são limitados e maior visibilidade para os predadores (Pérez-Contreras *et al.*, 2003).

Muitas das espécies de insectos que ocorrem nos pinhais são endémicas desses povoamentos, encontrando-se presentes em níveis populacionais não nocivos e em equilíbrio com o ecossistema envolvente (Evangelista & Valente, 2008; Paiva & Branco, 2008). Porém, a ocorrência de factores desfavoráveis, como ecossistemas florestais simplificados de que são exemplo as monoculturas, povoamentos envelhecidos com árvores enfraquecidas, povoamentos jovens com árvores em classes etárias mais susceptíveis, etc., podem resultar em alterações do equilíbrio natural dos ecossistemas proporcionando situações favoráveis à ocorrência de níveis populacionais elevados de certas espécies de insectos, podendo resultar em surtos e situações de desequilíbrio do ecossistema (Masutti & Battisti, 1990; Vasconcelos

et al., 2008a). É o caso da processionária do pinheiro, que afecta principalmente povoamentos jovens, entre os 10-25 anos, situação em que os surtos são frequentes e, por vezes, muito intensos, exigindo um conjunto de intervenções frequentes (Barrento *et al.*, 2008; Evangelista & Valente, 2008).

Vários métodos de controlo têm sido utilizados nas últimas décadas para manter em baixos níveis a população deste insecto, desde métodos culturais (destruição mecânica dos ninhos) a químicos e biológicos (aplicação de insecticidas e de substâncias reguladoras do crescimento, utilização de armadilhas iscadas com feromona sexual da fêmea para a captura de machos durante o período de voo) (Schmidt *et al.*, 1989; Romanyk & Cadahia, 1992; Evangelista & Valente, 2008). No entanto, apesar de uns métodos serem mais eficazes que outros, muitas vezes não se têm mostrado suficientes no controlo desta espécie (Hourri *et al.*, 2006). Desta forma, torna-se de especial importância a implementação de uma gestão florestal de carácter preventivo, com aplicação integrada dos diferentes meios de controlo, promovendo o bom estado vegetativo dos povoamentos, a par de uma monitorização regular, que permita a detecção atempada das pragas e doenças, de forma a preconizar uma intervenção adequada na prevenção dos seus estragos (Evangelista & Valente, 2008), cujo êxito depende da adequação do tipo de tratamento ao estágio de desenvolvimento em que o insecto se encontra.

É neste contexto que o conhecimento dos processos que estão na base da selecção do hospedeiro pela processionária para oviposição, assim como da *performance* das larvas em função do hospedeiro, pode contribuir para melhorar a eficácia dos métodos de controlo baseados no uso de semioquímicos (Tiberi *et al.*, 1999). Por outro lado, a diversidade ao nível da composição dos povoamentos, com espécies de diferentes susceptibilidades, pode favorecer a resistência a pragas e doenças por vários mecanismos: interações químicas e físicas fitófago-planta, abundância e diversidade dos inimigos naturais (Anexo 1), densidade e qualidade nutricional das plantas hospedeiras (Calvão *et al.*, 2008). Além da composição, a idade das plantações florestais pode ser um outro aspecto importante com implicações ao nível da biodiversidade e complexidade estrutural do povoamento (Reddy & Guerrero, 2004).

Com o presente trabalho pretende-se comparar a *performance* das larvas de primeiro e de segundo instares de duas espécies de processionária, *T. pityocampa* e *T. wilkinsoni*, quando alimentadas com agulhas de duas espécies de *Pinus*, *P. pinaster* e *P. halepensis*, de várias proveniências, idades e condições de desenvolvimento. Temos como hipótese subjacente a este trabalho de que as duas espécies diferem na sua adaptação a diferentes hospedeiros. Em particular, pretende-se verificar se existem diferenças significativas na sobrevivência, consumo e desenvolvimento das larvas de ambas as espécies quando alimentadas por diferentes dietas.

Paralelamente pretende-se perceber a importância do tipo de alimento e suas características na *performance* das larvas, através da análise de alguns parâmetros físicos e químicos das agulhas que constituem as diferentes dietas.

2. Material e métodos

2.1. Hospedeiros

Foram testadas diferentes dietas com base em duas espécies hospedeiras: pinheiro bravo (*P. pinaster*) e pinheiro de alepo (*P. halepensis*). Ambos são hospedeiros conhecidos de cada uma das espécies de processionária estudadas, *T. pityocampa* e *T. wilkinsoni*, mas com diferentes intensidades de ataque. Para cada uma das espécies hospedeiras, obteve-se material vegetal de origens diferentes (Quadro 2).

Pinus pinaster

As agulhas de *P. pinaster* utilizadas nos ensaios, foram recolhidas de exemplares situados em dois locais e condições distintas. A primeira proveniência resultou de um local situado na Península de Setúbal, Charneca da Caparica, a cerca de 19 Km a Sul de Lisboa, que consiste numa pequena mancha composta por exemplares de pinheiro bravo com cerca de 10 a 15 anos. O clima da região caracteriza-se por Verões quentes a moderados, com temperaturas máximas médias de 23-32°C, Invernos suaves, com temperaturas médias superiores a 6°C, e uma precipitação média anual de 750mm (Península digital, 2011); os solos são de tipo arenoso. A segunda proveniência, consistiu em exemplares jovens de *P. pinaster* com cerca de 7 anos, de origem desconhecida, que se encontravam envasados, nos viveiros florestais da Tapada da Ajuda, no Instituto Superior de Agronomia e onde as condições de crescimento das plantas foram controladas (irrigação, fertilização, temperatura, etc.).

Pinus halepensis

As agulhas de *P. halepensis* foram recolhidas de exemplares em três condições distintas: de exemplares plantados num parque ajardinado do Campus da Faculdade de Ciências e Tecnologia no Monte da Caparica, com idades entre os 8-10 anos, e de exemplares obtidos por sementeira em condições controladas de irrigação e fertilização, mantidos envasados nos viveiros florestais da Tapada da Ajuda, tendo as sementes duas proveniências distintas: Bet Oren, Monte Carmel (Israel) e Monte São João, Caparica (Portugal), com aproximadamente 5 anos de idade. O primeiro local, inserido na Península de Setúbal, caracteriza-se climaticamente por possuir Verões quentes a moderados; o solo é de tipo arenoso.

Nas proveniências de viveiro de ambas as espécies de *Pinus* testadas, utilizou-se um substrato fertilizado para promover o crescimento das plantas, com base num fertilizante NPK com adição de magnésio e micronutrientes, com a seguinte composição: 14% N (6,3% de azoto nítrico e 7,7% de azoto amoniacal), 8% P (P₂O₅), 15% K (K₂O), 2% Mg (MgO), 0,02% B, 0,02% Cu, 0,4% Fe, 0,1% Mn, 0,02% Mo e 0,02% Zn, com uma dose de aplicação de 5-6 Kg/m³.

Para ambas as espécies de *Pinus* utilizadas, a escolha dos locais para recolha das agulhas, prendeu-se com o facto de serem locais acessíveis, de apresentarem pinheiros em bom estado sanitário e de serem representativos de estratos etários diferentes e de condições edafo-climáticas de crescimento distintas, significando diferentes condições fisiológicas das árvores entre os hospedeiros testados, aspecto importante para perceber potenciais diferenças.

Por questões práticas, optou-se por designar doravante os 5 hospedeiros testados de acordo com o seu local de recolha: “Pinaster de campo” (*P. pinaster* de campo), “Pinaster de viveiro” (*P. pinaster* de viveiro) “Alepo de campo” (*P. halepensis* de campo), “Alepo de S. João” (*P. halepensis* de viveiro, sementes provenientes de S. João da Caparica) e “Alepo de Carmel” (*P. halepensis* de viveiro, sementes provenientes de Bet Oren, Israel) (Quadro 2).

Quadro 2 – Caracterização dos hospedeiros testados como alimento nos ensaios de alimentação de *T. pityocampa* e *T. wilkinsoni*

Designação	<i>Pinus pinaster</i>		<i>Pinus halepensis</i>		
	Pinaster campo	Pinaster viveiro	Alepo campo	Alepo S. João	Alepo Carmel
Origem	Portugal (Charneca Caparica)	Portugal (?)	Portugal (Mte Caparica)	Portugal (S. João da Caparica)	Israel (Mt. Carmel)
Localização (Local recolha)	Campo (Charneca Caparica)	Viveiros (ISA) plantação	Campo (Mte Caparica, UNL-FCT)	Viveiros (ISA)	Viveiros (ISA)
Idade	10-15 anos	≈ 7 anos	8-10 anos	≈ 5 anos	≈ 5 anos
Nº exemplares seleccionados	5	5	5	5	5

Para cada hospedeiro foram seleccionados e marcados no local 4 exemplares com aspecto saudável, sem problemas fisiológicos aparentes e não atacados por processionária ou outras pragas. Estes exemplares serviram como fonte de alimento durante todo o tempo de duração dos ensaios de alimentação. Adicionalmente foi seleccionada uma 5ª árvore de “reserva”, para suprir eventuais necessidades adicionais de alimento, por sobre-exploração de algum exemplar que deixasse de oferecer agulhas de qualidade.

Para que o alimento correspondente a cada hospedeiro fosse representativo, recolheram-se agulhas de cada um dos exemplares seleccionados por hospedeiro, formando assim uma amostra variada. A recolha fez-se a partir de várias partes da copa, de forma a cobrir toda a plasticidade das plantas. Só foram escolhidas agulhas com um ano de crescimento, uma vez que as fêmeas usualmente colocam os ovos em agulhas do último ano, que constitui o primeiro alimento que as larvas têm disponível quando eclodem (Zalucki *et al.*, 2002) e também porque representam uma fonte importante de assimilados (Ericsson, 1978 *In: Mandre et al.*, 2002).

As agulhas dadas às larvas foram previamente lavadas com água, à qual se adicionou hipoclorito de sódio com 5% de cloro activo, durante 10 minutos, para eliminar potenciais contaminações por bactérias, fungos ou outros microorganismos. Foram depois passadas por água corrente para eliminar a solução de hipoclorito de sódio.

2.2. Larvas

Thaumetopoea pityocampa:

As larvas de *T. pityocampa* utilizadas nos ensaios de alimentação, foram obtidas a partir de posturas recolhidas em *P. pinaster* num povoamento localizado na Península de Setúbal, Portugal, (Pinhal das Freiras – 38°34'N, 9°07'W, 64m), inserido acima do limite Norte da Mata de Sesimbra. Trata-se de um povoamento composto essencialmente por pinhais puros e mistos de *P. pinea* (10 anos) e *P. pinaster* (40 anos). O clima da região é Atlântico de transição, com Verões moderados e Invernos tépidos, inserindo-se na zona fitoclimática Atlante-Mediterrânea (AM), segundo a Carta Ecológica de Portugal (Albuquerque, 1954). O povoamento tem sofrido nos últimos anos, ataques sucessivos de *T. pityocampa*, onde este insecto tem estado presente em níveis populacionais elevados.

As posturas foram recolhidas em Setembro de 2009 e colocadas em tubos de ensaio à temperatura e fotoperíodo ambiente até à eclosão das larvas em laboratório. As eclosões ocorreram durante o período de 25/09/09 e 04/10/09 e as larvas recém-eclodidas foram colocadas em caixas de acrílico arejadas, sendo alimentadas com agulhas de *P. pinaster*, a espécie de que se alimentariam no habitat natural, até à realização dos ensaios.

Thaumetopoea wilkinsoni:

As larvas de *T. wilkinsoni* utilizadas nos ensaios, foram obtidas de posturas recolhidas em *P. halepensis* num povoamento localizado em Bet Oren, Monte Carmel, Israel. Trata-se de um povoamento essencialmente composto por *P. halepensis* que tem registado ataques sucessivos de *T. wilkinsoni*.

A recolha das posturas ocorreu em meados de Setembro/Outubro de 2009 por uma equipa do departamento de Entomologia do Agricultural Research Organization de Israel, e enviadas para o laboratório de Entomologia do Departamento de Engenharia Florestal, Instituto Superior de Agronomia, onde foram colocadas em tubos de ensaio à temperatura ambiente até à eclosão. O período de eclosão decorreu de 19/10/09 a 18/11/09 e as larvas recém-eclodidas de *T. wilkinsoni* foram alimentadas com *P. halepensis*, espécie hospedeira nativa, até ao início dos ensaios.

Com qualquer das espécies em estudo, *T. pityocampa* e *T. wilkinsoni*, não foi possível iniciar os ensaios do 1º instar com as larvas em jejum pois as larvas não eclodiram todas ao mesmo tempo e um dos critérios para se iniciar um ensaio consistiu em reunir um número mínimo de

larvas não inferior a 20 por cada réplica, dada a importância do seu comportamento gregário para garantir a sobrevivência. Garantiu-se contudo em cada ensaio, que a idade das larvas não variasse mais do que 3 dias umas em relação às outras. À medida que eclodiam, as larvas eram retiradas dos tubos de ensaio onde se encontravam as posturas e colocadas em caixas de acrílico onde receberam alimento até se iniciarem os ensaios. Para cada espécie, juntaram-se larvas de várias posturas, eclodidas em datas próximas, de forma a obter um número mínimo de larvas suficiente para se iniciarem os ensaios. Para os ensaios com 2º instar, as larvas foram alimentadas desde a eclosão até à muda com as respectivas espécies nativas. Estes ensaios só se iniciaram quando as larvas tinham pelo menos 3 dias de muda, para garantir a recuperação fisiológica após a mesma.

2. 3. Ensaio de alimentação

Os ensaios de alimentação com ambas as espécies, *T. pityocampa* e *T. wilkinsoni*, decorreram no laboratório de Entomologia do Instituto Superior de Agronomia, no período de Setembro de 2009 a Janeiro de 2010.

Os ensaios com *T. pityocampa* decorreram de 29 de Setembro de 2009 a 12 de Novembro de 2009 e com *T. wilkinsoni* de 23 de Outubro de 2009 a 18 Janeiro de 2010, pois o ciclo de vida de *T. wilkinsoni* tem início cerca de 1 mês depois do de *T. pityocampa*. Para ambas as espécies, testaram-se apenas os dois primeiros instares larvares (L1 e L2), por serem aqueles em que as larvas são mais vulneráveis e mais exigentes em relação à qualidade do alimento, sendo portanto nestes instares que a sua susceptibilidade ao alimento e a sua especificidade alimentar será maior.

Quando o número de larvas eclodidas era suficiente para iniciar um ensaio e respectivas repetições, as larvas eram retiradas aleatoriamente e transferidas em grupos geralmente de 20 a 25 para caixas de acrílico, com dimensões aproximadas de 23x14x13cm (Estampa II, Anexo 28) tapadas com uma folha de papel absorvente e fechadas com a respectiva tampa perfurada, permitindo a renovação do ar.

Para cada instar efectuaram-se vários ensaios e para cada ensaio efectuou-se o número possível de repetições consoante o número de larvas disponíveis, sendo que cada repetição foi realizada com um mínimo de 20 larvas por hospedeiro testado, para garantir a necessária agregação larvar. A repetição de ensaios com o mesmo instar, serviu para compensar alguns ensaios em que a mortalidade foi elevada e para complementar a informação, necessária sobretudo devido ao desfasamento na eclosão das larvas das várias posturas (Quadro 3).

À excepção dos ensaios 1, 2 e 3, cada ensaio decorreu durante todo o tempo de duração do instar em causa, ou seja, até à muda completa. Assim, um ensaio em que fossem testadas larvas L1 só terminava quando ocorria a muda para o 2º instar (L2). O mesmo aconteceu para ensaios testados com larvas L2, que só terminavam quando as larvas completassem a muda para o 3º instar (L3). Na prática, cada ensaio completo teve a duração de cerca de um mês,

com uma média de 8 observações, a não ser que todas as larvas morressem antes de completar a muda.

Quadro 3 – Ensaios de alimentação realizados com *T. pityocampa* e *T. wilkinsoni*

Ensaio	Espécie	Instar	Dietas	Duração (dias)
1	<i>T. pityocampa</i>	L1	Pinaster de campo	14
			Alepo de campo	14
			Alepo de Carmel	14
			Alepo de S. João	14
2	<i>T. pityocampa</i>	L1	Pinaster de campo	11
			Alepo de campo	14
			Alepo de Carmel	14
3	<i>T. pityocampa</i>	L1	Pinaster de campo	14
			Alepo de campo	11
4	<i>T. pityocampa</i>	L2	Pinaster de campo	31
			Alepo de campo	31
			Alepo de Carmel	21
			Alepo de S. João	31
5	<i>T. pityocampa</i>	L2	Pinaster de campo	25
			Alepo de campo	32
			Alepo de Carmel	18
			Alepo de S. João	21
6	<i>T. wilkinsoni</i>	L1	Pinaster de campo	11
			Alepo de campo	19
			Alepo de Carmel	22
			Alepo de S. João	22
7	<i>T. wilkinsoni</i>	L1	Pinaster de campo	21
			Alepo de campo	28
			Alepo de Carmel	21
			Alepo de S. João	18
8	<i>T. wilkinsoni</i>	L2	Pinaster de campo	30
			Pinaster de viveiro	23
9	<i>T. wilkinsoni</i>	L1	Pinaster de campo	7
			Pinaster de viveiro	24
			Alepo de campo	24
			Alepo de Carmel	27
			Alepo de S. João	24
10	<i>T. wilkinsoni</i>	L1	Pinaster de campo	10
			Pinaster de viveiro	24
11	<i>T. wilkinsoni</i>	L2	Pinaster de campo	37
			Pinaster de viveiro	41
			Alepo de campo	37
			Alepo de Carmel	41
			Alepo de S. João	37

Cada ensaio consistiu na observação e registo do comportamento alimentar das larvas perante cada dieta testada, registando-se ao longo do tempo, informação relativa à sobrevivência, consumo e desenvolvimento (Anexo 2). Os ensaios foram conduzidos à temperatura, humidade e fotoperíodo ambiente do laboratório, sob temperaturas médias de 25,3°C e 19,5°C e humidades relativas médias de 59% e 63,7% para *T. pityocampa* e *T. wilkinsoni*, respectivamente.

Para cada caixa, as observações foram feitas a intervalos de 3 a 4 dias, registando-se o número de larvas vivas, de larvas mortas, o consumo, a presença de exúvias e a produção de fezes, de acordo com a ficha de registos (Anexo 2). Em cada observação substituía-se o alimento consumido por alimento fresco, recolhia-se o alimento consumido, os excrementos e as larvas mortas, que eram depois secos a 60°C em estufa ventilada durante 48h, para posterior pesagem. Para que as agulhas se mantivessem frescas, as suas extremidades permaneciam inseridas num pedaço de oásis húmido, cujo teor em água era repostado diariamente. A opção de renovar o alimento em intervalos de 3 a 4 dias, deveu-se à necessidade de manusear o menos possível as larvas, evitando assim perturbações.

Sobrevivência e desenvolvimento

Para aferição da sobrevivência e mortalidade em cada ensaio, registou-se a cada observação o número de larvas mortas e de larvas vivas (Anexo 2). Cada ensaio terminava quando todas as larvas vivas tivessem mudado de instar (excepto para os ensaios 1, 2 e 3 que terminaram ao fim de 2 semanas de observações).

O desenvolvimento das larvas foi avaliado com base nas mudanças de instar. A cada período de observação, para além do número de larvas vivas e mortas, foi registado o número de larvas que mudaram de instar e contabilizadas as exúvias deixadas pelas larvas, a partir das respectivas cápsulas cefálicas, para confirmação do número de mudas. Esta informação serviu para comparar o desenvolvimento das larvas de cada espécie sob as diferentes dietas e aferir as dietas onde o desenvolvimento tenha sido melhor.

Consumo das agulhas e produção de fezes

A cada observação, o consumo das agulhas foi quantificado empiricamente com base na observação directa. O índice de consumo foi medido como a % de consumo das agulhas e quantificado em 5 classes: **0** - até 4% de consumo, **1** - 5 a 25% de consumo, **2** - 26 a 50% de consumo, **3** - 51 a 75% de consumo e **4** - 76% a 100% de consumo. Foi também medido o comprimento das agulhas fornecidas às larvas, com recurso a uma régua, e registada a quantidade de agulhas iniciais disponíveis e a quantidade de agulhas consumidas no final de cada período de observação. A determinação do consumo foi feita tendo em conta a % de consumo, o comprimento das agulhas e o número de agulhas consumidas, sendo quantificado

com base nos milímetros consumidos por larva por agulha e por dia. O consumo foi estimado por larva viva existente no final de cada período de observação. A cada observação, recolheram-se e guardaram-se em tubos *ependorf*, os excrementos resultantes da actividade das larvas, para serem depois secos e pesados para avaliação do desenvolvimento das larvas em cada dieta. A produção de fezes foi estimada por larva viva existente no início de cada período de observação.

Todas as pesagens mencionadas acima, foram efectuadas recorrendo a uma balança analítica, Shimadzu AUX220 com precisão de 0,0001 g (0,1mg). As secagens foram efectuadas numa estufa ventilada durante 48h a uma temperatura de 60°C.

Medição da largura da cápsula cefálica

O que melhor diferencia a mudança de instar no desenvolvimento larvar é o tamanho da cápsula cefálica. Com o objectivo de efectuar uma comparação morfométrica das larvas das duas espécies de processionária em estudo, mediu-se a largura da cápsula cefálica de larvas no primeiro e segundo instares. Para cada espécie, seleccionaram-se aleatoriamente um grupo de 30 larvas não utilizadas nos ensaios de alimentação, com diferentes datas de desenvolvimento ao longo de cada instar estudado.

A medição da largura da cápsula cefálica fez-se com recurso a uma lupa binocular Olympus modelo SZX12 de ampliação 10x12 (ocular graduada de 10 mm de precisão). Foi necessário estabelecer um factor de correcção para os valores obtidos entre a objectiva e a ocular por forma a obter os valores reais.

2.4. Análise de parâmetros físicos das agulhas

Resistência física das agulhas – resistência à tracção

Por forma a comparar a dureza das agulhas das diferentes dietas testadas, indicativa da resistência oferecida ao consumo pelas larvas, obteve-se uma medida de resistência à tracção, dos diversos regimes alimentares. Para tal, recolheram-se agulhas com um ano de idade, das mesmas árvores usadas nos ensaios de alimentação. Para cada hospedeiro, seleccionaram-se 5 indivíduos e por cada indivíduo seleccionaram-se aleatoriamente 10 agulhas, o que fez um total de 250 amostras. As recolhas e medições foram feitas em Novembro de 2009.

A determinação da resistência à tracção das agulhas fez-se recorrendo à utilização de um penetrómetro artesanal, construído manualmente no laboratório e que utilizava a água como medida de força a aplicar. A técnica baseou-se na medição do peso da água necessária para que o dispositivo perfurasse a epiderme das agulhas, o que dá uma medida da força necessária a aplicar para causar dano superficial nas agulhas, permitindo uma medida aproximada da

resistência à tração. A água foi adicionada com o auxílio de uma pipeta graduada apenas até ao ponto em que o seu peso era suficiente para perfurar superficialmente a epiderme. A análise foi realizada uniformemente para todas as amostras e incidiu na página inferior das agulhas no 1/3 apical por ser aí que observámos que as larvas iniciam o consumo.

Teor em água das agulhas

A determinação do teor em água das agulhas dos hospedeiros que constituíram as diferentes dietas alimentares das larvas de *T. pityocampa* e de *T. wilkinsoni* foi efectuada através da medição do peso das agulhas antes e após secagem. Um grupo de agulhas frescas representativas de cada dieta administrada, foi pesado imediatamente após recolha das árvores para obtenção do peso fresco (Pfresco), de seguida foi seco durante 48h a 60°C e novamente pesado para obtenção do peso seco (Pseco). A percentagem do teor em água das agulhas de cada hospedeiro foi determinado pela relação: $[(\text{Pfresco}-\text{Pseco})/\text{Pfresco}]*100$. As recolhas e medições foram efectuadas ao longo do mês de Outubro de 2009.

Dimensão das agulhas

Em todos os ensaios, o comprimento das agulhas de cada hospedeiro, foi medido antes de se adicionar às larvas. A cada período de observação, 4 pares de agulhas representativos de cada um dos tipos de dieta, foram medidos com recurso a uma régua. As medições foram feitas de Setembro de 2009 a Janeiro de 2010, ao longo do decorrer dos ensaios.

2.5. Análises químicas das agulhas

Compostos primários: Carbono e Azoto foliares

As amostras de agulhas foram recolhidas em Novembro de 2009, armazenadas em sacos de plástico herméticos e colocadas numa arca criogénica a -80°C, para posterior análise do seu teor total em carbono (C) e azoto (N). Para cada dieta, recolheram-se aleatoriamente agulhas frescas das mesmas árvores usadas para os ensaios de alimentação e com os mesmos critérios de recolha (agulhas com um ano de idade e um par de agulhas de cada árvore). Cada amostra consistiu numa homogeneização de agulhas dos exemplares representativos de cada hospedeiro, tendo-se efectuado 2 repetições, resultando num total de 10 amostras. Após secagem a 60°C em estufa ventilada durante 48h, as amostras foram pesadas para obtenção de 2,5 g de material vegetal e de seguida moídas, inicialmente num moinho comum para trituração grosseira e de seguida num moinho de esferas (Retsch MM 2000), durante 3 minutos por amostra a uma velocidade de 90 rpm, para homogeneizar e conferir às partículas uma dimensão inferior a 1mm, essencial para a análise. A preparação das amostras para análise, foi efectuada no laboratório de Eco-Fisiologia, Instituto Superior de Agronomia.

A análise foliar ao conteúdo C e N foi efectuada no Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva, do INRB (Instituto Nacional dos Recursos Biológicos). O método utilizado para extracção/determinação do C e N totais foi a pirólise catalítica em analisador elementar (método interno).

Por motivos de limitação orçamental, não foi possível efectuar uma análise elementar completa dos principais elementos primários, nem aumentar o número de amostras, optando-se apenas pela determinação do C e N totais por serem dois elementos que permitem dar uma indicação mínima do estado nutritivo das agulhas de cada dieta testada.

Compostos secundários - voláteis das agulhas

Com o objectivo de estabelecer uma possível relação entre os compostos secundários produzidos nos tecidos das agulhas e a *performance* alimentar das larvas de *T. pityocampa* e *T. wilkinsoni*, fez-se a determinação da composição quantitativa e qualitativa dos metabolitos secundários do grupo dos terpenos, produzidos por cada um dos hospedeiros em estudo.

Amostras de agulhas frescas de cada dieta (cerca de 5g por amostra), recolhidas das mesmas árvores usadas nos ensaios de alimentação e com as mesmas características (agulhas com um ano), foram acondicionadas em sacos de plástico herméticos e conservadas a -80°C, para posterior análise dos compostos secundários. Para cada dieta recolheram-se aleatoriamente agulhas de cada uma das 5 árvores seleccionadas por dieta como fonte de alimento, perfazendo um total de 25 amostras.

A análise dos compostos voláteis foi efectuada no laboratório de Ecologia, do Departamento de Ciências e Engenharia do Ambiente da Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa. Para a preparação das amostras utilizou-se o método da microextracção em fase sólida do *headspace*, HS-SPME (Headspace Solid Phase Micro-Extraction), devido à sua facilidade e fiabilidade de aplicação e por não requerer a utilização de solventes extractivos (Zini *et al.*, 2002). Trata-se de uma técnica de preparação de amostras que utiliza uma fibra de sílica fundida que é introduzida no *headspace* (espaço gasoso que sobra no recipiente que contém a amostra) e que serve para extrair os constituintes orgânicos voláteis que serão depois transferidos para o instrumento analítico de absorção e análise (Zini *et al.*, 2002). A fibra utilizada para extração foi uma fibra PDMS 100µm (Polydimethylsiloxane) não polar de fase estacionária, por ser adequada para as características de polaridade dos terpenóides alvo (Mateus, com. pessoal; Supelco, 1998). As agulhas foram cortadas em pequenos pedaços, e cerca de 0,2-0,7g foram colocados em frascos de vidro com 7ml, próprios para a inserção da fibra (Supelco, 1998), para extracção pelo método HS (*headspace*) durante 45min, de forma a atingir o equilíbrio das fases. A fibra foi condicionada a 250°C durante cerca de 30min, tendo cada extracção demorado 45min garantindo assim o equilíbrio, com uma temperatura de extracção entre os 20°C e os 28°C.

