

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

ESTUDO DA INTERAÇÃO ENTRE A FORMIGA *Camponotus punctulatus* MAYR  
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE) E O PULGÃO-PRETO-DOS-CITROS  
*Toxoptera citricidus* (KIRKALDY) (HEMIPTERA: APHIDIDAE)

Eduardo Diehl Fleig  
Biólogo/UNISINOS

Tese apresentada como um dos requisitos  
à obtenção do Grau de Doutor em Fitotecnia  
Ênfase Entomologia

Porto Alegre (RS), Brasil  
Julho de 2011

CIP - Catalogação na Publicação

Diehl Fleig, Eduardo  
ESTUDO DA INTERAÇÃO ENTRE A FORMIGA *Camponotus punctulatus* MAYR (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) E O PULGÃO-PRETO-DOS-CITROS *Toxoptera citricidus* (KIRKALDY) (HEMIPTERA: APHIDIDAE) / Eduardo Diehl Fleig. -- 2011.  
96 f.

Orientadora: Luiza Rodrigues Redaelli.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2011.

1. Interação formiga-pulgão. 2. Mutualismo. 3. Formicidae. 4. Aphididae. 5. *Cycloneda sanguinea*. I. Rodrigues Redaelli, Luiza, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

EDUARDO DIEHL FLEIG  
Biólogo - UNISINOS  
Mestre em Entomologia - USP


### TESE

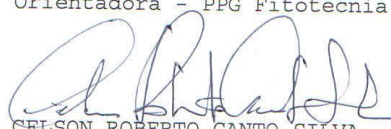
Submetida como parte dos requisitos  
para obtenção do Grau de


### DOUTOR EM FITOTECNIA


Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia  
Faculdade de Agronomia  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 04.07.2011  
Pela Banca Examinadora

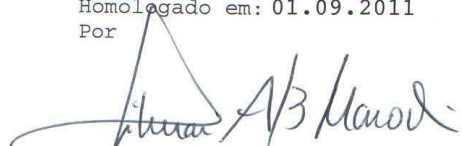
  
LUIZA RODRIGUES REDAELLI  
Orientadora - PPG Fitotecnia


  
CELSON ROBERTO CANTO SILVA  
IFRS - Instituto Federal do  
Rio Grande do Sul

  
BETINA BLOCHTEIN  
PPG Zoologia - PUCRS

  
LUCAS AUGUSTO KAMINSKI  
Bolsista Pós-doutorado FAPESP  
IB - UNICAMP

Homologado em: 01.09.2011  
Por

  
GILMAR ARDUINO BETTIO MARODIN  
Coordenador do Programa de  
Pós-Graduação em Fitotecnia

  
PEDRO ALBERTO SELBACH  
Diretor da Faculdade  
de Agronomia

## AGRADECIMENTOS

À Professora Dra. Luiza R. Redaelli pela oportunidade concedida, dedicação, incentivo e por ter me acolhido em seu laboratório de forma tão singular.

Ao CNPq pela concessão da bolsa.

Ao Professor Dr. Josué Sant'Ana, por estar sempre aberto à troca de informações.

Ao Sr. Luiz Cláudio Laux, por ceder sua área de produção de citros para inúmeras atividades.

Ao Piérri Spolti por ter me introduzido ao universo SAS.

Aos colegas do Bioecolab por terem me ajudado em diversos momentos.

À Isabel Paz, Priscila Ribas, Rita Santin pelo carinho e por estarem sempre de portas abertas.

Ao André Maurenente, pelas simulações computacionais geradas e que ainda estão por vir.

À Juliana Pandolfo, por ter estado ao meu lado em todos os momentos e tornar minha trajetória mais leve e divertida.

À Elena Diehl, por ter me trazido ao mundo duas vezes.

ESTUDO DA INTERAÇÃO ENTRE A FORMIGA *Camponotus punctulatus* MAYR  
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE) E O PULGÃO-PRETO-DOS-CITROS  
*Toxoptera citricidus* (KIRKALDY) (HEMIPTERA: APHIDIDAE)<sup>1</sup>

Autor: Eduardo Diehl Fleig

Orientadora: Luiza Rodrigues Redaelli

## RESUMO

A relação entre hemípteros produtores de *honeydew* e formigas é geralmente definida como mutualista, com benefício para ambos os parceiros da interação. Nos afídeos, estudos mostraram que o atendimento pelas formigas aumenta a sobrevivência e a reprodução das colônias, principalmente pela proteção provida ao ataque de inimigos naturais. Entretanto, são raros os trabalhos que avaliam o efeito das formigas atendentes diretamente sobre os indivíduos, sem a presença de outros organismos. Neste trabalho, estudou-se o efeito da formiga atendente *Camponotus punctulatus* Mayr sobre a história de vida do pulgão *Toxoptera citricidus* (Kirkaldy) mantido individualmente em *Citrus sinensis* (L.) Osbeck na ausência de inimigos naturais para três experimentos. Avaliou-se também o comportamento das formigas na presença de adultos e imaturos de *Cycloneda sanguinea* (L.) em colônias do pulgão em mudas de *Poncirus trifoliata* (Raf.). A sobrevivência ninfal, a fecundidade total, o período reprodutivo e pós-reprodutivo dos pulgões não foram influenciados pela presença das formigas em todos os experimentos. Entretanto, pulgões atendidos, em dois experimentos, apresentaram aumento da fecundidade média e diária, da taxa líquida de reprodução ( $r_0$ ), da taxa intrínseca de crescimento ( $r_m$ ) e da taxa finita de aumento ( $\lambda$ ), e redução do intervalo médio entre gerações ( $img$ ) e do tempo de duplicação ( $td$ ). A redução da longevidade foi detectada em um dos experimentos. O aumento da fecundidade diária dos pulgões atendidos, principalmente nos primeiros dias, teve um papel importante no crescimento populacional simulado. O comportamento das formigas foi semelhante independentemente do sexo das joaninhas ou do tamanho das colônias de formigas. As larvas são mais toleradas do que os adultos em colônias do pulgão. Com base em trabalhos publicados, são levantadas hipóteses para explicar as diferenças encontradas.

---

<sup>1</sup>Tese de Doutorado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (96 p.) Julho, 2011.

ON THE INTERACTION BETWEEN THE ANT *Camponotus punctulatus* MAYR  
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE) AND THE BROWN CITRUS APHID  
*Toxoptera citricidus* (KIRKALDY) (HEMIPTERA: APHIDIDAE)<sup>1</sup>

Author: Eduardo Diehl Fleig  
Adviser: Luiza Rodrigues Redaelli

**ABSTRACT**

The relationship between honeydew-producing hemipteran and ants is usually defined as mutualistic, with benefits for both interacting partners. For aphids, studies have shown that attending ants promote colony survivorship and reproduction, mainly by protection against natural enemies. However, only a few studies have been conducted on the effect of attending ants directly onto the individuals, free of other organisms. In this study, we evaluated the effect of the attending ant *Camponotus punctulatus* Mayr on the life history of the brown citrus aphid *Toxoptera citricidus* (Kirkaldy) growing in *Citrus sinensis* (L.) Osbeck free of natural enemies during three experiments. The behavior of ants towards adults and immatures of *Cycloneda sanguinea* (L.) in aphid colonies kept on seedlings of *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. was also evaluated. Nymph survivorship, adult total fertility, reproductive and post-reproductive period were not affected by attending ants in all experiments. However, for two experiments, attended aphids had increased mean and daily fecundity, net reproductive rate ( $r_0$ ), intrinsic rate of increase ( $r_m$ ) and finite rate of increase ( $\lambda$ ), and reduced mean generation time ( $img$ ) and doubling time ( $td$ ). Reduced longevity was observed in one of the experiments. The increased daily fecundity of attended aphids, mainly on the first days, had a major impact on the simulated population growth. Ants behaved similarly regardless of lady beetle sex or ant colony size. Larvae are more tolerated than adults in aphid colonies. Based on the literature, several hypotheses are raised to account for the differences found.

---

<sup>1</sup>Doctoral thesis in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (96 p.) July, 2011.

## SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1 Problemática dos afídeos .....	3
2.2 Biologia de <i>Toxoptera citricidus</i> .....	4
2.3 Formigas atendentes de <i>Toxoptera citricidus</i> .....	9
2.4 Interação formigas-afídeos .....	11
2.5 Interação formigas-afídeos-joaninhas .....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	21
3.1 Obtenção e manutenção dos organismos .....	21
3.1.1 <i>Citrus sinensis</i> (Sapindales: Rutaceae) .....	21
3.1.2 <i>Poncirus trifoliata</i> (Sapindales: Rutaceae) .....	22
3.1.3 <i>Toxoptera citricidus</i> (Hemiptera: Aphididae) .....	22
3.1.4 <i>Camponotus punctulatus</i> (Hymenoptera: Formicidae) .....	22
3.1.5 <i>Cycloneda sanguinea</i> (Coleoptera: Coccinellidae) .....	24
3.2 Interação formiga-pulgão em mudas de citros .....	25
3.2.1 Experimento A (E <sub>A</sub> ) .....	26
3.2.2 Experimento B (E <sub>B</sub> ) .....	27
3.2.3 Experimento C (E <sub>C</sub> ) .....	27
3.2.4 Parâmetros avaliados .....	29
3.2.5 Simulação do crescimento populacional de <i>Toxoptera citricidus</i> .....	29
3.3 Interação formiga-joaninha-pulgão em mudas de citros .....	30
3.4 Análise estatística .....	34
3.4.1 Interação formiga-pulgão em mudas de citros .....	34
3.4.2 Interação formiga-joaninha-pulgão em mudas de citros .....	35
4 RESULTADOS .....	37
4.1 Interação formiga-pulgão em mudas de citros .....	37
4.1.1 Parâmetros individuais .....	37
4.1.2 Parâmetros populacionais .....	41
4.1.3 Número relativo de formigas atendentes .....	44
4.1.4 Simulação do crescimento populacional de <i>Toxoptera citricidus</i> .....	45
4.2 Interação formiga-joaninha-pulgão em mudas de citros .....	47
4.2.1 Número relativo de formigas atendentes .....	47
4.2.2 Tempo de permanência .....	47
4.2.3 Probabilidade de permanência .....	50
4.2.4 Tempo de predação .....	52

	Página
4.2.5 Número de pulgões atacados .....	54
4.2.6 Comportamento das formigas .....	55
4.2.7 Escore de agressão .....	63
4.2.8 Comportamento das joaninhas .....	63
4.2.9 Escore de reação .....	71
5 DISCUSSÃO .....	72
6 CONCLUSÕES .....	80
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	81
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	83



## RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1. Categorias comportamentais de <i>Camponotus punctulatus</i> em resposta à presença de <i>Cycloneda sanguinea</i> em colônia de <i>Toxoptera citricidus</i> sobre mudas de <i>Poncirus trifoliata</i> .....	32
2. Categorias comportamentais de adultos e/ou larvas de <i>Cycloneda sanguinea</i> em resposta à presença da formiga <i>Camponotus punctulatus</i> em colônia de <i>Toxoptera citricidus</i> sobre mudas de <i>Poncirus trifoliata</i> .....	33
3. Valores médios ( $\pm$ EP) da sobrevivência ninfal, fecundidade total e média, período reprodutivo, longevidade, duração do ciclo, período pós-reprodutivo do pulgão <i>Toxoptera citricidus</i> atendido e não atendido pela formiga <i>Camponotus punctulatus</i> em três experimentos ( $E_A$ , $E_B$ e $E_C$ ) (fotofase de 16 horas; $25 \pm 1$ °C; $60 \pm 5\%$ UR) .....	39
4. Valores médios ( $\pm$ EP) para a taxa líquida de reprodução ( $r_0$ ), taxa intrínseca de crescimento ( $r_m$ ), intervalo médio entre gerações ( $img$ ), tempo de duplicação ( $td$ ) e taxa finita de aumento ( $\lambda$ ) para o pulgão <i>Toxoptera citricidus</i> atendido (AT) e não atendido (NAT) pela formiga <i>Camponotus punctulatus</i> em mudas de <i>Citrus sinensis</i> em três experimentos ( $E_A$ , $E_B$ e $E_C$ ) (fotofase de 16 horas; $25 \pm 1$ °C; $60 \pm 5\%$ UR) .....	43
5. Número relativo diário médio ( $\pm$ EP) de operárias da formiga <i>Camponotus punctulatus</i> de três colônias atendendo ao pulgão <i>Toxoptera citricidus</i> durante o seu estágio imaturo e adulto para três experimentos ( $E_A$ , $E_B$ e $E_C$ ) .....	45
6. Tempo médio (s) de permanência ( $\pm$ EP) de fêmeas e machos de <i>Cycloneda sanguinea</i> em colônias de <i>Toxoptera citricidus</i> atendidas pela formiga <i>Camponotus punctulatus</i> (f, colônia pequena; ff, colônia grande) e não atendidas (sf) .....	48
7. Tempo médio (s) de predação ( $\pm$ EP) de fêmeas e machos de <i>Cycloneda sanguinea</i> em colônias de <i>Toxoptera citricidus</i> atendidas pela formiga <i>Camponotus punctulatus</i> (f, colônia pequena; ff, colônia grande) e não atendidas .....	53

