

**ESTUDO DA BIODIVERSIDADE DO ÁCARO VERMELHO (*TETRANYCHUS SPP*)
E SEUS INIMIGOS NATURAIS (NA CULTURA DE TOMATE- *Lycopersicon
esculentum* Miller) NOS DISTRITOS DE SÁBIE, CHOKWÉ E MOAMBA-SEDE
(MOZAMBIQUE)**

Efraime da Graça Armando Gobeia ¹

RESUMO: O presente trabalho é resultado de um estudo realizado nos distritos de Sábie, Chokwé, Machipanda e Moamba-sede no período compreendido entre Junho e Julho de 2016. O levantamento teve como objetivo a identificação das diferentes espécies do ácaro vermelho (*Tetranychus spp*) e seus inimigos naturais na cultura do tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller) através de técnicas moleculares e morfológicas. No levantamento foram amostrados 10 campos de Tomate em cada um dos postos administrativos dos distritos de Sábie, Moamba-sede, Chokwé e Machipanda. Em cada campo 20 plantas foram aleatoriamente selecionadas e inspecionadas as páginas inferiores dos 5 folíolos maiores de 10 folhas basais. Nas folhas infestadas com a ajuda de uma lupa de mão (10X) e um pínzel, os ácaros foram contados, registados na folha de dados partindo sempre do princípio que em campos demasiado infestados o número de ácaros era achado por estimação. De seguida estes foram colocados em frascos (com indicação do local, campo, data de colheita), contendo álcool a 85%. Posteriormente os ácaros coletados, identificados inicialmente de forma morfológica no laboratório de entomologia da Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal da Universidade Eduardo Mondlane (UEM) em Maputo (Moçambique) e de seguida a nível molecular através das técnicas R.A.P.D (Random Amplified Polymorphic DNA) e R.F.L.P (Restriction Fragment Length Polymorphism) no centro de Biotecnologia da UEM. Em todos os distritos amostrados foram apenas identificadas as espécies *Tetranychus evansi* e *urticae*. A espécie *T.evansi* foi mais abundante em todos os distritos com cerca de 90%, 85%, 80% e 85% nos distritos de Chókwe, Moamba-Sede, Machipanda e localidade de Sábie respectivamente. Não houve diferenças significativas entre as densidades médias, nível médio de ataque, percentagem de infestação ocorridos nos 4 distritos segundo o teste de Fisher "F" a um nível de significância de 5%, tendo sido encontradas diferenças significativas apenas no cálculo da abundância relativa. Da identificação molecular realizada com base nas técnicas R.A.P.D.e R.F.L.P., não foi possível fazer a diferenciação das espécies do ácaro, dado o facto de a maior parte dos resultados do gel de agarose visualizados na luz ultravioleta não mostrarem com clareza a diferença entre as bandas de uma espécie e da outra. Também não foi registado nenhum inimigo natural em todos os locais de amostragem.

Palavras-chave: Ácaro vermelho, tomate, identificação molecular

**STUDY OF BIODIVERSITY OF RED MILE (*TETRANYCHUS SPP*) AND ITS
NATURAL ENEMIES (IN THE TOMATE CULTURE-*Lycopersicon esculentum*
MILLER) IN THE DISTRICTS OF SÁBIE, CHOKWÉ AND MOAMBA-SEDE
(MOZAMBIQUE)**

ABSTRACT: The present work is the result of a study carried out in the districts of Sábie, Chokwé, Machipanda and Moamba-sede in the period between June and July 2016. The survey aimed to identify the different species of red mite (*Tetranychus spp*) and their natural enemies in tomato (*Lycopersicon esculentum*

¹ Agrônomo, Docente do Departamento de Agricultura – Universidade Eduardo Mondlane (Moçambique) – email: egobeia@gmail.com

Miller) culture through molecular and morphological techniques. In the survey, 10 tomato fields were sampled in each of the administrative posts in the districts of Sábie, Moamba-sede, Chokwé and Machipanda. In each field, 20 plants were randomly selected and the lower pages of the 5 leaflets larger than 10 basal leaves were inspected. In the infested leaves with the help of a hand-held magnifier (10X) and a pinch, the mites were counted, recorded in the data sheet, always assuming that in over-infested fields the number of mites was found by estimation. Then, these were placed in bottles (with indication of the place, field, date of harvest), containing 85% alcohol. Subsequently, the collected mites, initially identified morphologically in the entomology laboratory at the Faculty of Agronomy and Forestry Engineering at the Eduardo Mondlane University (UEM) in Maputo (Mozambique) and then at the molecular level through the RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) and RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) techniques at the Biotechnology Center EMU. In all sampled districts, only the species *Tetranychus evansi* and *urticae* were identified. The *T.evansi* species was more abundant in all districts with around 90%, 85%, 80% and 85% in the districts of Chókwe, Moamba-Sede, Machipanda and locality of Sábie respectively. There were no significant differences between the average densities, average attack level, percentage of infestation that occurred in the 4 districts according to the Fisher "F" test at a significance level of 5%, with significant differences only found in the calculation of relative abundance. From the molecular identification performed based on the RAPDe RFLP techniques, it was not possible to differentiate the mite species, given that most of the results of the agarose gel visualized in ultraviolet light do not clearly show the difference between the bands of a species and the other. There was also no natural enemy recorded at all sampling sites.

Key-words: Red mite, Tomato, molecular identification

INTRODUÇÃO

O Tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller) constitui um dos vegetais mais importantes e proeminentes na alimentação humana em todo o mundo. É uma cultura pertencente a família solanaceae e é originária da costa plana do Oeste da América do sul, com uma extensão que inicia no Equador e prolonga-se até ao Chile, sendo o México o possível local de domesticação (RIBEIRO E RULKENS, 1999). Dentre as diversas pragas que atacam a cultura do Tomate, a mais importante em Moçambique é o Ácaro Vermelho (*Tetranychus spp*) (RIBEIRO E RULKENS, 1999). Os ácaros pertencem ao Filo Artrópode, Subfilo Chelicerata, Classe Aracnídea e Subclasse Acari, apresentando 4 pares de patas nas fases pós-larvais, corpo não segmentado, apêndices articulados e esqueleto externo, com uma destacada variabilidade no que respeita ao comportamento e habitats por eles ocupados (FLECHTMANN, 1996). O Tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Miller) é uma das mais importantes hortícolas cultivadas no mundo. Em Moçambique o tomate pode ser produzido nas duas estações do ano (verão e inverno) sendo o verão, a estação que apresenta maiores problemas de pragas e doenças. Dentre as pragas de maior importância económica em Moçambique destaca-se o ácaro vermelho (*Tetranychus spp.*). A espécie *Tetranychus evansi* é uma praga acidentalmente introduzida no nosso continente em meados dos anos 1980, tendo sido reportada e comunicada pela primeira vez no Quênia em 2001, e cuja dispersão e propagação têm se dado de forma acelerada (SAUNYAMA E KNAPP, 2003). Em Moçambique, o ácaro vermelho foi observado no ano 1980, nas culturas de tomate e beringela (SEGEREN *et al.*, 1996). Dados reportados, indicam que o rendimento médio do Tomate foi de de 31 ton/ha para uma área média de cerca de 1318 ha entre os anos 2000 a 2005 no distrito de Chokwé que quando comparado aos rendimentos obtidos nos países vizinhos como a África do Sul, Zâmbia e Zimbabué, encontra-se muito abaixo dos mesmos, pois estes países, chegam-se a atingir 100 ton/ha para uma área média igual, e tais baixos rendimentos no nosso país tem sido causados em grande parte pela ação destruidora do ácaro vermelho (*Tetranychus spp*) (VARELA *et al.*, 2003). Em Moçambique, o método mais aplicado para o controlo do ácaro vermelho é o controlo químico, não obstante o facto de se saber que, o frequente uso de produtos de largo espectro de acção, além de afetar o desenvolvimento da dinâmica populacional de inimigos naturais em campo, intensifica também outros problemas entre os quais a evolução da resistência dos ácaros aos pesticidas, daí que o conhecimento da diversidade dos ácaros seja importante na medida em que algumas espécies desempenham um papel importante no controle de outras espécies de ácaros por atuarem como inimigos naturais.