Para a análise das amostras, utilizou-se o método da cromatografia gasosa e espectrometria de massa GC-MS (gas chromatography - mass spectrometry) a partir de um cromatógrafo de gás HP5890A (6,5 psi) acoplado a um espectrometro de massa Thermo Finnigan TraceMS, com detector de ionização por chama FID (Flame Ionization Detector) e equipado com uma coluna capilar DB-5 (30m x 0.32mm x 1,0µm). O injetor foi mantido a uma temperatura de 250°C. O gás de transmissão foi o hidrogénio e a temperatura da coluna foi programada de 50°C (1 min.) para 170°C a 4°C/min aumentando depois para 250°C a uma taxa de 6°C/min e mantida a 250°C durante 5min.

Dos extractos obtidos nas análises cromatográficas, seleccionaram-se os picos (*peaks*) mais representativos de todas as amostras. A composição quantitativa foi calculada a partir das áreas dos picos usando os *n*-alcanos como padrão externo. A identificação dos compostos baseou-se na comparação dos tempos de retenção (R_t) e espectros de massa obtidos pelas amostras com a informação existente na literatura (Adams, 2001) que, tendo por base os vários estudos existentes sobre os voláteis das agulhas de *P. pinaster* e *P. halepensis*, permitiu seleccionar os padrões disponíveis de monoterpenos e sesquiterpenos emitidos pelas duas espécies. Após a co-injecção dos padrões, efectuou-se a co-injecção de um padrão de alcanos lineares, tornando assim possível a determinação dos Índices de Retenção Linear, LRI (Linear Retention Indices) referentes aos vários padrões e aos picos obtidos. Para a sua determinação utilizou-se a fórmula abaixo, definida por Van den Dool & Kratz (1963) (Girard, 1996):

$$\text{LRI}(x) = 100 * \{ [\text{tr}(x) - \text{tr}(n)] / [\text{tr}(n+1) - \text{tr}(n)] \} + 100 * n$$

Em que:

LRI (x) – Índice de Retenção Linear da substância em análise

tr – tempo de retenção

x – substância a determinar

n – alcano linear com n átomos de carbono que elui antes de x

n+1 – alcano linear com n+1 átomos de carbono que elui depois de x

Comparando os valores de LRI dos padrões e dos picos obtidos, foi possível identificar os compostos emitidos, através dos seus tempos de retenção.

Açúcares Totais

A determinação dos açúcares totais, solúveis e insolúveis (amido), presentes nas agulhas das diferentes dietas, foi efectuada a partir do método químico da Antrona modificada, cuja reacção se baseia na acção hidrolítica e desidratante do ácido sulfúrico concentrado sobre os açúcares (Silva *et al.*, 2003). As análises foram feitas no Laboratório de Eco-Fisiologia, Instituto Superior de Agronomia.

Para cada hospedeiro seleccionaram-se 5 árvores, retirando-se aleatoriamente de cada uma um par de agulhas a partir do qual se pesaram 30-90mg de material fresco para análise. As amostras assim obtidas foram conservadas numa arca criogénica a -80°C até serem utilizadas para análise dos açúcares.

A moagem das amostras foi feita num almofariz de porcelana adicionando-se azoto líquido para trituração. As extracções foram efectuadas com uma solução de etanol a 70% para os açúcares solúveis e com uma solução de ácido clorídrico a 1,1% para os açúcares insolúveis. A agitação das amostras foi efectuada num termomixer (Thermomixer comfort) a 60°C durante 30min. a 1400rpm e a centrifugação numa centrífuga (Sigma 202M) durante 5min. a uma velocidade de 13.000rpm e o sobrenadante foi utilizado para determinação dos açúcares, extraíndo-se primeiro os açúcares solúveis e depois os insolúveis. Aos extractos obtidos de açúcares solúveis e insolúveis, adicionou-se 3ml de solução de antrona (375 mg de antrona em 250 ml de ácido sulfúrico a 80%).

Os açúcares totais foram quantificados por espectrofotometria, utilizando uma curva padrão de solução glucose (10 µmol/ml) a partir da qual se obteve a concentração dos açúcares. A curva de calibração foi efectuada para as seguintes concentrações de glucose: 0 µl, 35 µl, 70 µl e 140 µl. As absorvâncias das amostras e soluções de glucose, foram lidas a 620nm num espectrofotómetro Shimadzu UV-160.

A concentração de glucose foi obtida a partir da fórmula: $C=(x*(1/Va)*Ve)/A$, em que

C – concentração (µmol/mg)

x – concentração (µmol/ml) obtida pela recta de calibração $y=mx+b$, y é a absorvância (nm)

Va – volume da amostra (ml)

Ve – volume de extracção (ml)

A – peso da amostra (mg)

2.6 Análise estatística

Os dados de todos os ensaios foram analisados e processados através de tabelas dinâmicas em folha de cálculo do *Excel* (Microsoft Office 2007). Para o tratamento estatístico recorreu-se ao software *SPSS* (Statistical Package for the Social Sciences) 18.0 for *Windows*.

As diferenças entre médias foram testadas através da Análise de Variâncias Unifactorial (ANOVA one-way), depois de verificados os pressupostos da normalidade e homogeneidade das variâncias amostrais, através do Teste Kolmogorov-Smirnov (se $N>50$) ou Shapiro-Wilk (se $N<50$) e do Teste de Levene, respectivamente. Sempre que os efeitos principais eram significativos, aplicou-se o teste de Tukey HSD para a comparação das médias. Foi o caso dos dados referentes ao teor do carbono e azoto, dos dados referentes à resistência física das agulhas, do teor em água, dos açúcares totais das agulhas e o caso dos dados referentes à largura da cápsula cefálica das larvas.

Nos casos em que as variáveis não seguiam distribuição normal e não foi possível obter uma distribuição normal, por transformação de variáveis, procedeu-se à análise das diferenças entre médias através de estatísticas não paramétricas, nomeadamente o teste de Kruskal-Wallis para amostras independentes, seguido do teste de Mann-Whitney sempre que o resultado do teste de Kruskal-Wallis fosse significativo.

Os dados relativos à sobrevivência e desenvolvimento das larvas (mudanças de instar) foram organizados de forma a efectuar-se uma análise de sobrevivência, pelo estimador de Kaplan-Meier. A comparação dos tempos de sobrevivência e dos tempos de desenvolvimento das larvas para cada dieta, fez-se através do teste Log Rank (Mantel-Cox).

Os dados referentes aos compostos voláteis foram analisados através de uma Análise de Componentes Principais (ACP) de forma a diferenciar as dietas pelos seus principais compostos voláteis, recorrendo ao *software* CANOCO 4.5 for Windows. As diferentes dietas foram consideradas como casos e os compostos voláteis como variáveis.

Todos os testes foram efectuados considerando um nível de significância $\alpha=0,05$.

3. Resultados

3.1 Ensaios de alimentação

No total foram realizados 11 ensaios de alimentação para *T. pityocampa* e *T. wilkinsoni*, L1 e L2, para cada uma das dietas testadas. À exceção dos ensaios 1, 2 e 3, que duraram apenas 14 dias, todos os restantes tiveram uma duração de cerca de 30 dias, pois decorreram até à muda de todas as larvas para o instar seguinte. Os três primeiros ensaios terminaram antes da muda integral de todas as larvas testadas. Em qualquer dos ensaios efectuados para *T. pityocampa*, não foi possível testar a dieta Pinaster de viveiro, ao contrário do que aconteceu para *T. wilkinsoni*, por ter sido esta dieta introduzida no estudo posteriormente.

Sobrevivência e desenvolvimento

Os dados referentes à sobrevivência das larvas de cada espécie de processionária e aos tempos de sobrevivência foram analisados recorrendo à análise de sobrevivência, reunindo ensaios correspondentes à mesma espécie e instar larvar.

- Thaumetopoea pityocampa -

Os resultados obtidos pela análise de sobrevivência (Kaplan-Meier) para as larvas de 1º instar de *T. pityocampa*, encontram-se na Fig. 3 e a correspondente Tabela de Sobrevivência no Anexo 3. Apesar da sobrevivência das larvas ter sido baixa para qualquer das dietas testadas, foi notória uma maior percentagem de sobrevivência em Alepo de Carmel, ao longo de quase todos os períodos de observação.

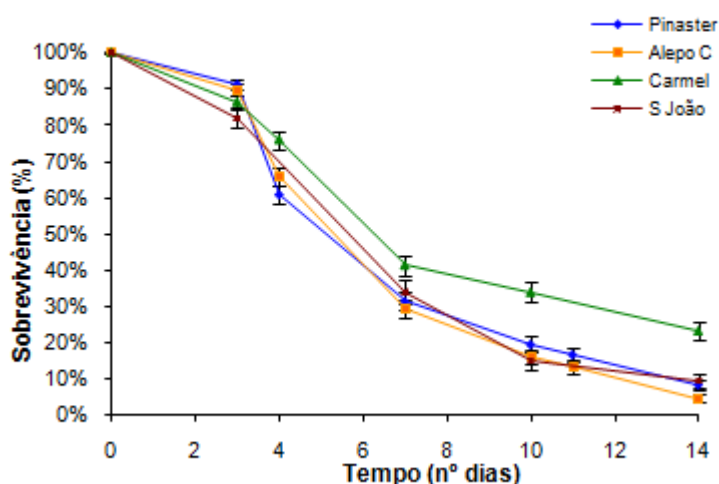


Figura 3 – Sobrevivência (%) ao longo do tempo das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea pityocampa* sob diferentes dietas alimentares (média \pm e.p.).

Não se observaram diferenças significativas entre as dietas com Pinaster de campo, Alepo de campo e Alepo de S. João ($p < 0,05$) para os tempos médios de sobrevivência das larvas L1 de *T. pityocampa* (Fig. 4, Anexo 3). Apenas a dieta com Alepo de Carmel se distinguiu das restantes, tendo as larvas sobrevivido em média mais tempo nesta dieta que em qualquer das outras (Fig. 4).

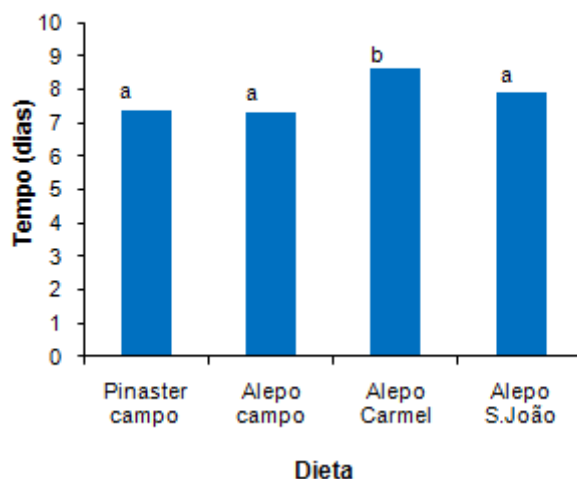


Figura 4 – Tempo médio (dias) (\pm e.p.) de sobrevivência das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea pityocampa* sob diferentes dietas alimentares.

Nos resultados relativos à sobrevivência das larvas de 2º instar de *T. pityocampa* (Figs. 5 e 6; Anexo 4), a sobrevivência ao longo do tempo foi maior para as larvas alimentadas com Alepo de S. João, seguida das dietas com Alepo de Carmel e Alepo de campo; pelo contrário, foi menor quando as larvas foram alimentadas com Pinaster de campo. Verificou-se um tempo médio de sobrevivência das larvas para a dieta Pinaster de campo significativamente inferior às restantes dietas ($p < 0,05$), sendo apenas de 15,1 dias.

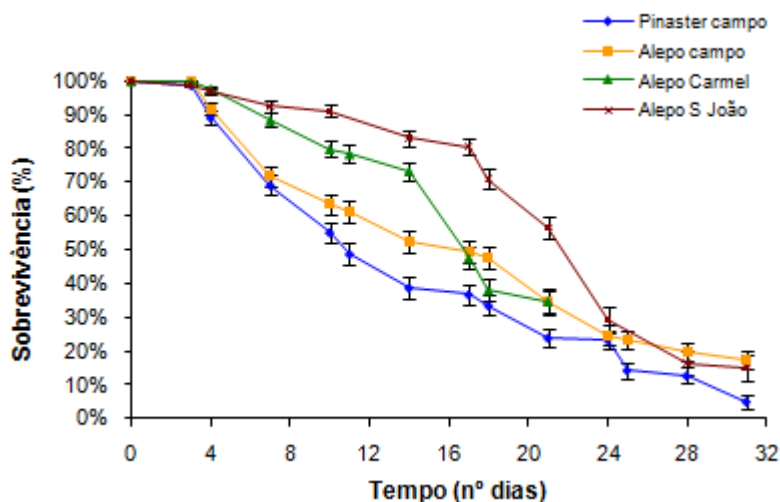


Figura 5 – Sobrevivência (%) ao longo do tempo das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea pityocampa* sob diferentes dietas alimentares (média \pm e.p.).

Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre as dietas com Alepo de campo e Alepo de Carmel. Pelo contrário, as larvas sobreviveram em média mais tempo em Alepo de S. João (22,1 dias).

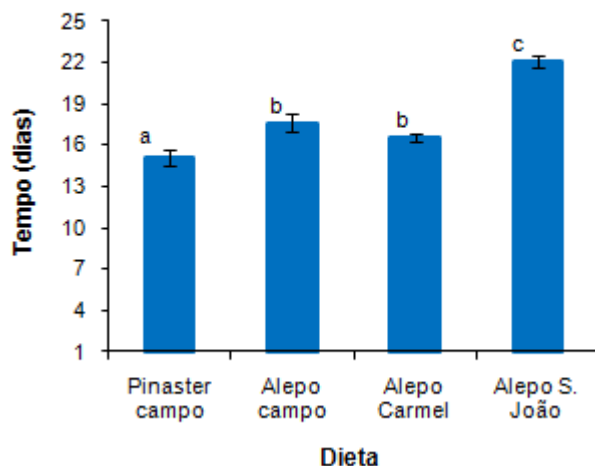


Figura 6 – Tempo médio (dias) (\pm e.p.) de sobrevivência das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea pityocampa* sob diferentes dietas alimentares.

-Thaumetopoea wilkinsoni-

Na sobrevivência ao longo do tempo obtida para as larvas L1 de *T. wilkinsoni* alimentadas com diferentes dietas, verificaram-se valores superiores de sobrevivência para as larvas alimentadas com Alepo de Carmel e Alepo de campo e menores valores de sobrevivência quando as larvas foram alimentadas com Pinaster, quer de campo quer de viveiro (Figs. 7 e 8, Anexo 5).

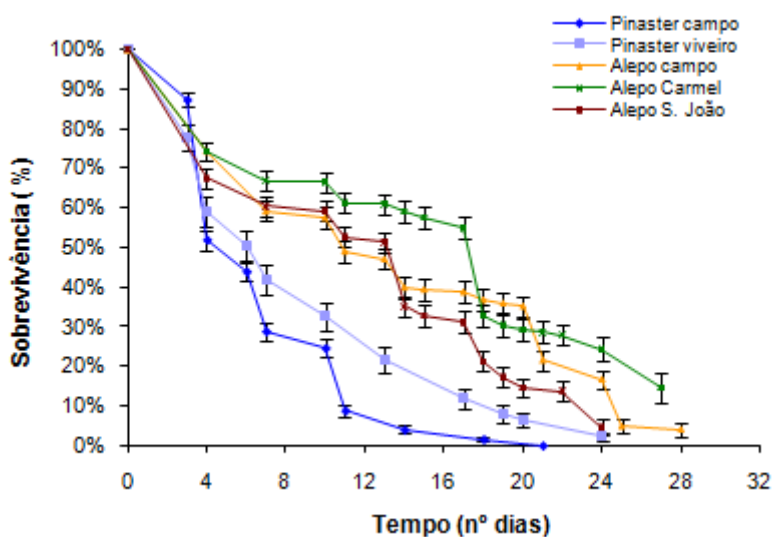


Figura 7 – Sobrevivência (%) ao longo do tempo das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni* sob diferentes dietas alimentares (média \pm e.p.).

Contudo, para qualquer das dietas, a sobrevivência das larvas decresceu rapidamente ao longo do tempo (Fig. 7). Os tempos médios de sobrevivência das larvas diferiram significativamente entre dietas ($p < 0,05$) (Anexo 5), tendo sido menores em Pinaster de campo (6,9 dias) e maiores em Alepo de Carmel (15,5 dias) (Fig. 8).

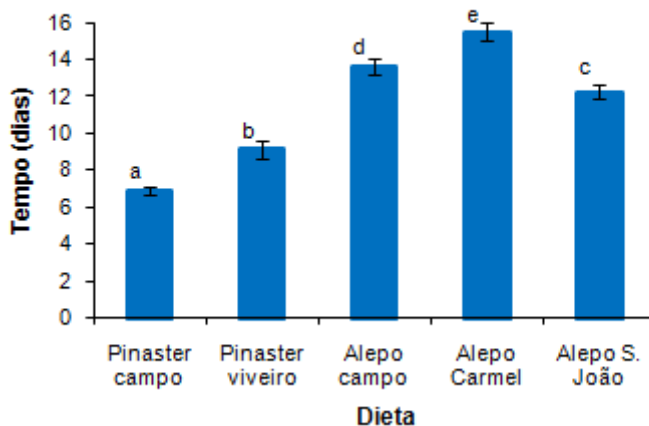


Figura 8 – Tempo médio (dias) (\pm e.p.) de sobrevivência das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni* sob diferentes dietas alimentares.

Na sobrevivência das larvas L2 de *T. wilkinsoni* alimentadas com diferentes dietas, verificaram-se valores muito inferiores de sobrevivência para as larvas alimentadas com Pinaster de campo (Figs. 9 e 10; Anexo 6). Para as restantes dietas, a sobrevivência das larvas ao longo do tempo não variou significativamente, verificando-se no entanto valores de sobrevivência ligeiramente mais elevados para as larvas alimentadas com Alepo de Carmel (Fig. 10).

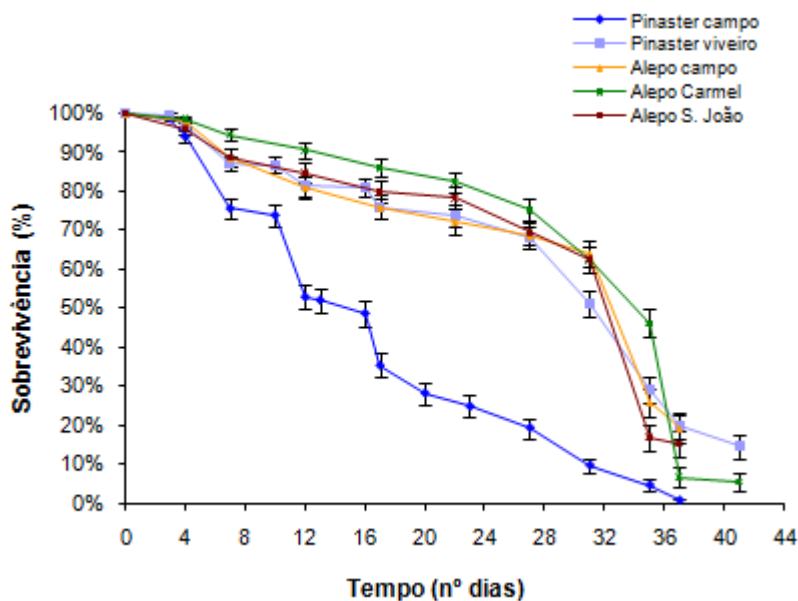


Figura 9 – Sobrevivência (%) ao longo do tempo das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni* sob diferentes dietas alimentares (média \pm e.p.).

O teste de Log-Rank (Anexo 6), permitiu verificar que apenas a dieta Pinaster de campo se diferenciou das restantes em relação ao tempo médio de sobrevivência das larvas, tendo sido nesta dieta onde as larvas sobreviveram em média menos tempo (17,3 dias). As restantes dietas não apresentaram diferenças significativas nos tempos médios de sobrevivência das larvas.

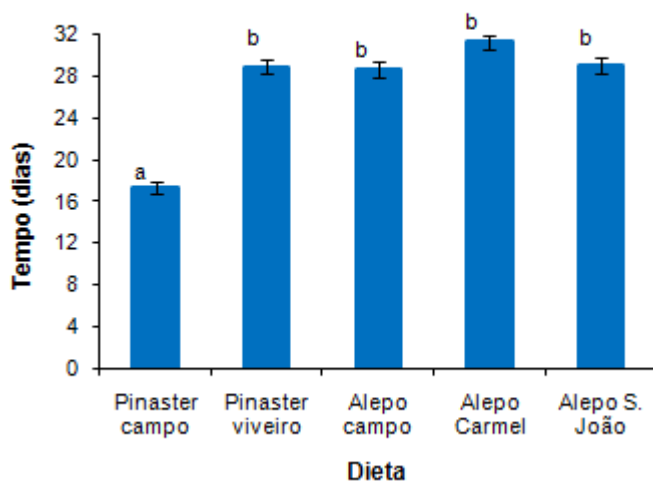


Figura 10 – Tempo médio (dias) (\pm e.p.) de sobrevivência das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni* sob diferentes dietas alimentares.

Quando comparadas entre si, as larvas de 1º e 2º instares de *T. pityocampa* e de *T. wilkinsoni* apresentaram diferentes tempos médios de sobrevivência para cada dieta estudada (Figs. 11 e 12).

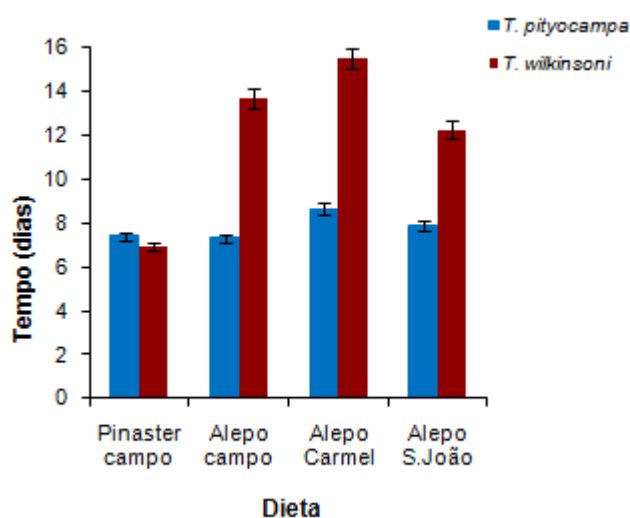


Figura 11 - Tempo médio (dias) (\pm e.p.) de sobrevivência das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea pityocampa* e *T. wilkinsoni* sob diferentes dietas alimentares.

Para as larvas de 1º instar, verificou-se uma melhor sobrevivência das larvas de *T. wilkinsoni* que das de *T. pityocampa* para todas as dietas de *P. halepensis*, enquanto que para Pinaster de

campo as larvas de *T. pityocampa* apresentaram maiores tempos médios de sobrevivência que as de *T. wilkinsoni* (Fig. 11). As maiores diferenças entre as duas espécies verificam-se sobretudo na dieta com Alepo de Carmel (Fig. 11).

Em relação às larvas de 2º instar, também se verificou uma melhor sobrevivência das larvas de *T. wilkinsoni* em todas as dietas, inclusivé em Pinaster de campo, comparativamente com os tempos de sobrevivência médios das larvas de *T. pityocampa* (Fig. 12). Novamente, as maiores diferenças entre as duas espécies, ocorreram ao nível da dieta com Alepo de Carmel (Fig. 12).

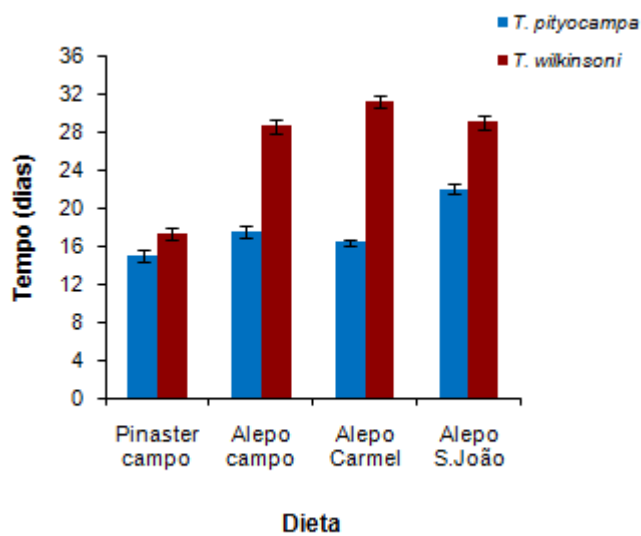


Figura 12 - Tempo médio (dias) (\pm e.p.) de sobrevivência das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea pityocampa* e *T. wilkinsoni* sob diferentes dietas alimentares.

O desenvolvimento larvar de *T. pityocampa* e *T. wilkinsoni* nas diferentes dietas testadas, foi analisado com base nas mudanças de instar.

-Thaumetopoea pityocampa-

Ao longo do tempo de duração dos ensaios com larvas de 1º instar de *T. pityocampa*, registou-se uma maior proporção de mudanças de instar (de L1 para L2) nas larvas desenvolvidas em Pinaster de campo e em Alepo de Carmel; isto é, aparentemente, desenvolveram-se melhor nestas duas dietas (Fig. 13). Verificou-se também que o maior número de mudanças de instar para todas as dietas, se deram entre o 4º e o 10º dias de desenvolvimento das larvas.

Em média, as larvas demoraram mais tempo a desenvolverem-se quando alimentadas com Alepo de campo (12,2 dias) ou com Alepo de S. João (11,3 dias), comparativamente com as dietas Pinaster de campo (10,8 dias) e Alepo de Carmel (10 dias) (Fig. 14, Anexo 7).

Contudo, as diferenças entre Pinaster de campo, Alepo de Carmel e Alepo de S. João, não foram estatisticamente significativas (Anexo 7, Fig. 14).

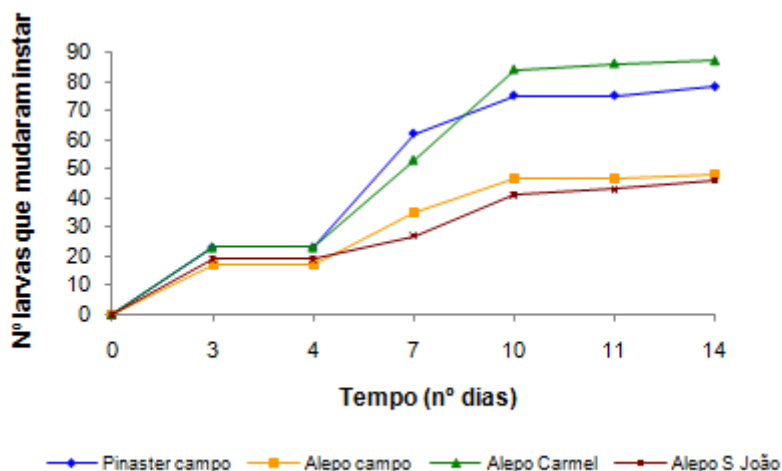


Figura 13 – Mudanças de instar cumulativas de L1 para L2, ao longo do tempo, das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea pityocampa*.