	Página
8. Análise estatística (procedimento Glimmix) do tempo de duração (s) dos atos comportamentais da formiga <i>Camponotus punctulatus</i> de colônia pequena e grande em resposta à presença de adultos e imaturos de <i>Cycloneda sanguinea</i> com o pulgão <i>Toxoptera citricidus</i> .....	57
9. Tempo médio (s) de duração ( $\pm$ EP) dos atos comportamentais da formiga <i>Camponotus punctulatus</i> (f, colônia pequena; ff, colônia grande) em resposta à presença de adultos (fêmeas e machos) e larvas de <i>Cycloneda sanguinea</i> em colônia de <i>Toxoptera citricidus</i> .....	58
10. Número médio ( $\pm$ EP) de encontros, de formigas e relação entre número de formigas/número de encontros para a formiga <i>Camponotus punctulatus</i> (f, colônia pequena; ff, colônia grande) em resposta à presença de adultos (fêmeas e machos) e larvas de <i>Cycloneda sanguinea</i> em colônia de <i>Toxoptera citricidus</i> .....	59
11. Análise estatística (procedimento Glimmix) da frequência dos atos comportamentais da formiga <i>Camponotus punctulatus</i> em resposta à presença de adultos e imaturos de <i>Cycloneda sanguinea</i> em colônia de <i>Toxoptera citricidus</i> .....	61
12. Frequência média ( $\pm$ EP) dos atos comportamentais da formiga <i>Camponotus punctulatus</i> (f, colônia pequena; ff, colônia grande) em resposta à presença de adultos (fêmeas e machos) e larvas de <i>Cycloneda sanguinea</i> em colônia de <i>Toxoptera citricidus</i> .....	62
13. Escore médio ( $\pm$ EP) de agressão ( $EA_0$ e $EA_1$ ) da formiga <i>Camponotus punctulatus</i> (f, colônia pequena; ff, colônia grande) em resposta a adultos (fêmeas e machos) e larvas de <i>Cycloneda sanguinea</i> em colônia de <i>Toxoptera citricidus</i> .....	63
14. Análise estatística (procedimento Glimmix) do tempo de duração dos atos comportamentais de adultos e imaturos de <i>Cycloneda sanguinea</i> em resposta à presença da formiga <i>Camponotus punctulatus</i> em colônia de <i>Toxoptera citricidus</i> .....	65
15. Tempo médio (s) de duração ( $\pm$ EP) dos atos comportamentais de adultos (fêmeas e machos) e de larvas de <i>Cycloneda sanguinea</i> em resposta à formiga <i>Camponotus punctulatus</i> (f, colônia pequena; ff, colônia grande) em colônias de <i>Toxoptera citricidus</i> .....	66
16. Análise estatística (procedimento Glimmix) da frequência dos atos comportamentais de adultos e imaturos de <i>Cycloneda sanguinea</i> em resposta à presença da formiga <i>Camponotus punctulatus</i> em colônia de <i>Toxoptera citricidus</i> .....	68
17. Frequência média ( $\pm$ EP) dos atos comportamentais de adultos (fêmeas e machos) e de larvas de <i>Cycloneda sanguinea</i> em resposta à formiga <i>Camponotus punctulatus</i> (f, colônia pequena; ff, colônia grande) em colônias de <i>Toxoptera citricidus</i> .....	69

	Página
18. Frequência média de alteração e manutenção do comportamento de adultos (fêmeas e machos) e de larvas de <i>Cycloneda sanguinea</i> quando encontram a formiga <i>Camponotus punctulatus</i> (f, colônia pequena; ff, colônia grande) em colônia de <i>Toxoptera citricidus</i> .....	70
19. Escore médio ( $\pm$ EP) de reação ( $ER_0$ ) de adultos (fêmeas e machos) e de larvas de <i>Cycloneda sanguinea</i> em resposta à presença da formiga <i>Camponotus punctulatus</i> (f, colônia pequena; ff, colônia grande) em colônia de <i>Toxoptera citricidus</i> .....	71

## RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Exemplares dos organismos utilizados no estudo da interação formiga-pulgão-joaninha: operárias de <i>Camponotus punctulatus</i> (a), larva (b) e adulto (c) de <i>Cycloneda sanguinea</i> , colônia de <i>Toxoptera citricidus</i> (d) e mudas de <i>Citrus sinensis</i> (e) e de <i>Poncirus trifoliata</i> (f). Barra representa 1 cm .....	25
2. Esquema do procedimento adotado nos experimentos E <sub>A</sub> , E <sub>B</sub> e E <sub>C</sub> : 1, muda de <i>Citrus sinensis</i> ; 2, <i>Camponotus punctulatus</i> ; 3, adulto de <i>Toxoptera citricidus</i> ; 4, ninfas iniciais de <i>T. citricidus</i> .....	28
3. Croqui da disposição das colônias de <i>Camponotus punctulatus</i> (1- colônia pequena; 2 – colônia grande; 3 - sem formiga) e das mudas de <i>Poncirus trifoliata</i> (4) em relação à fonte luminosa (5) .....	31
4. Fecundidade diária média ( $\pm$ EP) do pulgão <i>Toxoptera citricidus</i> atendido (AT) e não atendido (NAT) pela formiga <i>Camponotus punctulatus</i> em três experimentos (E <sub>A</sub> , E <sub>B</sub> , E <sub>C</sub> ). Datas assinaladas (□) indicam diferença resultante do atendimento para o mesmo dia (teste <i>t</i> , P <sub>Sidak</sub> < 0,05) .....	41
5. Simulação do crescimento populacional do pulgão <i>Toxoptera citricidus</i> baseado na repetição do comportamento individual observado (fecundidade total = 99) ao longo do tempo com variação da fecundidade diária no primeiro dia ( $n_{t1}$ = 20, 15 e 10 ninfas) e usando a fecundidade média para todos os dias ( $n$ = 5,82 ninfas/dia) .....	46
6. Crescimento populacional hipotético do pulgão <i>Toxoptera citricidus</i> atendido pela formiga <i>Camponotus punctulatus</i> através do uso da equação exponencial com a taxa intrínseca de crescimento estimada para pulgões atendidos ( $r_m$ = 0,50) e não atendidos ( $r_m$ = 0,45) .....	47
7. Tempo médio (s) de permanência ( $\pm$ EP) de larvas de <i>Cycloneda sanguinea</i> em colônias de <i>Toxoptera citricidus</i> atendidas pela formiga <i>Camponotus punctulatus</i> (f, colônia pequena; ff, colônia grande) e não atendidas (sf). Letras distintas indicam diferença significativa (teste <i>t</i> , P <sub>Sidak</sub> < 0,05) .....	49

	Página
8. Probabilidade de permanência de fêmeas (♀) e machos (♂) de <i>Cycloneda sanguinea</i> em colônias de <i>Toxoptera citricidus</i> atendidas pela formiga <i>Camponotus punctulatus</i> (f, colônia pequena; ff, colônia grande) e não atendidas (sf). Curvas seguidas por letras distintas diferem entre si (teste Log-rank, $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ) .....	51
9. Probabilidade de permanência de larvas de <i>Cycloneda sanguinea</i> em colônias de <i>Toxoptera citricidus</i> atendidas pela formiga <i>Camponotus punctulatus</i> (f, colônia pequena; ff, colônia grande) e não atendidas (sf). Curvas seguidas por letras distintas diferem entre si (teste Log-rank, $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ) .....	52
10. Tempo médio (s) de predação ( $\pm$ EP) de larvas de <i>Cycloneda sanguinea</i> em colônias de <i>Toxoptera citricidus</i> atendidas pela formiga <i>Camponotus punctulatus</i> (f, colônia pequena; ff, colônia grande) e não atendidas (sf). Letras distintas indicam diferença significativa (teste <i>t</i> , $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ) .....	54
11. Número médio de pulgões atacados ( $\pm$ EP) por larvas de <i>Cycloneda sanguinea</i> em colônias de <i>Toxoptera citricidus</i> atendidas pela formiga <i>Camponotus punctulatus</i> (f, colônia pequena; ff, colônia grande) e não atendidas (sf). Letras distintas indicam diferença significativa (teste <i>t</i> , $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ) .....	55

## 1 INTRODUÇÃO

A cultura do citros [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] é alvo constante de inúmeras pragas e doenças, que encontrando condições favoráveis ao seu desenvolvimento são capazes de causar danos irreversíveis. Entre as diversas espécies de insetos que podem ocasionar prejuízos à citricultura, encontram-se os afídeos (Hemiptera: Aphididae). Esses insetos podem causar danos diretos provocando murchamento generalizado, encarquilhamento das folhas e a paralisação do desenvolvimento das mesmas. Como danos indiretos, há o comprometimento da taxa fotossintética e respiratória da planta através do desenvolvimento de fungos saprófitas (*Capnodium* spp.) e transmissão de vírus fitopatogênicos. *Toxoptera citricidus* (Kirkaldy) é uma das principais espécies de afídeos que infestam pomares de citros no Brasil, sendo um dos principais vetores do agente causal de uma das maiores ameaças à citricultura, a tristeza-dos-citros.

A história de vida dos afídeos pode ser influenciada pela presença de outros organismos, como as formigas. Como grande parte dos Hemiptera, os afídeos excretam um exsudato, o *honeydew*, rico em carboidratos, uma fonte de alimento importante para diversas espécies de formigas. Muitas espécies de formigas atendem às colônias dos afídeos para obtenção do *honeydew* e, em troca, realizam serviços, formando uma interação mutualista.

As formigas mutualistas promovem benefício aos hemípteros atendidos, como proteção a inimigos naturais e conseqüente aumento da sobrevivência,

aumento da fecundidade e redução do intervalo entre gerações. Embora a interação formiga-hemíptero seja reconhecida como mutualista em muitos estudos, o mutualismo está condicionado a variações no espaço e no tempo e, por isso, os custos envolvidos para os participantes da interação podem ser, em algumas circunstâncias, maiores do que os benefícios.

No Brasil não existem trabalhos que avaliem o efeito do atendimento das formigas sobre a história de vida dos afídeos. Dado a importância agrícola de *T. citricidus*, este trabalho objetivou avaliar se a interação é positiva ou negativa entre *Camponotus punctulatus* Mayr e *Toxoptera citricidus* em *Citrus sinensis* var. Valência enxertada sobre *Poncirus trifoliata* (L.) Raf., através de parâmetros individuais (sobrevivência, fecundidade e longevidade) e populacionais (tabela de vida de fertilidade) do pulgão e pela simulação computacional do crescimento deste. Além disso, foi observado o comportamento das operárias de *C. punctulatus*, provenientes de duas colônias, e de larvas e adultos da joaninha *Cycloneda sanguinea* durante a interação formiga-pulgão-joaninha.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Problemática dos afídeos

Os afídeos são considerados um grupo de insetos de grande importância agrícola em termos mundiais, em função da sua distribuição, dos seus danos diretos e, principalmente dos indiretos (Peña-Martínez, 1992). Os danos diretos são provocados pela alimentação nas plantas, removendo substâncias nutritivas e liberando toxinas presentes na saliva, provocando o murchamento generalizado, encarquilhamento das folhas e a paralisação do desenvolvimento das mesmas (Vendramim & Nakano, 1981; Godfrey *et al.*, 2000). Como danos indiretos, há o comprometimento da taxa fotossintética e respiratória da planta através do desenvolvimento de fungos saprófitas (*Capnodium* spp.) (Peña-Martínez, 1992; Godfrey *et al.*, 2000) e transmissão de vírus fitopatogênicos (Nault, 1997).