Recentemente tem se suspeitado da existência de diferentes espécies e subespécies do ácaro vermelho no nosso país, facto este preocupante pois uma vez desconhecida a diversidade desta praga mais complicado se torna a implementação de métodos apropriados do seu controlo. Assim sendo o estudo sobre o reconhecimento das diversas espécies dos ácaros existentes em Moçambique seria uma ferramenta indispensável para a definição de estratégias de manejo destas pragas, e também, seria importante para o incremento do manancial de informação sobre a biodiversidade destas espécies para a literatura moçambicana, pois, como é sabido, poucos são os estudos sobre a diversidade das espécies de ácaros na literatura moçambicana.

MATERIAL E MÉTODOS

Descrição das áreas de estudo

O distrito de Moamba é um produtor tradicional de várias culturas agrícolas. Sob o ponto de vista climatológico é dominado por um clima seco caracterizado por duas estações, sendo uma seca e outra húmida, que se estende por 4 (quatro) meses (Dezembro a Março) com o pico das precipitações geralmente a observar-se em Fevereiro e variando de 580-800 mm de chuva anual e temperatura média entre 23°C e 24°C. Arenossolos bastante profundos caracterizam a generalidade do distrito apesar de em zonas baixas poderem ser encontrados solos argilosos, convenientes para a prática da horticultura. No contexto agrário, o distrito de Moamba é caracterizado por uma agricultura de índole sobretudo familiar onde sobressai a produção consociada de culturas como a mandioca, milho, feijão-nhemba, amendoim, batata-doce, o arroz e hortícolas diversas (nas zonas baixas) e outras culturas (MAE, 2005).

A localidade de Sábie fica situada a 250°19' a latitude sul e 320°14' longitude este, a 80 m de altitude do nível médio das águas do mar. Pertence ao posto administrativo de Sábie, distrito de Moamba a 120 km da cidade de Maputo e a 40 km a norte da vila de Moamba. É limitada a norte pelo distrito de Magude através do rio Massintonto, a leste pela localidade de Vundiça, a sul pelo povoado de Muxia e a oeste pela província sul africana de Transval (GEMO, 1997).

O distrito de Chókwé encontra-se situado no sudoeste central da margem direita do rio Limpopo, entre latitude 24° 32' sul e longitude 32° 30' este à uma altitude de 33 m. A extensão do distrito é de cerca de 1595 Km². Os solos são fluviais, férteis, de textura franco-argilosa, aptos para a prática de agricultura, principalmente a irrigada, sendo a salinização e sodicidade fatores limitantes devido á drenagem não perfeita e ao lençol freático muito próximo da superfície do solo. As temperaturas mais altas verificam-se de Setembro a Abril que corresponde à época quente, sendo Janeiro o mês mais quente com temperaturas médias de 33,7°C. As temperaturas mais baixas ocorrem entre Maio e Setembro, sendo Julho o mês mais frio com cerca de 10,9 °C de temperatura média. A precipitação média anual é de 622 mm e á da estação seca e quente é de 183 mm e 439 mm respetivamente (MOSCA, 1988).

O posto administrativo de Machipanda encontra-se inserido no distrito de Manica que é limitado a norte pelo distrito de Bárue, a oeste pelo Zimbabwe, a sul pelo distrito de Sussundenga e a leste pelo distrito de Gondola. De acordo com o censo de 1997, o distrito tinha 155.731 habitantes e uma área de 4 391 km², daqui resultando uma densidade populacional de 35,5 habitantes/km². O posto administrativo de Machipanda é constituído pelas seguintes localidades: Machipanda, Maridza e Muzongo.

Trabalho de campo

A recolha de amostras decorreu entre os meses de Junho e Julho de 2016 na localidade de Sábie e distritos de Chokwé, Machipanda e Moamba-sede. Antes de se iniciar a atividade em cada campo, primeiro foi estabelecida uma entrevista semi-informal com os respetivos produtores no sentido de se apurarem as práticas culturais por eles empregues na condução da cultura. Para o levantamento foram seleccionados 10 campos em zonas potenciais produtoras de hortícolas dos postos administrativos de cada um dos distritos mencionados procurando-se uma maior cobertura possível das áreas através da maior dispersão possível entre os campos. Em cada campo foram aleatoriamente amostradas 20 plantas e usando o padrão de amostragens X foram seleccionadas 10 plantas em cada diagonal e em cada planta foram seleccionadas as 10 folhas basais e inspecionadas as páginas inferiores

dos 5 folíolos maiores de cada folha, e de seguida, nas folhas infestadas com a ajuda de uma lupa de mão (10X) e um pincel os ácaros eram contados, registados na folha de dados, partindo sempre do princípio que em campos demasiado infestados o número de ácaros era achado por estimação. Os ácaros eram colectados para pequenos frascos contendo álcool a 85% e previamente identificados (local, campo, data de colheita).

Trabalho de laboratório- Identificação morfológica

As amostras dos ácaros permaneceram em álcool a 85% durante cerca de 30 dias para o endurecimento e clariamento do exoesqueleto. De seguida, foi realizado o processo de identificação morfológico de 10 ácaros por distrito, sugerido por HENDERSON (2001).

Montagem dos ácaros em lâminas microscópicas

Depois do clariamento os ácaros foram seleccionados aleatoriamente e montados segundo os procedimentos abaixo enumerados, sugeridos por Henderson (2001): a) colocou-se uma pequena gota do fluído de Hoyer que no caso vertente deste trabalho usou-se a solução do álcool polivinil (PVA) na lâmina e com ajuda de uma agulha foi agitada para torná-la mais lisa; b) derramou-se aos bocados o álcool contendo ácaros e pousou-se em papel higiénico de modo a eliminar o excesso de álcool aderente ao corpo do ácaro; c) colocou-se o ácaro na lâmina, em seguida observou-se no microscópio e com o auxílio de uma agulha foi posicionado (dorsal, ventral, ou lateralmente e estender as patas; d) levou-se a lâmina (sem lamela) para a secagem na estufa a 40 °C durante 10 min, de modo a solidificar o fluído e o ácaro esteja firmemente posicionado; e) colocou-se uma gota de fluído de Hoyer e de seguida pressionou-se levemente uma lamela sobre o ácaro; f) manteve-se a lâmina na posição horizontal durante 24 h na temperatura do laboratório até que o recém-fluído ganhasse uma consistência e permitisse a posição definitiva ao ácaro na preparação; g) antes da observação microscópica, com ajuda de algodão a lamela era polida por cima de modo a eliminar as poeiras e permitir melhor visibilidade. Usou-se também o óleo para observações com objectivas de 100X.