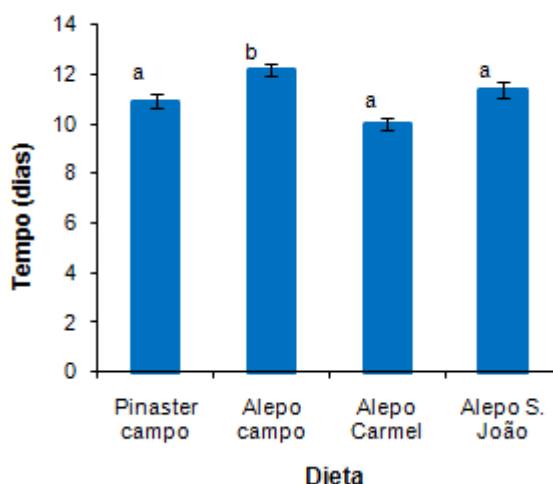


Figura 14 – Tempo médio (dias) (\pm e.p.) de desenvolvimento (mudanças de instar de L1 para L2) por dieta, das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea pityocampa*.

Nos ensaios com larvas de 2º instar de *T. pityocampa*, registou-se ao longo do tempo uma maior proporção do número de mudas (de L2 para L3) nas larvas alimentadas com Alepo de S. João e com Alepo de Carmel do que nas larvas alimentadas com Pinaster de campo e Alepo de campo (Fig. 15). As larvas alimentadas com Alepo de Carmel e Alepo de S. João, ao fim de 24 dias de desenvolvimento tinham mudado todas para o 3º instar, enquanto que nas restantes dietas o desenvolvimento prolongou-se por mais tempo (Fig. 15). Tal significa que as larvas se desenvolveram mais depressa em Alepo de Carmel tendo em média precisado de 11,3 dias para mudarem de instar (Anexo 8 e Fig. 16). Para as dietas com Alepo de Carmel e

Alepo de S. João, as mudanças de instar ocorreram entre o 4º e o 14º dias, enquanto que para Alepo de campo e Pinaster de campo, ocorreram entre o 4º e 18º dias (Fig. 15).

O tempo médio de desenvolvimento das larvas em Pinaster de campo e em Alepo de campo não apresentou diferenças significativas ($p=0,594$), mas as dietas com Alepo de Carmel e Alepo de S. João diferiram entre si ($p= 0,008$) (Anexo 8, Fig. 16). Foi nestas duas dietas que o tempo em que decorreram as mudanças de instar, foi menor (11,2 dias e 13,2 dias, respectivamente). Para Alepo de campo, o tempo médio de desenvolvimento foi de 19,5 dias e para Pinaster de campo foi de 20 dias (Fig. 16).

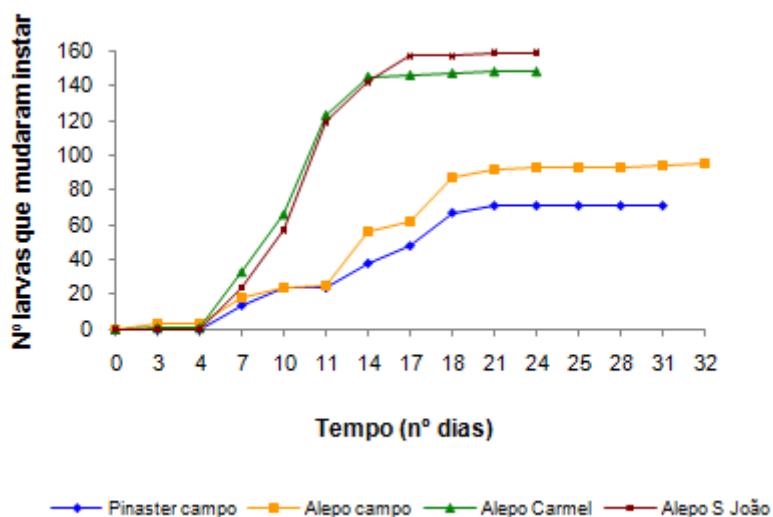


Figura 15 – Mudanças de instar cumulativas de L2 para L3, ao longo do tempo, das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea pityocampa*.

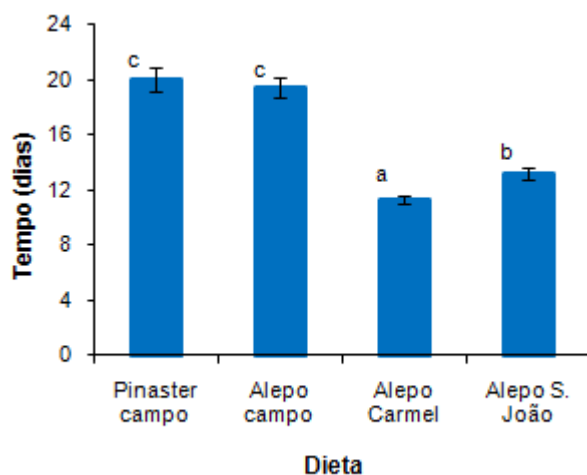


Figura 16 – Tempo médio (dias) (\pm e.p.) de desenvolvimento (mudanças de instar de L2 para L3) por dieta, das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea pityocampa*.

-Thaumetopoea wilkinsoni-

Os resultados da análise do desenvolvimento das larvas do 1º instar de *T. wilkinsoni*, revelaram um desenvolvimento mais rápido nas larvas alimentadas com Alepo de Carmel e Alepo de S. João (Fig. 17), tendo os ensaios nestas 2 dietas finalizado (isto é, estando todas as larvas vivas em L2) ao fim de 24 dias. Foi também nestas dietas que se registou um maior número de mudanças de instar. Para a dieta com Alepo de campo, foram necessários 25 dias para que todas as larvas mudassem de instar; para a dieta com Pinaster de campo, o ensaio terminou ao fim de 21 dias, mas com poucas larvas em 2º instar (Fig. 17), o que esteve associado a elevada mortalidade das larvas nesta dieta. O mesmo aconteceu com a dieta Pinaster de viveiro, em que poucas larvas mudaram de instar e o desenvolvimento se prolongou por 24 dias (Fig. 17).

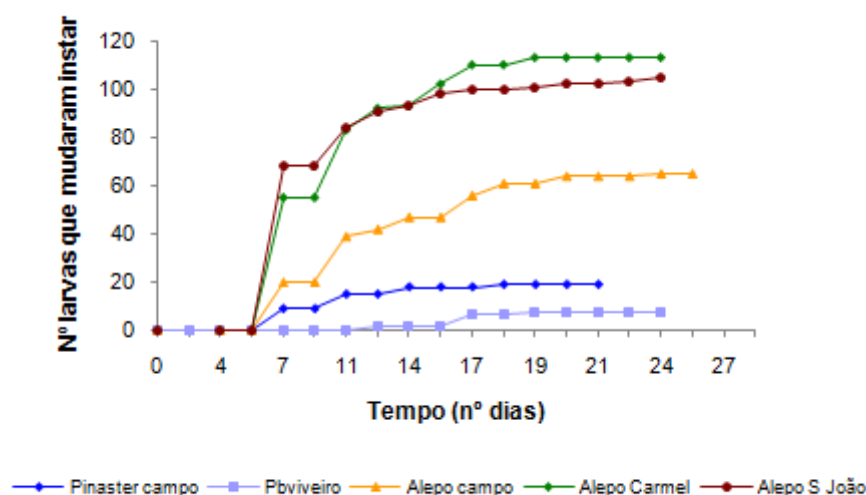


Figura 17 – Mudanças de instar cumulativas de L1 para L2, ao longo do tempo, das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni*.

Não se verificaram diferenças significativas no tempo médio de desenvolvimento das larvas nas dietas com Alepo de Carmel e com Alepo de S. João ($p=0,353$); o mesmo aconteceu para as dietas com Pinaster ($p=0,073$); a dieta com Alepo de campo foi a única em que as diferenças foram significativas (Anexo 9, Fig. 18). As larvas desenvolveram-se mais rapidamente nas dietas com Alepo de Carmel e Alepo de S. João, demorando em média 13,5 e 13,8 dias para mudarem de instar, respectivamente (Anexo 9). Contrariamente, para as dietas com Pinaster, precisaram de mais tempo até completarem a muda (Fig. 18).

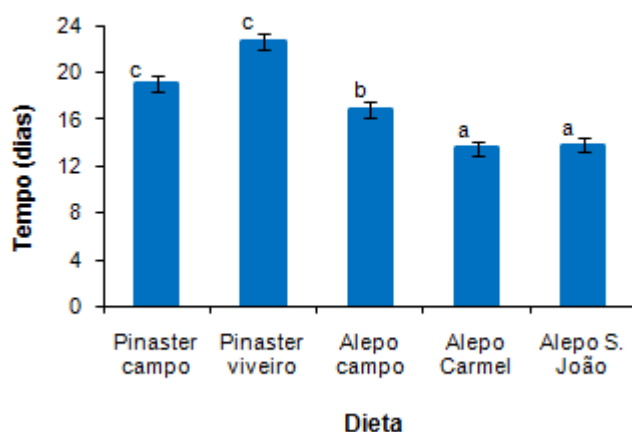


Figura 18 – Tempo médio (dias) (\pm e.p.) de desenvolvimento (mudanças de instar de L1 para L2) por dieta, das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni*.

Os resultados da análise do desenvolvimento das larvas do 2º instar de *T. wilkinsoni*, revelaram que na dieta com Pinaster de campo as mudanças de instar foram muito reduzidas e que Alepo de Carmel, Alepo de S. João e Pinaster de viveiro, foram as dietas em que ocorreu o maior número de mudanças de instar (Fig. 19).

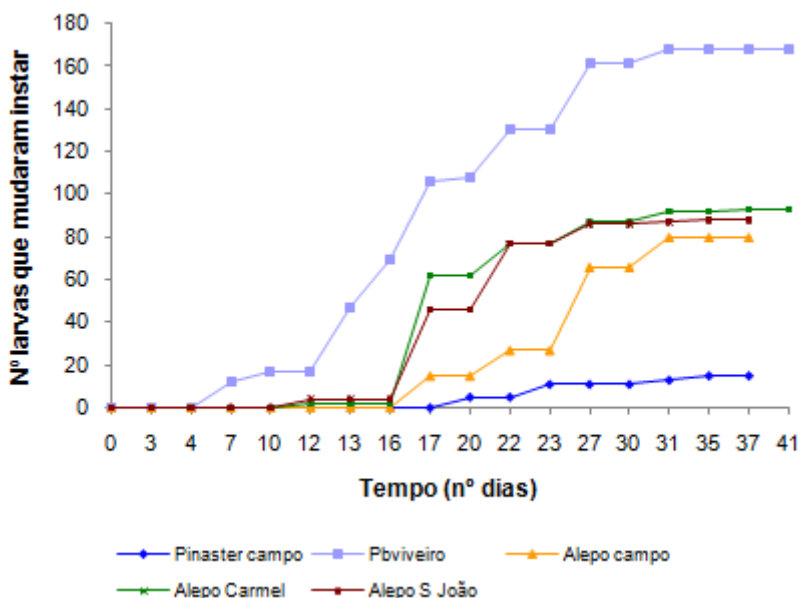


Figura 19 – Mudanças de instar cumulativas de L2 para L3, ao longo do tempo, das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni*.

Não se verificaram diferenças significativas no tempo médio de desenvolvimento das larvas quando alimentadas pelas dietas Alepo de Carmel e Alepo de S. João (Anexo 10, Fig. 20). As restantes dietas diferenciaram-se, tendo demorado em média mais tempo a mudar de instar em

Pinaster de campo (33,6 dias) e menos tempo em Pinaster de viveiro (21,2 dias) (Anexo 10, Fig. 20). Pinaster de viveiro foi a dieta em que as larvas precisaram de menos tempo para efectuarem a mudança de instar (Fig. 20).

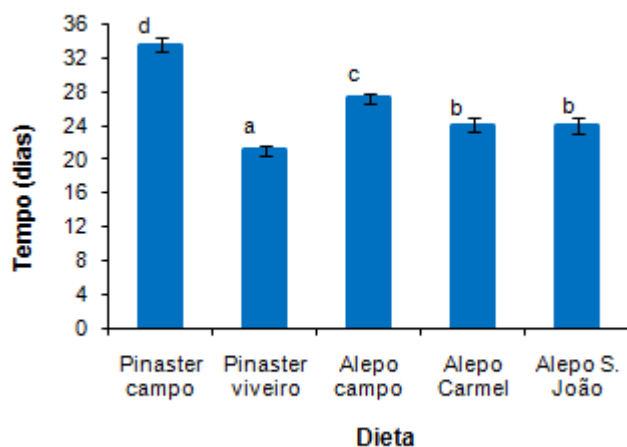


Figura 20 – Tempo médio (dias) (\pm e.p.) de desenvolvimento (mudanças de instar de L2 para L3) por dieta, das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni*.

Os tempos médios de desenvolvimento das larvas de 1º e 2º instares de *T. pityocampa* e de *T. wilkinsoni* apresentaram diferenças para as duas espécies, verificando-se tanto para L1 como para L2, que as larvas de *T. wilkinsoni* registaram maiores tempo de desenvolvimento (Figs. 21 e 22). Para as larvas de 1º instar, as diferenças entre espécies acentuaram-se mais em Pinaster de campo (Fig. 21), enquanto que para as de 2º instar essas diferenças se verificaram quer em Pinaster campo quer em Alepo de Carmel (Fig. 22). Para ambas as espécies, o desenvolvimento foi mais rápido para as larvas de 1º instar do que para as de 2º instar (Figs. 21 e 22).

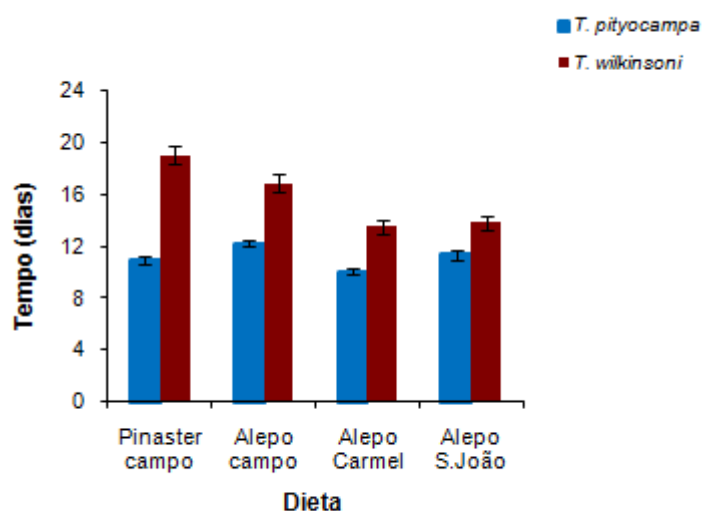


Figura 21 - Tempo médio (dias) (\pm e.p.) de desenvolvimento das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea pityocampa* e *T. wilkinsoni* sob diferentes dietas alimentares.

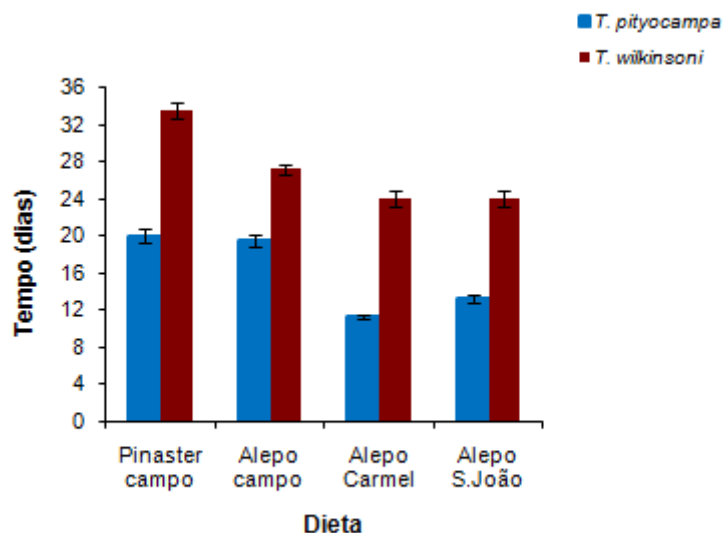


Figura 22 - Tempo médio (dias) (\pm e.p.) de desenvolvimento das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea pityocampa* e *T. wilkinsoni* sob diferentes dietas alimentares.

Consumo das agulhas e produção de fezes

As quantidades de alimento consumido em cada dieta foram expressas em milímetros de agulha consumidos por larva por dia. Para *T. pityocampa* não foi possível testar o consumo em Pinaster de viveiro, pois nessa altura esta dieta ainda não tinha sido considerada no estudo.

-Thaumetopoea pityocampa-

Para os ensaios realizados com larvas de 1º instar de *T. pityocampa*, o Teste de Kruskal-Wallis mostrou existirem diferenças estatisticamente significativas no consumo das larvas entre as diferentes dietas ($H(3)=56,3$; $p<0,05$) (Anexo 11), com uma ordem média de 39,5 para Pinaster de campo, de 68,8 para Alepo de campo, de 104,9 para Alepo de Carmel e de 80,7 para Alepo de S. João (Fig. 23).

O teste de Mann-Whitney permitiu verificar que existiram diferenças estatisticamente significativas entre Pinaster de campo e as restantes dietas no que diz respeito ao consumo das larvas, o mesmo se passando entre Alepo de Carmel e as restantes dietas (Anexo 11), sendo Alepo de Carmel a dieta em que se registou maior consumo pelas larvas. As dietas com Alepo de campo e Alepo de S. João não diferiram significativamente uma da outra (Fig. 23).

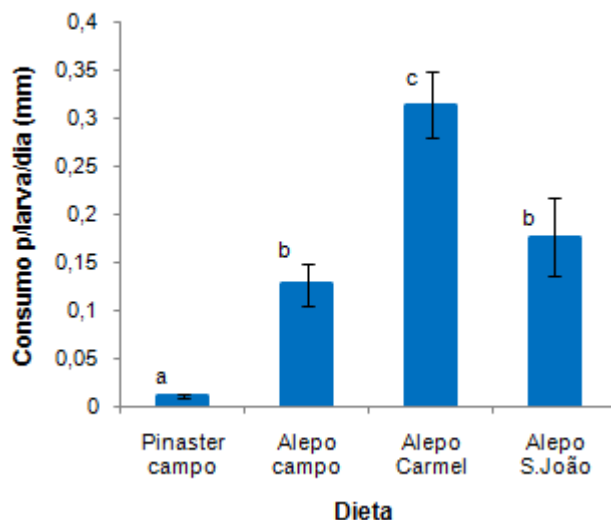


Figura 23 – Consumo (mm) médio (\pm e.p.) por dieta das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea pityocampa*.

Ao longo do tempo o consumo foi sempre maior em Alepo de Carmel e menor em Pinaster de campo (Fig. 24). O gráfico mostra também que o consumo aumentou com o tempo, excepto ao fim de 4 dias, período em que as larvas reduziram o consumo, o que correspondeu ao início de um período de maiores mudanças de instar (Fig. 13).

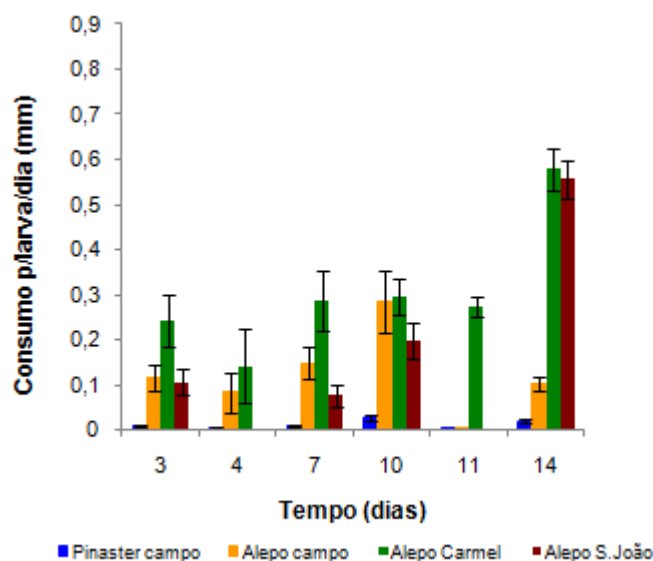


Figura 24 – Consumo (mm) ao longo do tempo das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea pityocampa* (média \pm e.p.).

Nos ensaios realizados com larvas de 2º instar de *T. pityocampa*, registaram-se também diferenças estatisticamente significativas do consumo médio entre as diferentes dietas ($H(3)=110,5$; $p<0,05$) (Anexo 12). Os consumos foram significativamente inferiores na dieta com Pinaster de campo comparativamente às restantes (Fig. 25). As dietas com Alepo de campo, Alepo de S. João e Alepo de Carmel, não registaram diferenças significativas (Anexo

12), tendo apresentado consumos semelhantes, embora tenha sido nesta última dieta que se registaram os maiores consumos pelas larvas e onde a variabilidade foi também maior (Fig. 25).

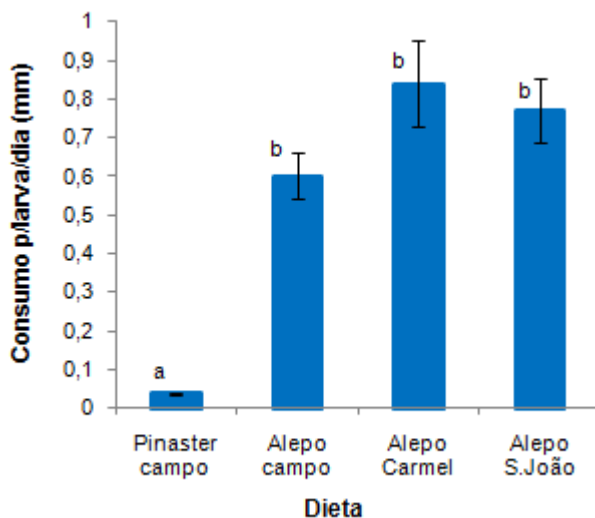


Figura 25 – Consumo (mm) médio (\pm e.p.) por dieta das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea pityocampa*.

Ao longo do tempo as dietas em que se registaram maiores consumos foram Alepo de Carmel e Alepo de S. João (Fig. 26). Aliás, as larvas desenvolveram-se mais rapidamente quando alimentadas com estas duas dietas; ao fim de 21 dias a maioria das larvas alimentadas com Alepo de Carmel tinha mudado para o 3º instar.

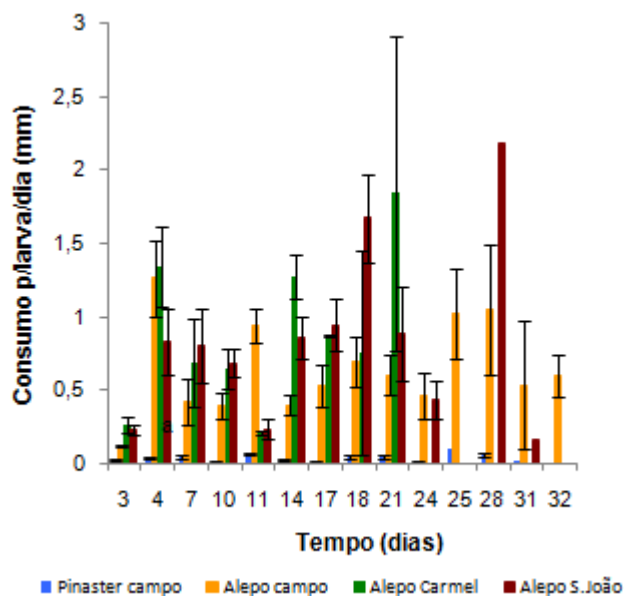


Figura 26 – Consumo (mm) ao longo do tempo das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea pityocampa* (média \pm e.p.).

O gráfico mostra também os momentos em que há redução do consumo das larvas em cada dieta, correspondendo esse período aos momentos das mudanças de instar (Fig. 15). Assim, no caso de Alepo de Carmel e de Alepo de S. João, verificou-se uma redução no consumo a partir do 7º dia, seguido de aumentos a partir do 14º dia, registrando-se valores mínimos de consumo no 11º dia (Fig. 26). No caso de Alepo de campo o consumo foi irregular ao longo do tempo e no caso de Pinaster de campo o consumo foi muito reduzido em todos os momentos de observação (Fig. 26).

-Thaumetopoea wilkinsoni-

A análise do consumo médio das larvas L1 de *T. wilkinsoni*, evidenciou diferenças significativas entre as diferentes dietas ($H(4)=121,6$; $p=0,000$) (Fig. 27; Anexo 13). O consumo médio em Pinaster de campo e em Pinaster de viveiro foi significativamente inferior ao das restantes dietas, seguido da dieta com Alepo de campo, que se distinguiu das dietas com Alepo de Carmel e de Alepo de S. João. Os consumos médios nestas duas dietas foram semelhantes e os mais elevados (Fig. 27).

Também ao longo do tempo, os consumos foram maiores para as larvas alimentadas com as dietas Alepo de Carmel e Alepo de S. João, mas registando grande variabilidade (Fig. 28). Por volta do 13º dia houve uma redução no consumo das larvas nestas duas dietas, o que coincidiu com o período de maiores mudanças de instar das larvas (Fig. 17). Nas dietas com Pinaster, quer de campo quer de viveiro, os consumos foram muito reduzidos ao longo de todo o tempo dos ensaios (Fig. 28).

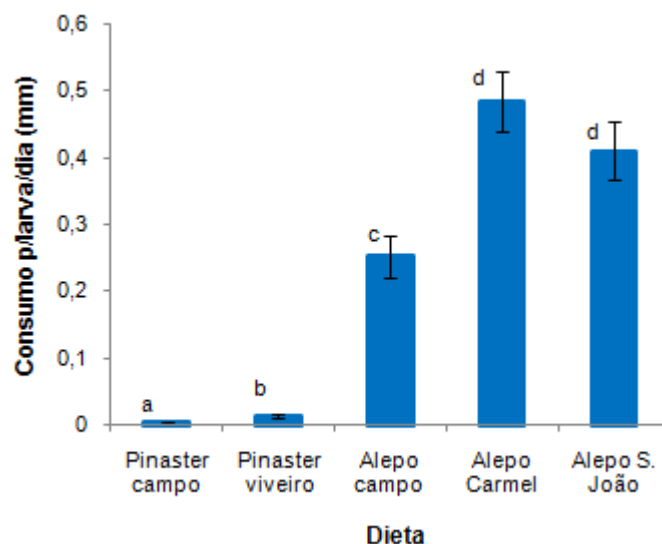


Figura 27 – Consumo (mm) médio (\pm e.p.) por dieta das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni*.

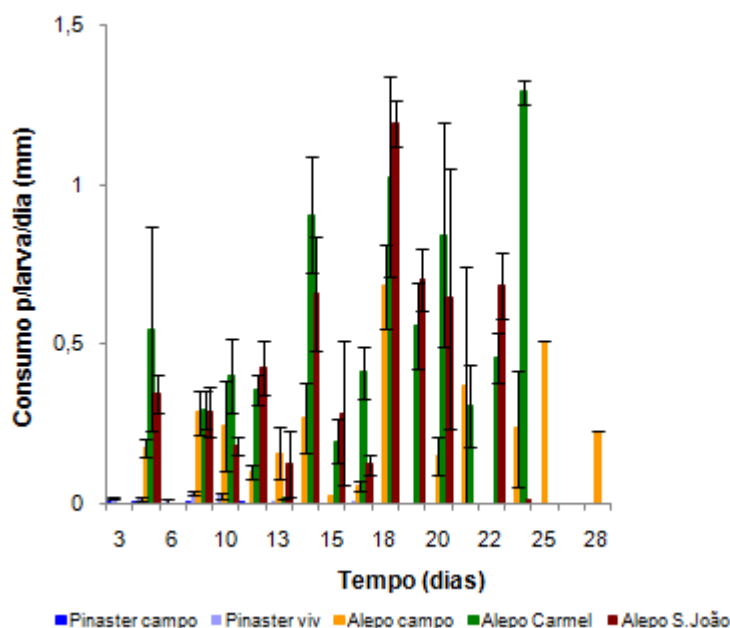


Figura 28 – Consumo (mm) ao longo do tempo das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni* (média \pm e.p.).