Mais de 4.700 espécies de afídeos já foram descritas (Remaudière & Remaudière, 1997), das quais cerca de 190 têm registro de transmissão de vírus de plantas (Nault, 1997), com muitas espécies capazes de transmitir mais de um vírus (Eastop, 1983; Nault, 1997). Dos mais de 700 vírus de plantas (van Regenmortel *et al.*, 2000), cerca de 50% são transmitidos por hemípteros das subordens Auchenorrhyncha e Sternorrhyncha (Nault, 1997). Os afídeos (Aphididae) são os mais importantes vetores, transmitindo mais vírus do que as



moscas-branca (Aleyrodidae) e as cigarrinhas (Cicadellidae e Delphacidae) (Nault, 1997).

O pulgão-preto-dos-citros, *Toxoptera citricidus*, está ligado a duas importantes doenças da citricultura, a tristeza-dos-citros e enação das nervuras-galha lenhosas dos citros (Roistacher & Bar-Joseph, 1987; Carvalho *et al.*, 2001). A tristeza-dos-citros está entre as principais doenças da citricultura mundial, sendo causada pelo *Citrus tristeza virus* (CTV) (Roistacher, 1991; Marroquín *et al.*, 2004). *T. citricidus*, juntamente com *Aphis gossypii* Glover e *A. spiraecola* Patch, são as principais espécies de afídeos vetores do CTV (Roistacher & Bar-Joseph, 1987). A transmissão do CTV por *T. citricidus* pode chegar a ser 25 vezes mais eficiente do que outras espécies de afídeos (Yokomi *et al.*, 1994). A enação das nervuras-galha lenhosas dos citros tem maior impacto em regiões da Espanha, onde o porta-enxerto utilizado é resistente à tristeza-dos-citros, porém, sensível à galha lenhosa (Ballester *et al.*, 1979).

Uma terceira doença, a morte-súbita-dos-citros (MSC), vem se disseminando no Brasil desde 2001 (Bassanezi *et al.*, 2003; Roman *et al.*, 2004). Apresenta a sintomatologia e o padrão de distribuição das plantas atacadas semelhantes ao da tristeza-dos-citros e, por isso, alguns autores sugerem que a MSC é causada por um mutante do vírus da tristeza de origem regional ou recém-introduzido (Müller *et al.*, 2002) e, por esta similaridade, os afídeos poderiam ser os principais vetores, embora ainda não tenha sido testado (Bassanezi *et al.*, 2003).

## **2.2 Biologia de *Toxoptera citricidus***

O pulgão-preto-dos-citros é originário da Ásia, possivelmente da China, de onde também vieram os citros (Rocha-Peña *et al.*, 1995). A sua introdução na

América do Sul ocorreu, provavelmente, no Brasil ou na Argentina na década de 30 quando essas regiões estavam expandindo a produção citrícola, através de importações de material da Austrália e da África do Sul (Rocha-Peña *et al.*, 1995). Atualmente, é encontrado em países da América do Sul como Bolívia (Squire, 1972; Timmer *et al.*, 1981), Peru (Roistacher, 1988), Uruguai, Chile e Colômbia, além do Brasil (Rocha-Peña *et al.*, 1995). Há registros de *T. citricidus* até mesmo em regiões de floresta, como a Amazônia peruana (Ortiz, 1981) e na Mata Atlântica (Lazzari & Lazzarotto, 2005).

Plantas hospedeiras de *T. citricidus* são, em sua grande maioria, restritas ao gênero *Citrus*, embora haja registros de ocorrência em outras espécies de Rutaceae (Michaud, 1998). Outras espécies vegetais são registradas como hospedeiras alternativas do pulgão-preto-dos-citros (Roistacher, 1991; Yokomi, 1992; Yokomi *et al.*, 1994), entretanto, acredita-se que tanto a alimentação quanto a reprodução ocorram somente em espécies de *Citrus* e que, exceto pelas Rutaceae, a maioria das plantas não são hospedeiras apropriadas para o desenvolvimento de *T. citricidus* (Yokomi *et al.*, 1994). Estas plantas podem ser colonizadas ocasionalmente quando não há disponibilidade de ramos jovens em citros ou quando as formas aladas estão no processo de deslocamento para outros citros e apenas pousam nessas supostas hospedeiras (Michaud, 1998).

Tanto no Brasil quanto em outros países, o pulgão-preto-dos-citros é encontrado em alta densidade nos pomares cítricos (Garnsey & Lee, 1993; Bassanezi *et al.*, 2003). No Brasil, *T. citricidus* está entre as principais espécies de afídeos que infestam pomares cítricos, juntamente com *A. gossypii*, *A. spiraecola* e *Toxoptera aurantii* (Boyer de Fonscombe) (Souza-Silva & Ilharco, 1995). Em levantamentos de afídeos realizados em pomares de *C. sinensis* na região Sudeste do Brasil, ao longo de dois anos, cerca da metade de todos os indivíduos

coletados pertencia à espécie *T. citricidus* (Primiano, 2005). De acordo com o autor, em alguns pomares, esta espécie representava mais de 80% do total de indivíduos coletados.

O pulgão-preto-dos-citros se alimenta somente nas brotações, folhas jovens e botões florais da sua planta hospedeira (Michaud, 1998). Em virtude das técnicas de manejo, como irrigação, fertilização e poda e, fatores climáticos, a ocorrência de brotações por períodos prolongados pode ser induzida e, conseqüentemente, *T. citricidus* pode ocorrer ao longo de todo o ano (Bassanezi *et al.*, 2003). A atratividade de plantas bem nutridas para os afídeos é consequência, principalmente, da adubação nitrogenada, disponibilizando teores elevados de nitrogênio no floema (Klingauf, 1989). Mesmo assim, segundo Michaud (1998), o período de disponibilidade das brotações é reduzido e as colônias de *T. citricidus* têm um curto tempo para se desenvolver e produzir alados antes dos recursos se tornarem inadequados. Quando os ramos começam o processo de endurecimento, as ninfas que ainda estão se alimentando têm seu desenvolvimento prejudicado ou saem em busca de novas brotações. Em geral, as fêmeas aladas se deslocam pouco e as infestações tendem a ser endêmicas nos pomares, mantendo-se em baixa densidade até um novo fluxo de brotações.

Em função da indução da brotação em citros, os picos populacionais de *T. citricidus* podem ocorrer algumas semanas após chuvas fortes (Schwarz, 1965). Em Porto Rico, o pulgão-preto-dos-citros apresenta picos de incidência na primavera e metade do outono, época de fluxo de brotações, podendo ainda haver outro pico no verão (Michaud & Browning, 1999). Situação similar ocorre no Brasil, com dois picos populacionais anuais, sendo um na primavera e o outro no outono (Chagas *et al.*, 1982), embora esses picos possam ocorrer no inverno e no verão (Primiano, 2005).

Diferentemente de outras regiões, em que os afídeos passam por ciclos de reprodução sexuada e assexuada, nas regiões tropicais e subtropicais são unicamente vivíparos e se reproduzem por partenogênese telítoca, isto é, fêmeas originando fêmeas (Dixon, 1977; Blackman, 1987; Michaud, 1998). A partenogênese dos afídeos é caracterizada pela produção de prole geneticamente idêntica à mãe, produzindo clones (Blackman, 1979; Blackman, 1987; Carvalho *et al.*, 1991).

Apesar da importância de *T. citricidus* na citricultura, a literatura sobre a sua biologia é escassa. Existe uma grande amplitude de variação nos aspectos da história de vida do pulgão em decorrência das diferentes combinações entre as espécies de citros usadas nos experimentos e as condições climáticas. Em condições de campo, o tempo de desenvolvimento do pulgão-preto-dos-citros é de 8-21 dias, com até 30 gerações por ano no Zimbábue (Symes, 1924). Em experimentos realizados em casa de vegetação na Argentina, três coortes do pulgão tiveram a duração do ciclo ninfa-adulto entre 28 e 48 dias, com sobrevivência de até 80%. A fecundidade diária foi de seis ninfas e a fecundidade total variou de 73 a 81 ninfas por fêmea (Galatoire, 1983). Outros valores foram encontrados por Edwards & Khan (2008), que estudaram a biologia do pulgão em *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle em condições não controladas em Tobago, com duração do ciclo ninfa-adulto de 21 dias e sobrevivência de ninfas de 28%. Os autores constataram que o período de maior produção de prole ocorreu entre o segundo e o terceiro dia após a ninfa ter atingido o estágio adulto, produzindo uma média diária de 5,4 ninfas e com fecundidade total de apenas 12 ninfas por fêmea.

Diferentes plantas hospedeiras são responsáveis pelas diferenças encontradas na história de vida de *T. citricidus*, afetando o tempo de

desenvolvimento, a sobrevivência e a fecundidade (Komasaki, 1992; Tsai, 1998). Tsai (1998) comparou o efeito do desenvolvimento dos pulgões em oito hospedeiros [*C. aurantifolia*, *C. aurantium* L., *C. jambhiri* Lush, *C. paradisi paradisi* Macf., *Citrofortunella microcarpa* (Bunge) Wijnands, *Murraya paniculata* (L.) Jack, *Severinia buxifolia* (Poir.) Tenore e *Triphasia trifolia* (Burm. F.) P. Wilson] a  $25 \pm 1$  °C. A sobrevivência das ninfas foi maior em *C. aurantium*, variando entre as espécies de 41,6 a 93,5% enquanto o tempo de desenvolvimento ninfa-adulto variou de 5,9 a 7,2 dias, sendo mais rápido para os pulgões criados nas plantas de *Citrus*. A fecundidade total variou de 17,7 a 58,8 ninfas por fêmea e a longevidade dos adultos variou de 14,6 a 22,8 dias. Komazaki (1982) também observou variações entre os pulgões criados em *C. aurantium* e *C. unshiu* Peel.

A temperatura também é um fator fundamental na história de vida de *T. citricidus*, assim como para a maioria dos insetos. Em estudo realizado por Tsai & Wang (1999), a história de vida do pulgão foi avaliada em oito temperaturas (8, 10, 15, 20, 25, 28, 30 e 32 °C) na Flórida. O tempo de desenvolvimento dos imaturos variou de 63,1 dias na temperatura mais baixa a 5,5 dias a 30 °C, com sobrevivência variando de 81 a 97%, sendo mínima (29%) a 32 °C. A longevidade dos adultos variou entre 60 e 6,5 dias, respectivamente a 10 e 32 °C. A fecundidade foi maior para as fêmeas mantidas a 20 °C, que produziram 52,5 ninfas, enquanto que somente 7,5 ninfas foram geradas a 32 °C. A taxa reprodutiva líquida encontrada por estes autores foi de 33,13, 44,32 e 41,08 a 15, 20 e 25 °C, respectivamente, semelhantes àquelas encontradas para as fêmeas criadas em *C. aurantium* no Japão, que foram 44,3, 38,84 e 35,79 a 15,2, 19,9 e 24,9 °C, respectivamente (Komazaki, 1982). A maior taxa intrínseca de aumento foi semelhante nestes estudos, sendo a 28 °C no trabalho de Tsai & Wang (1999) e a 27 °C no trabalho de Komazaki (1982).

### 2.3 Formigas atendentes de *Toxoptera citricidus*

Em virtude da liberação do *honeydew* pelos afídeos, muitas espécies de formiga (Hymenoptera: Formicidae) utilizam este composto como recurso alimentar. Colônias de *T. citricidus*, em citros, já foram observadas sendo atendidas por algumas espécies de formigas.

Em pomares de citros no Japão, as formigas *Pristomyrmex pungens* Mayr e *Lasius niger* (Linnaeus) foram observadas coletando *honeydew* do pulgão-preto-dos-citros (Shindo, 1972 *apud* Michaud, 1998; Kato, 1979 *apud* Kaneko, 2003). Outras espécies de formigas também atendem colônias do afídeo em Porto Rico, como *Brachymyrmex obscurion* Ford, *Monomorium ebeninum* Ford, *Paratrechina longicornis* (Latrielle), *Pheidole fallax* Mayr, *Solenopsis invicta* Buren, *Solenopsis globularia* (F. Smith) e *Wasmannia auropunctata* (Roger) (Michaud & Browning, 1999). Na Flórida, EUA, as formigas *B. obscurion*, *Camponotus sexguttatus* (F.) e *Pseudomyrmex ejectus* (F. Smith) foram registradas em colônias de *T. citricidus* (Michaud, 1998).