Observações microscópicas dos ácaros

Para o sucesso da identificação, as preparações foram observadas de modo a separar gradualmente os indivíduos de acordo com as características distintivas, na seguinte sequência: a) diferenciação dos ácaros fitófagos (Prostigmatas) e predadores (Mesostigmatas), foi tomada como característica morfológica de distinção a localização do estigma (que nos prostigmatas está localizado próximo ao aparelho bucal, maioritariamente na base das quilíceras, enquanto que nos Mesostigmatas está localizado na pata IV ou entre esta e a pata III, cujos prolongamentos podem atingir a pata II), a disposição dos pêlos e o aspeto do órgão genital; b) diferenciação dos Prostigmatas (Tetranychidae e Briobia), usou-se a terminação do empódio (garra do empódio) da pata I, que nos Tetranychidae termina em forma de agulha ao passo que nas Briófitas está em forma de T e na sua maioria têm a pata I muito longa do que as outras 3 patas; c) diferenciação das espécies do género *Tetranychus*, usou-se a disposição dos pêlos no tarso da pata I, baseada na orientação do pêlo duplo em relação ao par dos pêlos simples em que no *Tetranychus evansi*, *Tetranychus ludeni* e *Tetranychus lombardinii* estão

mais ou menos na mesma linha, enquanto que o *Tetranychus urticae* e *Tetranychus cinnabarinus* estão em forma triangular. Usou-se também a genitália masculina ou pênis, cuja diferença para cada espécie consiste na inclinação do eixo, ângulo formado pela projeção posterior e anterior e ainda a ondulação da pertuberância.

Identificação molecular e extração do DNA usando o método CTAB

Os ácaros foram colhidos e individualmente conservados em etanol a 70% em tubos eppendorf (1.5 ml). O DNA foi extraído de acordo com o protocolo descrito por NAVAJAS *et al* (1997).

PCR – Reacção de Polimerização em Cadeia – RFLP

Condições de reacção: A amplificação foi realizada usando os *primers*: 1H: 5' TAC CAA TCG ATG AAG AAC GTA GC 3'- híbrida 5.8S e 2H: 5' ATA TGC TTA AAT TCA GGG GG 3'- híbrida 28S de acordo com o protocolo de (HURTADO *et al.*,2007) no termociclador eppendorf.

Tabela 1 PCR - RFLPs

	[Final]
Tampão 10X	1X
MgCl₂ 25mM	1.5 mM
dNTPs 10mM	0.2 mM
P1H 65 µM	5 µM
P2H 100 µM	5 µM
MilliQ	
Taq 5U/µl	2U

Tabela 2 PCR - RAPDS

Componentes	Concentração final	Volume por reacção
H ₂ O	-	15,3 µl
Buffer	1X	2,5µl
Mgcl ₂	3µM	3µl
DNTPs	0,2 µM	0,5µl
Primers	1 µM	2,5µl
TAQ	5U/µl	0,2µl

Protocolo de amplificação (RAPD): 94°C durante 4 minutos (desnaturação inicial), seguidos de 35 ciclos de: 1 minuto a 92°C (desnaturação), 50°C durante 1 minuto (emparelhamento), 72°C durante 2 minutos (extensão); 72°C durante 7 minutos (extensão final). **Protocolo de amplificação (RFLP):** 94°C durante 4 minutos (desnaturação inicial), seguidos de 05 ciclos de: 1 minuto a 93°C (desnaturação), 50°C durante 1 minuto (emparelhamento), 72°C durante 1 minuto (extensão), Extensão final : 72°C durante 5 minutos. **Eletroforese:** Os produtos de PCR amplificados foram analisados num gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio, no qual 10 µl do produto amplificado foram corados com 2 ul de tampão de carregamento. O gel foi corrido a 100 V por 30 min em TAE 1X.

Variáveis analisadas

A percentagem de infestação (PI) representa o nível de infestação e foi calculada para cada campo usando a seguinte fórmula: i) $PI = \frac{npi}{npo}$, Onde: PI (%)= percentagem de

infestação, npi= número de plantas infestadas (com ácaro presente ou apenas os seus sintomas), npo= número total de plantas observadas. Densidade do ácaro vermelho, tendo em conta o número de indivíduos encontrados em cada folíolo das plantas atacadas e com base no número de plantas atacadas, calculou-se a densidade média da população (DI) usando a

fórmula: ii) $DM = \frac{Ni}{n}$ onde: Ni – Número de indivíduos presentes na planta (somatório do

valor de 50 folíolos), N- Número total de plantas utilizadas Severidade, Correspondente ao grau de ataque dos ácaros. Foi usada a escala de severidade adaptada do Segeren (1996),

usando a seguinte fórmula: iii) $S = \frac{\sum(axb)}{N}$ Onde: S – Severidade, a – número de vezes que a

escala aparece, b – escala correspondente, N – Número total de indivíduos observados.

Tabela 3. Escala para avaliação do nível médio de ataque em Moçambique

Classe	NMA* (ácaro/planta)	Nível correspondente ao dano
0	0	Sem dano
1	1-10	Dano não considerável
2	11-100	Dano ligeiro
3	101-1000	Dano médio
4	> 1000	Dano sério

* Nível médio de ataque

Relação macho/fêmea (Rm/f)

É a percentagem do número de indivíduos de cada sexo em relação ao número total de indivíduos dos dois sexos. Iv) $Rm/f = Nx/N \times 100$, onde: Nx – Número de indivíduos do sexo X, N – Número total de indivíduo

Abundância relativa

$Abr = \frac{n}{N}$ Onde: Abr = Abundância relativa, n = número de indivíduos da espécie a;

N = número total de indivíduos de todas as espécies observadas.

Constância

A Constância foi obtida através da percentagem de ocorrência de espécies presentes no levantamento através da fórmula de Bueno e Sousa (1991). vi) $C = \frac{P}{N} * 100$ Onde: P = número de amostras contendo a espécie, N = número total de amostras efectuadas.