Também nos ensaios com larvas de 2º instar de *T. wilkinsoni*, houve diferenças significativas no consumo das larvas entre as diferentes dietas ($H(4)=141,5$; $p=0,000$) (Fig. 29; Anexo 14). Mais uma vez, os consumos em Pinaster de campo e Pinaster de viveiro foram muito inferiores aos consumos nas restantes dietas. As dietas com Alepo de campo e Alepo de Carmel não apresentaram diferenças significativas, em termos de consumo pelas larvas, enquanto Alepo de S. João apresentou os maiores valores de consumo (Fig. 29). Ao longo do tempo o consumo foi em geral maior nas dietas com Alepo de Carmel e Alepo de S. João e menor nas duas dietas de Pinheiro bravo. Também foi possível verificar uma redução do consumo em todas as dietas entre o 12º e o 17º dias de ensaio (Fig. 30), devida às mudanças de instar.

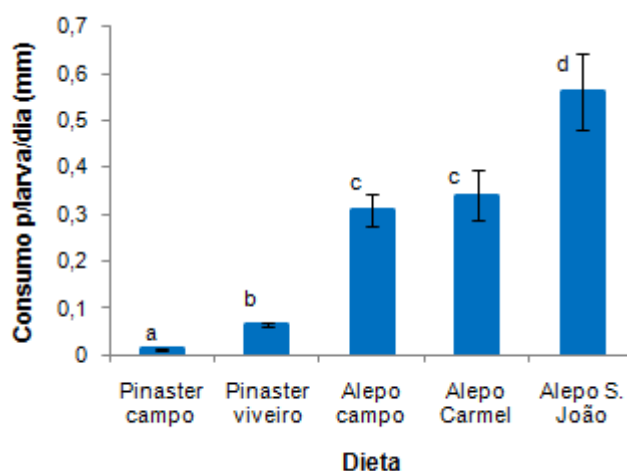


Figura 29 – Consumo (mm) médio (\pm e.p.) por dieta das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni*.

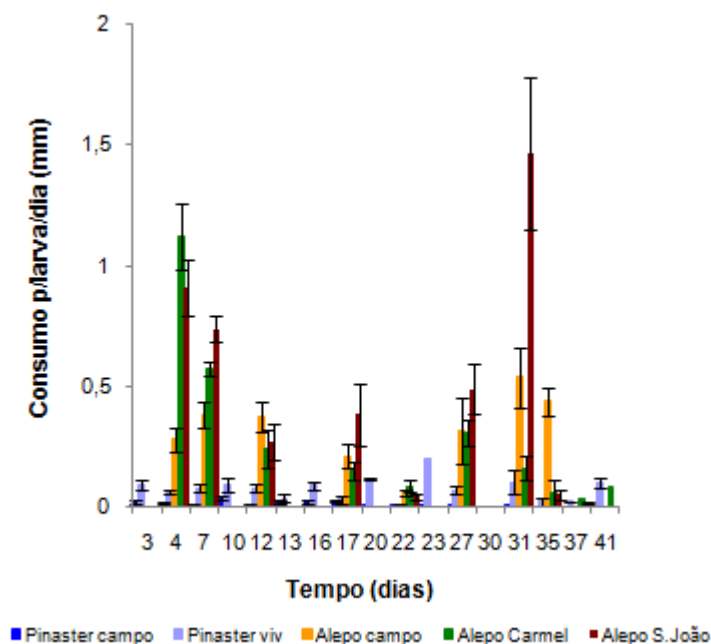


Figura 30– Consumo (mm) ao longo do tempo das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni* (média ± e.p.).

A análise do consumo das duas espécies de processionária, permitiu verificar para as larvas de 1º instar, maiores consumos médios das larvas de *T. wilkinsoni* comparativamente com as de *T. pityocampa* nas dietas com Alepo, mas não na dieta com Pinaster. Para ambas as espécies, os consumos foram maiores em *P. halepensis*, particularmente em Alepo de Carmel. As diferenças de consumo entre as duas espécies foi maior em Alepo de S. João. Em Pinaster campo, os consumos de ambas as espécies foram muito baixos (Fig. 31).

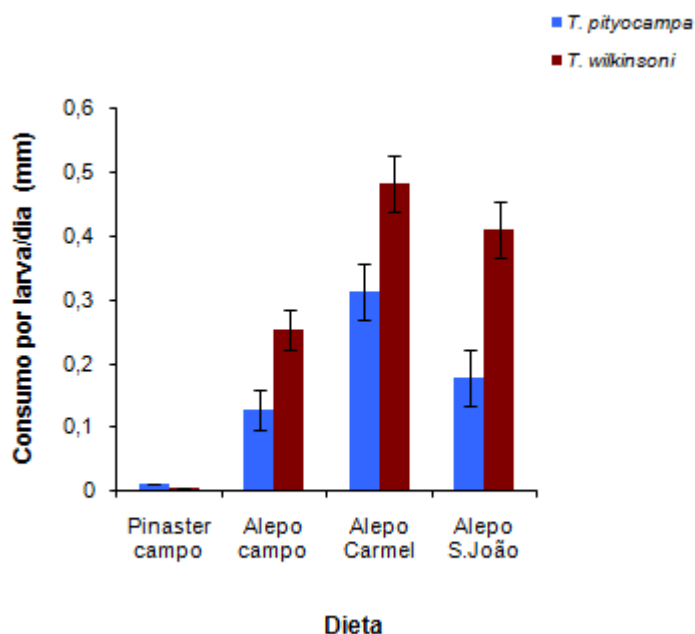


Figura 31 – Consumo médio (± e.p.) das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea pityocampa* e *T. wilkinsoni* sob diferentes dietas.

Contrariamente, para as larvas de 2º instar, os consumos médios foram maiores em *T. pityocampa* para qualquer das dietas estudadas, sendo as diferenças entre as duas espécies mais acentuadas em Alepo de Carmel (Fig. 32). Este facto poderá relacionar-se com um melhor desenvolvimento das mandíbulas das larvas de 2º instar de *T. pityocampa*.

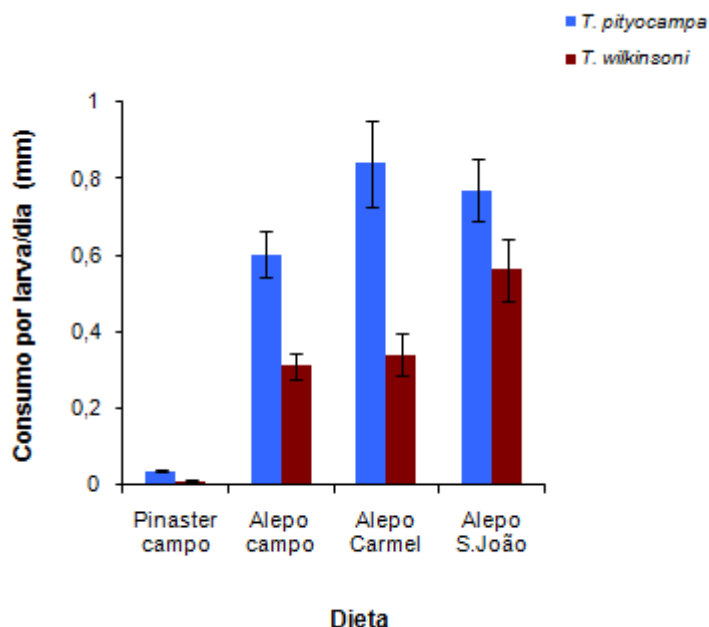


Figura 32 – Consumo médio (\pm e.p.) das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea pityocampa* e *T. wilkinsoni* sob diferentes dietas.

As fezes produzidas pelas larvas por dieta em cada ensaio, foram quantificadas e expressas em miligramas por larva e por dia. À semelhança do consumo, em *T. pityocampa* não se obtiveram dados para a dieta Pinaster de viveiro, pois nessa altura esta dieta ainda não tinha sido considerada no estudo.

-Thaumetopoea pityocampa-

Os resultados da produção de fezes das larvas do 1º instar de *T. pityocampa*, não revelaram diferenças significativas entre dietas ($H(3)=4,780$; $p=0,189$), o que se deve à grande variabilidade destes dados (Anexo 15, Fig. 33). A única dieta que se distinguiu das restantes foi Alepo de campo, com menor produção de fezes pelas larvas.

Os elevados valores de produção de fezes em Pinaster campo (Fig 33), por contraste aos baixos valores de consumo (Fig. 23 acima), justificam-se pelo facto de as larvas já se terem alimentado desta espécie antes de se iniciarem os ensaios (cf. com ponto 2.2).

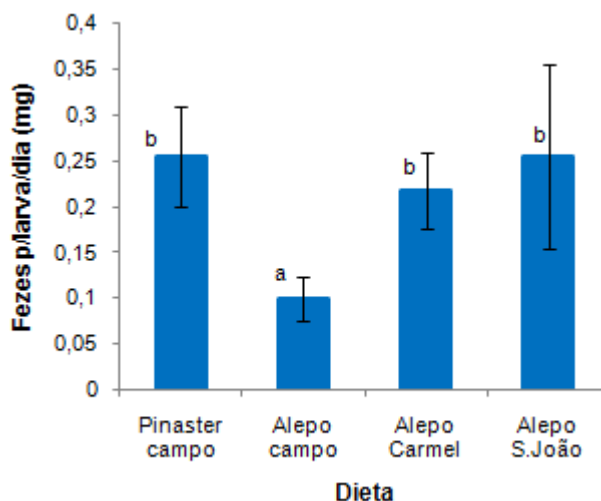


Figura 33 – Produção de fezes (mg) das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea pityocampa* alimentadas com diferentes dietas (média \pm e.p.).

A produção de fezes pelas larvas de 2º instar de *T. pityocampa*, não apresentou diferenças significativas entre dietas ($H(3)=5,949$; $p=0,114$), (Anexo 16, Fig. 34). Igualmente, os elevados valores de fezes em Pinaster de campo, comparativamente com os baixos consumos observados (Fig 25 acima), devem-se ao facto de as larvas já se encontrem a consumir alimento antes de se iniciarem os ensaios o que contribuiu com valores mais elevados de fezes nos primeiros 3 a 4 dias de observação, após se terem iniciado os ensaios.

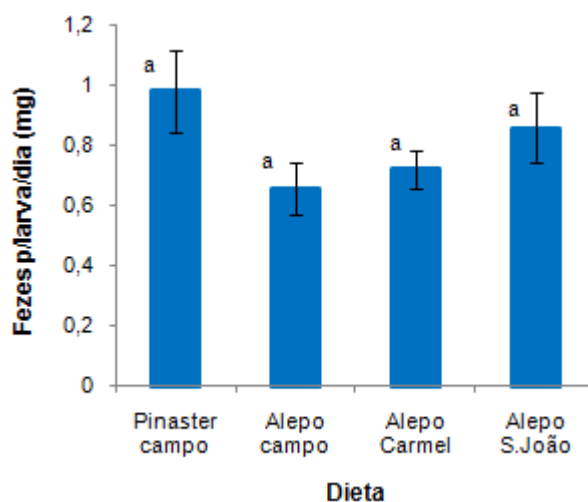


Figura 34 – Produção de fezes (mg) das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea pityocampa* alimentadas com diferentes dietas (média \pm e.p.).

-Thaumetopoea wilkinsoni-

Os resultados da produção de fezes das larvas do 1º instar de *T. wilkinsoni*, revelaram existir diferenças estatisticamente significativas entre dietas ($H(4)=63,602$; $p=0,000$) (Anexo 17, Fig.

35). As diferenças ocorreram entre pinheiros bravos e pinheiros de alepo e nestes, entre Alepo de Carmel e Alepo de S. João (Anexo 17, Fig. 35).

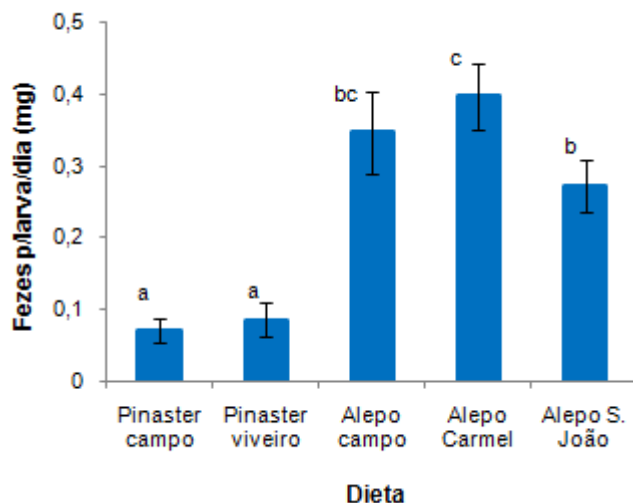


Figura 35 – Produção de fezes (mg) das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni* alimentadas com diferentes dietas (média \pm e.p.).

Para as larvas de 2º instar de *T. wilkinsoni*, os resultados da análise da produção de fezes revelaram também diferenças estatisticamente significativas entre dietas ($H(4)=159,9$; $p=0,000$) (Anexo 18, Fig. 36). As diferenças ocorreram entre as duas dietas com Pinaster e as restantes dietas, com maiores valores de produção de fezes para as larvas alimentadas com Pinaster de viveiro (Fig. 36). Entre as dietas com Alepo de campo e Alepo de Carmel, não se verificaram diferenças significativas na produção de fezes.

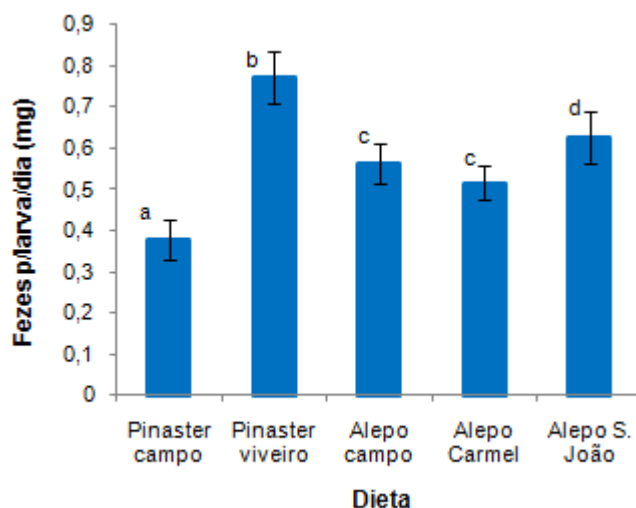


Figura 36 – Produção de fezes (mg) das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea wilkinsoni* alimentadas com diferentes dietas (média \pm e.p.).

A análise da produção de fezes das duas espécies de processionária, revelou, para as larvas de 1º instar, uma maior produção de fezes pelas larvas de *T. wilkinsoni* comparativamente com as de *T. pityocampa*, mas apenas para as dietas com *P. halepensis*; tendo-se verificado maiores diferenças entre as duas espécies em Alepo de campo (Fig. 37). Para a dieta com Pinheiro bravo, as larvas de *T. pityocampa* produziram maior quantidade de fezes (Fig. 37). Estes valores estão de acordo com os valores do consumo pelas duas espécies (Fig. 31).

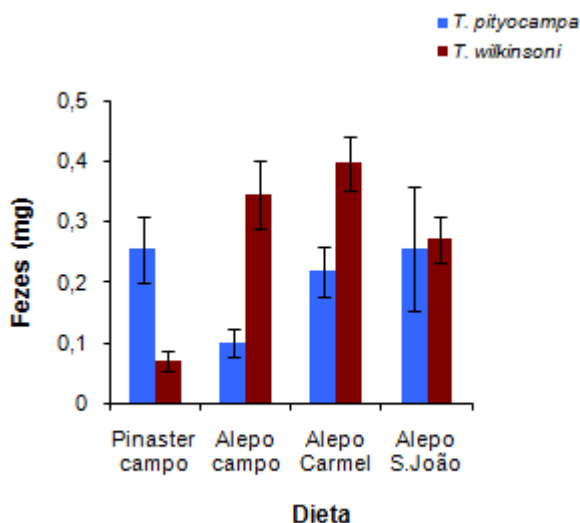


Figura 37 – Produção média de fezes (\pm e.p.) das larvas de 1º instar de *Thaumetopoea pityocampa* e *Thaumetopoea wilkinsoni* sob diferentes dietas.

Para as larvas de 2º instar, a produção de fezes foi maior nas larvas de *T. pityocampa* em todas as dietas estudadas (Fig. 38). As diferenças entre as duas espécies foram maiores para as dietas com *P. halepensis*, sobretudo para Alepo de Carmel (Fig. 38). Estes valores estão de acordo com os valores de consumo obtidos para estas duas espécies (Fig. 32).

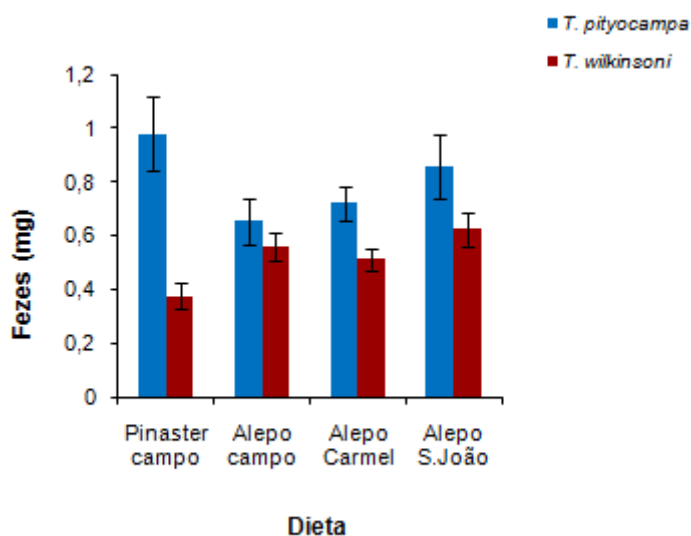


Figura 38 – Produção média de fezes (\pm e.p.) das larvas de 2º instar de *Thaumetopoea pityocampa* e *Thaumetopoea wilkinsoni* sob diferentes dietas.

Largura da cápsula cefálica

Houve diferenças significativas na largura da cápsula cefálica entre as larvas de *T. pityocampa* e de *T. wilkinsoni*, quer para o primeiro instar ($F=18,324$; g.l.=1,1; $p=0,000$), quer para o segundo instar ($F=152,0$; g.l.=1,1; $p=0,000$) (Anexo 19). A cápsula cefálica foi maior nas larvas de *T. pityocampa* comparativamente às de *T. wilkinsoni*, para ambos os instares (Fig. 39). As diferenças entre espécies acentuaram-se mais no segundo instar.

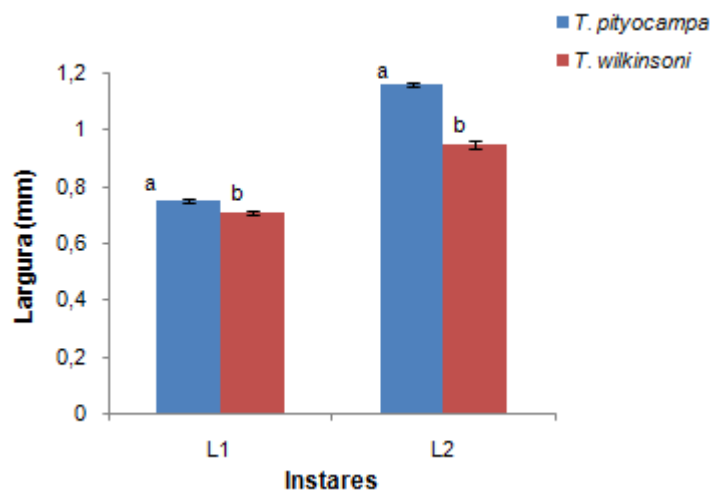


Figura 39 - Largura da cápsula cefálica (mm) das larvas de 1º e 2º instares de *Thaumetopoea pityocampa* e *Thaumetopoea wilkinsoni* (média \pm e.p.).

3.2 Análise de parâmetros físicos das agulhas

Resistência física da agulhas – resistência à tracção

Os resultados da determinação da resistência das agulhas à tracção dos diferentes hospedeiros que constituíram as dietas alimentares testadas, evidenciaram diferenças significativas entre as várias dietas alimentares relativamente às características de dureza das suas agulhas (sobretudo a plasticidade) ($F_{4,245}=374,09$; $p<0,05$) (Anexo 20). As agulhas de pinheiro bravo do campo foram as que resistiram mais à tracção (0,054 Kgf) e consequentemente as mais duras (Fig. 40). As agulhas das dietas com *P. halepensis* tiveram valores mais baixos de resistência à tracção, o que revela que foram as mais tenras, sobretudo as agulhas de Alepo de S. João (0,026 Kgf). As agulhas de Alepo de campo e Alepo de Carmel, não apresentaram diferenças quanto à resistência à tracção.

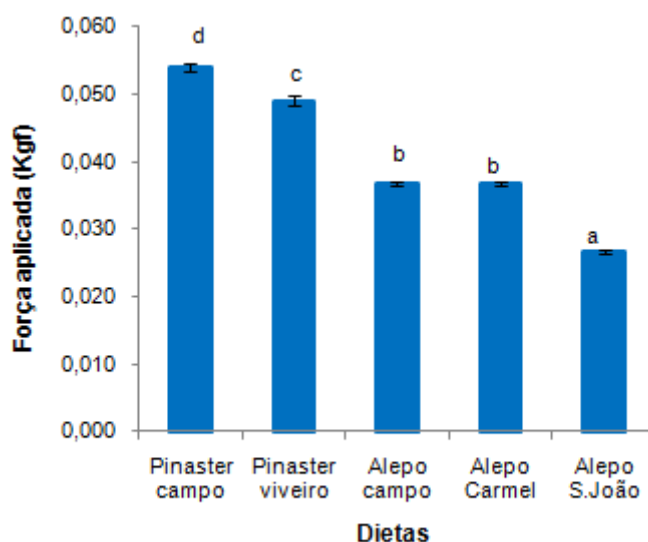


Figura 40 – Resistência à tracção (Kgf) das agulhas das diferentes dietas (média \pm e.p.).

O teste de Tukey HSD (Anexo 20), mostrou que apenas as dietas com Alepo de campo e Alepo de Carmel não diferiram significativamente entre si ($p=1,000$) relativamente à dureza das agulhas, todas as restantes diferiram (Fig. 40). As dietas com *P. pinaster* apresentaram maiores valores de dureza das agulhas do que as dietas com *P. halepensis*. Para o pinheiro bravo, a variedade proveniente do campo apresentou agulhas mais duras do que a variedade proveniente de viveiro.

Teor em água das agulhas

Observaram-se diferenças significativas entre as várias dietas alimentares relativamente ao teor em água das agulhas ($F_{4,220} = 349,8$; $p < 0,05$) (Fig. 41). Segundo o teste Tukey HSD (Anexo 21), apenas as dietas com Alepo de campo e Alepo de Carmel não diferiram significativamente entre si ($p=0,766$). As restantes dietas diferiram, sendo Pinaster de viveiro a dieta cujas agulhas apresentaram menor teor em água (54,7%) (Fig. 41). Os resultados mostraram que as dietas com pinheiro de alepo, apresentaram em média maior teor em água nas suas agulhas que as dietas com pinheiro bravo.

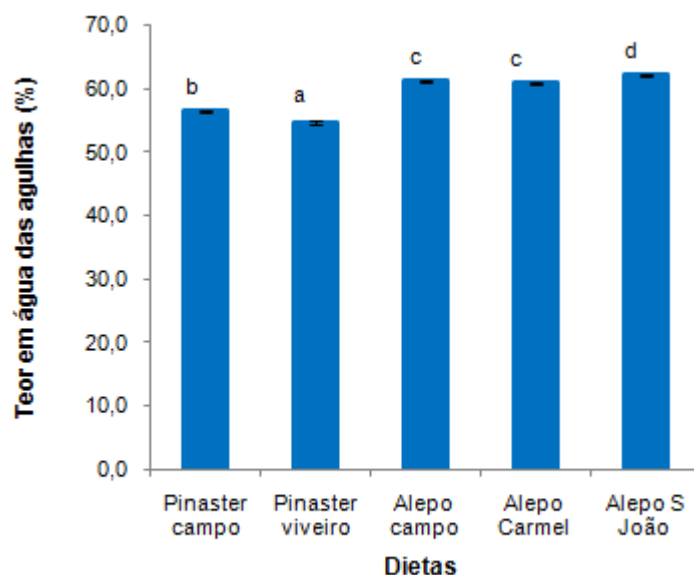


Figura 41 – Teor de água (%) das agulhas das diferentes dietas alimentares (média \pm e.p.).

3.3 Análises químicas das agulhas

Compostos primários: C e N

Os resultados dos testes da análise elementar ao C e N da massa foliar de cada dieta, mostraram existir diferenças significativas entre as várias dietas alimentares na proporção média de N ($F_{4,5}=2401,3$; $p<0,05$) e de C ($F_{4,5}=12,058$ $p<0,05$) das agulhas (Figs. 42 e 43, Anexos 22 e 23).

De acordo com o teste Tukey HSD (Anexo 22), apenas as dietas com Alepo de Carmel e Alepo de S. João não diferiram significativamente entre si ($p=0,122$) relativamente ao conteúdo foliar em azoto, sendo as dietas que apresentaram maior teor em N, comparativamente às restantes que diferiram ainda entre si, sendo Pinaster de campo, o alimento com a menor proporção média de azoto (0,61%) (Fig. 42).

Relativamente ao C, o teste Tukey HSD (Anexo 23), indicou que a dieta com Alepo de Carmel, contendo a menor % de C, diferiu significativamente quer de Alepo de campo ($p=0,006$), quer de Pinaster de viveiro, com o valor superior de teor de C ($p=0,030$). As restantes dietas apresentaram valores intermédios, não diferindo entre si (Fig. 43).

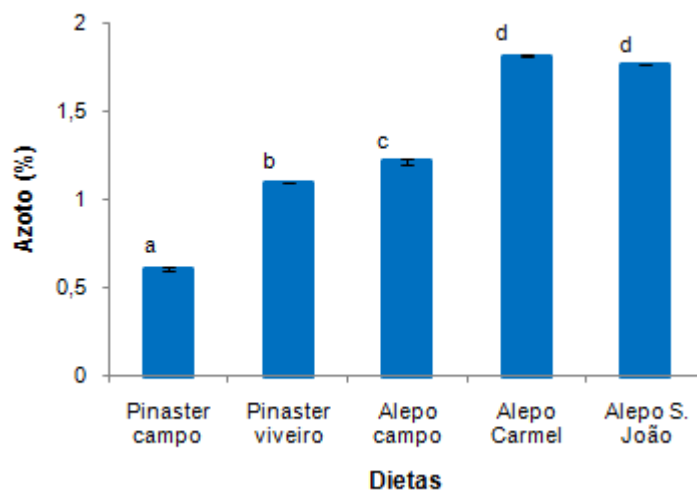


Figura 42 – Teor de azoto (%) presente nas agulhas das diferentes dietas alimentares (média \pm e. p.).

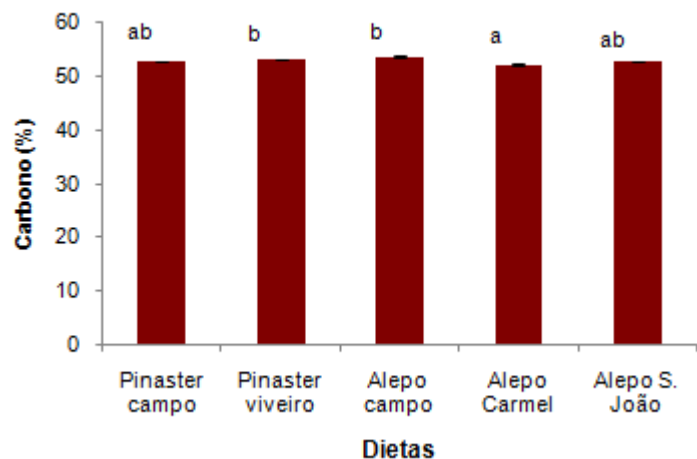


Figura 43 – Teor de carbono (%) presente nas agulhas das diferentes dietas alimentares (média \pm e. p.).