No Brasil os relatos da interação formiga-afídeo são raros, ainda mais se considerando o pulgão *T. citricidus*. Bartoszeck (1976) registrou as formigas *Eucryptocerus placidus* (F. Smith) e *Camponotus godmani* Forel em associação com o pulgão-preto-dos-citros. Em um pomar orgânico de tangerineira cv. Poncã em Seropédica, RJ, Rodrigues *et al.* (2006) observaram o atendimento de colônias do pulgão pelas formigas *Brachymyrmex* sp., *Camponotus atriceps* (Smith), *Camponotus clypeatus* Mayr, *Camponotus crassus* Mayr, *Camponotus rufipes* (Fabricius), *Crematogaster* sp.1, *Ectatomma brunneum* Smith, *Pheidole* sp. e *Solenopsis* sp. Dessas, *C. rufipes* foi a mais freqüente, ocorrendo em cerca da metade das observações. Neste pomar, as colônias de *T. aurantii* eram atendidas pelas mesmas espécies de formigas, exceto por *Pheidole* sp. e

*Solenopsis* sp. Colônias de *T. aurantii* já foram observadas sendo atendidas por *Camponotus punctulatus* Mayr na Argentina (Delfino & Buffa, 2008).

Em levantamento realizado por Moraes (2006) em pomar orgânico de *C. deliciosa* Tenore var. Montenegrina, no Rio Grande do Sul, as espécies de formigas com maior frequência de ocorrência foram *Camponotus* sp.1 e *Camponotus* grupo *crassus*. Destas, *Camponotus* sp.1 ocorreu ao longo de todo o ano. Amostras de *Camponotus* sp.1 foram identificadas durante a realização da presente tese e pertencem a *Camponotus (Tanaemyrmex) punctulatus* Mayr.

Nativa da região sul da América do Sul, *C. punctulatus* nidifica no solo, embora seja encontrada no extrato arbóreo (Kusnezov, 1951). Os ninhos, em geral, são conspícuos, com uma porção externa de solo de formato cônico (Kusnezov, 1951; Folgarait *et al.*, 2002). A densidade de ninhos, em áreas de plantio de arroz na Argentina, pode chegar a 1.800 ninhos por hectare, dependendo do tempo de abandono da área cultivada (Folgarait *et al.*, 2002), enquanto no Rio Grande do Sul a densidade varia de 116 a 1.274 ninhos por hectare (Diehl *et al.*, 2005). Em regiões naturais da Argentina, a densidade é menor, chegando a 23 ninhos por hectare (Folgarait *et al.*, 2002). Os ninhos variam de tamanho ao longo do tempo e, quando maduros, podem atingir cerca de 1,0 m de altura e 2,0 m de diâmetro na Argentina (Gorosito, 2007), enquanto não passam de 0,6 m de altura e 1,0 m de diâmetro no Brasil (Diehl *et al.*, 2005).

A espécie é onívora, alimentando-se principalmente de *honeydew* e de insetos (Kusnezov, 1951; Gorosito, 2007). É considerada uma espécie pioneira que rapidamente invade campos agrícolas (Folgarait *et al.*, 2007). Apresenta colônias maduras monogínicas, embora várias rainhas já tenham sido encontradas em ninhos em construção (Folgarait *et al.*, 2002).

## 2.4 Interação formigas-afídeos

Tradicionalmente, as interações entre duas espécies apresentam uma classificação estática, ou seja, se encaixam em uma única categoria, como predação, competição ou mutualismo (Cushman & Addicott, 1991). Em muitos textos de ecologia, o mutualismo é definido como uma interação entre duas espécies mutuamente benéficas (Boucher *et al.*, 1982; Krohne, 1998; Begon *et al.*, 1999). Há muito a interação formigas-hemípteros tem sido usada como exemplo de uma relação mutualista, porém, novos trabalhos têm demonstrado que essa relação, principalmente para os afídeos, incorre em custos antes desconhecidos, podendo oscilar de mutualismo à predação ao longo do tempo e do espaço (Offenberg, 2001).

Além disso, a relação entre formigas e seus parceiros são geralmente percebidas como baseadas numa interação unicamente trófica, o que tem sido chamado de trofobiose de acordo com os trabalhos originais de Wasmann (*apud* Hölldobler & Wilson, 1990). O termo trofobiose é amplamente usado na literatura sobre formigas, o que tende a simplificar e mascarar a complexidade da associação entre as formigas e seus diversos parceiros. Em geral, essas associações estão muito longe de serem simbióticas ou mesmo unicamente tróficas. O mutualismo deveria ser visto como uma forma de exploração mútua resultante de adaptações evolutivas e de custos e benefícios para cada um dos parceiros da interação (Stadler & Dixon, 2008).

Os custos e benefícios da interação variam de acordo com o cenário ecológico, o que tem levado a utilização da abordagem de interações condicionais (Cushman & Whithman, 1989; 1991). A condicionalidade do mutualismo pode ser discutida considerando três aspectos. O primeiro está ligado à variação nos “problemas” ecológicos vivenciados pelos parceiros do mutualismo, como no caso



em que as formigas somente beneficiam o parceiro quando seu predador apresenta alta abundância (Cushman & Whithman, 1989). O segundo são as variações nas possíveis “soluções” que os parceiros mutualistas podem fornecer para os problemas, como a capacidade distinta de duas espécies de formigas na defesa do afídeo atendido. Por último, a condicionalidade pode estar ligada à variação na disponibilidade de parceiros mutualistas, como as distâncias entre as colônias dos parceiros (Cushman & Whithman, 1991).

A grande abundância de formigas, aliada a sua intensa atividade nos mais diversos habitats resulta em um número expressivo de associações entre formigas e outros organismos, como os afídeos, variando de interações facultativas até obrigatórias (Hölldobler & Wilson 1990; Rico-Gray & Oliveira, 2007). A associação entre formigas e afídeos data do início do Oligoceno (Wheeler, 1910; Hölldobler & Wilson, 1990). Os afídeos se alimentam do floema, que é geralmente rico em açúcares e pobre em nitrogênio. Como consequência, os afídeos têm que ingerir um grande volume de seiva, que é majoritariamente excretada na forma de *honeydew* (Stadler *et al.*, 1998; Dixon, 2004). O *honeydew* é uma mistura de água, carboidratos, aminoácidos e proteínas (Auclair, 1963; Way, 1963; Buckley, 1987; Völkl *et al.*, 1999), uma fonte de alimento importante para diversas espécies de formigas (Hölldobler & Wilson, 1990; Rico-Gray, 1993). Muitas espécies de formigas atendem às colônias dos afídeos para obtenção do *honeydew* e, em troca, realizam serviços, formando uma interação permeada por custos e benefícios (Stadler *et al.*, 2001).

Existem somente dois trabalhos que relatam o efeito do atendimento das formigas sobre a vida de *T. citricidus*. Em um pomar de citros no Japão, Shindo (1972 *apud* Michaud, 1998) observou que a formiga *Pristomyrmex pungens* Mayr atendia as colônias do pulgão-preto-dos-citros, interferindo no comportamento de

seus predadores. Também no Japão, o pulgão-preto-dos-citros forma densas colônias em brotações de citros quando estes são ativamente atendidos pelas formigas *Lasius niger* (L.) e *P. pungens* (Kato, 1979 *apud* Kaneko, 2003).

Stadler & Dixon (1998) estudaram o efeito do atendimento pela formiga *L. niger* na biologia de *Aphis fabae cirsiacanthoides* Scopoli em *Cirsium arvense* (L.) Scopoli (Asteraceae) ao longo de quatro gerações e avaliaram o tempo de desenvolvimento (ninha a adulto), peso seco do corpo e das gônadas, número de ovariolos, número de embriões imaturos e maduros, tamanho do embrião mais desenvolvido e a taxa média de crescimento relativo (MRGR). Os autores relatam que de forma geral, o atendimento pelas formigas aos afídeos teve um efeito negativo. O tempo de desenvolvimento foi maior e a produção de prole *per capita* foi menor. Embora a mudança do estado fenológico da planta tenha reduzido a MRGR, as colônias do afídeo atendidas pelas formigas tiveram uma redução significativa ainda maior dessa variável. Exceto pelo número de ovariolos, todos os demais parâmetros avaliados foram afetados de forma negativa como resultado do atendimento pelas formigas. Já em campo a situação foi diferente. O atendimento pelas formigas não afetou o desenvolvimento das colônias de *A. fabae cirsiacanthoides*, porém afetou positivamente o tamanho das colônias de outro afídeo, o *Symydobius oblongus* (von Heyden) em *Betula pendula* Roth. (Betulaceae), principalmente decorrente da proteção pelas formigas aos inimigos naturais dessa espécie de afídeo (Stadler & Dixon, 1999).

Um importante estudo de Stadler *et al.* (2002) exemplifica bem os custos e benefícios para o *fitness* do afídeo em resposta à qualidade da planta hospedeira e ao atendimento pelas formigas. Os autores estudaram espécies de afídeos com diferentes graus de associação com a formiga *L. niger* mantidos em *Tanacetum vulgare* L. (Compositae) plantadas em solo de alta qualidade (AQ) e de baixa

qualidade (BQ). *Metopeurum fuscoviride* Stroyan é um mirmecófilo obrigatório, *Brachycaudus cardui* (L.) e *Aphis fabae* Scopoli são mirmecófilos facultativos, enquanto *Macrosiphoniella tanacetaria* Kaltenbach não é mirmecófilo. Todas as espécies de afídeo tiveram um melhor desempenho nas plantas com alta qualidade. Porém, o aumento relativo na taxa intrínseca de crescimento ( $r_m$ ), de BQ a AQ, foi maior para as espécies não mirmecófilas e mirmecófilas facultativas do que para a mirmecófila obrigatória, *M. fuscoviride*. Por outro lado, o aumento do *fitness* em função do atendimento foi 23,5% para *M. fuscoviride*, 5,4% para *B. cardui* e nulo para *A. fabae*. As espécies facultativas sofreram um custo maior quando atendidas em plantas BQ do que o mirmecófilo obrigatório. Isto sugere que os afídeos estão adaptados para procurar por sítios de alta qualidade e são mais prejudicados quando confinados em colônias atendidas por formigas.

O efeito de fontes alternativas de alimento (proteína e carboidrato) e o consequente efeito do atendimento pela formiga *L. niger* na biologia de *A. fabae* em *Vicia faba* L. (Leguminosae) foi avaliado por Offenberg (2001). Foram oferecidas às formigas, em diversas combinações, fontes alternativas de açúcar e proteína. As formigas aceitaram a solução de mel como substituta ao *honeydew*. Isso levou à redução da taxa de atendimento e uma mudança na interação, pois as formigas passaram a preda os pulgões, independentemente da disponibilidade de uma fonte de proteína adicional. Essa indução de mudança de uma associação mutualista a antagonista, segundo os autores, poderia ser aplicada como método de controle em situações onde a presença da associação formiga-hemíptero acarreta um alto custo para a planta hospedeira.

Yao *et al.* (2000) avaliaram a campo, o efeito do atendimento pela formiga *Formica yessensis* Wheeler na biologia do afídeo *Tuberculatus quercicola* (Matsumura) em *Quercus dentata* Thunberg (Fagaceae). No sistema onde os

afídeos foram criados sem predadores, as formigas os afetaram negativamente. Os afídeos tiveram a largura do corpo, o comprimento do fêmur do último par de pernas e o número de embriões reduzido como resultado do atendimento pelas formigas. A situação foi diferente no sistema onde os afídeos estavam expostos à predação. Neste sistema, os pulgões atendidos tiveram aumento da sobrevivência e da longevidade em função da proteção aos inimigos naturais promovida pelas formigas.

Outros trabalhos avaliaram o efeito do atendimento das formigas sobre os hemípteros parasitados. Em algumas situações, as formigas removem os afídeos que estão parasitados, reduzindo o parasitismo (Frazer & van den Bosch, 1973; Vinson & Scarborough, 1991; Stechmann *et al.*, 1996). Em outros casos as formigas não interferem sobre os indivíduos parasitados, promovendo, indiretamente, proteção ao parasitoide primário de predadores e de hiperparasitoides (Völkl, 1992; Cudjoe *et al.*, 1993; MacKauer & Völkl, 1993; Novak, 1994; Kaneko, 2003). Estas observações sugerem que diferentes espécies de formigas associadas a um mesmo hemíptero têm efeitos diversos (Kaneko, 2003).