Índice de Diversidade de Shannon-Wiener

A Diversidade foi calculada através do índice de diversidade (D_M) usado por MUHLENBERG (1993). Vii) $D_M = S - \frac{1}{Ln}$ Onde: S = número de espécies, Ln = Logaritmo natural do número de indivíduos

Processamento e análise de dados

Depois de colhidos todos dados, fez - se a análise dos dados usando o Microsoft Excel e o pacote estatístico STATA 4. Foram lançados todos dados no Microsoft Excel no qual calculou-se a percentagem de infestação, a densidade populacional, Severidade e construção de gráficos e fez-se a correlação entre a percentagem de infestação e a densidade de ácaros por planta. Usando os valores médios obtido no Microsoft Excel fez-se o teste de distribuição normal e Homogeneidade de Variância através dos testes de Lilliefors, Cochran e Bartlett e ANOVA a um nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Densidade e Percentagem de infestação do Ácaro Vermelho (*Tetranychus spp*)

As densidades médias dos ácaros em Chókwe, Moamba sede, Machipanda e Sábie foram de 1111, 2671, 381,65 e 292,85 ácaros por planta. No entanto, estatisticamente não houve diferenças significativas entre as densidades médias nos 4 distritos segundo o teste F para anova realizado a um nível de significância de 5% ($p = 0.8575$, $F_{crit} = 0.05$). Estes valores encontrados não diferem muito do teste realizado por LANGA (2006), que também não encontrou diferenças significativas nas densidades médias nos distritos de Sábie e Moamba sede, tendo encontrado uma densidade de 19.54 e 21.56 ácaros por planta. As altas densidades dos ácaros podem ser explicadas primeiro, pela presença de plantas infestantes em quase todos os campos ao redor dos campos de amostragem, servindo de fonte de infestação; segundo, pela combinação de um tempo seco, que segundo MEYER (1981) também é favorável para a multiplicação dos ácaros e terceiro, pelo facto de a maior parte dos campos da cultura do Tomate não terem sido tutorados, encontrando-se as plantas em permanente contato com o solo o que de certa forma facilitou bastante a dispersão do ácaro em todo campo, pois, segundo RIBEIRO E RULKENS (1999), esta técnica permite um controle mais uniforme e seguro desta praga, principalmente no verão. KNAPP *et al.*, (2003), salienta que em campos situados a curtas distâncias, os ácaros podem ser facilmente disseminados por vento, água de irrigação, trabalhadores de campo trajados e equipados por ferramentas nas quais os ácaros podem alojar-se, dado o facto desta espécie apresentar um tamanho bastante reduzido, tornando bastante difícil a sua identificação a olho nú, e os campos nestes distritos

encontravam-se muitas vezes separados por curtas distâncias. As percentagens médias de infestação dos ácaros em Chókwè, Moamba sede, Machipanda e Sábie foram de 96%, 95%, 75% e 87%. No entanto, não houve diferenças significativas entre as percentagens médias dos 4 distritos segundo o teste F para ANOVA realizado a um nível de significância de 5% ($p = 0.8349$, $F_{crit} = 0.05$). As maiores infestações em Chokwè, Moamba sede e Sábie podem se dever ao facto de existirem vários campos ao redor destes, que praticavam algumas culturas que serviram de hospedeiros alternativos do ácaro.

Relação entre a percentagem de infestação e densidade de ácaros

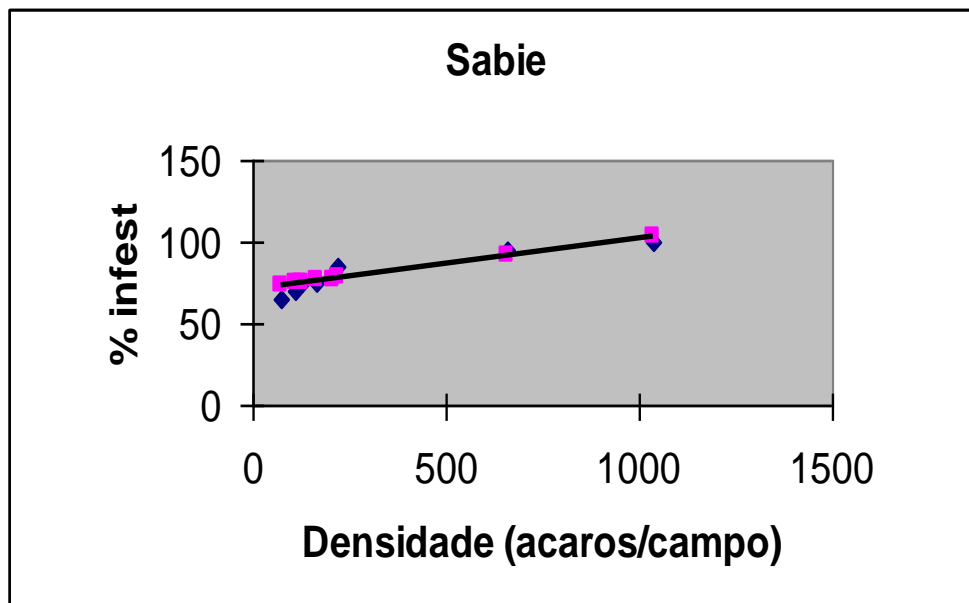


Gráfico 1. Correlação entre a percentagem de infestação e densidade do ácaro em Sábie.
 $Y = 0.3x + 70.65$ $R^2 = 0.835$

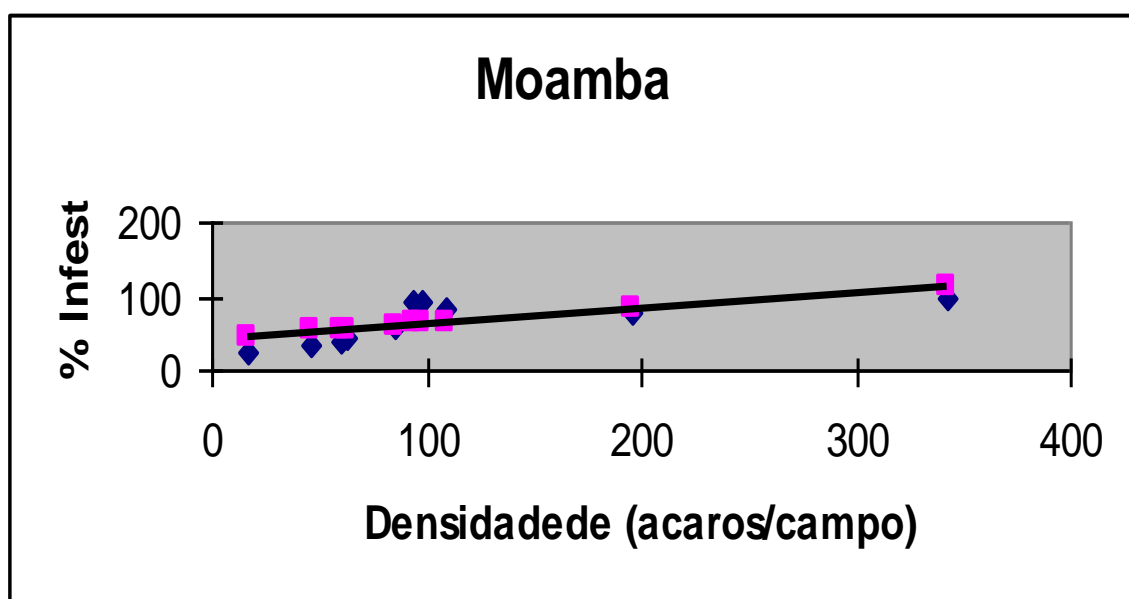


Gráfico 2. Correlação entre a percentagem de infestação e densidade do ácaro em Moamba
 $Y = 42.12 + 0.2072X$ $R^2 = 0.5060$