Relativamente à razão Carbono/Azoto, o teste da ANOVA revelou diferenças significativas entre as várias dietas ($F_{4,5} = 1077,7$; $p < 0.001$) (Anexo 24). Pinaster campo apresentou significativamente o maior valor de C/N (86,7), Pinaster viveiro apresentou o segundo maior valor, sendo significativamente superior aos três Alepos ($p < 0.001$), Alepo de Carmel e Alepo de S. João apresentaram os valores mais reduzidos de C/N das suas agulhas, 28,7 e 29,9, respectivamente, não diferindo significativamente entre si ($p = 0,746$) (Fig. 44).

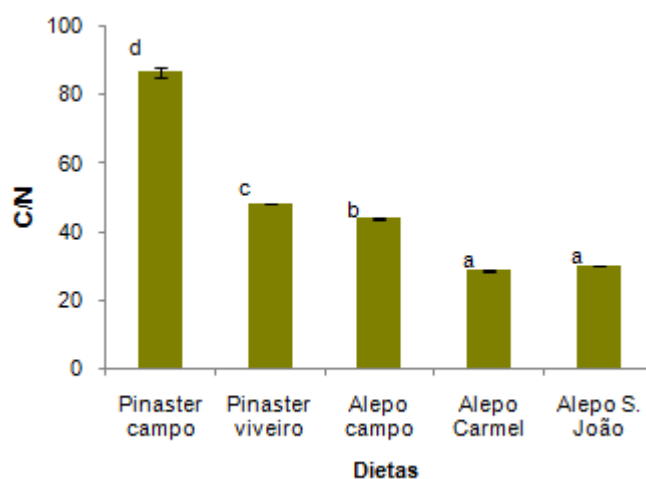


Figura 44 – Valores da razão C/N das agulhas das diferentes dietas (média ± e.p.).

Compostos secundários: voláteis das agulhas

Por razões técnicas, só foi possível analisar os compostos mais voláteis das agulhas para cada hospedeiro. Identificaram-se 12 compostos, entre monoterpenos e sesquiterpenos (Quadro 4), tal como representado pelos cromatogramas representativos para cada hospedeiro (Anexo 26), evidenciando-se para todas as dietas uma maior prevalência de monoterpenos que de sesquiterpenos. Os valores médios e respectivos desvios padrão da concentração de cada composto, encontram-se no Anexo 25, diferenciados por dietas.

Quadro 4 – Tempos de retenção (RT) dos diferentes picos seleccionados e identificação dos mesmos, com base no respectivo índice de retenção linear (LRI)

Pico	RT	LRI	Identificação do composto
1	7,65	849	cis-3-hexen-1-ol
2	8,27	871	triciclano
3	10,44	936	α -pineno
4	12,04	978	sabineno
5	12,21	983	β -pineno
6	12,61	993	mirceno
7	13,47	1016	limoneno
8	14,19	1034	trans-ocimeno
9	16,43	1092	terpinoleno
10	29,00	1434	β -cariophileno
11	30,14	1468	α -humuleno
12	31,03	1495	germacreno

De entre os monoterpenos, α -pineno, β -pineno, mirceno e limoneno, foram os compostos presentes em maior quantidade em qualquer das dietas, sendo α -pineno o mais abundante (Anexo 25). Em relação aos sesquiterpenos, foram identificados 3 compostos (β -cariophileno,

α -humuleno e germacreno) com maiores proporções de β -cariofileno e germacreno para as 2 proveniências de *P. pinaster* e β -cariofileno e α -humuleno para as proveniências de *P. halepensis* (Anexo 25). A composição qualitativa das substâncias voláteis emitidas, foi semelhante para todas as dietas, excepto para o composto germacreno que não foi encontrado em Alepo Carmel.

Os resultados da Análise de Componentes Principais (ACP) (Fig.45), evidenciaram uma separação das amostras de pinheiro bravo (Pinaster de campo e Pinaster de viveiro) relativamente às de pinheiro de alepo (Alepo de campo, Alepo de Carmel e Alepo de S. João) ao longo do primeiro eixo, verificando-se que as amostras de pinheiro bravo de viveiro e de campo foram muito semelhantes na sua composição de terpenos, em particular com um maior conteúdo de β -pineno (monoterpeno) e germacreno (sesquiterpeno) e menor conteúdo em terpinoleno e sabineno (monoterpenos).

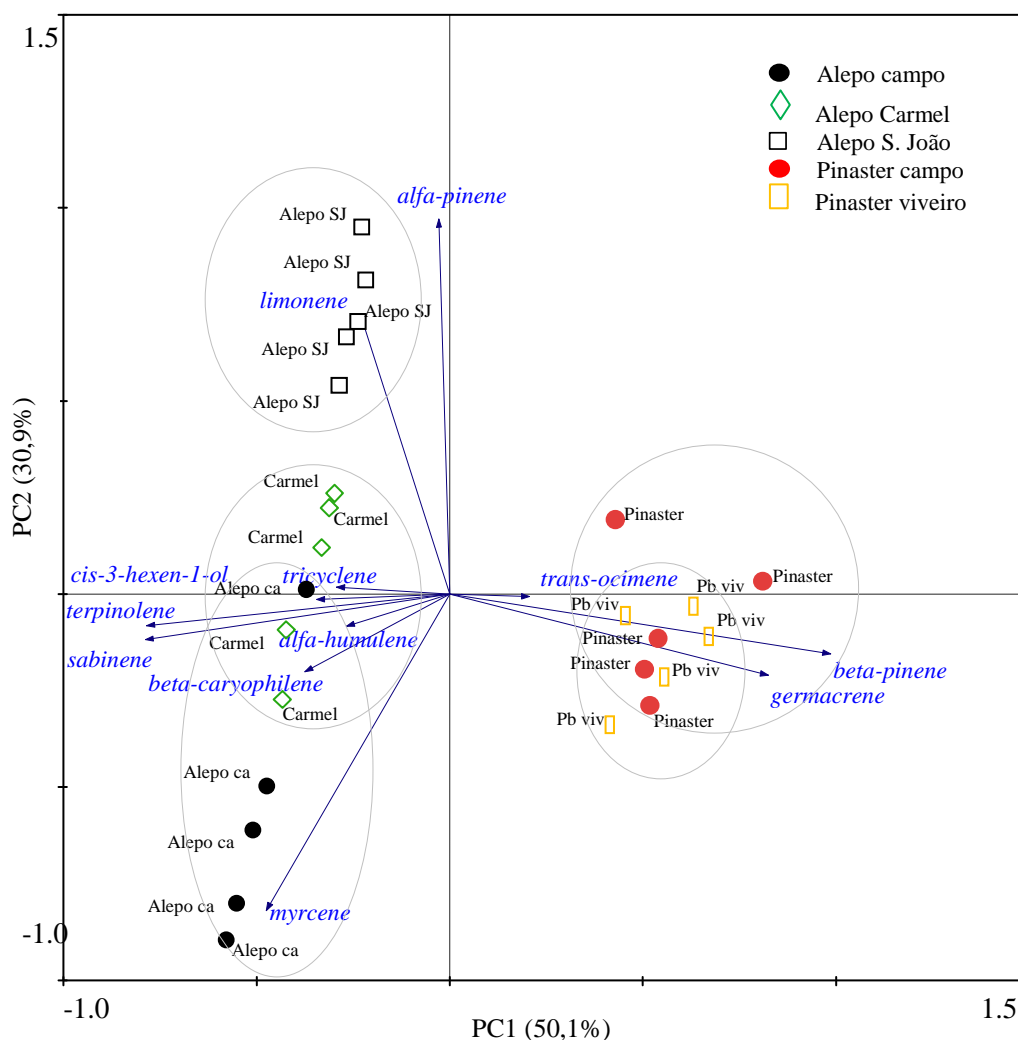


Figura 45 – Análise de Componentes Principais para os compostos voláteis das diferentes dietas. A variância cumulativa explicada pelos dois primeiros eixos é de 81%.

Pelo contrário, as amostras de Alepo dispersaram-se ao longo do segundo eixo, formando grupos na generalidade bem separados consoante a origem dos Alepos, relativamente ao composto volátil predominante. Assim, a dieta Alepo de S. João caracterizou-se por um maior conteúdo em limoneno e α -pineno (monoterpenos), Alepo de Carmel com maior conteúdo em terpinoleno (monoterpeno) e Alepo de campo com maior conteúdo em mirceno (monoterpeno). De notar também, que a variabilidade encontrada nas amostras foi maior nas plantas oriundas do campo, quer Alepo de campo quer Pinaster de campo, por comparação com as plantas de viveiros (Fig. 45).

Análise dos açúcares

a) Açúcares solúveis

A análise de variância revelou não existirem diferenças significativas na concentração de açúcares solúveis nas agulhas das diferentes dietas estudadas ($F_{4,19}=1,045$; $p=0,410$) (Fig. 46, Anexo 27).

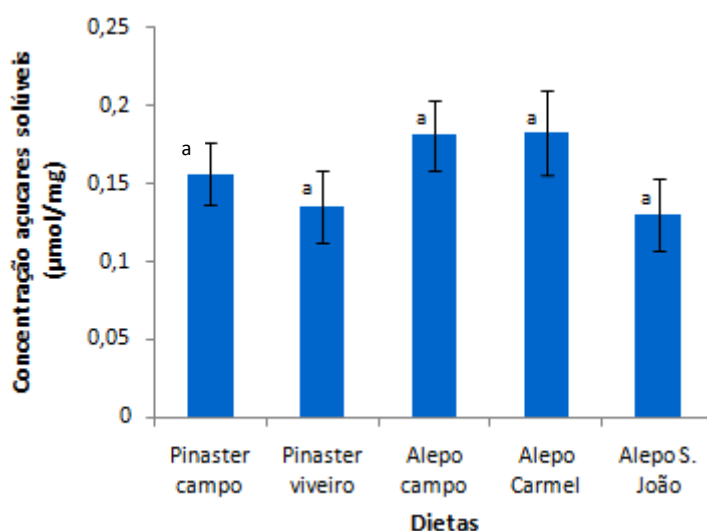


Figura 46 – Concentração ($\mu\text{mol/mg}$) de açúcares solúveis das agulhas das diferentes dietas (média \pm e.p.).

b) Açúcares insolúveis

O resultado da ANOVA mostrou existirem diferenças significativas ($F_{4,19}=6,551$; $p=0,002$) na concentração dos açúcares insolúveis (amido) das agulhas das diferentes dietas em estudo (Anexo 27). Pinaster de viveiro foi a dieta que apresentou os menores valores de concentração de açúcares insolúveis, diferindo significativamente de Alepo de Carmel ($p=0,006$) e de Pinaster de campo ($p=0,029$), que apresentaram os maiores valores (Fig. 47). Alepo de campo, com valores intermédios de açúcares insolúveis, não mostrou diferenças significativas

de qualquer das outras dietas. As agulhas de Alepo de S. João apresentaram diferenças significativas das de Alepo de Carmel ($p=0,010$) e das de Pinaster de campo ($p=0,043$).

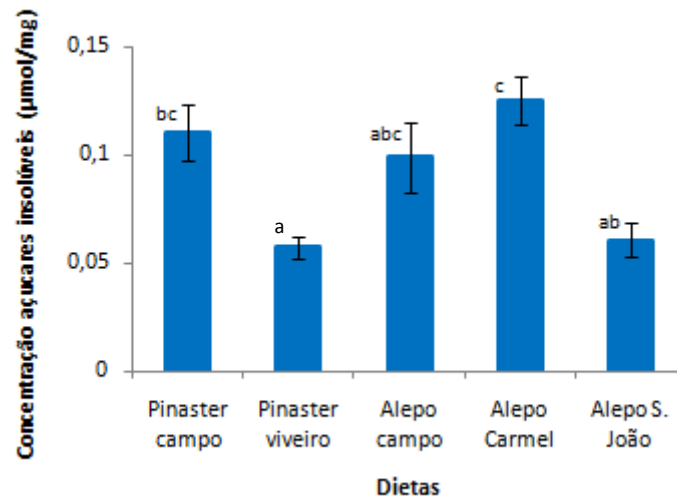


Figura 47 - Concentração ($\mu\text{mol/mg}$) de açúcares insolúveis (amido) das agulhas das diferentes dietas (média \pm e.p.).

4. Discussão

Em todos os ensaios realizados, a sobrevivência das larvas foi em geral baixa para qualquer das dietas testadas, para ambos os instares das duas espécies de processionária, *T. pityocampa* e *T. wilkinsoni*. Este resultado deve-se em parte ao facto de estarmos a testar os primeiros instares larvares, sendo em geral os mais sensíveis e aqueles em que se regista naturalmente maior mortalidade para a generalidade dos insectos (Zalucki *et al.*, 2002), devido a uma grande variedade de factores. As condições artificiais de laboratório, impossíveis de reproduzir totalmente o ambiente natural, podem ter também contribuído para uma mortalidade acrescida. Das dietas testadas, as larvas alimentadas com *P. halepensis*, independentemente da sua proveniência, e da espécie de processionária, registaram maiores valores de sobrevivência, em particular em Alepo de Carmel e Alepo de S. João. Em *P. pinaster*, a sobrevivência das larvas de ambas as espécies foi mais baixa, sobretudo para a dieta com Pinaster de campo, excepto para as larvas de 1º instar de *T. pityocampa*. A sobrevivência foi portanto maior em *P. halepensis*, com tempos de sobrevivência maiores, do que em *P. pinaster*. De acordo com o seu comportamento no meio natural, seria de esperar que a sobrevivência e desenvolvimento das larvas de *T. pityocampa* fossem maiores na dieta com *P. pinaster*, espécie de que se alimentam predominantemente em Portugal, e que a sobrevivência e *performance* das larvas de *T. wilkinsoni* fossem maiores nas dietas com *P. halepensis*, espécie de que se alimentam predominantemente em Israel. Para ambas as espécies de processionária, houve consistentemente uma menor *performance* das larvas em pinheiro bravo do campo, quer na sobrevivência, quer no desenvolvimento e nos consumos. Foi nesta dieta que o registo de consumos, desenvolvimento com mudanças de instar e tempos de sobrevivência das larvas foi mais reduzido. Este resultado parece confirmar os resultados de outros autores que indicam o pinheiro bravo como uma espécie pouco favorável ao desenvolvimento das larvas de processionária nos dois primeiros instares (Hódar *et al.*, 2002). Todavia, embora a tendência seja, aparentemente idêntica para as duas espécies de processionária, quando estas são comparadas entre si, verificou-se um tempo médio de sobrevivência das larvas de *T. wilkinsoni* quando alimentadas em *P. halepensis*, significativamente superior ao de *T. pityocampa*, quer em L1 quer em L2, enquanto que a sobrevivência das duas espécies em *P. pinaster* foi semelhante (Fig. 11 e 12). Este resultado corrobora parcialmente a hipótese de que as duas espécies têm diferentes adaptações às espécies hospedeiras estando, provavelmente *T. wilkinsoni* melhor adaptada para se alimentar de *P. halepensis*, o que justifica a sua preferência por esta espécie nos países a Leste da Bacia do Mediterrâneo (Mendel, 1990).

O desenvolvimento das larvas de ambas as espécies em ambos os instares, foi genericamente maior (com mais larvas a mudarem de instar) e mais rápido (com menores tempos de mudanças de instar) nas dietas com Alepo de Carmel e Alepo de S. João. Pelo contrário, nas dietas com Alepo de campo, Pinaster de viveiro e Pinaster de campo, os desenvolvimentos foram menores e mais lentos, sobretudo para Pinaster de campo. A excepção deu-se para as larvas de 1º instar de *T. pityocampa*, que mostraram maiores desenvolvimentos em Pinaster de

campo e para as larvas de 2º instar de *T. wilkinsoni* que se desenvolveram melhor em Pinaster de viveiro.

Dentro de cada espécie de pinheiro, a sobrevivência e desenvolvimento das larvas das duas espécies de processionária, foi em geral maior e melhor, quando alimentadas com plantas que cresceram em condições controladas de viveiro do que com plantas provenientes do campo, o que se verificou tanto para o Alepo de campo, comparativamente aos outros Alepos, como para o Pinheiro de campo comparativamente ao pinheiro de viveiro. Isto pode justificar-se pela maior % de N, e menor proporção C/N nas plantas de viveiro comparativamente às da mesma espécie provenientes do campo (Figs. 42 e 44). O mesmo resultado justifica-se porque Pinaster de campo foi em geral a pior dieta, pois estas agulhas continham, de todas as dietas, a maior razão C/N. O teor em N mostra ser, assim, um componente importante no desenvolvimento das larvas da processionária, e plantas mais vigorosas com maiores valores deste elemento poderão ser mais favoráveis ao consumo, à semelhança do observado com outros insectos (Throop & Lerdau, 2004). De facto, os primeiros instares larvares são mais dependentes da qualidade do alimento e caracterizam-se por elevada mortalidade devida à falta de reservas alimentares nos seus tecidos e a uma limitada capacidade para lidar com alimentos pobres em proteína (Bernays & Chapman, 1994).

Por outro lado, tanto para L1 como para L2, as larvas de *T. wilkinsoni* demoraram mais tempo a completar o seu desenvolvimento do que as de *T. pityocampa*, sobretudo para as dietas com *P. pinaster*. Estas diferenças no desenvolvimento entre as duas espécies poderão estar relacionadas com as especificidades do seu ciclo biológico e, eventualmente, com diferenças de temperatura que possam ter ocorrido com os ensaios para cada espécie. Embora ambos os ensaios tenham sido feitos à temperatura ambiente de laboratório, os ensaios com *T. wilkinsoni* decorreram entre os meses de Outubro e Janeiro, com uma temperatura média de 19,5°C, enquanto que com *T. pityocampa* decorreram de Setembro a Novembro, com uma temperatura média de 25,3°C. É conhecida a influência da temperatura no desenvolvimento larvar de muitos lepidópteros, promovendo as temperaturas moderadas mais elevadas, desenvolvimentos mais rápidos (Daly *et al.*, 1998).

Para qualquer das dietas estudadas, em L1 o consumo das larvas de *T. wilkinsoni* foi superior ao das de *T. pityocampa*, registando-se o contrário para as larvas em L2, com maiores consumos pelas larvas de *T. pityocampa*. Para qualquer dos instares de ambas as espécies, o consumo foi muito baixo nas dietas com *P. pinaster*, sobretudo em Pinaster de campo. Os maiores consumos ocorreram para as dietas com *P. halepensis*, sobretudo as de viveiro, Alepo de Carmel e Alepo de S. João. Para as larvas de *T. pityocampa* a produção de fezes foi maior para Pinaster campo, enquanto que em *T. wilkinsoni*, as larvas produziram mais fezes quando alimentadas com as dietas de *P. halepensis*. Os resultados obtidos para os consumos devem ser vistos com alguma reserva. De facto, a variável consumo foi quantificada através da observação directa da percentagem consumida e convertida em milímetros consumidos, com base no comprimento das agulhas. A quantificação por observação directa é algo empírica e subjectiva, sujeita a variações de observador para observador, e é precisamente por essa

subjectividade que, nalguns casos, poderá ter havido subestimação do consumo e noutros, sobrestimação.

Uma das razões que poderá explicar o pior desempenho das larvas na dieta de pinaster de campo, prende-se com a maior dureza das agulhas deste alimento, comparativamente com todos os outros. Os resultados mostraram que as agulhas desta dieta foram significativamente as que apresentaram maiores valores de dureza. Tal facto implica que as larvas, sobretudo as de 1º instar, tenham de fazer um esforço maior para conseguirem consumir estas agulhas, o que, com as reduzidas mandíbulas que ainda possuem nos dois primeiros instares, permite compreender os menores valores de consumo registados em ambas as espécies de processionária neste tipo de dieta. Devkota & Schmidt (1990), num estudo sobre o desenvolvimento larvar de *T. pityocampa* sob diferentes dietas, consideraram a tenacidade das agulhas como uma possível causa na mortalidade dos primeiros instares. No entanto, segundo Hódar *et al.* (2002), o efeito da mortalidade das agulhas de pinheiro bravo, mais largas e rijas, está restricto aos instares larvares mais jovens, uma vez que para os instares seguintes esta espécie sustenta o desenvolvimento das larvas. Este aspecto relaciona-se com as mandíbulas das larvas nestes instares iniciais, que, não estando ainda completamente desenvolvidas, condicionam a sua capacidade para se alimentarem de tecidos mais rígidos. Segundo Zalucki *et al.* (2002), a capacidade das larvas recém-eclodidas para localizar tecidos foliares que sejam facilmente cortados pelas mandíbulas, é um aspecto importante para a sua sobrevivência, sendo a tenacidade e a rigidez das agulhas, alguns dos principais problemas mecânicos que as larvas têm de ultrapassar nos primeiros instares. Apesar dos baixos consumos em pinaster de campo por ambas as espécies, as larvas de *T. wilkinsoni* consumiram menos desta dieta que as de *T. pityocampa*, pressupondo-se que poderão ter sido mais afectadas pela dureza das agulhas devido às mandíbulas mais pequenas (proporcionais à cápsula cefálica). Os resultados das medições da largura da cápsula cefálica confirmaram uma menor dimensão da cápsula cefálica, quer para L1 quer para L2, em *T. wilkinsoni* comparativamente a *T. pityocampa* (Fig.43). Os valores observados em *T. pityocampa* estão de acordo com os resultados de Arnaldo & Torres (2004), num estudo sobre a análise de características morfométricas de larvas de *T. pityocampa*.

Por outro lado, os resultados mostraram também que as agulhas de Pinaster de campo, para além de terem os maiores valores de dureza, têm menores percentagens de azoto, maiores valores de C/N e ligeiramente menores teores em água, o que faz das suas agulhas um alimento menos apetecível para as larvas, quer pela barreira física que constituem para as mandíbulas, quer pela componente química rica em carbono, mas pobre em azoto. De acordo com Scriber (1977), o azoto e o conteúdo em água são importantes determinantes da *performance* de larvas recém-eclodidas. Elevados valores de C/N nos tecidos das plantas resultam em menor qualidade do alimento para muitos insectos desfolhadores, os quais respondem aumentando o nível de consumo ou apresentando elevada mortalidade e baixas *performances* (Battisti, 2004). Segundo este autor, a reacção esperada dos herbívoros a elevados valores de C/N é aumentarem o consumo de forma a acumularem azoto suficiente para o seu desenvolvimento. No presente estudo, o conteúdo em azoto foi maior em *P.*

halepensis do que em *P. pinaster*, tendo sido superior nas variedades que cresceram em condições controladas do que para as que se desenvolveram no campo. Foi também nas dietas com *P. halepensis* de viveiro, que se registaram os maiores consumos pelas larvas de ambos os instares de *T. pityocampa* e *T. wilkinsoni*.

Branco *et al.* (dados não publicados), num estudo em que analisaram alguns parâmetros das agulhas de Pinheiro bravo (como C, N) ao longo de diferentes épocas do ano, verificaram maiores valores de C/N nas agulhas nos meses mais quentes, em que se verifica maior stress hídrico. Este facto realça a importância da fisiologia das plantas na qualidade das suas agulhas para a alimentação dos insectos herbívoros. Os exemplares de Pinaster de campo que se usaram para os ensaios, encontravam-se numa zona de solo arenoso, sem rega artificial nem fertilização, por oposição aos exemplares de Pinaster de viveiro. A fertilização azotada aumenta as taxas de crescimento e formação das folhas em diversas espécies vegetais (Wait *et al.*, 1998), diminuindo as concentrações de compostos de carbono com funções defensivas e provocando o aumento de proteína foliar total (Rao *et al.*, 1993). As folhas são mais tenras, têm geralmente maior conteúdo em água e são mais digeríveis. De acordo com Throop & Lerda (2004) a concentração de azoto no tecido vegetal é um indicador consistente da qualidade do tecido para a herbivoria, verificando-se uma relação positiva, muito forte, entre a concentração de azoto foliar e a sobrevivência, desenvolvimento e crescimento dos insectos fitófagos.

De acordo com alguns autores, várias características químicas das agulhas dos pinheiros, tais como conteúdo em azoto e em fibra (Devkota & Schmidt, 1990), sílica e fenóis (Schopf & Avtzis, 1987 *In: Hódar et al.*, 2004) e terpenos (Tiberi *et al.*, 1999; Petrakis *et al.*, 2001), têm sido relacionadas com diferenças na *performance* das larvas recém-eclodidas. Autores como Schopf & Avtzis (1987) (*In: Hódar et al.*, 2004) têm estudado o papel dos compostos fenólicos verificando que desempenham um papel significativo na mortalidade das larvas de *T. pityocampa*. Não foram feitas análises químicas para avaliar o teor de taninos e fenóis das agulhas de qualquer dos hospedeiros que constituíram as diferentes dietas, como tal, não foi possível estabelecer nenhuma relação de mortalidade das larvas com possíveis factores de toxicidade das agulhas provocados por essas substâncias. No entanto, podemos observar que o teor em terpenos discrimina bem as duas espécies, todavia dentro de cada espécie as diferenças são menores. Em particular, no caso do pinheiro bravo a sua composição em terpenos foi semelhante, apesar dos dois tipos de plantas terem tido efeitos diferentes sobre a nutrição das larvas de *T. wilkinsoni*, o que de certa forma, evidencia que estes compostos não terão tido neste estudo uma importância tão grande como os constituintes primários nos resultados obtidos.

Os açúcares das plantas são constituintes nutritivos que estimulam a alimentação pelos insectos. Há até evidências de que as quantidades consumidas estejam relacionadas com o conteúdo em açúcar dos tecidos consumidos (Bernays & Chapman, 1994). Para todas as dietas estudadas, a concentração de açúcares solúveis foi superior à concentração de açúcares insolúveis (Figs. 46 e 47). Estas diferenças estão de acordo com os resultados de um estudo de

Mandre *et al.* (2002) sobre as alterações sazonais de hidratos de carbono em agulhas de *P. sylvestris*, segundo os quais o conteúdo em amido nas agulhas com um ano começa a aumentar em inícios da Primavera e a decrescer gradualmente durante o Outono, enquanto que a concentração de açúcares solúveis aumenta atingindo o seu nível máximo no Inverno. Em relação aos açúcares solúveis, não se registaram diferenças significativas da sua concentração entre dietas, enquanto a concentração de açúcares insolúveis, tendo sido muito variável, foi maior em Alepo de Carmel e Pinaster de campo, o que não permitiu estabelecer uma relação com outras variáveis, como o azoto, nem com os resultados da *performance* das larvas.

5. Conclusões

As elevadas mortalidades das larvas de *T. pityocampa* e *T. wilkinsoni* na dieta com *Pinaster* de campo, revelaram que este foi um alimento desadequado, por ter sido de menor qualidade quer em termos físicos (maior dureza, menor teor em água) quer químicos (menor teor em azoto e maior razão C/N), o que terá em grande parte contribuído para as taxas de mortalidade das larvas, muito elevadas nesta dieta, para as duas espécies de processionária. Este resultado foi sobretudo inesperado para *T. pityocampa*, que em Portugal se alimenta predominantemente de *P. pinaster*. Na natureza, apesar das elevadas taxas de mortalidade das larvas dos primeiros instares resultantes de diversos factores, as larvas são capazes de explorar na árvore as agulhas mais adequadas em termos físicos e químicos para se alimentarem (Branco, com. pessoal). Neste caso, a mortalidade poderá ter sido devida a uma incapacidade das larvas se alimentarem das agulhas de *Pinaster* campo, uma vez que os consumos registados nesta dieta foram muito baixos ou nulos. Se tivesse sido possível alimentar as larvas de *T. pityocampa* com o pinheiro bravo de viveiro, poder-se-ia ter elucidado melhor esta questão.