## **2.5 Interação formigas-afídeos-joaninhas**

O controle biológico dos afídeos é realizado por um complexo de espécies de sirfídeos e coccinelídeos, enquanto os parasitoides têm uma importância reduzida (Michaud, 1999; Michaud & Browning, 1999). A contribuição destes dois principais grupos de inimigos varia sazonalmente, embora dados comparados de campo indiquem que as joaninhas são mais eficientes na eliminação das colônias de *T. citricidus* (Michaud, 1999). Além disso, em comparação a outras espécies de joaninhas, *Cycloneda sanguinea* é considerada como a melhor opção pelo

curto tempo de desenvolvimento e pelas características reprodutivas (Michaud, 2000) e por se desenvolver bem mesmo sob baixas temperaturas (Cardoso & Lázari, 2003), sendo, portanto, uma candidata ideal para controlar as populações de *T. citricidus* no sul do Brasil.

Considerando os casos onde há a associação formiga-pulgão, é comum as formigas protegerem os hemípteros atendidos do ataque de inimigos naturais, proteção que se torna mais intensa quanto mais próximos às colônias atendidas estes estiverem (*ownership behaviour* em Way, 1963). As formigas respondem de forma agressiva à presença de larvas e adultos de coccinelídeos, perseguindo-os, removendo-os ou até mesmo matando-os (Bradley, 1973; McLain, 1980; Vinson & Scarborough, 1989; Bach, 1991; Jiggins *et al.*, 1993; Itioka & Inoue, 1996; Sloggett, 1998; Sloggett & Majerus, 2003) e, como resultado, acredita-se que esses predadores evitem colônias atendidas pelas formigas (Sloggett & Majerus, 2000). Este fato tem levado à recomendação de que as formigas sejam removidas do sistema quando se objetiva o controle das populações de hemípteros atendidos (Hanks & Sadof, 1990; Reimer *et al.*, 1993; Vanek & Potter, 2010). Recomendações como esta não levam em conta todas as interações diretas e indiretas que derivam do mutualismo formiga-hemíptero.

Como apontam Sloggett & Majerus (2000), o resultado da interação formiga-afídeo sobre os coccinelídeos não é tão simples assim. Fatores inerentes ao mutualismo como as espécies envolvidas, a distância entre as colônias dos hemípteros atendidos e das formigas, as características da planta hospedeira e até mesmo as condições climáticas podem ter efeito sobre o atendimento e, conseqüentemente, sobre a distribuição dos inimigos naturais dos hemípteros em relação às formigas (Way, 1963; Addicott, 1979; Buckley, 1987; Bristow, 1991).

Há de se considerar aspectos inerentes ao próprio inimigo natural dos hemípteros, cuja caracterização permanece limitada (Sloggett & Majerus, 2000).

A coexistência de predadores de hemípteros e de formigas pode ser classificada em dois tipos dependendo da durabilidade da relação (Sloggett & Majerus, 2000). Algumas espécies de predadores coexistem facultativamente com as formigas: nestes casos a coexistência é mediada pela disponibilidade das presas. Pela maior parte do tempo, predadores e parasitoides evitam os sítios com hemípteros atendidos, preferindo as colônias não atendidas que representam um recurso menos arriscado para se obter. Sob certas condições, entretanto, se alimentar de hemípteros atendidos pode ser favorecido, quando as colônias não atendidas estão escassas, o valor relativo das colônias atendidas se torna maior. Esta situação é esperada já que as colônias de hemípteros atendidos tendem a persistir por mais tempo (Bristow, 1984; Mahdi & Whittaker, 1993), como ocorre com afídeos no final do verão em regiões de clima temperado (Mahdi & Whittaker, 1993).

O segundo tipo de coexistência é de um tipo com maior duração, que forma uma relação obrigatória ou quase obrigatória (Sloggett & Majerus, 2000). Algumas espécies de predadores e parasitoides de hemípteros são mirmecófilas, sempre ocorrendo com uma ou mais espécies de formiga durante parte ou por toda sua vida (Pontin, 1959; Völkl, 1997; Sloggett, 1998). Nesses casos, as formigas são parte essencial do habitat do inimigo natural e as presas geralmente ocorrem nas proximidades das formigas (Sloggett & Majerus, 2000). Em alguns casos, foi sugerido ou até demonstrado que os predadores mirmecófilos são beneficiados, pela redução da pressão intra-guilda quanto na aquisição de um espaço livre de inimigos naturais destes predadores (Majerus, 1989; Völkl, 1992, 1995). Dessa forma, a associação mutualista entre hemípteros e formigas coletoras de

*honeydew* beneficia os inimigos naturais destes hemípteros cuja sobrevivência e persistência populacional pode ser a chave para o controle natural das populações de hemípteros no nível da paisagem (Liere & Perfecto, 2008).

Independentemente do grau de coexistência entre coccinelídeos e formigas-hemípteros, a tolerância das joaninhas às formigas deriva, em parte, da sua capacidade de defesa (Majerus *et al.*, 2007). Os coccinelídeos utilizam vários mecanismos para lidar com a agressividade das formigas (Pasteels *et al.*, 1973; Richards, 1980, 1985; Majerus, 1994). Esses mecanismos de defesa podem ser comportamentais, físicos ou químicos, alguns ocorrendo em apenas em estágios de vida específicos, enquanto outros ocorrem tanto no estágio imaturo quanto no adulto (Pontin, 1959; Eisner *et al.*, 1978; Völkl, 1995; Sloggett *et al.*, 1998; Lohman *et al.*, 2006; Majerus *et al.*, 2007).

A maioria das joaninhas apresenta comportamento de defesa em resposta ao ataque pelas formigas. Não se sabe se estes comportamentos de defesa evoluíram especificamente como resposta à agressão pelas formigas ou são parte da defesa geral contra predadores e parasitoides, embora sejam mais desenvolvidos nos coccinelídeos que frequentemente encontram formigas (Sloggett, 1998). Em geral, as larvas fogem ou mesmo se jogam da planta, enquanto os adultos, além de poderem reagir como as larvas, voam (Banks, 1962; Bradley, 1973; Itioka & Inoue, 1996). Como resposta alternativa ao voo, os adultos têm o comportamento de *clamp down*, retraindo as pernas sob o corpo, aproximando a cabeça ao tórax e se segurando firmemente ao substrato (Bradley, 1973; Jiggins *et al.*, 1993; Majerus, 1994). Este comportamento fornece melhor proteção nos Chilocorinae, que apresentam a região ventral bem plana, ao contrário dos Coccinellinae, que não ficam tão protegidos e, talvez por isso,

adotem também uma movimentação lateral, aproximando o corpo ao substrato no lado onde a formiga está atacando (Jiggins *et al.*, 1993; Sloggett, 1998).

O comportamento de defesa também está presente nas pré-pupas e nas pupas de muitos coccinelídeos, que, em resposta ao estímulo tátil, elevam repetidamente a porção terminal do corpo, comportamento conhecido como *pupal flicking* (Majerus, 1994). Quando este movimento é realizado, as juntas dos segmentos abdominais funcionam como uma armadilha de contato, podendo prender e danificar antenas e outras peças das formigas ao tocar a pupa, embora o movimento *per se* provoque deterrência nas formigas (Eisner & Eisner, 1992). Do ponto de vista evolutivo, há indícios de que a sua função primordial esteja relacionada à proteção contra o parasitismo (Disney *et al.*, 1994).

A defesa física de ovos e imaturos das joaninhas é pouco eficiente contra o ataque de formigas. O córion dos ovos é relativamente fino, assim como o exoesqueleto das larvas, ambos facilmente perfuráveis pelas formigas. Entretanto, muitas larvas de coccinelídeos apresentam o corpo coberto por espinhos (Richards, 1980), o que promove certa proteção contra as formigas (Sloggett, 1998). A presença de filamentos cerosos na superfície ventral e dorsal das larvas de algumas espécies de joaninhas fornece proteção contra as formigas (Pope, 1979; Völkl & Vohland, 1996; Liere & Perfecto, 2008). A mortalidade das larvas normais (com filamentos) de *Scymnus nigrinus* e *S. interruptus* é maior do que das larvas cuja proteção foi intencionalmente removida quando atacadas pelas formigas *Formica polyctena* e *Lasius niger*, respectivamente, embora não impeça o ataque (Völkl & Vohland, 1996). Entretanto, este mecanismo de proteção é efetivo para algumas espécies de formiga e não para outras (Bach, 1991; Reimer *et al.*, 1993; Liere & Perfecto, 2008)



O exoesqueleto das pupas dos coccinelídeos é relativamente duro e fornece certo grau de proteção ao ataque das formigas (Majerus *et al.*, 2007). Além disso, exceto por Coccinellinae, Sticholotinae e algumas espécies de outras subfamílias, as pupas apresentam uma camada adicional que deriva da pele do último estágio larval e pode apresentar-se espinhosa ou cerosa (Richards, 1980).

A defesa física dos adultos, o élitro, é eficiente contra o ataque das formigas e, juntamente com o comportamento de recolher os apêndices e se segurar ao substrato (Majerus *et al.*, 2007), torna-os quase imunes às mordidas proferidas pelas formigas. Algumas espécies ainda apresentam pelos cobrindo os élitros, o que poderia aumentar a proteção (Majerus *et al.*, 2007).

Como defesa química, as joaninhas sangram (*reflex bleed*), extravasando um fluido das ligações tíbio-femorais em adultos e da superfície dorsal em larvas e pupas, com propriedades desagradáveis às formigas (Happ & Eisner, 1961; Pasteels *et al.*, 1973; Attygalle *et al.*, 1993; Sloggett, 1998; Majerus *et al.*, 2007). Em muitas espécies de joaninhas, os compostos químicos de defesa são sintetizados pelos próprios indivíduos (Tursch *et al.*, 1976; Jones & Blum, 1983), enquanto, em outras, derivam de compostos diretamente obtidos das presas (Witte *et al.*, 1990). A frequência de sangramento parece estar ligada a falta de opções de escape das joaninhas adultas, como voo, sendo utilizado somente como última opção (Majerus, 1994), embora seja frequente em outros casos (Banks, 1962; Bhatkar, 1982). Os ovos de algumas espécies também apresentam componentes químicos de defesa (Godeau, 1997; Sloggett, 1998), embora isso não forneça proteção total contra o ataque das formigas (Sloggett, 1998).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Obtenção e manutenção dos organismos**

##### **3.1.1 *Citrus sinensis* (Sapindales: Rutaceae)**

Em setembro de 2008, mudas de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck var. Valência enxertadas sobre *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. foram obtidas do viveiro certificado Turucitros, localizado em Pelotas, RS. As mudas, produzidas em haste única, tinham cerca de 50 cm de altura e haviam sido plantadas em sacolas de polietileno (4,5 L) com substrato próprio (turfa da floresta de Santa Catarina acrescida de 20% de casca de *Pinus* spp.). Cerca de um mês após o recebimento, as mudas foram transferidas para tubetes plásticos de 3,9 L (Citropotes JKS®) (Figura 1). As mudas foram mantidas em casa de vegetação, sendo irrigadas diariamente e recebendo mensalmente, 200 mL (5 g/L) de adubo NPK (15:30:15) por fertirrigação. Antes dos experimentos, as mudas receberam uma dose de adubo e tiveram suas folhas lavadas manualmente. A base do caule das mudas foi circundado com plástico parafilme (2 cm de largura) sobre o qual foi aplicada pasta adesiva (Formifu®), impedindo a passagem indesejada das formigas.

### **3.1.2 *Poncirus trifoliata* (Sapindales: Rutaceae)**

As mudas de *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. foram obtidas do viveiro Granja São Sebastião, localizado em São Sebastião do Caí, RS. As mudas, em haste única, tinham cerca de 20 cm de altura e haviam sido plantas em tubetes (13 cm de comprimento) com substrato próprio. Essas mudas eram descendentes de uma única matriz. Até sua utilização, foram mantidas em casa de vegetação dentro de baldes plásticos contendo água, adubadas semanalmente (5 g/L de adubo NPK 15:30:15). Quando da sua utilização, foram transferidas para potes plásticos individuais contendo água e um suporte para o tubete (Figura 1).