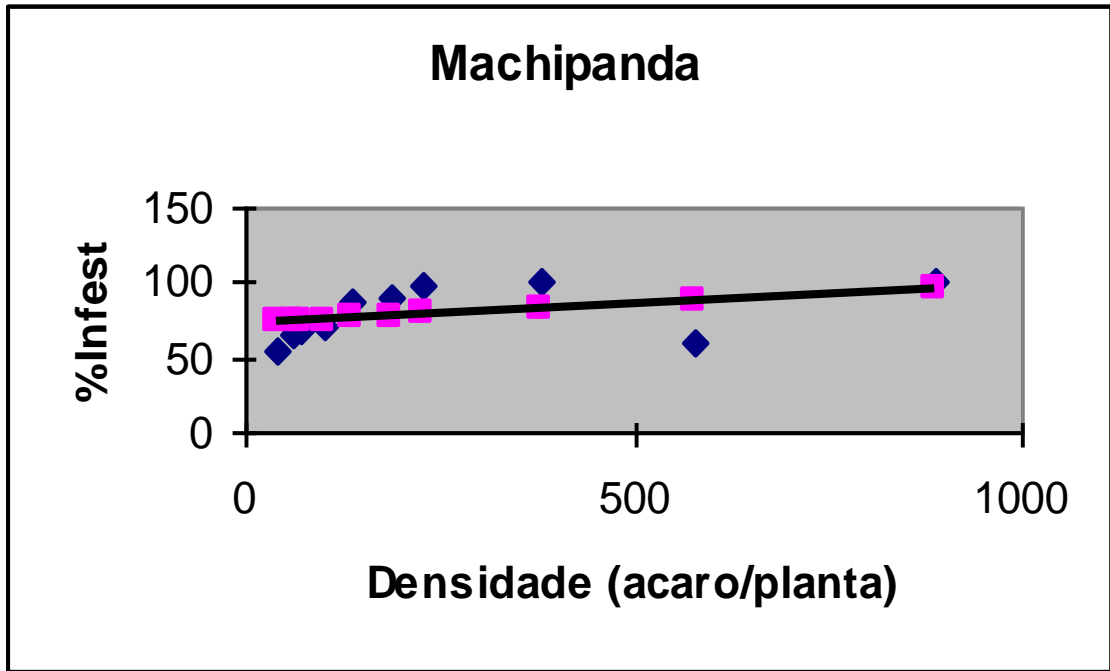


Gráfico 3. Correlação entre a porcentagem de infestação e densidade do ácaro em Sábie
 $Y = 71.739 + 0.2X$ $R^2 = 0.187$

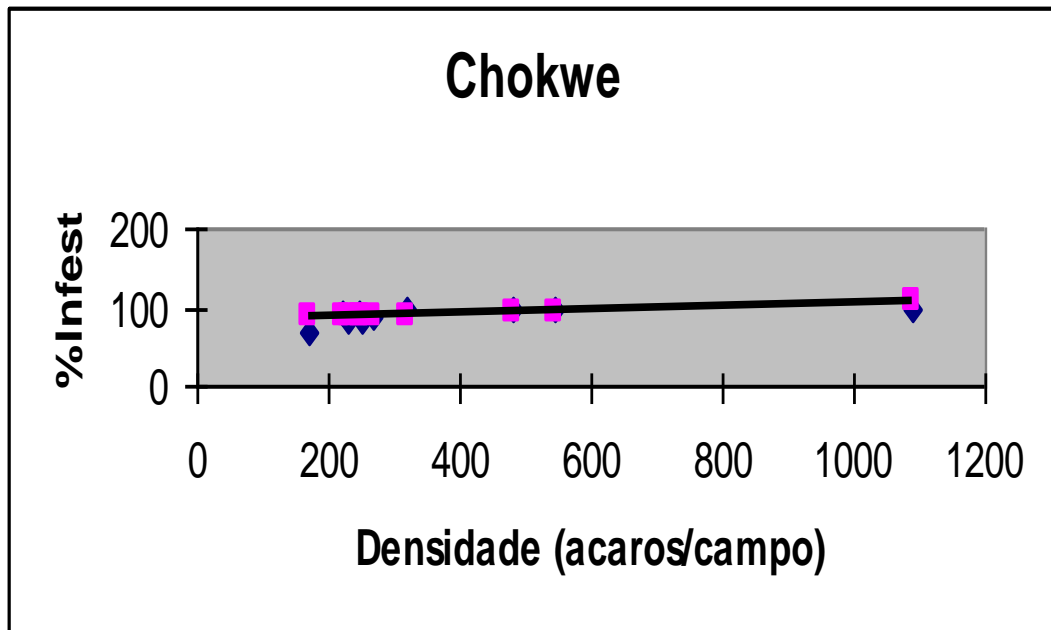


Gráfico 4. Correlação entre a porcentagem de infestação e densidade do ácaro em Chokwé
 $Y = 83.5811 + 0.2X$ $R^2 = 0.3089$

Das correlações realizadas constatou-se que ao aumentar a densidade em uma unidade a porcentagem de infestação aumenta em 0.3% em Sábie e 0,2% nos restantes distritos. De realçar que Sábie demonstrou a correlação positiva mais forte.

Nível médio de ataque dos ácaros

Segundo a escala de Severidade de SEGEREN *et al.*, (1996), no distrito de Sábie, os ácaros causaram um dano médio na medida em que quase que na totalidade dos campos apresentaram uma densidade média de cerca de 100 - 1000 ácaros por campo, como ilustra o gráfico a seguir:

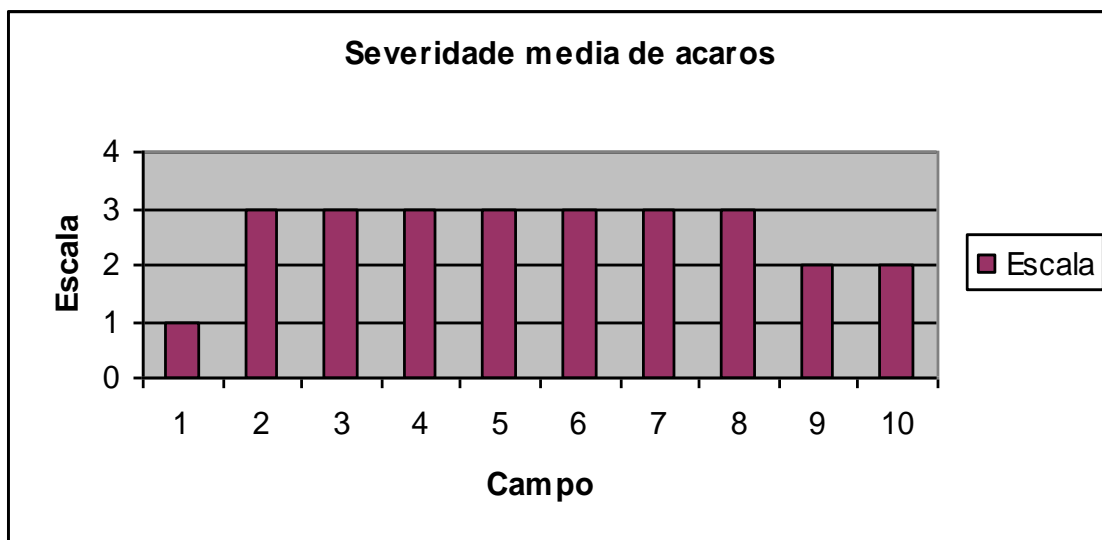


Gráfico 5. Severidade média de ácaros em Sábie

Segundo a escala adaptada do Segeren (1996), no distrito de Moamba os ácaros causaram um dano ligeiro na cultura do Tomate, como se pode observar na figura 7.