Os resultados obtidos neste estudo parecem corroborar a hipótese de que as duas espécies têm diferentes adaptações às espécies hospedeiras estando, provavelmente, *T. wilkinsoni* melhor adaptada para se alimentar de *P. halepensis*, o que justifica a sua melhor *performance* quando alimentada por esta dieta. De facto, foi visível que a sobrevivência das larvas de *T. wilkinsoni* em *P. halepensis* foi superior à sobrevivência das larvas de *T. pityocampa*, tendo sido também superior a qualquer uma das dietas de *P. pinaster*, mesmo de viveiro, o que parece confirmar a melhor adaptação de *T. wilkinsoni* a *P. halepensis*. Apesar de ambas as espécies de processionária se terem desenvolvido e sobrevivido melhor em *P. halepensis* que em *P. pinaster*, *T. wilkinsoni* teve consistentemente uma melhor sobrevivência nas dietas com *P. halepensis* que *T. pityocampa*, concordando assim com a hipótese de uma melhor adaptação ao pinheiro de alepo.

Os resultados sugerem também que as características físicas e químicas do alimento são importantes na determinação do consumo pelas larvas. O conteúdo em azoto e a textura das agulhas, foram factores determinantes da sobrevivência das larvas nas duas espécies. As larvas de ambas as espécies de processionária sobreviveram, consumiram e desenvolveram-se melhor nas dietas resultantes de plantas criadas em viveiro (com maiores conteúdos em azoto, água e menor dureza das suas agulhas), comparativamente às plantas da mesma espécie provenientes do campo, que apresentaram menores valores daqueles parâmetros.

Seria importante que estes estudos fossem repetidos e efectuados com mais réplicas e com um maior número de larvas por réplica (min. 30 larvas), para se obterem resultados mais conclusivos. Como ficou evidenciado, o carácter gregário das larvas destes lepidópteros é um factor extremamente importante para a sua sobrevivência, o que também poderá ter condicionado alguns dos resultados. Seria também interessante estudar uma maior variedade de parâmetros relativos ao alimento, quer ao nível físico quer químico.

Referências Bibliográficas

- Adams, R.P. (2001). *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/quadrupole Mass Spectroscopy*. 3rd Edition. Allured Publishing Cooperation. Illinois, USA.
- AFN (2010). *5º Inventário Florestal Nacional. Apresentação do Relatório Final*. Direcção Nacional de Gestão Florestal. Acedido em: 10 de Dezembro de 2010, em: <http://www.afn.min-agricultura.pt/portal/ifn/resource/ficheiros/ifn/Apresenta-IFN5-AFN-DNGF-JP.pdf>
- Albuquerque, J.P.M. (1954). *Carta Ecológica de Portugal*. Direcção Geral dos Serviços Agrícolas. Lisboa.
- Arnaldo, P.S. & Torres, L.M. (2004). Análise morfométrica das larvas de *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) usando a largura da cápsula cefálica. *XI Congresso Ibérico de Entomologia*. Funchal, Madeira. 13-17 Setembro.
- Arnaldo, P.S. & Torres, L.M. (2006). Effect of different hosts on *Thaumetopoea pityocampa* populations in Northeast Portugal. *Phytoparasitica*, **34** (5): 523-530.
- Avtzis, N. (1986). Development of *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) in relation to food consumption. *Forest Ecology and Management*, **15**: 65-68.
- Barrento, M.J., Santos, H., Branco, M., Paiva, M.R. (2008). Monitorização da processionária do pinheiro, *Thaumetopoea pityocampa*. In M. Branco, C. Valente, M.R. Paiva (eds.). *Pragas e doenças em pinhal e eucaliptal: desafios para a sua protecção integrada*, ISAPress. Lisboa.
- Battisti, A. (2004). Forests and climate change – lessons from insects. *Forest*, **1**(1): 17-24.
- Bernays, E.A. & Chapman, R.F. (1994). *Host-plant selection by phytophagous insects*. Chapman & Hall. New York.
- Berryman, A.A. (1986). *Forest Insects. Principles and Practices of Population Management*. Plenum Press. New York.
- Bryant, J., Chapin, F.S, Klein, D. (1983). Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos*, **40**(3): 357-368.
- Calvão, T., Branco, M., Pimentel, C. (2008). Vegetação e paisagem: relação entre diversidade e fitófagos. In: M. Branco, C. Valente, M.R. Paiva (eds.). *Pragas e doenças em Pinhal e Eucaliptal: desafios para a sua gestão integrada*, ISAPress. Lisboa.
- Daly, H.V., Doyen, J.T., Purcell, A.H. (1998). *Introduction to Insect Biology and Diversity*. Oxford University Press. New York.
- Démolin, G. (1969). Comportement des adultes de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. Dispersion spatiale, importance écologique. *Annales des Sciences Forestières*, **26**: 81-102.
- Devkota, B. & Schmidt, G.H. (1990). Larval development of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) from Greece as influenced by different host plants under laboratory conditions. *Journal of Applied Entomology*, **109**: 321-330.

- Dicke, M. (2000). Chemical ecology of host-plant selection by herbivorous arthropods: a multitrophic perspective. *Biochemical Systematics and Ecology*, **28**: 601-617.
- Dixon, R.A. (2001). Natural products and plant disease resistance. *Nature*, **411**: 843-847.
- Douma-Petridou, E. (1989). European *Thaumetopoea* species (Lep., Thaumetopoeidae): Characteristics and life-cycle. In: G.H. Schmidt (ed.). *Proceedings of the Thaumetopoea-Symposium*. At Neustadt a. Rbge near Hannover, Germany. 5-7 July 1989. pp. 12-19.
- Evangelista, M. & Valente, C. (2008). Gestão de pragas em pinhal e eucaliptal. In: M. Branco, C. Valente, M.R. Paiva (eds.). *Pragas e doenças em Pinhal e Eucaliptal: desafios para a sua gestão integrada*, ISAPress. Lisboa.
- Ferreira, M.C. (1992). A processionária do pinheiro: ciclo biológico, dinâmica das populações, danos e meios de luta. *Vida Rural*, **40**(16): 5-11.
- Ferreira, M.C. & Ferreira, G.W.S. (2001). *Pragas das resinosas*. Guia de Campo. Direcção Geral do Desenvolvimento Rural. 2ª Edição. Lisboa. 112 pp.
- Fraenkel, G.S. (1959). The raison d'être of secondary plant substances: These odd chemicals arose as a means of protecting plants from insects and now guide insects to food. *Science*, **129**(3361): 1466-1470.
- Gershenson, J. (1994). The cost of plant chemical defense against herbivory: a biochemical perspective. In: E.A. Bernays (ed.). *Insect Plant Interactions*, Vol.5. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 105-173.
- Gershenson, J. & Croteau, R. (1991). Terpenoids. In: G.A. Rosenthal, M.R. Berenbaum (eds.). *Herbivores. Their Interactions with Secondary Plant Metabolites. The Chemical Participants*, Vol.1. Academic Press, New York, pp. 165-219.
- Gershenson, J., McConkey, M.E., Croteau, R.B. (2000). Regulation of Monoterpene Accumulation in Leaves of Peppermint. *Plant Physiology*, **122**: 205-213.
- Girard, B. (1996). Retention index calculation using Kováts constant model for linear temperature-programmed gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, **721**: 279-288.
- Halperin, J. (1990). Life history of *Thaumetopoea* spp. (Lep., Thaumetopoeidae) in Israel. *Journal of Applied Entomology*, **110**: 1-6.
- Hódar, J.A., Zamora, R., Castro, J. (2002). Host utilization by moth and larval survival of pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* in relation to food quality in three *Pinus* species. *Ecological Entomology*, **27**: 291-301.
- Hódar, J.A., Castro, J., Zamora, R. (2003). Pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* as a new threat for relict Mediterranean Scots pine forests under climatic warming. *Biological conservation*, **110**: 123-129.
- Hódar, J.A., Zamora, R., Castro, J., Baraza, E. (2004). Feast and famine: previous defoliation limiting survival of pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* in Scots pine *Pinus sylvestris*. *Acta Oecologica*, **26**: 203-210.

- Houri, A. & Doughan, D. (2006). Behaviour Patterns of the Pine Processionary Moth (*Thaumetopoea wilkinsoni* Tams; Lepidoptera: Thaumetopoeidae). *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, **1**(1): 1-5.
- Kesselmeier, J.H. & Staudt, M. (1999). Biogenic Organic Compounds (VOC): an Overview on Emission, Physiology and Ecology. *Journal of Atmospheric Chemistry*, **33**: 23-88.
- Lagalante, A.F. & Montgomery, M.E. (2003). Analysis of terpenoids from Helmslock (*Tsuga*) Species by Solid-Phase Microextraction/Gas Chromatography/Ion-Trap Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, **51**: 2115-2120.
- Llusià, J. & Peñuelas, J. (2000). Seasonal patterns of terpene content and emission from seven Mediterranean woody species in field conditions. *American Journal of Botany*, **87**: 133-140.
- Lou, Y. & Baldwin, I.T. (2004). Nitrogen Supply Influences Herbivore-Induced Direct and Indirect Defenses and Transcriptional Responses in *Nicotiana attenuate*. *Plant Physiology*, **135**: 496-506.
- Mandre, M., Tullus, H., Klõseiko, J. (2002). Partitioning of carbohydrates and biomass of needles in Scots Pine Canopy. *Zeitschrift. Naturforsch.*, **57c**: 296-302.
- Markalas, S. (1998). Biomass production of *Pinus pinaster* after defoliation by the pine processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff.). In: M.L. McManus, A.M. Liebhold (eds.). *Proceedings: Population Dynamics, Impacts, and Integrated Management of Forest Defoliating Insects*. USDA Forest Service General Technical Report NE-247, pp. 292-302.
- Masutti, L. & Battisti, A. (1990). *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) in Italy: Bionomics and perspectives of integrated control. *Journal of Applied Entomology*, **110**: 229-234.
- Mateus, E. (2008). *Characterization of Pinus spp. needles by gas chromatography and mass spectrometry: Application to plant-insect interactions*. Dissertação para obtenção do Grau de Doutor em Ciências do Ambiente. Universidade Nova de Lisboa. Faculdade de Ciências e Tecnologia. Lisboa. 350 pp.
- Mattson, W.J. (1980). Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Annual review of ecology and systematic*, **11**: 119-161.
- Mendel, Z. (1990). On the origin of the pine processionary caterpillar, *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams (Lep., Thaumetopoeidae) in Israel. *Journal of Applied Entomology*, **109**: 311-314.
- Noe, S.M., Ciccioli, P., Brancaleoni, E., Loreto, F., Niinemets, U. (2006). Emissions of monoterpenes linalool and ocimene respond differently to environmental changes due to differences in physico-chemical characteristics. *Atmospheric Environment*, **40**: 4649-4662.
- OEPP/EPPO (2004). Diagnostic protocols for regulated pests *Thaumetopoea pityocampa*. Specific scope. European and Mediterranean Plant Protection Organization PM 7/37(1). *Bulletin OEPP/EPPO*, **34**: 295-297.
- Paiva, M.R. (1996). Insect Olfactory Exploitation of Plant Stress Indicators. *Verandlungen der Gesellschaft für Ökologie*, **25**: 181-186.

- Paiva, M.R. & Branco, M. (2008). Pragas e doenças florestais, que desafios? In: M. Branco, C. Valente, M.R. Paiva (eds.). *Pragas e doenças em Pinhal e Eucaliptal: desafios para a sua gestão integrada*, ISAPress. Lisboa.
- Paiva, M.R., Santos, H., Mateus, E., Branco, M. (2008). Processionária do pinheiro selecciona as árvores hospedeiras com base em estímulos olfactivos. *11º Encontro Nacional de Ecologia*. Vila Real. 20-22 Novembro 2008.
- Península digital (2011). Acedido em Janeiro de 2011, em: <http://www.setubalpeninsuladigital.pt/pt/conteudos/indicadores/geograficos/>
- Paré, P.W. & Tumlinson, J.H. (1999). Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant Physiology*, **121**(2): 325-331.
- Pérez-Contreras, T., Soler, J., Soler, M. (2003). Why do pine processionary caterpillars *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera, Thaumetopoeidae) live in large groups? An experimental study. *Annales Zoologici Fennici*, **40**: 505-515.
- Petrakis, P.V., Roussis, V., Ortiz, A.H. (2001). Host selection by *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schif.): the relative importance of needle terpenoid and morpho-anatomical profiles. In: K. Radoglou (ed.). *Forest Research: a Challenge for an Integrated European Approach*, I. NAGREF. Forest Research Institute, Thessaloniki, pp. 343-348.
- Rao, A.C.S., Smith, J.L., Jandhyala, V. K., Papendick, R. I., Parr, J. F. (1993). Cultivar and climatic effects on protein content of soft white winter wheat. *Agronomy Journal*, **85**: 1023-1028.
- Read, J., Sanson, G.D., Caldwell, E., Clissold, F.J., Chatain, A., Peeters, P., Lamont, B.B., De Garine-Wichatitsky, M., Jaffre, T., Kerr, S. (2009). Correlations between leaf toughness and phenolics among species in contrasting environments of Australia and New Caledonia. *Annals of Botany*, **103**:757–767.
- Reddy, G. & Guerrero, A. (2004). Interactions of insect pheromones and plant semiochemicals. *Plant Science*, **9**(5): 253-261.
- Romanyk, N. & Cadahia, D. (1992). *Plagas de insectos en las masas forestales españolas*. Ministerio de Agricultura, Pesca e Alimentación. Colección Técnica. Madrid.
- Ryan, M.F. (2002). *Insect Chemoreception – Fundamental and Applied*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Salvato, P., Battisti, A., Concato, S., Masutti, L., Patarnello, T., Zane, L. (2002). Genetic differentiation in the winter pine processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa* – *wilkinsoni* complex), inferred by AFLP and mitochondrial DNA markers. *Molecular Ecology*, **11**: 2435-2444.
- Santos, J.Q. (1996). *Fertilização: fundamentos da utilização dos adubos e correctivos*. Publicações Europa-América. 2º Edição. Mem Martins. 437pp.
- Schmidt, G.H. (1989). Life cycles of *Thaumetopoea* species distributed in different regions of Europe, North Africa and near East. In: G.H. Schmidt (ed.). *Proceedings of the Thaumetopoea-Symposium*. At Neustadt a. Rbge near Hannover, Germany. 5-7 July 1989. pp. 20-34.

- Schmidt, G.H., Breuer, M., Devkota, B., Bellin, S. (1989). Life cycle and natural enemies of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) in Greece. *Proceedings of the Thaumetopoea-Symposium*. At Neustadt a. Rbge near Hannover, Germany. 5-7 July 1989. pp. 36-40.
- Schneider, D. (1970). Olfactory receptors for the sexual attractant (Bombykol) of the silk moth. In: *The Neurosciences: Second Study Program*. F. Schmidt (ed.). Rockefeller University. Press, New York. pp. 511-518.
- Schulz, S. (1998). Insect-plant interactions. Metabolism of plant compounds to pheromones and allomones by Lepidoptera and leaf beetles. *European Journal of Organic Chemistry*, 13-20.
- Scriber, J.M. (1977). Limiting effects of low leaf-water content on the nitrogen utilization, energy budget, and larval growth of *Hyalophora cecropia* (Lepidoptera: Saturniidae). *Oecologia*, **28**: 269-287.
- Semiz, G., Heijari, J., Isik, K., Holopainen, J.K. (2007). Variation in needle terpenoids among *Pinus sylvestris* L. (Pinaceae) provenances from Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, **35**: 652-661.
- Silva, R.N., Monteiro, V.N., Alcanfor, J., Assis, E.M., Asquieri, E.R. (2003). Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, **23**(3): 337-341.
- Simon, J., Gleadow, R.M., Woodrow, I.E. (2010). Allocation of nitrogen to chemical defence and plant functional traits in constrained by soil N. *Tree Physiology*, **30**: 1111-1117.
- Simonato, M., Mendel, Z., Kerdelhué, C., Rousselet, J., Magnoux, E., Salvato, P., Roques, A., Battisti, A., Zane, L. (2007). Phylogeography of the pine processionary moth *Thaumetopoea wilkinsoni* in the Near East. *Molecular Ecology*, **16**: 2273-2283.
- Staudt, M.; Bertin, N.; Hansen, U.; Seufert, G.; Ciccioli, P.; Foster, P.; Frenzel, B.; Fugit, J.L. (1997). Seasonal and diurnal patterns of monoterpene emissions from *Pinus pinea* (L.) under field conditions. *Atmospheric Environment*, **31**: 145-156.
- Supelco (1998). Solid Phase Microextraction: Theory and Optimization of Conditions. *Bulletin* 923. Supelco, Bellefonte, PA, USA, pp. 1-8.
- Throop, H. L. & Lerdau, M. T. (2004). Effects of nitrogen deposition on insect herbivory: implications for community and ecosystem processes. *Ecosystems*, **7**: 109-133.
- Tiberi, R., Niccoli, A., Curini, M., Epifano, F., Marcotullio, M.C., Rosati, O. (1999). The role of the monoterpene composition in *Pinus* spp. Needles, in host selection by the pine processionary caterpillar, *Thaumetopoea pityocampa*. *Phytoparasitica*, **27**(4): 263-272.
- Townsend, C.R., Begon, M., Harper, J.L. (2008). *Essentials of Ecology*. 3^o Edition. Blackwell Publishing. Oxford, UK, 510 pp.
- Tumlinson, J. H. (1988). Contemporary frontiers in insect semiochemical research. *Journal of Chemical Ecology*, **14**(11): 2109-2130.
- Vasconcelos, T., Franco, J.C., Branco, M. (2008a). Os inimigos naturais nos ecossistemas florestais. In: M. Branco, C. Valente, M.R. Paiva (eds.). *Pragas e doenças em Pinhal e Eucaliptal: desafios para a sua gestão integrada*, ISAPress. Lisboa.

- Vasconcelos, T., Inácio, L., Bonifácio, L. (2008b). Pragas e doenças dos pinheiros. In: M. Branco, C. Valente, M.R. Paiva (eds.). *Pragas e doenças em Pinhal e Eucaliptal: desafios para a sua gestão integrada*, ISAPress. Lisboa.
- Wainhouse, D. (2005) *Ecological methods in forest pest management*, Oxford University press, New York.
- Wait, D.A., Jones, C.G., Coleman, J.C. (1998); Effects of nitrogen fertilization on leaf chemistry and beetle feeding are mediated by leaf development. *Oikos*, **82**: 502-514.
- Webster, B., Bruce, T., Pickett, J., Hardie, J. (2010). Volatiles functioning as host cues in a blend become nonhost cues when presented alone to the black bean aphid. *Animal Behaviour*, **79**: 451–457.
- Whittaker, R.H. & Feeny, P.P. (1971). Allelochemicals: Chemical interactions between species. *Science*, **171**: 757-770.
- Wittstock, U. & Gershenzon, J. (2002). Constitutive plant toxins and their role in defense against herbivores and pathogens. *Current Opinion in Plant Biology*, **5**: 300–307.
- Woods, H.A. (1999). Patterns and mechanisms of growth of fifth instar *Manduca sexta* caterpillars following exposure to low or high-protein food during early instars. *Physiological and Biochemical Zoology*, **72**: 445–54.
- Woods, D.L. (1972). Selection and colonisation of ponderosa pine by bark beetles. In: Insect-plant Relationships. (Ed. H. Van Emden), 6. Symposium of the Royal Entomology Society, London. Blackwell, London.
- Zalucki, M.P., Clarke, A.R., Malcolm, S.B. (2002). Ecology and behavior of first instar larval Lepidoptera. *Annual Review Entomology*, **47**: 361-393.
- Zhang, Q.H. & Paiva, M.R. (1998). Female calling behaviour and male response to the sex pheromone in *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae). *Journal of Applied Entomology*, **122**: 353-360.
- Zini, C.A., Augusto, F., Christensen, E., Caramão, E.B., Pawliszyn, J. (2002). SPME Applied to the Study of Volatile Organic Compounds Emitted by three Species of *Eucalyptus* in Situ. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**: 7199-7205.

ANEXOS

ANEXO 3 – Análise de sobrevivência para as larvas de 1º instar de *T. pityocampa*

Survival Table

Instar	Hospedeiro	Tempo (dias)	sobrev	e.p.
1	Pinaster	0	1,000	0,000
1		3	0,890	0,018
1		4	0,682	0,026
1		7	0,390	0,027
1		10	0,242	0,024
1		11	0,211	0,023
1		14	0,107	0,017
1	Alepo C	0	1,000	0,000
1		3	0,868	0,021
1		4	0,705	0,028
1		7	0,322	0,029
1		10	0,151	0,022
1		11	0,147	0,022
1		14	0,054	0,014
1	Carmel	0	1,000	0,000
1		3	0,810	0,028
1		7	0,415	0,035
1		10	0,310	0,033
1		14	0,250	0,031
1	S João	0	1,000	0,000
1		3	0,820	0,027
1		7	0,340	0,033
1		10	0,150	0,025
1		14	0,095	0,021

Means and Medians for Survival Time

Dieta	Mean ^a				Median			
	Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval		Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound			Lower Bound	Upper Bound
Pinaster campo	7,389	,187	7,023	7,755	7,000	,239	6,531	7,469
Alepo campo	7,328	,188	6,960	7,697	7,000	,202	6,603	7,397
Alepo Carmel	8,650	,244	8,171	9,129	7,000	,255	6,500	7,500
Alepo S.João	7,900	,237	7,436	8,364	7,000	,279	6,453	7,547
Overall	7,747	,107	7,538	7,956	7,000	,114	6,776	7,224

a. Estimation is limited to the largest survival time if it is censored.

Pairwise Comparisons

	Dieta	Pinaster campo		Alepo campo		Alepo Carmel		Alepo S.João	
		Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	Pinaster campo			,757	,384	24,954	,000	2,135	,144
	Alepo campo	,757	,384			33,573	,000	5,421	,020
	Alepo Carmel	24,954	,000	33,573	,000			8,205	,004
	Alepo S.João	2,135	,144	5,421	,020	8,205	,004		

ANEXO 4 – Análise de sobrevivência para as larvas de 2º instar de *T. pityocampa*

Survival table

Instar	Hospedeiro	Tempo (dias)	sobrev	e.p.
1	Pinaster campo	0	1,000	0,000
1		3	0,988	0,007
1		4	0,892	0,020
1		7	0,692	0,029
1		10	0,552	0,031
1		11	0,488	0,032
1		14	0,388	0,031
1		17	0,368	0,037
1		18	0,336	0,030
1		21	0,240	0,027
1		24	0,235	0,027
1		25	0,144	0,024
1		28	0,128	0,024
1		31	0,051	0,022
1	Alepo campo	0	1,000	0,000
1		3	0,996	0,004
1		4	0,916	0,018
1		7	0,718	0,029
1		10	0,634	0,031
1		11	0,613	0,032
1		14	0,525	0,032
1		17	0,496	0,032
1		18	0,475	0,032
1		21	0,347	0,031
1		24	0,247	0,029
1		25	0,233	0,028
1		28	0,200	0,027
1		31	0,174	0,026
1	Alepo Carmel	0	1,000	0,000
1		3	0,996	0,004
1		4	0,977	0,009
1		7	0,884	0,020
1		10	0,799	0,025
1		11	0,784	0,026
1		14	0,734	0,027
1		17	0,476	0,035
1		18	0,381	0,035
1		21	0,348	0,039
1	Alepo S João	0	1,000	0,000
1		3	0,988	0,007
1		4	0,967	0,011
1		7	0,925	0,016
1		10	0,910	0,018
1		14	0,831	0,023
1		17	0,805	0,025
1		18	0,709	0,029
1		21	0,566	0,032
1		24	0,292	0,039
1		28	0,165	0,037
1		31	0,151	0,037

ANEXO 4 – Análise de sobrevivência para as larvas de 2º instar de *T. pityocampa* (cont.)
Means and Medians for Survival Time

Dieta	Mean ^a				Median			
	Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval		Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound			Lower Bound	Upper Bound
Pinaster campo	15,067	,568	13,953	16,180	11,000	,771	9,489	12,511
Alepo campo	17,629	,636	16,382	18,876	17,000	1,216	14,616	19,384
Alepo Carmel	16,549	,316	15,930	17,168	17,000	,401	16,213	17,787
Alepo S.João	22,097	,476	21,165	23,029	24,000	,428	23,162	24,838
Overall	20,659	,290	20,090	21,229	21,000	,477	20,065	21,935

a. Estimation is limited to the largest survival time if it is censored.

Pairwise Comparisons

Dieta	Pinaster campo		Alepo campo		Alepo Carmel		Alepo S.João	
	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	Pinaster campo		9,472	,002	20,955	,000	59,917	,000
	Alepo campo	9,472	,002		1,222	,269	18,058	,000
	Alepo Carmel	20,955	,000	1,222	,269		36,232	,000
	Alepo S.João	59,917	,000	18,058	,000	36,232	,000	

ANEXO 5 – Análise de sobrevivência para as larvas de 1º instar de *T. wilkinsoni*

Survival table

Instar	Hospedeiro	Tempo (dias)	sobrev	e.p.
1	Pinaster campo	0	1,000	0,000
1		3	0,872	0,017
1		4	0,519	0,025
1		6	0,439	0,025
1		7	0,288	0,023
1		10	0,246	0,022
1		11	0,088	0,014
1		14	0,040	0,010
1		18	0,016	0,006
1		21	0,000	0,000
1	Pinaster viveiro	0	1,000	0,000
1		3	0,777	0,031
1		4	0,589	0,037
1		6	0,503	0,038
1		7	0,417	0,037
1		10	0,326	0,035
1		13	0,217	0,031
1		17	0,120	0,025
1		19	0,080	0,021
1		20	0,063	0,018
1		24	0,023	0,011
1		Alepo campo	0	1,000
1	4		0,744	0,023
1	7		0,592	0,026
1	10		0,575	0,027
1	11		0,491	0,027
1	13		0,471	0,027
1	14		0,399	0,026
1	15		0,394	0,026
1	17		0,388	0,026
1	18		0,368	0,026
1	19		0,360	0,026
1	20		0,352	0,026
1	21		0,215	0,024
1	24		0,167	0,023
1	25		0,048	0,018
1	28		0,040	0,016
1	Alepo Carmel	0	1,000	0,000
1		4	0,742	0,023
1		7	0,668	0,025
1		10	0,665	0,025
1		11	0,612	0,026
1		13	0,609	0,026
1		14	0,590	0,026
1		15	0,575	0,026
1		17	0,549	0,027
1		18	0,327	0,027
1		19	0,304	0,027
1		20	0,293	0,027
1		21	0,286	0,027

ANEXO 5 – Análise de sobrevivência para as larvas de 1º instar de *T. wilkinsoni* (cont.)

1	Alepo S. João	0	1,000	0,000
1		4	0,674	0,025
1		7	0,603	0,026
1		10	0,592	0,026
1		11	0,526	0,026
1		13	0,513	0,026
1		14	0,351	0,026
1		15	0,328	0,027
1		17	0,311	0,027
1		18	0,212	0,025
1		19	0,172	0,025
1		20	0,146	0,024
1		22	0,138	0,024
1		24	0,046	0,020

Means and Medians for Survival Time

Dieta	Mean ^a				Median			
	Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval		Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound			Lower Bound	Upper Bound
Alepo campo	13,647	,454	12,757	14,536	11,000	,612	9,801	12,199
Alepo Carmel	15,514	,480	14,573	16,456	18,000	,332	17,349	18,651
Pinaster viveiro	9,126	,492	8,162	10,090	7,000	,652	5,722	8,278
Pinaster campo	6,930	,204	6,530	7,331	6,000	,172	5,663	6,337
Alepo S João	12,256	,392	11,488	13,024	14,000	,438	13,141	14,859
Overall	11,735	,202	11,340	12,131	10,000	,282	9,448	10,552

a. Estimation is limited to the largest survival time if it is censored.