### **3.1.3 *Toxoptera citricidus* (Hemiptera: Aphididae)**

No início de fevereiro/2009, quatro adultos de *T. citricidus* foram coletados de uma única folha de um limoeiro, no Campus da Faculdade de Agronomia (30°4'26"S 51°8'7"W), Porto Alegre, RS e transferidos para duas mudas de citros, mantidas em casa de vegetação (Figura 1). À medida que as colônias de pulgões iam crescendo e as brotações amadurecendo, os afídeos eram transferidos, com pincel nº 0, para outras plantas em brotação, mantendo-se sempre duas colônias, uma atendida pela formiga *C. punctulatus* e outra não por no mínimo seis gerações antes de seu uso nos experimentos.

A identificação de *Toxoptera citricidus* (Kirkaldy) foi realizada pelo Prof. Carlos Roberto Sousa e Silva, da Universidade Federal de São Carlos, SP.

### **3.1.4 *Camponotus punctulatus* (Hymenoptera: Formicidae)**

As formigas (Figura 1) utilizadas nos experimentos eram provenientes de cinco colônias. A colônia 1, foi obtida num pomar de citros (29°39'28"S 51°27'32"W) em Montenegro, RS em novembro/2008. As colônias 2 e 3, eram

provenientes de um mesmo ninho coletado no Campus da Faculdade de Agronomia da UFRGS, em agosto/2009. Outras duas colônias, aqui chamadas, respectivamente, da colônia pequena e da colônia grande, eram oriundas de um único ninho coletado, no mesmo Campus, em junho/2010.

Em campo, os ninhos foram escavados, acondicionados em baldes plásticos de 20 L e transferidos para o laboratório. Manualmente, as formigas foram separadas do solo e transferidas para um recipiente retangular plástico (3 L), com as bordas recobertas por politetrafluoretileno (Fluon®). Durante a realização dos experimentos, as colônias eram formadas por operárias e soldados, na proporção de 3:1, perfazendo um total de 150, 500, 850, 1.000 e 2.000 indivíduos para as colônias 1, 2, 3, pequena e grande, respectivamente. Machos alados foram produzidos pelas operárias ao longo da realização dos experimentos. As colônias experimentais não apresentavam rainha, pois as mesmas não foram encontradas durante a escavação dos ninhos, entretanto esta prática pode ser utilizada conforme Schumacher & Platner (2008).

Os ninhos experimentais continham solo no fundo e tubos de ensaio (15 cm de comprimento e 1,5 cm de diâmetro) envoltos em papel celofane vermelho. Cada tubo estava preenchido por água (1/4 do tubo) represada por uma camada de algodão. Semanalmente, todas as colônias recebiam, para cada 150 indivíduos, 5 mL de solução carbo-protéica (Straka & Feldhaar 2007) e/ou 15 larvas de insetos recém-mortos [larvas de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae), ou *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) ou *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae)] provenientes de criações mantidas no laboratório de Biologia, Ecologia e Controle Biológico de Insetos (Bioecolab), da Faculdade de Agronomia da UFRGS e água *ad libitum*. As colônias foram mantidas em condições não controladas (fotofase média de 6

horas) até uma semana antes de serem usadas nos experimentos, quando passavam a receber, somente água *ad libitum*. Durante a realização dos experimentos, as formigas acessavam uma plataforma circular (15 cm de diâmetro) sobre um tripé. Desta plataforma partiam palitos de madeira que permitiam às formigas acessarem as plantas contendo os pulgões. A disposição das plantas e o comprimento das pontes foram elaborados de forma a equalizar a distância entre o ninho de formigas e a planta.

A espécie *Camponotus (Tanaemyrmex) punctulatus* Mayr, foi identificada pelo Dr. Rodrigo M. Feitosa e amostras foram depositadas no Museu de Zoologia da USP, SP.

### **3.1.5 *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera: Coccinellidae)**

Adultos de *C. sanguinea* foram coletados em um pomar de citros na Estação Experimental Agronômica da UFRGS (30°5'31"S 51°40'19"W), localizada no município de Eldorado do Sul, RS, no período de outubro a dezembro/2010. Em sala climatizada (fotofase de 16 horas; 25 ± 1°C; 60 ± 5% UR) parte dos adultos foram individualizados e acondicionados em frascos plásticos transparentes (200 cm<sup>3</sup>) e alimentados com pulgões (*T. citricidus*), solução de mel e pólen e água *ad libitum*. Os demais foram mantidos nas mesmas condições e pareados para obtenção de ovos. Foram utilizados no bioensaio adultos que permaneceram sem alimento por 48 horas e larvas de 1º instar com até 24 horas de idade (Figura 1).

A joaninha, *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus, 1763), foi identificada pelos Doutores Lúcia Massutti de Almeida e Geovan H. Corrêa, da Universidade Federal do Paraná, PR e o material foi incorporado à Coleção de Entomologia Pe. J.S. Moure da UFPR.



FIGURA 1. Exemplares dos organismos utilizados no estudo da interação formiga-pulgão-joaninha: operárias de *Camponotus punctulatus* (a), larva (b) e adulto (c) de *Cycloneda sanguinea*, colônia de *Toxoptera citricidus* (d) e mudas de *Citrus sinensis* (e) e de *Poncirus trifoliata* (f). Barra representa 1 cm.

### 3.2 Interação formiga-pulgão em mudas de citros

Os bioensaios foram conduzidos com plantas de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck var. Valência enxertadas sobre *Poncirus trifoliata* (L.) Raf., distribuídas em estantes com iluminação provida por duas lâmpadas fluorescentes de crescimento (30 W Grolux, Sylvania®) e duas lâmpadas fluorescentes (30 W Luz do dia, GE®) dispostas cerca de 30 cm acima da porção terminal das plantas. Os experimentos foram avaliados em sala climatizada (fotofase de 16 horas;  $25 \pm 1$

°C;  $60 \pm 5\%$  UR) no Laboratório de Biologia Ecologia e Controle Biológico de Insetos da Faculdade de Agronomia da UFRGS, em Porto Alegre.

A partir de duas colônias estoque (atendida e não atendida por formigas), pulgões adultos, parindo por até 96 horas, foram transferidos para as brotações de *C. sinensis* e mantidos por até 24 horas para gerarem a prole necessária (ninfas iniciais), quando os adultos foram removidos. A partir deste período, parte das plantas teve seu acesso liberado às formigas, enquanto as demais plantas ficaram inacessíveis às mesmas. Diariamente, 6 horas após o início da fotofase, as ninfas eram avaliadas quanto à sobrevivência, até atingirem o estágio adulto, quando então somente um pulgão adulto foi mantido por planta, enquanto os demais foram removidos. A partir desse ponto, diariamente até a sua morte, a prole diária foi quantificada e, em seguida, removida. Cerca de cinco minutos antes de avaliar a sobrevivência e a fecundidade dos pulgões, era registrado o número de formigas atendentes. Considerou-se como formigas atendentes aquelas que estavam tocando os pulgões com as antenas e/ou recebendo *honeydew*. O esquema do procedimento experimental está apresentado na Figura 2. Seguindo este protocolo foram conduzidos três experimentos de setembro/2009 a abril/2010, durante cerca de 30 dias cada um.

### **3.2.1 Experimento A (E<sub>A</sub>)**

Neste experimento foram utilizadas as formigas da colônia 1 e brotos de 14 plantas distintas, sendo sete atendidas por formigas e sete não. O número de ninfas iniciais mantido por planta no início do experimento foi de duas ninfas/planta.

### **3.2.2 Experimento B (E<sub>B</sub>)**

Neste experimento foram utilizadas as formigas da colônia 2. Foram utilizadas 13 plantas, com dois brotos cada uma, sendo que a base de cada broto foi recoberta por pasta adesiva (Formifu). O acesso às formigas foi permitido a um dos brotos de cada planta, colocando sobre a resina uma camada de parafilme. O número de ninfas iniciais atendidas variou de sete a 17 e o de ninfas não atendidas, de seis a 15.

### **3.2.3 Experimento C (E<sub>C</sub>)**

Neste experimento foram utilizadas as formigas da colônia 3. Assim como no anterior, cada planta ( $n = 13$ ) foi usada ao mesmo tempo para os dois tratamentos, cada um em um broto distinto da planta. Foram mantidas dez ninfas iniciais por brotação.



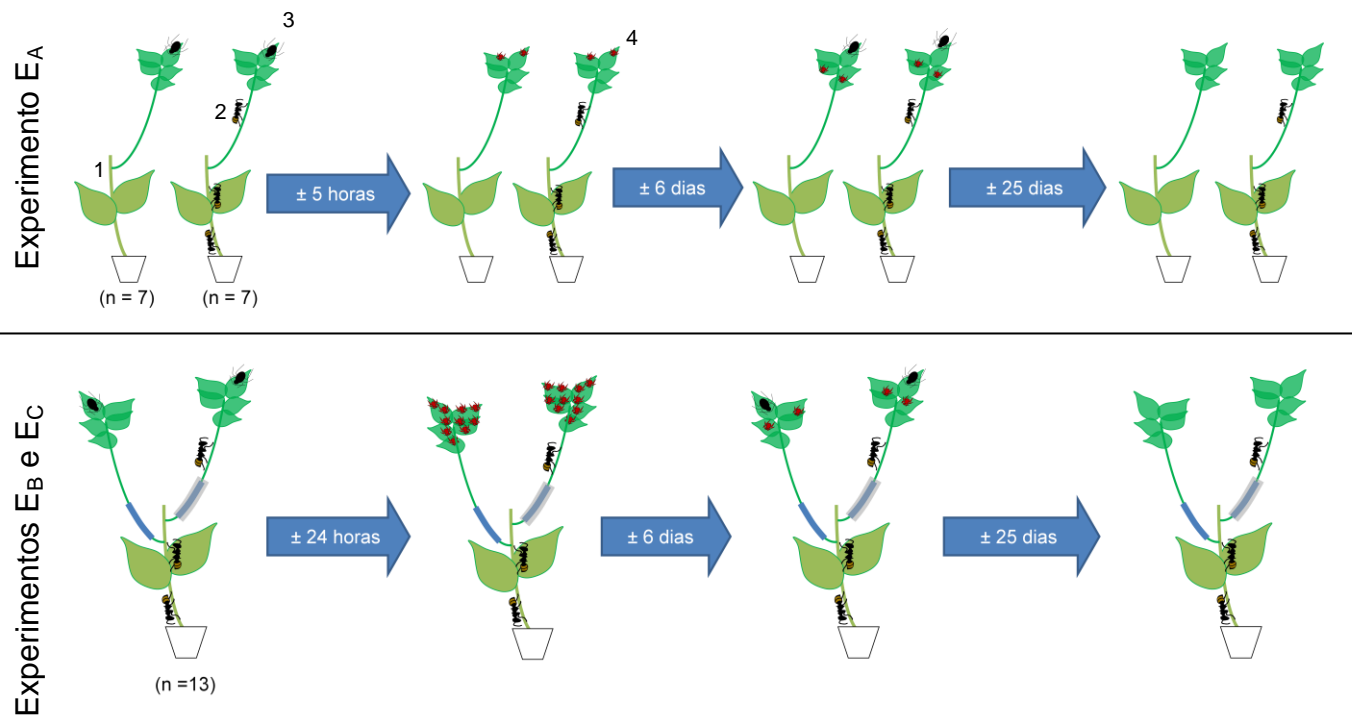


FIGURA 2. Esquema do procedimento adotado nos experimentos E<sub>A</sub>, E<sub>B</sub> e E<sub>C</sub>: 1, muda de *Citrus sinensis*; 2, *Camponotus punctulatus*; 3, adulto de *Toxoptera citricidus*; 4, ninfas iniciais de *T. citricidus*.