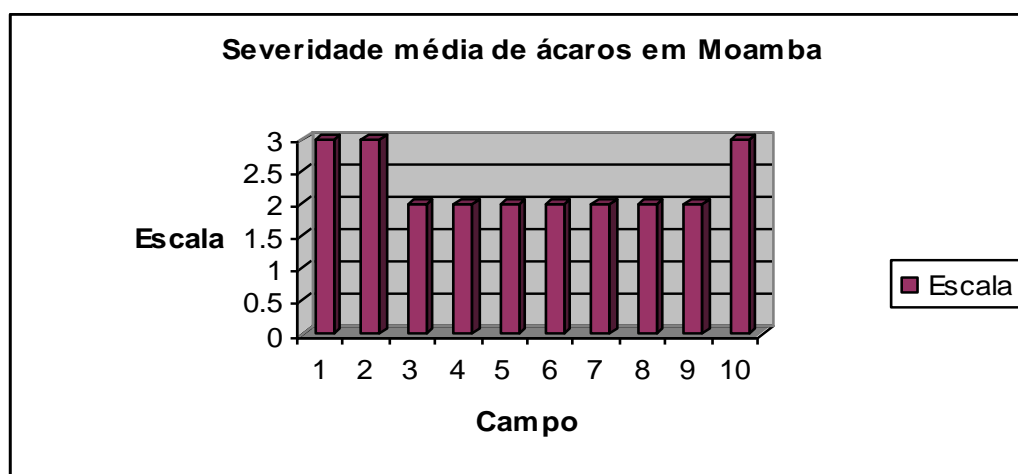


Gráfico 6. Severidade média de ácaros em Moamba

Em Chókwé, verificou-se que os ácaros causaram um dano médio na cultura do Tomate que se encontrava no estágio de maturação. Todos os campos, apresentaram o 3º nível da escala de severidade.

No distrito de Machipanda os ácaros também causaram um dano médio na cultura do Tomate conforme demonstra a figura 8.

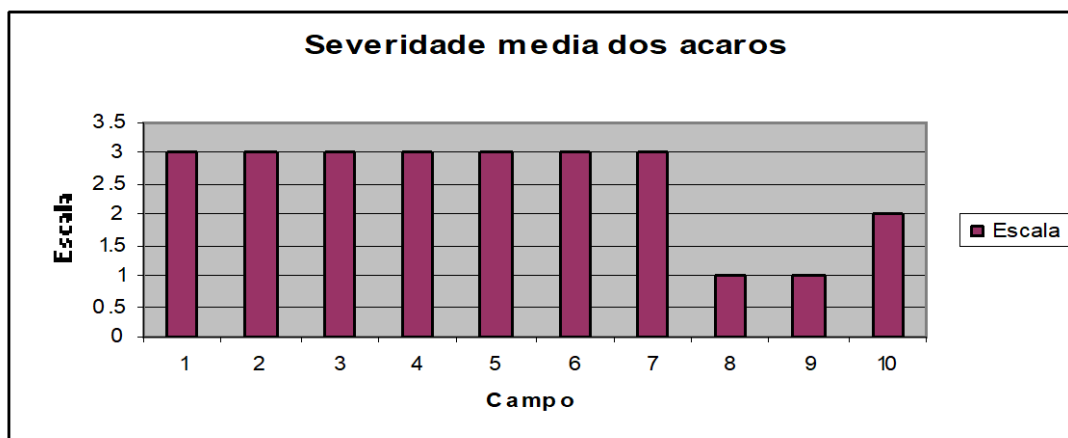


Gráfico 7. Severidade média de ácaros em Machipanda

Segundo o teste de ANOVA realizado, não houve diferenças significativas entre a severidade média de ataque entre os distritos, ou seja, estatisticamente os valores não são diferentes ($p=0.4782 > F_{crit} = 0.05$).

Abundância relativa com base na identificação morfológica

A espécie *T.evansi* apresentou maior abundância relativa do que a espécie *T.urticae* em todos os distritos. A espécie *T.evansi* foi mais abundante em todos os distritos com cerca de 90%, 85%, 80% e 85% nos distritos de Chókwè, Moamba-Sede, Machipanda e localidade de Sábie respectivamente (tabela 4).

Tabela 4. Abundância relativa dos diferentes distritos.

Local	No de indivíduos	Espécies identificadas	Espécies identificadas	Abundância relativa
Chókwè	70	<i>T.evansi</i>	63	90%
		<i>T.urticae</i>	7	20%
Moamba	70	<i>T.evansi</i>	59	85%
		<i>T.urticae</i>	11	15%
Machipanda	70	<i>T.evansi</i>	56	80%
		<i>T.urticae</i>	14	20%
Sábie	70	<i>T.evansi</i>	59	85%
		<i>T.urticae</i>	11	15%

Segundo KNAPP *et al.*, (2003), a espécie *T.evansi* é originária da América do Sul, e no continente africano foi identificada pela primeira vez na cultura do Tabaco no Zimbabué.

Para além disso, é uma espécie com uma clara preferência pelas Solanáceas e em particular pela cultura de Tomate, tendo causado perdas de rendimento de até cerca de 90% na mesma cultura do Tomate no Zimbabué. Ainda na perspectiva do mesmo autor, uma das grandes razões para a elevada disseminação desta espécie, é a ausência do inimigo natural, pois como já havia sido reportado, esta é uma espécie originária do continente sul americano,

concretamente na zona oriental do Brasil. Para se implementar o controle biológico clássico, os inimigos naturais deveriam ser importados ou criados em laboratório e tal ação acarretaria elevados custos e deveria ser devidamente planejada, para além de que *P.persimillis*, como inimigo natural controla melhor o *T.urticae* do que o *T.evansi*.

E em contraste com esta ação totalmente destruidora da espécie *T. evansi*, a *T.urticae* é comum nos vegetais no sul e este de África e, atualmente ainda não constitui problema maior na cultura do Tomate (KNAPP *et al*, 2003). Estatisticamente comparando, as abundâncias relativas das espécies *T.evansi* e *T.urticae* foram diferentes nos quatros distritos segundo o teste de Anova realizado ($p=0.0007 < 0.05$), tendo sido a espécie *T.evansi* a mais abundante em relação a espécie *T.urticae*, como mostram os dados na tabela 5.

Constância

De acordo com as percentagens obtidas e seguindo a classificação proposta por BODENHEIMER (1955) a espécie *Tetranychus evansi* como esteve presente em mais de 50% das amostras colectadas é classificada como uma espécie constante, enquanto que a espécie *Tetranychus urticae* esteve presente em cerca de 25% das amostras sendo por isso, classificada como uma espécie presente.

Índice de diversidade Shannon Wiener

No tocante ao índice de diversidade observou-se que foi de 1.9 em Sábie, Chókwè e Machipanda, 1.89 em Moamba, o que traduz um pequeno número de espécies para um grande número de indivíduos presentes nesta região.