Pairwise Comparisons

Dieta	Alepo C		Carmel		Pbviveir		Pinaster		S João	
	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	Alepo C		7,661	,006	61,581	,000	192,851	,000	8,047	,005
	Carmel	7,661	,006		99,503	,000	272,774	,000	30,337	,000
	Pbviveir	61,581	,000	99,503	,000		17,570	,000	32,112	,000
	Pinaster	192,851	,000	272,774	,000	17,570	,000		170,318	,000
	S João	8,047	,005	30,337	,000	32,112	,000	170,318	,000	

ANEXO 6 – Análise de sobrevivência para as larvas de 2º instar de *T. wilkinsoni*

Survival table

Instar	Hospedeiro	Tempo (dias)	sobrev	e.p.
1	Pinaster campo	0	1,000	0,000
1		3	0,987	0,007
1		4	0,941	0,015
1		7	0,756	0,028
1		10	0,739	0,028
1		12	0,529	0,032
1		13	0,521	0,032
1		16	0,487	0,032
1		17	0,353	0,031
1		20	0,282	0,029
1		23	0,248	0,028
1		27	0,193	0,026
1		31	0,097	0,019
1		35	0,046	0,014
1		37	0,007	0,006
1	Pinaster viveiro	0	1,000	0,000
1		3	0,996	0,004
1		4	0,971	0,010
1		7	0,872	0,020
1		10	0,868	0,020
1		12	0,813	0,024
1		16	0,810	0,024
1		17	0,757	0,027
1		22	0,736	0,028
1		27	0,683	0,029
1		31	0,514	0,033
1		35	0,293	0,034
1		37	0,198	0,033
1		41	0,146	0,030
1		Alepo campo	0	1,000
1	4		0,979	0,010
1	7		0,887	0,023
1	12		0,810	0,028
1	17		0,759	0,031
1	22		0,723	0,032
1	27		0,687	0,033
1	31		0,641	0,034
1	35		0,258	0,037
1	37		0,191	0,034
1	Alepo Carmel		0	1,000
1		4	0,986	0,008
1		7	0,946	0,015
1		12	0,905	0,020
1		17	0,860	0,023
1		22	0,824	0,026
1		27	0,752	0,029
1		31	0,623	0,033
1		35	0,461	0,036
1		37	0,066	0,025
1		41	0,055	0,023

ANEXO 7 – Análise das mudanças de instar das larvas de 1º instar de *T. pityocampa*

Means and Medians for Survival Time

Dieta	Mean ^a				Median			
	Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval		Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound			Lower Bound	Upper Bound
Alepo campo	12,198	,246	11,716	12,679
Alepo Carmel	10,024	,231	9,571	10,477	10,000	,425	9,168	10,832
Pinaster campo	10,899	,285	10,341	11,458	14,000	1,753	10,564	17,436
Alepo S. João	11,341	,328	10,698	11,983	14,000	.	.	.
Overall	10,972	,145	10,687	11,257	11,000	,271	10,470	11,530

a. Estimation is limited to the largest survival time if it is censored.

Pairwise Comparisons

Dieta		Alepo campo		Alepo Carmel		Pinaster campo		Alepo S. João	
		Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	Alepo campo			30,045	,000	16,843	,000	6,475	,011
	Alepo Carmel	30,045	,000			,387	,534	3,245	,072
	Pinaster campo	16,843	,000	,387	,534			2,342	,126
	Alepo S. João	6,475	,011	3,245	,072	2,342	,126		

ANEXO 8 – Análise das mudanças de instar das larvas de 2º instar de *T. pityocampa*

Means and Medians for Survival Time

Dieta	Mean ^a				Median			
	Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval		Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound			Lower Bound	Upper Bound
Alepo campo	19,497	,727	18,073	20,921	18,000	,176	17,655	18,345
Alepo Carmel	11,280	,260	10,770	11,789	11,000	,090	10,824	11,176
Pinaster campo	20,031	,823	18,418	21,643	18,000	,197	17,614	18,386
Alepo S. João	13,194	,474	12,266	14,123	11,000	,101	10,802	11,198
Overall	15,675	,335	15,019	16,331	14,000	,356	13,303	14,697

a. Estimation is limited to the largest survival time if it is censored.

Pairwise Comparisons

Dieta	Alepo campo		Alepo Carmel		Pinaster campo		Alepo S. João	
	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	Alepo campo		106,205	,000	,284	,594	71,963	,000
	Alepo Carmel	106,205	,000		104,821	,000	7,136	,008
	Pinaster campo	,284	,594	104,821	,000		70,483	,000
	Alepo S. João	71,963	,000	7,136	,008	70,483	,000	

ANEXO 9 – Análise das mudanças de instar das larvas de 1º instar de *T. wilkinsoni*

Means and Medians for Survival Time

Dieta	Mean ^a				Median			
	Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval		Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound			Lower Bound	Upper Bound
Alepo campo	16,908	,703	15,529	18,287	17,000	,995	15,050	18,950
Alepo Carmel	13,529	,580	12,393	14,666	11,000	,949	9,140	12,860
Pinaster viveiro	22,706	,701	21,333	24,079
Pinaster campo	19,087	,690	17,734	20,440
Alepo S. João	13,825	,594	12,660	14,989	13,000	1,336	10,381	15,619
Overall	16,464	,396	15,689	17,240	15,000	,544	13,935	16,065

a. Estimation is limited to the largest survival time if it is censored.

Pairwise Comparisons

Dieta	Alepo campo		Alepo Carmel		Pinaster viveiro		Pinaster campo		Alepo S. João	
	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.
	Log Rank			18,282	,000	18,817	,000	19,339	,000	11,927
(Mantel-Cox)										
Alepo campo										
Alepo Carmel	18,282	,000			38,723	,000	59,573	,000	,864	,353
Pinaster viveiro	18,817	,000	38,723	,000			3,203	,073	32,337	,000
Pinaster campo	19,339	,000	59,573	,000	3,203	,073			48,235	,000
Alepo S. João	11,927	,001	,864	,353	32,337	,000	48,235	,000		

ANEXO 10 – Análise das mudanças de instar das larvas de 2º instar de *T. wilkinsoni*

Means and Medians for Survival Time

Dieta	Mean ^a				Median			
	Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval		Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound			Lower Bound	Upper Bound
Alepo campo	27,237	,573	26,115	28,360	27,000	,578	25,868	28,132
Alepo Carmel	24,047	,841	22,400	25,695	22,000	,741	20,548	23,452
Pinaster viveiro	21,162	,594	19,998	22,327	17,000	,662	15,702	18,298
Pinaster campo	33,559	,807	31,978	35,141	37,000	,000	.	.
Alepo S. João	24,017	,860	22,331	25,704	22,000	,741	20,547	23,453
Overall	25,376	,393	24,606	26,146	23,000	,411	22,195	23,805

a. Estimation is limited to the largest survival time if it is censored.

Pairwise Comparisons

Dieta		Alepo campo		Alepo Carmel		Pinaster viveiro		Pinaster campo		Alepo S. João	
		Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.	Chi-Square	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	Alepo campo			11,235	,001	32,235	,000	31,856	,000	14,718	,000
	Alepo Carmel	11,235	,001			8,315	,004	63,672	,000	,010	,920
	Pinaster viveiro	32,235	,000	8,315	,004			97,355	,000	6,129	,013
	Pinaster campo	31,856	,000	63,672	,000	97,355	,000			64,680	,000
	Alepo S. João	14,718	,000	,010	,920	6,129	,013	64,680	,000		

Anexo 11 – Resultados dos testes não paramétricos aplicados à variável Consumo para *T. pityocampa*, L1

T. pityocampa, L1 - Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	Dieta	N	Mean Rank
Consumo	Pinaster campo	46	39,48
	Alepo campo	35	68,80
	Alepo Carmel	39	104,94
	Alepo S. João	21	80,69
	Total	141	

Test Statistics ^{a,b}	
	Consumo
Chi-square	56,257
df	3
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Dieta

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Pinaster campo	46	33,43	1538,00
	Alepo campo	35	50,94	1783,00
	Total	81		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Pinaster campo	46	26,07	1199,00
	Alepo Carmel	39	62,97	2456,00
	Total	85		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Pinaster campo	46	26,98	1241,00
	Alepo S. João	21	49,38	1037,00
	Total	67		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Alepo campo	35	26,99	944,50
	Alepo Carmel	39	46,94	1830,50
	Total	74		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Alepo campo	35	26,87	940,50
	Alepo S. João	21	31,21	655,50
	Total	56		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Alepo Carmel	39	35,03	1366,00
	Alepo S. João	21	22,10	464,00
	Total	60		

	Dieta	Pinaster campo	Alepo campo	Alepo Carmel	Alepo S. João
Mann-Whitney U	Pinaster campo		457,0; p=0,001	118,0; p=0,000	160,0; p=0,000
	Alepo campo	457,0; p=0,001		314,5; p=0,000	310,5; p=0,330
	Alepo Carmel	118,0; p=0,000	314,5; p=0,000		233,0; p=0,006
	Alepo S. João	160,0; p=0,000	310,5; p=0,330	233,0; p=0,006	

Anexo 12 – Resultados dos testes não paramétricos aplicados à variável Consumo para *T. pityocampa*, L2

T. pityocampa, L2 - Kruskal-Wallis Test

Dieta		N	Mean Rank
Consumo	Pinaster campo	47	31,60
	Alepo campo	63	112,09
	Alepo Carmel	38	123,43
	Alepo S. João	49	127,88
	Total	197	

Test Statistics ^{a,b}	
	Consumo
Chi-square	110,538
df	3
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Dieta

Mann-Whitney Test

Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Pinaster campo	47	27,62	1298,00
	Alepo campo	63	76,30	4807,00
	Total	110		

Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Pinaster campo	47	27,98	1315,00
	Alepo Carmel	38	61,58	2340,00
	Total	85		

Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Pinaster campo	47	24,00	1128,00
	Alepo S. João	49	72,00	3528,00
	Total	96		

Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Alepo campo	63	47,63	3000,50
	Alepo Carmel	38	56,59	2150,50
	Total	101		

Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Alepo campo	63	52,16	3286,00
	Alepo S. João	49	62,08	3042,00
	Total	112		

Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Alepo Carmel	38	44,26	1682,00
	Alepo S. João	49	43,80	2146,00
	Total	87		

	Dieta	Pinaster campo	Alepo campo	Alepo Carmel	Alepo S. João
Mann-Whitney U	Pinaster campo		170,0; p=0,000	187,0;p=0,000	000,0; p=0,000
	Alepo campo	170,0; p=0,000		984,5;p=0,136	1270,0;p=0,109
	Alepo Carmel	187,0;p=0,000	984,5;p=0,136		921,0;p=0,932
	Alepo S. João	000,0; p=0,000	1270,0;p=0,109	921,0;p=0,932	

Anexo 13 – Resultados dos testes não paramétricos aplicados à variável Consumo para *T. wilkinsoni*, L1

T. wilkinsoni, L1 - Kruskal-Wallis Test

Ranks			
Dieta		N	Mean Rank
Consumo	Pinaster campo	27	27,61
	Pinaster viveiro	29	40,53
	Alepo campo	56	119,05
	Alepo Carmel	64	158,53
	Alepo S. João	54	145,02
	Total	230	

Test Statistics ^{a,b}	
	Consumo
Chi-square	121,610
df	4
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test
b. Grouping Variable: Dieta

Mann-Whitney Test

Ranks				
Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Pinaster campo	27	23,43	632,50
	Pinaster viveiro	29	33,22	963,50
	Total	56		

Ranks				
Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Pinaster campo	27	15,33	414,00
	Alepo campo	56	54,86	3072,00
	Total	83		

Ranks				
Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Pinaster campo	27	15,02	405,50
	Alepo Carmel	64	59,07	3780,50
	Total	91		

Ranks				
Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Pinaster campo	27	15,83	427,50
	Alepo S. João	54	53,58	2893,50
	Total	81		

Ranks				
Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Pinaster viveiro	29	17,86	518,00
	Alepo campo	56	56,02	3137,00
	Total	85		

Ranks				
Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Pinaster viveiro	29	16,74	485,50
	Alepo Carmel	64	60,71	3885,50
	Total	93		

Anexo 13 – Resultados dos testes não paramétricos aplicados à variável Consumo para *T. wilkinsoni*, L1 (cont.)

Ranks			
Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo Pinaster viveiro	29	17,71	513,50
Alepo S. João	54	55,05	2972,50
Total	83		

Ranks			
Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo Alepo Carmel	64	63,41	4058,50
Alepo S. João	54	54,86	2962,50
Total	118		

Ranks			
Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo Alepo campo	56	46,40	2598,50
Alepo Carmel	64	72,84	4661,50
Total	120		

Ranks			
Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo Alepo campo	56	47,28	2647,50
Alepo S. João	54	64,03	3457,50
Total	110		

	Dieta	Pinaster campo	Pinaster viveiro	Alepo campo	Alepo Carmel	Alepo S. João
Mann-Whitney U	Pinaster campo		254,5; p=0,021	36,00; p=0,000	27,50; p=0,000	49,50; p=0,000
	Pinaster viveiro	254,5; p=0,021		83,00; p=0,000	50,500;p=0,000	78,50;p=0,000
	Alepo campo	36,00; p=0,000	83,00; p=0,000		1002,5;p=0,000	1051,5;p=0,006
	Alepo Carmel	27,50; p=0,000	50,500;p=0,000	1002,5;p=0,000		1477,5;p=0,176
	Alepo S. João	49,50; p=0,000	78,50;p=0,000	1051,5;p=0,006	1477,5;p=0,176	

Anexo 14 – Resultados dos testes não paramétricos aplicados à variável Consumo para *T. wilkinsoni*, L2

T. wilkinsoni, L2 - Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	Dieta	N	Mean Rank
Consumo	Pinaster campo	53	45,22
	Pinaster viveiro	77	105,89
	Alepo campo	46	182,93
	Alepo Carmel	47	175,96
	Alepo S. João	46	197,39
	Total	269	

Test Statistics ^{a,b}	
	Consumo
Chi-square	141,482
df	4
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test
b. Grouping Variable: Dieta

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Pinaster campo	53	39,96	2118,00
	Pinaster viveiro	77	83,08	6397,00
	Total	130		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Pinaster campo	53	28,83	1528,00
	Alepo campo	46	74,39	3422,00
	Total	99		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Pinaster campo	53	28,60	1516,00
	Alepo Carmel	47	75,19	3534,00
	Total	100		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Pinaster campo	77	46,13	3552,00
	Alepo S. João	46	88,57	4074,00
	Total	123		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Pinaster viveiro	77	45,57	3509,00
	Alepo campo	46	89,50	4117,00
	Total	123		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Pinaster viveiro	77	48,11	3704,50
	Alepo Carmel	47	86,07	4045,50
	Total	124		

Anexo 14 – Resultados dos testes não paramétricos aplicados à variável Consumo para *T. wilkinsoni*, L2 (cont.)

Ranks				
Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Pinaster viveiro	53	33,36	1768,00
	Alepo S. João	46	69,17	3182,00
	Total	99		

Ranks				
Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Alepo Carmel	47	41,45	1948,00
	Alepo S. João	46	52,67	2423,00
	Total	93		

Ranks				
Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Alepo campo	46	48,79	2244,50
	Alepo Carmel	47	45,24	2126,50
	Total	93		

Ranks				
Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Consumo	Alepo campo	46	40,75	1874,50
	Alepo S. João	46	52,25	2403,50
	Total	92		

	Dieta	Pinaster campo	Pinaster viveiro	Alepo campo	Alepo Carmel	Alepo S. João
Mann-Whitney U	Pinaster campo		687,0; p=0,000	97,0; p=0,000	85,0; p=0,000	96,5; p=0,000
	Pinaster viveiro	687,0; p=0,000		506,0;p=0,000	701,5;p=0,000	549,0;p=0,000
	Alepo campo	97,0; p=0,000	506,0;p=0,000		998,5;p=0,526	793,5;p=0,039
	Alepo Carmel	85,0; p=0,000	701,5;p=0,000	998,5;p=0,526		820;p=0,045
	Alepo S. João	96,5; p=0,000	549,0;p=0,000	793,5;p=0,039	820;p=0,045	

Anexo 15 – Resultados dos testes não paramétricos aplicados à variável Fezes para *T. pityocampa*, L1

T. pityocampa, L1 - Kruskal-Wallis Test

Ranks		N	Mean Rank
Dieta			
Fezes	Pinaster campo	55	87,89
	Alepo campo	43	75,76
	Alepo Carmel	46	97,86
	Alepo S. João	28	81,61
Total		172	

Test Statistics ^{a,b}	
Fezes	
Chi-square	4,780
df	3
Asymp. Sig.	,189

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Dieta

Mann-Whitney Test

Ranks				
Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks	
Fezes	Pinaster campo	55	52,28	2875,50
	Alepo campo	43	45,94	1975,50
Total		98		

Ranks				
Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks	
Fezes	Pinaster campo	55	48,63	2674,50
	Alepo Carmel	46	53,84	2476,50
Total		10		

Ranks				
Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks	
Fezes	Pinaster campo	55	42,98	2364,00
	Alepo S. João	28	40,07	1122,00
Total		83		

Ranks				
Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks	
Fezes	Alepo campo	43	38,57	1658,50
	Alepo Carmel	46	51,01	2346,50
Total		89		

Ranks				
Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks	
Fezes	Alepo campo	43	35,24	1515,50
	Alepo S. João	28	37,16	1040,50
Total		71		

Ranks				
Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks	
Fezes	Alepo Carmel	46	40,01	1840,50
	Alepo S. João	28	33,38	934,50
Total		74		

	Dieta	Pinaster campo	Alepo campo	Alepo Carmel	Alepo S. João
Mann-Whitney U	Pinaster campo		1029,5; p=0,268	1134,5; p=0,371	716,0; p=0,598
	Alepo campo	1029,5; p=0,268		712,5; p=0,023	569,5; p=0,699
	Alepo Carmel	1134,5; p=0,371	712,5; p=0,023		528,5; p=0,196
	Alepo S. João	716,0; p=0,598	569,5; p=0,699	528,5; p=0,196	

Anexo 16 – Resultados dos testes não paramétricos aplicados à variável Fezes para *T. pityocampa*, L2

T. pityocampa, L2 - Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	Dieta	N	Mean Rank
Fezes	Pinaster campo	51	111,25
	Alepo campo	64	87,06
	Alepo Carmel	38	105,57
	Alepo S. João	49	107,06
	Total	202	

Test Statistics ^{a,b}	
	Fezes
Chi-square	5,949
df	3
Asymp. Sig.	,114

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Dieta

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Pinaster campo	51	64,58	3293,50
	Alepo campo	64	52,76	3376,50
	Total	115		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Pinaster campo	51	46,75	2384,50
	Alepo Carmel	38	42,64	1620,50
	Total	89		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Pinaster campo	51	51,91	2647,50
	Alepo S. João	49	49,03	2402,50
	Total	100		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Alepo campo	64	47,60	3046,50
	Alepo Carmel	38	58,07	2206,50
	Total	102		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Alepo campo	64	51,70	3309,00
	Alepo S. João	49	63,92	3132,00
	Total	113		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Alepo Carmel	38	43,86	1666,50
	Alepo S. João	49	44,11	2161,50
	Total	87		

	Dieta	Pinaster campo	Alepo campo	Alepo Carmel	Alepo S. João
Mann-Whitney U	Pinaster campo		1296,5;p=0,059	879,5; p=0,458	1177,5; p=0,620
	Alepo campo	1296,5;p=0,059		966,5;p=0,084	1229,0;p=0,050
	Alepo Carmel	879,5; p=0,458	966,5;p=0,084		925,5;p=0,962
	Alepo S. João	1177,5; p=0,620	1229,0;p=0,050	925,5;p=0,962	

Anexo 17 – Resultados dos testes não paramétricos aplicados à variável Fezes para *T. wilkinsoni*, L1

T. wilkinsoni, L1- Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	Dieta	N	Mean Rank
Fezes	Pinaster campo	35	57,79
	Pinaster viveiro	30	67,45
	Alepo campo	54	133,84
	Alepo Carmel	65	150,37
	Alepo S. João	50	128,95
	Total	234	

Test Statistics ^{a,b}	
	Fezes
Chi-square	63,602
df	4
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test
b. Grouping Variable: Dieta

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Pinaster campo	35	30,57	1070,00
	Pinaster viveiro	30	35,83	1075,00
	Total	65		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Pinaster campo	35	27,63	967,00
	Alepo campo	54	56,26	3038,00
	Total	89		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Pinaster campo	35	26,40	924,00
	Alepo Carmel	65	63,48	4126,00
	Total	100		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Pinaster campo	35	27,19	951,50
	Alepo S. João	50	54,07	2703,50
	Total	85		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Pinaster viveiro	30	26,52	795,50
	Alepo campo	54	51,38	2774,50
	Total	84		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Pinaster viveiro	30	25,48	764,50
	Alepo Carmel	65	58,39	3795,50
	Total	95		

Anexo 17 – Resultados dos testes não paramétricos aplicados à variável Fezes para *T. wilkinsoni*, L1 (cont.)

Ranks			
Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes Pinaster viveiro	30	26,12	783,50
Alepo S. João	50	49,13	2456,50
Total	80		

Ranks			
Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes Alepo Carmel	65	63,38	4119,50
Alepo S. João	50	51,01	2550,50
Total	115		

Ranks			
Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes Alepo campo	54	55,04	2972,00
Alepo Carmel	65	64,12	4168,00
Total	119		

Ranks			
Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes Alepo campo	54	53,67	2898,00
Alepo S. João	50	51,24	2562,00
Total	104		

	Dieta	Pinaster campo	Pinaster viveiro	Alepo campo	Alepo Carmel	Alepo S. João
Mann-Whitney U	Pinaster campo		440,0; p=0,255	337,0; p=0,000	294,0; p=0,000	231,5; p=0,000
	Pinaster viveiro	440,0; p=0,255		330,5; p=0,000	299,5; p=0,000	318,5; p=0,000
	Alepo campo	337,0; p=0,000	330,5; p=0,000		1487,5; p=0,153	1287,0; p=0,682
	Alepo Carmel	294,0; p=0,000	299,5; p=0,000	1487,5; p=0,153		1275,5; p=0,049
	Alepo S. João	231,5; p=0,000	318,5; p=0,000	1287,0; p=0,682	1275,5; p=0,049	

Anexo 18 – Resultados dos testes não paramétricos aplicados à variável Fezes para *T. wilkinsoni*, L2

T. wilkinsoni, L2- Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	Dieta	N	Mean Rank
Fezes	Pinaster campo	48	41,95
	Pinaster viveiro	77	91,77
	Alepo campo	46	182,51
	Alepo Carmel	47	179,45
	Alepo S. João	46	197,20
	Total	264	

Test Statistics ^{a,b}	
	Fezes
Chi-square	159,960
df	4
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test
b. Grouping Variable: Dieta

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Pinaster campo	48	37,46	1798,00
	Pinaster viveiro	77	78,92	6077,00
	Total	125		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Pinaster campo	48	25,55	1226,50
	Alepo campo	46	70,40	3238,50
	Total	94		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Pinaster campo	48	25,44	1221,00
	Alepo Carmel	47	71,04	3339,00
	Total	95		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Pinaster campo	48	27,00	1296,00
	Alepo S. João	46	68,89	3169,00
	Total	94		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Pinaster viveiro	77	42,05	3238,00
	Alepo campo	46	95,39	4388,00
	Total	123		

Ranks				
	Dieta	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Pinaster viveiro	77	43,91	3381,00
	Alepo Carmel	47	92,96	4369,00
	Total	124		

Anexo 18 – Resultados dos testes não paramétricos aplicados à variável Fezes para *T. wilkinsoni*, L2 (cont.)