### 3.2.4 Parâmetros avaliados

Em relação aos pulgões foi avaliada a fecundidade total, a fecundidade média (fecundidade total dividida pela longevidade), a fecundidade diária, a duração do período reprodutivo (compreendido entre o início do estágio adulto e o último dia em que as fêmeas produziram ninfas), do pós-reprodutivo, a longevidade, a duração do ciclo total (ninfá-adulto) e a sobrevivência na fase ninfal (fração de ninfas iniciais que atingiram o estágio adulto). O número relativo diário de formigas atendentes refere-se ao número de indivíduos realizando o atendimento dos pulgões dividido pelo número de pulgões, em cada planta para cada dia, o que fornece uma medida da intensidade de atendimento (Yoo & Holway, 2011), tendo sido calculado para o período de ninfa e para o período de adulto.

Com base nos dados de fecundidade idade-específica ( $m_x$ , número de prole produzida) e da probabilidade de sobrevivência idade-específica ( $l_x$ ), foi calculada a taxa líquida de reprodução ( $r_0$ ), a taxa intrínseca de crescimento populacional ( $r_m$ ), o intervalo médio entre gerações ( $img$ ), o tempo de duplicação ( $td$ ) e a taxa finita de aumento populacional ( $\lambda$ ) e gerada as tabelas de vida de fertilidade (TBVF) segundo Maia *et al.* (2000). Como a TBVF resulta em apenas um valor calculado para cada parâmetro, foram gerados pseudo-valores para cada fêmea de cada repetição dentro de cada experimento utilizando um método iterativo baseado na correção dos parâmetros da tabela de vida de fertilidade estimados pela técnica *Jackknife* (Meyer *et al.*, 1986) através do código computacional *Lifetables* (Maia *et al.*, 2000) rodado em SAS v.9.2

### 3.2.5 Simulação do crescimento populacional de *Toxoptera citricidus*

Com base nas diferenças encontradas para a fecundidade do primeiro dia, foi gerada uma simulação computacional (Scilab v.5.2.2) para avaliar o impacto que

esta variação teria no crescimento populacional. Os dados de fecundidade diária de uma única fêmea, escolhida de forma aleatória entre todas as fêmeas atendidas e não atendidas, foi utilizado para gerar a simulação. Esta fêmea teve uma fecundidade total de 99 indivíduos, valor mantido na simulação. A simulação foi realizada considerando três casos, que diferiam apenas no número de ninfas paridos no primeiro dia: 20, 15 e 10. Para os demais dias, os três casos apresentaram exatamente a mesma fecundidade. Foi também considerado um quarto caso, com fecundidade diária sempre igual (5,8 ninfas/dia). O modelo construído é do tipo determinístico e os descendentes apresentam exatamente o mesmo tempo de desenvolvimento, de comportamento reprodutivo e de longevidade que os progenitores. A simulação foi rodada para 25 dias.

Com base na média dos três experimentos para a taxa intrínseca de crescimento ( $r_m$ ) dos pulgões atendidos e não atendidos pelas formigas, o crescimento populacional foi estimado através da solução analítica da equação de crescimento exponencial. A população, no momento  $t_0$  correspondia a um pulgão supostamente atendido pelas formigas e a um pulgão não atendido. A estimativa foi rodada para 25 dias. Para tal, foi utilizada a equação de crescimento exponencial:

$$N_t = N_0 e^{r_m t}$$

onde,  $N_t$  é o tamanho da população no tempo  $t$ ,  $N_0$  é o tamanho inicial da população, e  $r_m$  é a taxa intrínseca de crescimento.

### **3.3 Interação formiga-joaninha-pulgão em mudas de citros**

Esta interação foi observada em mudas de *Poncirus trifoliata*, escolhida pela facilidade de manuseio e de obtenção das brotações. As plantas continham apenas três ramos de brotação na região superior, sem ramos laterais e foram distribuídas

equidistantes em relação a uma fonte luminosa (200 W, 3.130 lm Luz do dia, G-light®) em sala climatizada ( $25 \pm 1$  °C;  $60 \pm 5\%$  UR) (Figura 3). A posição dos ninhos de formigas e das plantas foi trocada para cada data de avaliação. As joaninhas adultas foram observadas de novembro/2010 a janeiro/2011 e as larvas de janeiro a fevereiro/2011. As observações foram realizadas dentro do período compreendido entre 3 horas após o início da fotofase e 2 horas antes do início da escotofase.

Foram avaliadas as interações de fêmeas, machos e larvas de 1º instar de *C. sanguinea* com formigas da colônia pequena (1.000 operárias) e da colônia grande (2.000 operárias) e sem formigas. A escolha das plantas a receber as joaninhas foi feita de forma aleatória, assim como a ordem de utilização (Figura 3).

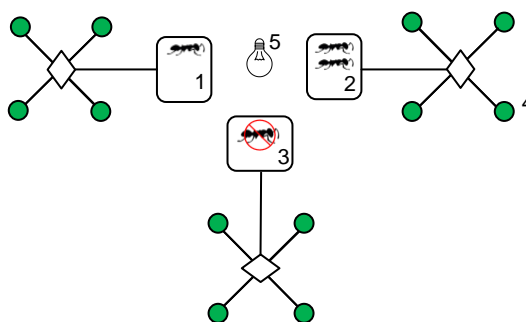


FIGURA 3. Croqui da disposição das colônias de *Camponotus punctulatus* (1- colônia pequena; 2 – colônia grande; 3 - sem formiga) e das mudas de *Poncirus trifoliata* (4) em relação à fonte luminosa (5).

A partir da colônia estoque de pulgões, 10 ninfas recém-paridas foram mantidas em cada uma das plantas e logo em seguida o acesso às formigas foi liberado. Após 24 horas de contato inicial entre formigas e pulgões, foram introduzidas as joaninhas. Larvas e adultos foram liberados através de um tubo plástico (20 cm de comprimento e 1,5 cm de diâmetro) na porção mais alta da planta.

O comportamento dos organismos foi registrado digitalmente por até 20 minutos contados a partir do primeiro contato entre joaninhas e formigas. Após esse período, as larvas que permaneceram na planta foram ali mantidas por até uma hora

e, a cada 10 minutos, foi registrado o comportamento das larvas e das formigas. Entre as repetições, foi mantido um intervalo de 20 minutos. A interação com formigas foi avaliada para oito fêmeas, oito machos e 20 larvas para cada uma das colônias de formigas (pequena e grande). Para os casos sem formiga, foram avaliados oito fêmeas, nove machos e 20 larvas. As joaninhas, as plantas e os pulgões foram utilizados uma única vez. Antes da entrada das joaninhas nas plantas com formiga, o número de formigas atendentes foi contabilizado.

A partir de observações preliminares, foram elencadas categorias comportamentais das joaninhas e formigas. As categorias foram medidas pelo tempo de duração (segundos) e/ou pelo número de ocorrências (frequência). Para as formigas, foram consideradas 11 categorias (Tabela 1) e para as joaninhas, oito (Tabela 2).

TABELA 1. Categorias comportamentais de *Camponotus punctulatus* em resposta à presença de *Cycloneda sanguinea* em colônia de *Toxoptera citricidus* sobre mudas de *Poncirus trifoliata*.

<b>Categoria</b>	<b>Unidade de medida<sup>1</sup></b>	<b>Descrição</b>
Abertura de mandíbulas	f	formiga abre suas mandíbulas em posição característica;
Agarrar D	f, t	formiga se desloca com a larva agarrada pelas mandíbulas;
Agarrar P	f, t	formiga agarra a larva com as mandíbulas ou tenta fazê-lo com o adulto e não se desloca.
Antenação ampla	f, t	manutenção das antenas abertas, geralmente não tocando a joaninha,
Antenação intensa	f, t	movimentação acelerada das antenas com toques sucessivos sobre a joaninha;
Atendimento	f, t	formiga se volta aos pulgões e antena e/ou recolhe o <i>honeydew</i> dos mesmos;
Flexão	f	flexão dorsal do gáster, em direção à joaninha;
Limpeza	f, t	formiga limpa o corpo, esfregando-se sobre a planta ou passando pernas e antenas entre as mandíbulas;
Mordida	f	mordidas ou tentativa de mordidas;
Persegue	f, t	formiga persegue o adulto;
Tamborila	f, t	batimento do gáster sobre o substrato.

<sup>1</sup>f, frequência de ocorrência; t, tempo de duração em segundos;

Com base nos cinco comportamentos mais frequentes ( $f$ ) (Tabela 1), foram calculados os escores de agressão das formigas. O escore de agressão  $EA_0$ , é o mesmo utilizado por Finlayson *et al.* (2009) e o outro,  $EA_1$  é uma modificação deste, conforme segue:

$$EA_0 = (-1f_{\text{Evita}} + 1f_{\text{Antena}} + 2f_{\text{AM}} + 3f_{\text{Persegue}} + 4f_{\text{Agarra/Morde}} + 5f_{\text{Flexão}})$$

$$EA_1 = (1f_{\text{Tamborila}} + 2f_{\text{Antena}} + 3f_{\text{AM}} + 4f_{\text{Persegue}} + 5f_{\text{Agarra/Morde}} + 6f_{\text{Flexão}})$$

Para as formigas foi também avaliado o tempo e o número de encontros com as joaninhas, sendo que a chegada de outras formigas junto à mesma, durante um encontro, não foi considerada como novo encontro.

TABELA 2. Categorias comportamentais de adultos e/ou larvas de *Cycloneda sanguinea* em resposta à presença da formiga *Camponotus punctulatus* em colônia de *Toxoptera citricidus* sobre mudas de *Poncirus trifoliata*.

<b>Categoria</b>	<b>Unidade de medida<sup>1</sup></b>	<b>Descrição</b>
EFA	f	alteração do comportamento anterior quando encontra com a formiga;
EFM	f	manutenção do comportamento anterior quando encontra com a formiga;
Fuga	f, t	deslocamento após contato com formiga;
Lateraliza	f, t	inclin/lateralizar o corpo em direção à formiga que realiza o ataque, ao mesmo tempo que se mantém parada, geralmente com pernas e antenas recolhidas;
Parada	f, t	estar parada enquanto é antenada pela formiga;
Preda	f, t	predação dos pulgões;
Recolhe	f, t	recolher pernas e antenas como resposta ao ataque, ao mesmo tempo que se mantém parada;
Sangramento	f	extravasamento de hemolinfa;
Vôo	f	saída da planta em vôo.

<sup>1</sup>f, frequência de ocorrências; t, tempo de duração em segundos.

Com base nos de sete comportamentos mais frequentes ( $f$ ) (Tabela 2), foi calculado o escore de reação ( $ER_0$ ) das joaninhas (Finlayson *et al.*, 2009), como:

$$ER_0 = (-1f_{\text{EFM}} + 1f_{\text{EFA}} + 2f_{\text{Recolhe}} + 3f_{\text{Limpa}} + 4f_{\text{Lateraliza}} + 5f_{\text{Fuga}} + 6f_{\text{Voo}})$$

Em relação às joaninhas foi registrado o período decorrido desde o primeiro encontro com a formiga até a sua saída da planta (tempo de permanência). Nas plantas sem formiga, este tempo foi medido desde a chegada da joaninha na planta até sua saída ou término do período de observação. Também foi registrado o tempo até o encontro com a primeira formiga e com o primeiro pulgão.

### **3.4 Análise estatística**

Os dados foram testados quanto à normalidade pelos testes de Shapiro-Wilk ( $n < 50$ ) e Kolmogorov-Smirnov ( $n > 50$ ). As análises estatísticas foram realizadas em ambiente SAS versão 9.2 utilizando os procedimentos Glimmix e Lifetest uma vez que os dados não apresentaram distribuição normal ( $P < 0,05$ ).

Quando algum dos efeitos foi significativo ( $P < 0,05$ ), foram realizadas comparações múltiplas usando o método dos mínimos quadrados e o valor da significância do teste  $t$  foi ajustado pelo método de Sidak (Westfall *et al.*, 1999; SAS, 2008).

#### **3.4.1 Interação formiga-pulgão em mudas de citros**

Para analisar a interação, os valores individuais e os valores populacionais estimados (pseudo-valores) de cada experimento ( $E_A$ ,  $E_B$  e  $E_C$ ) foram submetidos ao procedimento Glimmix, considerando como efeito fixo o Atendimento (com e sem formiga nas colônias de pulgões) e as repetições como efeito aleatório. Para o experimento  $E_B$  foi também considerado como efeito fixo o Número de ninfas iniciais e a sua interação com o efeito Atendimento (Número\*Atendimento).