Relação macho vs fêmea

Nesta relação com base no número de indivíduos identificados, constatou-se a proporção geral de 5 machos para 95 fêmeas. Tal facto é explicado mais uma vez pela época de colheita dos ácaros, que era fria e que segundo MEYER (1981) durante este período os machos hibernam, enquanto que as fêmeas depositam ovos. De salientar que na localidade de Sábie, dos 20 indivíduos identificados, apenas 1 era macho e era da espécie *Tetranychus urticae* e os restantes 19 eram fêmeas. O indivíduo macho foi identificado através do seu aedagus, que segundo Meyer (1987), é uma curvatura pequena cujo eixo é paralelo ou forma um pequeno ângulo com o eixo da haste. Em relação a predominância das fêmeas, tal facto pode ser justificado pela época de colheita dos ácaros (época fria), pois, segundo MEYER (1981) durante este período os machos hibernam enquanto que as fêmeas depositam ovos.

Inimigos naturais das espécies do Ácaro Vermelho

Durante a identificação dos ácaros não foi encontrado nenhum inimigo natural do Ácaro vermelho que como se sabe é a espécie *P.persimilis*. O controlo biológico do ácaro vermelho usando inimigos naturais é o mais usado no Sul da América, como no Brasil. Os ácaros da Família Phytoseiidae são usados como inimigos naturais do ácaro vermelho.

Todavia no Sul da África os inimigos naturais não estão presentes, isto acontece provavelmente por ser uma praga invasora e/ou pela eliminação dos inimigos naturais pela acção dos pesticidas químicos (Knapp, 2003). Na integração deste método com os restantes deve ser feita de modo que se evite criar condições desfavoráveis para os inimigos naturais dos ácaros, como o uso de pesticidas seletivos, conservação do habitat através da consociação e rotação com culturas que sejam hospedeiros alternativos dos inimigos naturais (VARELA et

al., 2003; DOBSON et al., 2002). A implementação de programas de manejo de ácaros-praga em cultivo pode ter a vantagem de reduzir o número de pulverizações com acaricidas, e consequentemente os custos de produção e quantidade de resíduos no produto final, acompanhando desse modo as exigências de um mercado que vem tornando-se a cada dia mais exigente. (POLETTI, 2002).

Identificação molecular

RAPD

Dos resultados obtidos, não foi possível fazer a interpretação das bandas obtidas com base na técnica RAPD, dado o fato de a maior parte das amostras não terem dado produto consistente. Das várias repetições realizadas, os padrões das bandas RAPDs não apresentaram resultados permanentes, na medida em que estes apresentaram diferentes variações ao longo das repetições. De acordo com NAVAJAS & FENTON (2000), o reduzidíssimo tamanho dos ácaros que, por sua vez, condicionam quantidades muito pequenas do DNA por indivíduo durante a sua extração, influenciando assim o PCR e as demais reações subsequentes, culminando assim com o não aparecimento das bandas no gel, aliado ao baixo poder de repetibilidade dos resultados da técnica RAPD, constituem um dos principais motivos que influenciaram nesses resultados.

RFLP

Cinco (5) amostras amplificadas dos distritos de Sábie e Moamba que apresentaram bandas ténues, foram reamplificadas de modo a melhorar a qualidade do padrão das bandas como ilustra a figura abaixo. Depois de reamplificadas, as amostras foram digeridas com as enzimas *Alu I* e *Rsa I*. Da restrição, apenas resultaram bandas dos produtos de duas amostras, de intensidade e nitidez moderada com pesos moleculares situados entre os 600 bp para as espécies *T.evansi* e *T.urticae*, que não estão de acordo com os tamanhos conseguidos por HURTADO *et al* (2008), cujos pesos moleculares para as espécies *Tetranychus evansi* e *T. urticae* foram de 461 e 489 bp respectivamente, e assim sendo não foi possível fazer a diferenciação até ao nível de espécie através desta técnica de RFLP, sendo que apenas atingiu-se a dimensão do género *Tetranychus*.

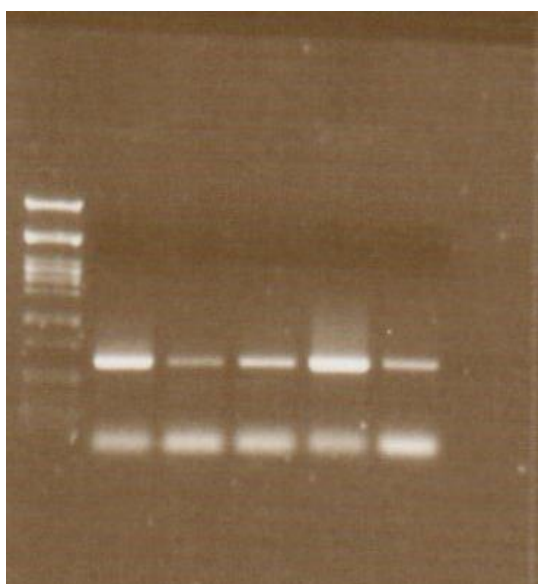


Figura 10. Reacções de reamplificação das amostras 2, 5, 7, 8 e 9.

λ – Marcador molecular de 50 bp, 2,5– Amostras dos distritos de Sábie, 7,8 e 9 – Amostras dos distritos de Moamba. Para consubstanciar este facto, segundo FERREIRA & GRATTAPAGLIA (1998), bandas pouco consistentes ocorrem com todos os tipos de marcadores moleculares, e bandas polimórficas de intensidade e nitidez fracas não devem ser consideradas para evitar interpretações ambíguas.

CONCLUSÕES

A percentagem média de infestação dos ácaros em Chokwé, Moamba-sede, Machipanda e localidade de Sábie foram de 96%, 95%, 75% e 87% respectivamente. No entanto, não houve diferenças significativas entre as percentagens médias dos 4 distritos. A densidade média dos ácaros em Chókwè, Moamba sede, Machipanda e Sábie foram de 111,1, 267,1, 381,65 e 292,85 ácaros por planta respectivamente, sem diferenças significativas entre as densidades médias nos 4 distritos. A espécie *T.evansi* apresentou maior abundância relativa do que a espécie *T.urticae* em todos os distritos. A espécie *T.evansi* foi mais abundante em todos os distritos com cerca de 90%, 85%, 80% e 85% nos distritos de Chókwè, Moamba, Machipanda e Sábie respectivamente. No tocante ao índice de diversidade, observou-se que foi de cerca de 1.9 em Sábie, Chókwè e Machipanda, 1.89 em Moamba. A técnica de identificação morfológica R.A.P.D. não é eficiente para a diferenciação das espécies dos ácaros. Durante o levantamento não foram encontrados nenhuns inimigos naturais do Ácaro vermelho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BUENO, V.P. e SOUZA, B.M.; **Ocorrência e diversidade de insectos Predadores e Parasitóides na cultura de Couve *Brassica oleracea* VAR. Acaphala** em Lavras MG, Brasil, 1991.
- BARBOSA NETO, J.F.; **Seleção assistida por marcadores moleculares. In: Marcadores moleculares em plantas.** Porto Alegre: UFRGS, p.75-80. 1998.
- CARNEIRO, M.S.; **Aplicabilidade de marcadores “Random Amplified Polymorphic DNA” (RAPD) para o monitoramento da variação somaclonal em bananeira do subgrupo Cavendish.** Dissertação de Pós-graduação em Agronomia. Universidade Federal da Bahia; 1997.
- CARVALHO, P.C.; **Insect Pest of Cotton** 2nd ed. CAB INTERNATIONAL, SP; 1986.
- CARMONA, M.E DIAS, J.; **Fundamentos da acarologia agrícola.** Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 423 pp. 1996.
- CRUZ, R.P.; MILACH, S.C.K, **Análise de RAPD. Marcadores moleculares em plantas.** Porto Alegre, p.107-116; 1998.
- CHILDERS, CARL C. E RODRIGUES, JOSÉ CARLOS V.; **Potential pest mite species collected on ornamental plants from central América at Port of Entry to the United States.** 2005.
- CHAISSÉ, J. B; **Avaliação de níveis de perda de rendimento causados pelo ácaro vermelho na cultura do Tomateiro de época fresca em Moamba.** Trabalho de Licenciatura-FAEF, UEM- Maputo, 2006.
- DUSI, A. N.; LOPES, C. A.; OLIVEIRA, C. A. S.; MOREIRA, H. M.; DE MIRANDA, J. E. C.; CHARCHAR, J. M.; SILVA, J. L.; MAGALHÃES, J. R.; BRANCO, M. C.; REIS, N. V. B.; MAKISHIMA, N.; FONTES, R. do *Lycopersicon esculentum* Miller. EMBRAPA, CNP, Brasil. 1992.
- DE MORAES, G. J. MCMURTRY, J.A., Suitability of the spider *Tetranychus evansi* as prey for *Phytoseiulus persimilis*. **Division of Biological control**, Department of entomology, University of California, riverside, CA 42521. USA, 1986.
- DOBSON, H., **Integrated Vegetable Pest Managment**; NRI. London, UK. 179 pp. 2002.
- DE MORAES, G.J. & MCMURTRY, J.A. **Comparision of *Tetranychus evansi* and *T. Urticae* (Acari: Tetranychidae) as prey for eight species of Phytoseiid mites.**1986.
- EMBRAPA - **Plantio de Tomate** [on-line]. Disponível na Internet via www URL.<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial/plantio.htm>. 2007. Acessado em 20/04/2012.