Ranks				
Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Pinaster viveiro	77	43,88	3379,00
	Alepo S. João	46	92,33	4247,00
Total		123		

Ranks				
Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Alepo Carmel	47	41,06	1930,00
	Alepo S. João	46	53,07	2441,00
Total		93		

Ranks				
Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Alepo campo	46	47,63	2191,00
	Alepo Carmel	47	46,38	2180,00
Total		93		

Ranks				
Dieta		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fezes	Alepo campo	46	39,59	1821,00
	Alepo S. João	46	53,41	2457,00
Total		92		

	Dieta	Pinaster campo	Pinaster viveiro	Alepo campo	Alepo Carmel	Alepo S. João
Mann-Whitney U	Pinaster campo		622,0;p=0,000	50,5;p=0,000	45,0;p=0,000	120,0;p=0,000
	Pinaster viveiro	622,0;p=0,000		235,0;p=0,000	378,0;p=0,000	376,0;p=0,000
	Alepo campo	50,5;p=0,000	235,0;p=0,000		1052,0;p=0,824	740,0;p=0,013
	Alepo Carmel	45,0;p=0,000	378,0;p=0,000	1052,0;p=0,824		802,0;p=0,032
	Alepo S. João	120,0;p=0,000	376,0;p=0,000	740,0;p=0,013	802,0;p=0,032	

ANEXO 19 - Análise de variância da variável “Cápsula cefálica” das larvas de *T. pityocampa* e *T. wilkinsoni*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Cápsula_cefálica_L1 (*T. pityocampa* vs *T. wilkinsoni*)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,029 ^a	1	,029	18,324	,000
Intercept	32,149	1	32,149	20285,765	,000
Espécie	,029	1	,029	18,324	,000
Error	,092	58	,002		
Total	32,270	60			
Corrected Total	,121	59			

a. R Squared = ,240 (Adjusted R Squared = ,227)

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Cápsula_cefálica_L2 (*T. pityocampa* vs *T. wilkinsoni*)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,674 ^a	1	,674	151,979	,000
Intercept	66,655	1	66,655	15026,382	,000
Espécie	,674	1	,674	151,979	,000
Error	,257	58	,004		
Total	67,586	60			
Corrected Total	,931	59			

a. R Squared = ,724 (Adjusted R Squared = ,719)

ANEXO 20 – Análise de variância aplicada à variável “Força” aplicada

Força		ANOVA			
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,024	4	,006	374,092	,000
Within Groups	,004	245	,000		
Total	,028	249			

Dependent Variable: Força		Multiple Comparisons					
	(I) Dieta	(J) Dieta	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	Pinaster campo	Pinaster viveiro	,00499 [*]	,000799	,000	,00280	,00719
		Alepo campo	,01723 [*]	,000799	,000	,01503	,01943
		Alepo Carmel	,01739 [*]	,000799	,000	,01519	,01958
		Alepo S.João	,02742 [*]	,000799	,000	,02522	,02962
	Pinaster viveiro	Pinaster campo	-,00499 [*]	,000799	,000	-,00719	-,00280
		Alepo campo	,01224 [*]	,000799	,000	,01004	,01443
		Alepo Carmel	,01240 [*]	,000799	,000	,01020	,01459
		Alepo S.João	,02243 [*]	,000799	,000	,02023	,02462
	Alepo campo	Pinaster campo	-,01723 [*]	,000799	,000	-,01943	-,01503
		Pinaster viveiro	-,01224 [*]	,000799	,000	-,01443	-,01004
		Alepo Carmel	,00016	,000799	1,000	-,00204	,00235
		Alepo S.João	,01019 [*]	,000799	,000	,00799	,01239
	Alepo Carmel	Pinaster campo	-,01739 [*]	,000799	,000	-,01958	-,01519
		Pinaster viveiro	-,01240 [*]	,000799	,000	-,01459	-,01020
		Alepo campo	-,00016	,000799	1,000	-,00235	,00204
		Alepo S.João	,01003 [*]	,000799	,000	,00784	,01223
Alepo S.João	Pinaster campo	-,02742 [*]	,000799	,000	-,02962	-,02522	
	Pinaster viveiro	-,02243 [*]	,000799	,000	-,02462	-,02023	
	Alepo campo	-,01019 [*]	,000799	,000	-,01239	-,00799	
	Alepo Carmel	-,01003 [*]	,000799	,000	-,01223	-,00784	

Força		Dieta	N	Subset			
				1	2	3	4
Tukey HSD	Alepo S.João	50	,02660				
	Alepo Carmel	50		,03663			
	Alepo campo	50		,03679			
	Pinaster viveiro	50			,04903		
	Pinaster campo	50				,05402	
	Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	

ANEXO 21 – Análise de variância aplicada à variável “Teor em água das agulhas”

TeorÁgua

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1932,737	4	483,184	349,886	,000
Within Groups	303,814	220	1,381		
Total	2236,551	224			

Dependent Variable: Teor Água

Multiple Comparisons

	(I) Dieta	(J) Dieta	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	Pinaster campo	Pinaster viveiro	1,86082 [*]	,24774	,000	1,1794	2,5422
		Alepo campo	-4,63101 [*]	,24774	,000	-5,3124	-3,9496
		Alepo Carmel	-4,34017 [*]	,24774	,000	-5,0216	-3,6587
		Alepo S.João	-5,62516 [*]	,24774	,000	-6,3066	-4,9437
	Pinaster viveiro	Pinaster campo	-1,86082 [*]	,24774	,000	-2,5422	-1,1794
		Alepo campo	-6,49183 [*]	,24774	,000	-7,1733	-5,8104
		Alepo Carmel	-6,20099 [*]	,24774	,000	-6,8824	-5,5196
		Alepo S.João	-7,48598 [*]	,24774	,000	-8,1674	-6,8046
	Alepo campo	Pinaster campo	4,63101 [*]	,24774	,000	3,9496	5,3124
		Pinaster viveiro	6,49183 [*]	,24774	,000	5,8104	7,1733
		Alepo Carmel	,29084	,24774	,766	-,3906	,9723
		Alepo S.João	-,99415 [*]	,24774	,001	-1,6756	-,3127
	Alepo Carmel	Pinaster campo	4,34017 [*]	,24774	,000	3,6587	5,0216
		Pinaster viveiro	6,20099 [*]	,24774	,000	5,5196	6,8824
		Alepo campo	-,29084	,24774	,766	-,9723	,3906
		Alepo S.João	-1,28499 [*]	,24774	,000	-1,9664	-,6036
Alepo S.João	Pinaster campo	5,62516 [*]	,24774	,000	4,9437	6,3066	
	Pinaster viveiro	7,48598 [*]	,24774	,000	6,8046	8,1674	
	Alepo campo	,99415 [*]	,24774	,001	,3127	1,6756	
	Alepo Carmel	1,28499 [*]	,24774	,000	,6036	1,9664	

TeorÁgua

Dieta	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Tukey HSD					
Pinaster viveiro	45	54,7292			
Pinaster campo	45		56,5901		
Alepo Carmel	45			60,9302	
Alepo campo	45			61,2211	
Alepo S.João	45				62,2152
Sig.		1,000	1,000	,766	1,000

ANEXO 22 – Análise de variância aplicada à variável “Azoto”

Azoto

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2,017	4	,504	2401,381	,000
Within Groups	,001	5	,000		
Total	2,018	9			

Dependent Variable: Azoto

Multiple Comparisons (Tukey HSD)

(I) Dieta	(J) Dieta	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
Tukey HSD	Alepo campo	Alepo carmel	-,5950*	,01449	,000	-,6531	-,5369
		Alepo SJoão	-,5500*	,01449	,000	-,6081	-,4919
		Pb campo	,6100*	,01449	,000	,5519	,6681
		Pb viv	,1200*	,01449	,002	,0619	,1781
	Alepo carmel	Alepo campo	,5950*	,01449	,000	,5369	,6531
		Alepo SJoão	,0450	,01449	,122	-,0131	,1031
		Pb campo	1,2050*	,01449	,000	1,1469	1,2631
		Pb viv	,7150*	,01449	,000	,6569	,7731
	Alepo SJoão	Alepo campo	,5500*	,01449	,000	,4919	,6081
		Alepo carmel	-,0450	,01449	,122	-,1031	,0131
		Pb campo	1,1600*	,01449	,000	1,1019	1,2181
		Pb viv	,6700*	,01449	,000	,6119	,7281
	Pinaster	Alepo campo	-,6100*	,01449	,000	-,6681	-,5519
	campo	Alepo carmel	-1,2050*	,01449	,000	-1,2631	-1,1469
		Alepo SJoão	-1,1600*	,01449	,000	-1,2181	-1,1019
		Pb viv	-,4900*	,01449	,000	-,5481	-,4319
	Pinaster	Alepo campo	-,1200*	,01449	,002	-,1781	-,0619
	viveiro	Alepo carmel	-,7150*	,01449	,000	-,7731	-,6569
		Alepo SJoão	-,6700*	,01449	,000	-,7281	-,6119
		Pb campo	,4900*	,01449	,000	,4319	,5481

Azoto

Dieta	N	Subset				
		1	2	3	4	
Tukey HSD	Pb campo	2	,6100			
	Pb viv	2		1,1000		
	Alepo campo	2			1,2200	
	Alepo SJoão	2				1,7700
	Alepo carmel	2				1,8150
	Sig.		1,000	1,000	1,000	,122

ANEXO 23 – Análise de variância aplicada à variável “Carbono”

Carbono		ANOVA			
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2,074	4	,518	12,058	,009
Within Groups	,215	5	,043		
Total	2,289	9			

Dependent Variable: Carbono		Multiple Comparisons (Tukey HSD)				
(I) Dieta	(J) Dieta	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Alepo campo	Alepo carmel	1,40000*	,20736	,006	,5682	2,2318
	Alepo SJoão	,70000	,20736	,092	-,1318	1,5318
	Pb campo	,75000	,20736	,073	-,0818	1,5818
	Pb viv	,45000	,20736	,320	-,3818	1,2818
Alepo carmel	Alepo campo	-1,40000*	,20736	,006	-2,2318	-,5682
	Alepo SJoão	-,70000	,20736	,092	-1,5318	,1318
	Pb campo	-,65000	,20736	,118	-1,4818	,1818
	Pb viv	-,95000*	,20736	,030	-1,7818	-,1182
Alepo SJoão	Alepo campo	-,70000	,20736	,092	-1,5318	,1318
	Alepo carmel	,70000	,20736	,092	-,1318	1,5318
	Pb campo	,05000	,20736	,999	-,7818	,8818
	Pb viv	-,25000	,20736	,751	-1,0818	,5818
Pb campo	Alepo campo	-,75000	,20736	,073	-1,5818	,0818
	Alepo carmel	,65000	,20736	,118	-,1818	1,4818
	Alepo SJoão	-,05000	,20736	,999	-,8818	,7818
	Pb viv	-,30000	,20736	,629	-1,1318	,5318
Pb viv	Alepo campo	-,45000	,20736	,320	-1,2818	,3818
	Alepo carmel	,95000*	,20736	,030	,1182	1,7818
	Alepo SJoão	,25000	,20736	,751	-,5818	1,0818
	Pb campo	,30000	,20736	,629	-,5318	1,1318

Tukey HSD		Carbono	
Dieta	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Alepo carmel	2	52,2500	
Pb campo	2	52,9000	52,9000
Alepo SJoão	2	52,9500	52,9500
Pb viv	2		53,2000
Alepo campo	2		53,6500
Sig.		,092	,073

ANEXO 24 – Análise de variância aplicada à variável “C/N”

CN		ANOVA			
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4420,655	4	1105,164	1077,696	,000
Within Groups	5,127	5	1,025		
Total	4425,782	9			

CN		Multiple Comparisons (Tukey HSD)				
(I) Dieta	(J) Dieta	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Alepo campo	Alepo carmel	15,13492 [*]	1,01266	,000	11,0726	19,1972
	Alepo SJoão	13,90489 [*]	1,01266	,000	9,8426	17,9672
	Pb campo	-42,83283 [*]	1,01266	,000	-46,8951	-38,7705
	Pb viv	-4,46434 [*]	1,01266	,035	-8,5266	-,4020
Alepo carmel	Alepo campo	-15,13492 [*]	1,01266	,000	-19,1972	-11,0726
	Alepo SJoão	-1,23003	1,01266	,746	-5,2923	2,8323
	Pb campo	-57,96775 [*]	1,01266	,000	-62,0301	-53,9054
	Pb viv	-19,59925 [*]	1,01266	,000	-23,6616	-15,5369
Alepo SJoão	Alepo campo	-13,90489 [*]	1,01266	,000	-17,9672	-9,8426
	Alepo carmel	1,23003	1,01266	,746	-2,8323	5,2923
	Pb campo	-56,73772 [*]	1,01266	,000	-60,8000	-52,6754
	Pb viv	-18,36922 [*]	1,01266	,000	-22,4315	-14,3069
Pb campo	Alepo campo	42,83283 [*]	1,01266	,000	38,7705	46,8951
	Alepo carmel	57,96775 [*]	1,01266	,000	53,9054	62,0301
	Alepo SJoão	56,73772 [*]	1,01266	,000	52,6754	60,8000
	Pb viv	38,36850 [*]	1,01266	,000	34,3062	42,4308
Pb viv	Alepo campo	4,46434 [*]	1,01266	,035	,4020	8,5266
	Alepo carmel	19,59925 [*]	1,01266	,000	15,5369	23,6616
	Alepo SJoão	18,36922 [*]	1,01266	,000	14,3069	22,4315
	Pb campo	-38,36850 [*]	1,01266	,000	-42,4308	-34,3062

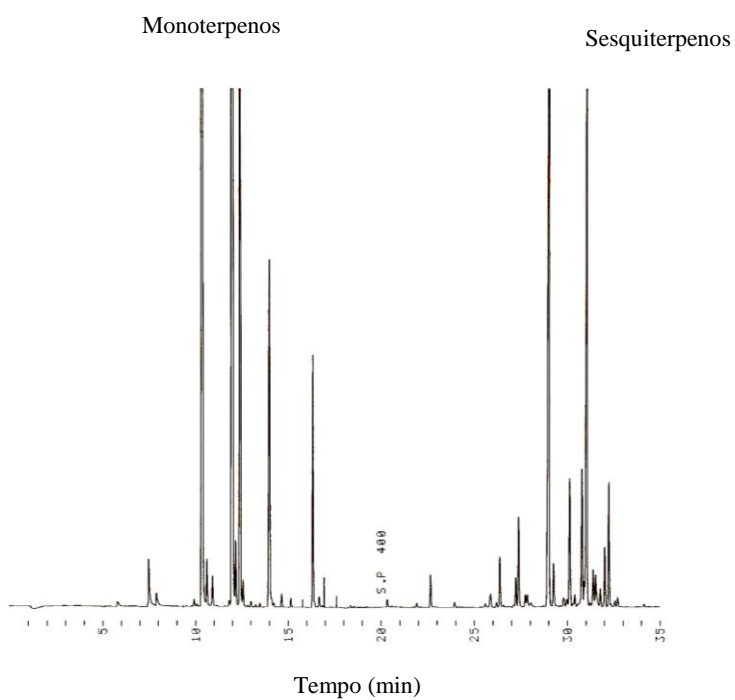
Tukey HSD		CN			
Dieta	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Alepo carmel	2	28,7162			
Alepo SJoão	2	29,9462			
Alepo campo	2		43,8511		
Pb viv	2			48,3154	
Pb campo	2				86,6839
Sig.		,746	1,000	1,000	1,000

Anexo 25 – Composição quantitativa (expressa em %) e qualitativa dos principais compostos voláteis de *P. pinaster* e *P. halepensis* obtidos para as diferentes dietas alimentares (média ± desvio padrão)

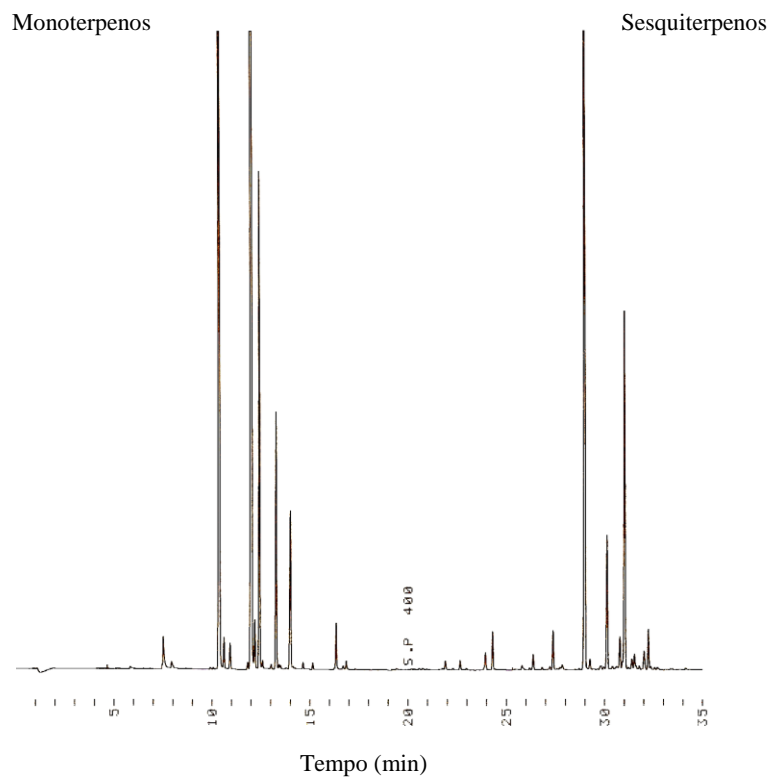
Picos	Composto	<i>Pinus pinaster</i>			<i>Pinus halepensis</i>	
		Pinaster campo	Pinaster viveiro	Alepo campo	Alepo S. João	Alepo Carmel
Monoterpenos						
1	cis-3-hexen-1-ol	0,452±0,20	0,187±0,28	1,417±1,08	1,926±1,76	8,227±12,97
2	tricyclene	0,150±0,07	0,094±0,13	0,438±0,30	0,656±0,84	2,748±3,36
3	α-pinene	29,601±3,89	27,475±5,52	19,527±5,90	48,89±3,78	31,869±8,32
4	sabinene	0,099±0,07	0,052±0,12	9,014±4,63	5,621±2,62	6,874±4,14
5	β-pinene	38,458±6,05	38,098±4,29	2,455±0,72	4,130±0,44	3,681±2,17
6	myrcene	9,311±4,33	8,875±3,98	30,204±14,77	2,750±0,57	14,657±4,35
7	limonene	4,245±5,96	1,657±2,32	1,696±1,03	14,963±6,39	5,460±4,32
8	trans-ocimene	3,191±4,84	2,846±0,13	2,137±0,57	2,435±0,39	2,296±1,30
9	terpinolene	0,907±0,72	0,290±0,40	10,824±5,42	7,667±2,97	8,984±5,56
Sesquiterpenos						
10	β-caryophyllene	6,168±2,57	11,98±3,68	19,057±11,68	8,844±3,26	13,729±5,40
11	α-humulene	0,799±0,26	1,759±0,63	2,536±1,60	1,439±0,59	1,475±1,46
12	germacrene	6,639±2,28	6,679±3,22	0,697±0,22	0,669±0,52	0,000

ANEXO 26 – Cromatogramas dos voláteis emitidos pelas agulhas dos pinheiros das diferentes dietas, extraídos por HS-SPME e analisados por GC-MS (Abundância Relativa)

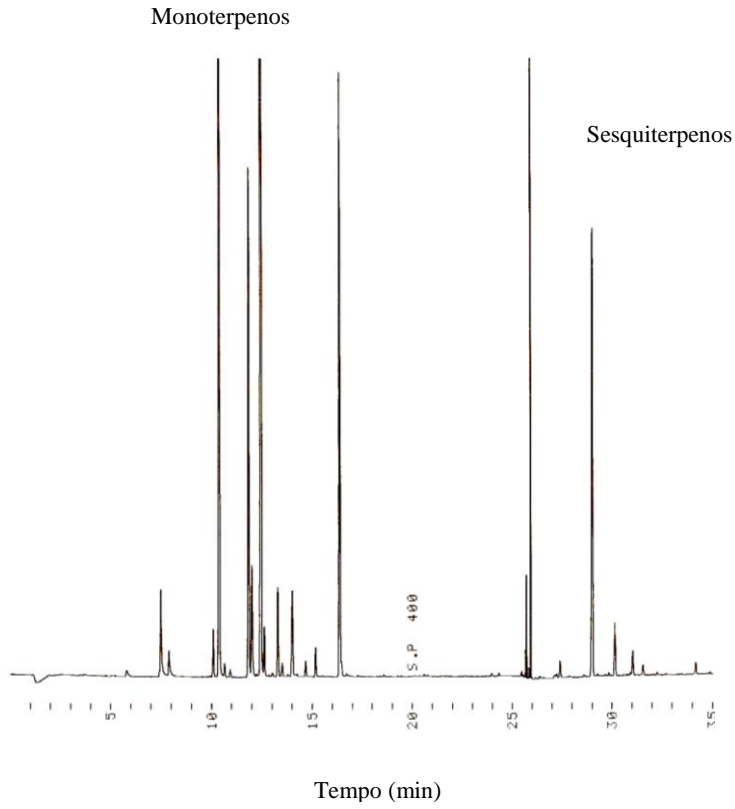
Pinaster de campo



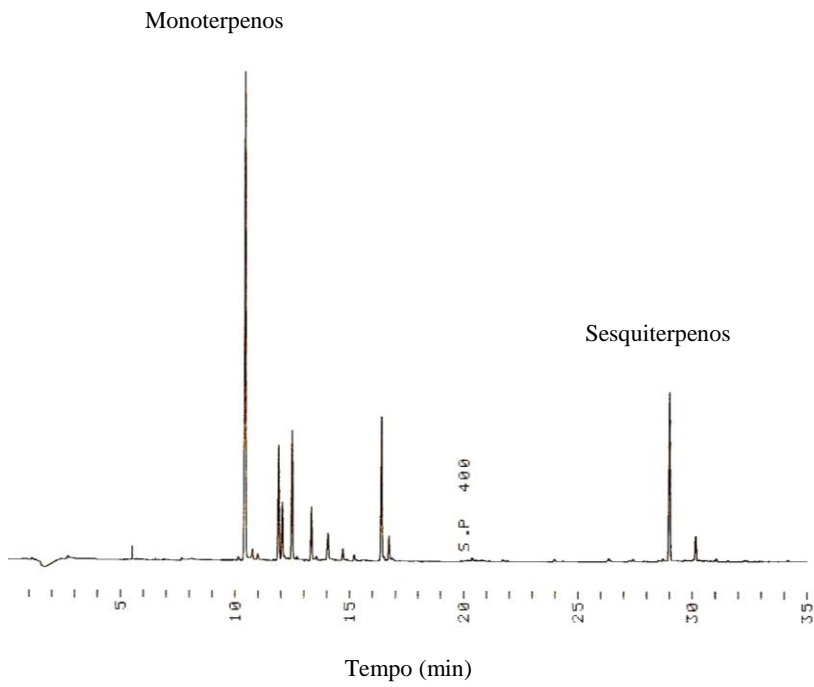
Pinaster de viveiro



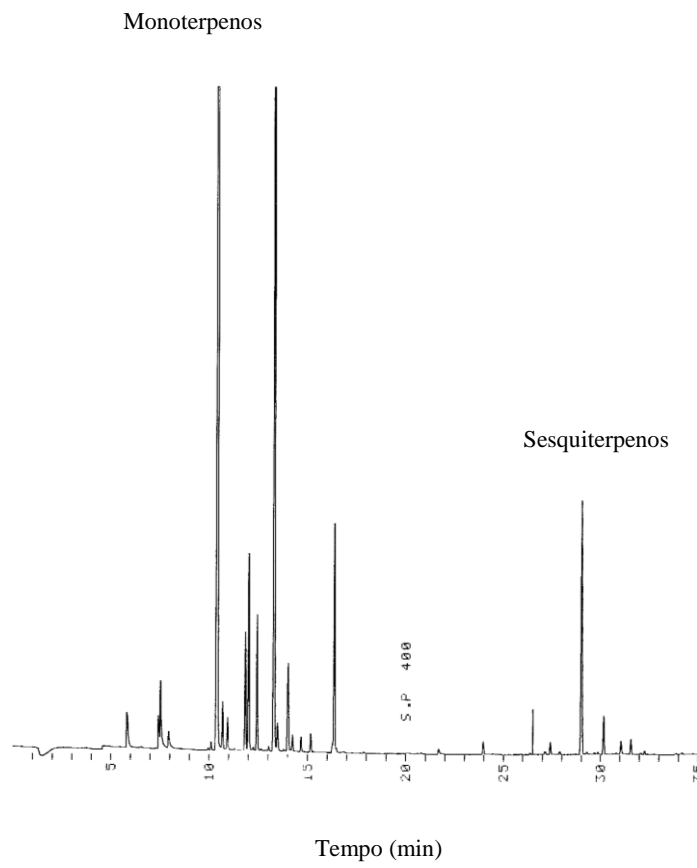
Alepo de campo



Alepo de Carmel



Alepo de S. João



ANEXO 27 – Análise de variância aplicada aos açúcares das agulhas dos pinheiros das diferentes dietas

Açúcares Solúveis

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,012	4	,003	1,045	,410
Within Groups	,053	19	,003		
Total	,064	23			

Açúcares Insolúveis

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,017	4	,004	6,551	,002
Within Groups	,012	19	,001		
Total	,029	23			

Tukey HSD

Açúcares Insolúveis

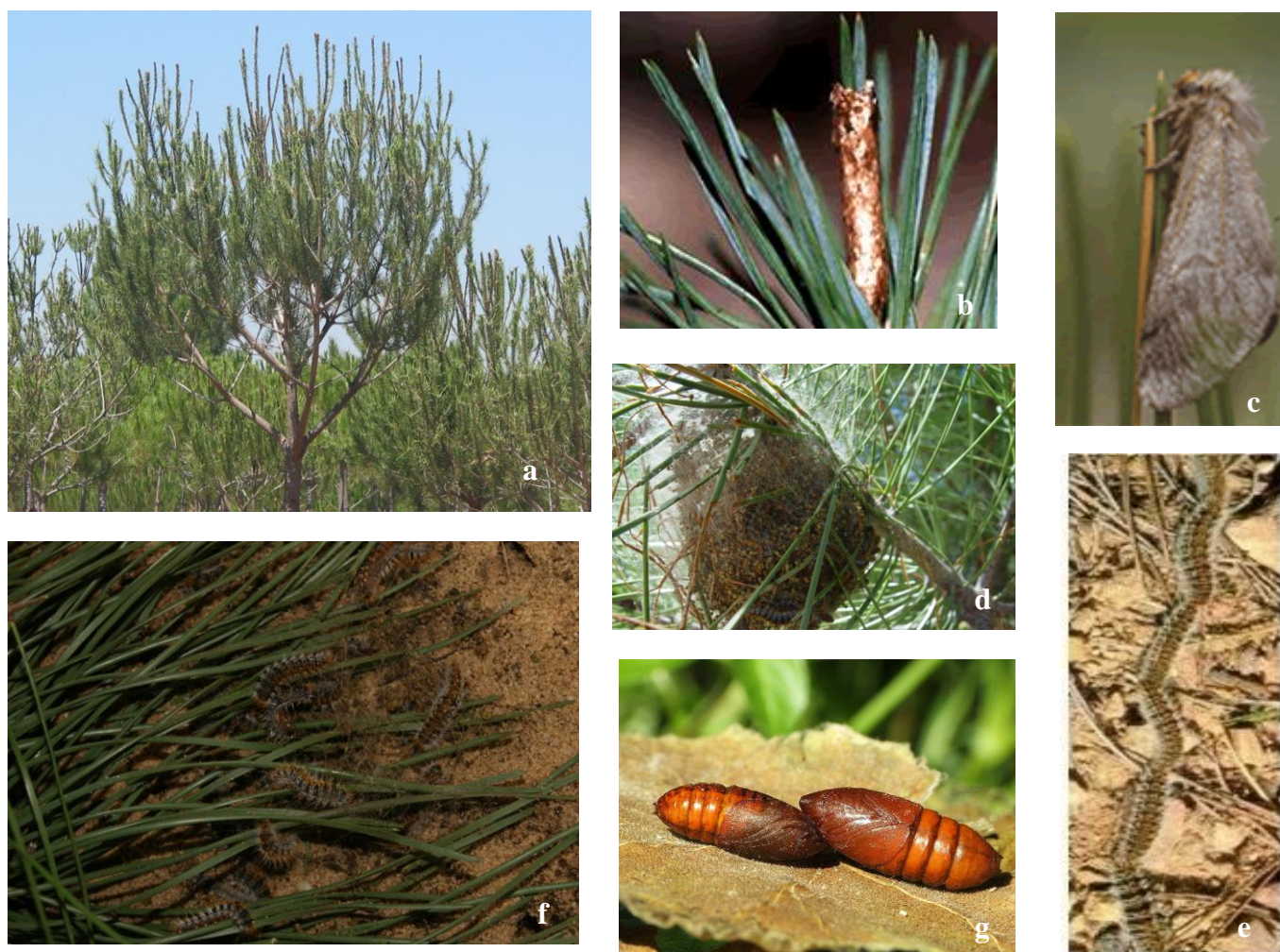
Dieta	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Pinaster viveiro	5	,0574		
Alepo S.João	5	,0606	,0606	
Alepo campo	5	,0988	,0988	,0988
Pinaster campo	5		,1103	,1103
Alepo Carmel	4			,1254
Sig.		,131	,050	,512

Açúcares Insolúveis

Multiple Comparisons (Tukey HSD)

(I) Dieta	(J) Dieta	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Alepo campo	Alepo Carmel	-,02655	,01713	,545	-,0780	,0250
	Alepo S.João	,03828	,01615	,167	-,0103	,0868
	Pinaster viveiro	,04143	,01615	,117	-,0071	,0900
	Pinaster campo	-,01145	,01615	,952	-,0600	,0371
Alepo Carmel	Alepo campo	,02655	,01713	,545	-,0250	,0780
	Alepo S.João	,06482*	,01713	,010	,0133	,1163
	Pinaster viveiro	,06798*	,01713	,006	,0165	,1195
	Pinaster campo	,01509	,01713	,900	-,0364	,0666
Alepo S.João	Alepo campo	-,03828	,01615	,167	-,0868	,0103
	Alepo Carmel	-,06482*	,01713	,010	-,1163	-,0133
	Pinaster viveiro	,00316	,01615	1,000	-,0454	,0517
	Pinaster campo	-,04973*	,01615	,043	-,0983	-,0012
Pinaster viveiro	Alepo campo	-,04143	,01615	,117	-,0900	,0071
	Alepo Carmel	-,06798*	,01713	,006	-,1195	-,0165
	Alepo S.João	-,00316	,01615	1,000	-,0517	,0454
	Pinaster campo	-,05289*	,01615	,029	-,1014	-,0043
Pinaster campo	Alepo campo	,01145	,01615	,952	-,0371	,0600
	Alepo Carmel	-,01509	,01713	,900	-,0666	,0364
	Alepo S.João	,04973*	,01615	,043	,0012	,0983
	Pinaster viveiro	,05289*	,01615	,029	,0043	,1014

ANEXO 28 – Estampas



Estampa I – Aspectos biológicos da processionária do pinheiro: a) Danos; b) Postura; c) Fêmea; d) Ninho definitivo; e) Procissão; f) Larvas de 5º instar a enterrarem-se no solo; g) Pupas.



Estampa II – Caixas de acrílico utilizadas nos ensaios de alimentação das larvas de *T. pityocampa* e *T. wilkinsoni* (a) e pormenor do ambiente de desenvolvimento das larvas nos ensaios de alimentação (b).