ESCUADERO, -L. A., F.; *Tetranychus evansi* Baker e Pritchard (Acari: Tetranychidae) una nueva araña roja em los cultivo hortícolas espanoles. **Bol. San. Veg. Plagas** 25 : 157 – 164, 1999.

FADINI, M.A.; PALINII, A. **Controlo de ácaros em sistemas de produção integrada de Morango**. 2005.

FERES, R. J.; LOFEGO, A.J.; OLIVEIRA, A. J., **Ácaros plantícolas (Acari) da estação ecológica do noroeste paulista**, Vol 5 nº 1. Website www.biostap.org.br 2005. Consultado em 06 de janeiro de 2008.

FLECHTMANN, C.H.W & G. J. MORAES; **Biodiversidade de Ácaros no estado de São Paulo**, p. 58-63. 1999.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO); Website. www.fews.net/center. 2003. Consultado a 06 de janeiro de 2008.

FERREIRA, M.E. E GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2ª. ed. Brasília: EMBRAPA-CENERGEN,. pp. 220. 1995.

GEMO, O. Conceitos locais das unidades de superfície e de produção. Estudo de caso nas regiões de Javanhane e Sábie. Trabalho de Licenciatura. Departamento de Protecção e Produção Vegetal. 1997.

GONÇALVES, M.I.F. **Variação do teor 2-tridecanona em folíolos de tomate e sua relação com a resistência a duas espécies de ácaros do gênero Tetranychus**. 1996.<http://www.scielo.br/img/revistas/ne/v33n1/19396f2.jpg> . Consultado em Fevereiro de 2009.

HILL, D.S. **Agricultural Insects Pest of the Tropics and their Control**. Cambridge University Press. London. 1987.

HENDERSON R; **Systematic & Applied Acarology Special Publications**. 2001.

JEPPSON, L. R., KEIFER, H. H, E BAKER, E. W. **Mites Injurious to Economic Plantas**. Univ. California Press. Berkeley. 614 pp. 1975.

KNAPP, M., SAUNYAMA, I. G. M., SARR, DE MORAES, G. J. **Technological and Institutional Innovations for Sustainable Rural Development**. *Tetranychus evansi* in Africa – Status, Distribuion, Damage and control options. 2003.

LARA, F. **Princípios de resitência de plantas a insectos**. 2ª edição. Ícone. São Paulo – Brasil. P. 45 – 97. 1991.

LANGA, S. P. **Estudo da biodiversidade do Ácaro Vermelho (*Tetranychus spp*) e dos deus inimigos naturais na cultura do Tomate em Moamba**. 46 pp. 2006.

MAE - Perfil do Distrito da Moamba, **Província de Maputo**. Série: Perfis Distritais. Ministério de Administração Estatal vs. Direcção Distrital de Administração Local. 66pp. (resumo disponível na Internet em: <http://www.govnet.mz/>). 2005.

MACMILLAN, M.; **The tropical vegetable garden**. Principles for improvement and increased production with application for main vegetables types. 514pp. 1989.

M. KNAPP, B. WEGNER & M. NAVAJAS. **Molecular discrimination between the spider mite *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard**, an important pest of Tomatoes in Southern Africa, and the closely related species *T.urticae* Kocch (Acarina: Tetranychidae). 2003.

MYBURGH; **Crop Pest in Southern Africa. Potatoes and other Vegetables**. Vol. 3. Private Bag, X144. Pretória 0001. 1993.

MEYER, M; **African Tetranychidae (Acari: Prostigmata) with references to the world Genera**. Entomology Memoirs of the department of agriculture technical Services. Pretoria.175pp. 1987.

MOÍSES, L. C. **Determinação do nível económico de dano para o ácaro vermelho (*Tetranychus evansi*) no Tomate da época quente**, no Chokwé. Tese de Licenciatura. FAEF. 60 pp. 2004.

MUHLENBERG, M. **Freilandökologie**. Quelle & Meyer. Heidelberg, 512 pp.1993.

NAVAJAS, M. & FENTON B; The application of molecular markers in the study of diversity in acarology: a review. **Experimental and Applied Acarology**, 24, 751-774. Pp. 2000.

RIBEIRO, C & RULKENS, A. **O Tomate**. Coleção jovem agricultor. AJAP. Ligalu – Edições, Lda, 116pp. 1999.

SUNYAMA, I. G. M. E KNAPP. M., **The effects of Pruning and trellising of Tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill) on red spider mite (*Tetranychus evansi* Baker & Pritchard) incidence and crop yield in Zimbabwe**. 269 – 277. 2003.

SEGEREN, P., OEVER, R., COMPTON, J. **Pragas, Doenças e Ervas daninhas nas culturas alimentares em Moçambique**. INIA, Maputo. 258 p.1994.

SEGEREN, P. **Os Princípios Básicos de Protecção de Plantas**, DSV- Ministério de Agricultura e Pesca – Moçambique. 1996.

SOLLER, M. & BECKMANN, J.S. Genetic polymorphism invarietal identification and genetic improvement. **Theoretical Applied Genetics** 67:25-33. 1983.

VARELA, A. M.; SEIF, A. E. LOHR, B.; **A guide to IPM in Tomato production in Eastern and Southern Africa**. Nairobi. 2003.

WILLIAMS, J.G.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, k. J.; RAFALSKI, L. A.; TINGE, S. V. DNA; Polymorphism amplified by arbitrary primers are Useful as Genetic markers. **Nucleic Acids Res**, p.6531 – 6535. 1990. =