A fecundidade diária dos pulgões também foi analisada através do procedimento Glimmix, considerando os efeitos fixos Atendimento e Dia (variável de medida repetida), bem como a combinação de efeitos Atendimento\*Dia. A

fecundidade diária considerada foi do primeiro dia ao 14º dia do período reprodutivo, pois após esse período a maioria dos pulgões adultos ou havia morrido ou havia cessado a produção de ninfas, o que inviabiliza a análise. Para o experimento E<sub>B</sub>, também foi incluído o efeito Número de ninfas iniciais e as interações com os outros efeitos.

O número relativo diário médio de formigas atendentes (média do número de formigas atendentes dividido pelo número de pulgões atendidos, em cada dia, durante o estágio imaturo e adulto) foi comparado entre os três experimentos, sendo testado pelo efeito fixo Tamanho da colônia (colônia 1, 150 operárias; colônia 2, 500 operárias; colônia 3, 850 operárias).

#### **3.4.2 Interação formiga-joaninha-pulgão em mudas de citros**

Para avaliar a interação, os dados de fêmeas e machos foram analisados em conjunto e os de larvas separadamente. Para cada variável de tempo e de frequência foi realizado um procedimento Glimmix, considerando os três efeitos simultaneamente para adultos: Tamanho da colônia (sem formiga, com formiga da colônia pequena e com formiga da colônia grande), Sexo (fêmea e macho) e a combinação Tamanho\*Sexo. Como as larvas não foram sexadas, só o efeito Tamanho da colônia foi incluído no modelo. As repetições foram tratadas como efeito aleatório.

Ainda sobre a interação formiga-joaninha-pulgão, foi testada a suposição de que a colônia grande apresentava um número relativo de formigas atendentes maior do que a colônia pequena. O número relativo de formigas atendentes foi analisado pelo procedimento Glimmix tendo como efeito fixo o Tamanho da colônia e as repetições como efeito aleatório.



O procedimento Lifetest foi utilizado, separadamente, para avaliar a probabilidade de permanência de joaninhas adultas (fêmeas e machos) e das larvas nas plantas com e sem formigas, usando o teste Log-rank pelo método Kaplan-Meier. Foram considerados tanto o efeito Tamanho da colônia (com formiga da colônia pequena e da colônia grande e sem formigas), Sexo (fêmea e macho) e a combinação destes. Para as larvas, somente o efeito Tamanho da colônia foi considerado.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Interação formiga-pulgão em mudas de citros

#### 4.1.1 Parâmetros individuais

Dos sete parâmetros individuais dos pulgões, três foram significativamente afetados pelo atendimento das formigas. A longevidade dos pulgões foi menor nos pulgões atendidos no experimento  $E_C$  ( $F_{1, 12} = 12,98$ ;  $P = 0,0036$ ), embora o atendimento não tenha tido influência nos experimentos  $E_A$  e  $E_B$  ( $E_A$ :  $F_{1, 6} = 4,28$ ;  $P = 0,0839$ ;  $E_B$ :  $F_{1, 4} = 2,59$ ;  $P = 0,1828$ ). Assim como a longevidade, a duração total do ciclo ninfá-adulto foi semelhante para pulgões atendidos e não atendidos nos experimentos  $E_A$  e  $E_B$  ( $E_A$ :  $F_{1, 6} = 4,28$ ;  $P = 0,0839$ ;  $E_B$ :  $F_{1, 4} = 2,59$ ;  $P = 0,1828$ ), sendo menor para os pulgões atendidos somente no experimento  $E_C$  ( $F_{1, 12} = 12,98$ ;  $P = 0,0036$ ). Os pulgões atendidos apresentaram uma fecundidade média maior nos experimentos  $E_A$  e  $E_C$  ( $E_A$ :  $F_{1, 6} = 6,62$ ;  $P = 0,0422$ ;  $E_C$ :  $F_{1, 12} = 19,43$ ;  $P = 0,0009$ ), embora esta diferença significativa não tenha sido detectada em  $E_B$  ( $F_{2,4} = 4,86$ ;  $P = 0,0923$ ) (Tabela 3).

Os demais parâmetros individuais não foram afetados pelo atendimento, sendo a fecundidade total semelhante para os atendidos e os não atendidos nos três experimentos ( $E_A$ :  $F_{1, 6} = 1,74$ ;  $P = 0,2358$ ;  $E_B$ :  $F_{1, 4} = 0,78$ ;  $P = 0,4283$ ;  $E_C$ :  $F_{1, 12} = 1,07$ ;  $P = 0,3213$ ). Da mesma forma, o período reprodutivo não diferiu ( $E_A$ :  $F_{1, 6} = 1,58$ ;  $P = 0,2557$ ;  $E_B$ :  $F_{1, 4} = 0,17$ ;  $P = 0,7009$ ;  $E_C$ :  $F_{1, 12} = 3,05$ ;  $P = 0,1065$ ), assim como o período pós-reprodutivo ( $E_A$ :  $F_{1, 6} = 1,30$ ;  $P = 0,2978$ ;  $E_B$ :  $F_{1, 4} = 3,11$ ;  $P =$

0,1528;  $E_C$ :  $F_{1, 12} = 3,37$ ;  $P = 0,0915$ ). A sobrevivência do estágio imaturo também não foi afetada pelo atendimento ( $E_A$ :  $F_{1, 6} = 2,40$ ;  $P = 0,1723$ ;  $E_B$ :  $F_{1, 4} = 2,01$ ;  $P = 0,2289$ ;  $E_C$ :  $F_{1, 12} = 2,13$ ;  $P = 0,1701$ ). Durante o período de estudo, a formiga *C. punctulatus* não foi observada predando adultos ou ninfas de *T. citricidus*.

Considerando a variação no número de ninfas iniciais no experimento  $E_B$ , não foram encontradas diferenças significativas para a fecundidade total (Número:  $F_{2, 4} = 1,09$ ;  $P = 0,4201$ ; Número\*Atendimento:  $F_{2, 4} = 0,32$ ;  $P = 0,7440$ ), fecundidade média (Número:  $F_{2, 4} = 2,50$ ;  $P = 0,1978$ ; Número\*Atendimento:  $F_{2, 4} = 0,98$ ;  $P = 0,4519$ ), longevidade (Número:  $F_{2, 4} = 1,79$ ;  $P = 0,2788$ ; Número\*Atendimento:  $F_{2, 4} = 1,36$ ;  $P = 0,3538$ ), duração do ciclo (Número:  $F_{1, 4} = 1,79$ ;  $P = 0,2788$ ; Número\*Atendimento:  $F_{2, 4} = 1,36$ ;  $P = 0,3538$ ), período reprodutivo (Número:  $F_{2, 4} = 0,67$ ;  $P = 0,5614$ ; Número\*Atendimento:  $F_{2, 4} = 1,45$ ;  $P = 0,3352$ ), período pós-reprodutivo (Número:  $F_{2, 4} = 2,01$ ;  $P = 0,2487$ ; Número\*Atendimento:  $F_{2, 4} = 0,85$ ;  $P = 0,4911$ ) e nem para a sobrevivência dos pulgões (Número:  $F_{2, 4} = 1,16$ ;  $P = 0,4005$ ; Número\*Atendimento:  $F_{2, 4} = 5,47$ ;  $P = 0,0717$ ).

TABELA 3. Valores médios ( $\pm$  EP) da sobrevivência ninfal, fecundidade total e média, período reprodutivo, longevidade, duração do ciclo, período pós-reprodutivo do pulgão *Toxoptera citricidus* atendido e não atendido pela formiga *Camponotus punctulatus* em três experimentos (E<sub>A</sub>, E<sub>B</sub> e E<sub>C</sub>) (fotofase de 16 horas; 25  $\pm$  1 °C; 60  $\pm$  5% UR).

Parâmetro	Experimentos					
	E <sub>A</sub>		E <sub>B</sub>		E <sub>C</sub>	
	AT (7) <sup>1</sup>	NAT (7)	AT (9)	NAT (11)	AT (13)	NAT (13)
Sobrevivência ninfal (fração)	1,00 $\pm$ 0,000	0,86 $\pm$ 0,092	0,92 $\pm$ 0,026	0,91 $\pm$ 0,043	0,89 $\pm$ 0,026	0,84 $\pm$ 0,040
Fecundidade total	95,57 $\pm$ 2,836	91,00 $\pm$ 2,786	70,33 $\pm$ 3,727	67,82 $\pm$ 2,910	95,85 $\pm$ 1,887	93,31 $\pm$ 1,662
Fecundidade média	5,40 $\pm$ 0,227 a <sup>2</sup>	4,44 $\pm$ 0,316 b	5,65 $\pm$ 0,496	4,54 $\pm$ 0,420	5,45 $\pm$ 0,129 a	4,48 $\pm$ 0,213 b
Período reprodutivo (dias)	11,57 $\pm$ 1,343	13,14 $\pm$ 0,634	11,44 $\pm$ 1,334	12,36 $\pm$ 1,154	12,23 $\pm$ 0,833	13,77 $\pm$ 0,378
Longevidade (dias)	17,86 $\pm$ 0,800	21,00 $\pm$ 1,291	13,33 $\pm$ 1,394	16,18 $\pm$ 1,439	17,69 $\pm$ 0,499 a	21,31 $\pm$ 0,887 b
Duração ciclo (dias)	22,86 $\pm$ 0,800	26,00 $\pm$ 1,291	19,33 $\pm$ 1,394	22,18 $\pm$ 1,439	22,69 $\pm$ 0,499 a	26,31 $\pm$ 0,887 b
Período pós-reprodutivo (dias)	5,86 $\pm$ 0,634	7,14 $\pm$ 1,519	2,33 $\pm$ 0,764	4,09 $\pm$ 0,919	5,23 $\pm$ 0,395	6,92 $\pm$ 0,895

<sup>1</sup>número de repetições entre parênteses;

<sup>2</sup>médias seguidas por letras distintas diferem entre colunas para o mesmo experimento (teste *t*, P < 0,05).

A fecundidade diária dos três experimentos não foi explicada pelo atendimento ( $E_A$ :  $F_{1, 84} = 1,78$ ;  $P = 0,1859$ ;  $E_B$ :  $F_{1, 56} = 1,72$ ;  $P = 0,1953$ ;  $E_C$ :  $F_{1, 168} = 0,83$ ;  $P = 0,4288$ ). As diferenças na fecundidade diária foram explicadas pela combinação dos fatores Atendimento\*Dia nos experimentos  $E_A$  e  $E_C$  ( $E_A$ :  $F_{13, 84} = 22,66$ ;  $P < 0,0001$ ;  $E_C$ :  $F_{13, 168} = 33,68$ ;  $P < 0,0001$ ), mas sem efeito para  $E_B$  ( $E_B$ :  $F_{13, 56} = 1,15$ ;  $P = 0,3369$ ). Além disso, o número de ninfas iniciais de  $E_B$  não teve efeito sobre a fecundidade diária ( $F_{2, 56} = 2,01$ ;  $P = 0,1432$ ) nem para as combinações possíveis entre os efeitos (Número\*Atendimento:  $F_{2, 56} = 0,72$ ;  $P = 0,4895$ ; Número\*Atendimento\*Dia:  $F_{52, 56} = 0,96$ ;  $P = 0,5600$ ).

Comparando a fecundidade dos pulgões atendidos e não atendidos no mesmo dia, não foram detectadas diferenças no experimento  $E_B$ , como mencionado acima. Entretanto, no  $E_A$  e  $E_C$ , a fecundidade dos pulgões atendidos e não atendidos foi diferente. Os atendidos tiveram uma maior fecundidade diária para o primeiro dia ( $E_A$ :  $t_{1, 84} = 13,59$ ;  $P < 0,0001$ ;  $P_{\text{Sidak}} < 0,0001$ ;  $E_C$ :  $t_{1, 168} = 15,46$ ;  $P < 0,0001$ ;  $P_{\text{Sidak}} < 0,0001$ ), para o segundo ( $E_C$ :  $t_{1, 168} = 5,52$ ;  $P < 0,0001$ ;  $P_{\text{Sidak}} < 0,0001$ ) e para o quinto ( $E_A$ :  $t_{1, 84} = 5,33$ ;  $P < 0,0001$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,0003$ ;  $E_C$ :  $t_{1, 168} = 6,26$ ;  $P < 0,0001$ ;  $P_{\text{Sidak}} < 0,0001$ ). No primeiro dia os pulgões atendidos produziram, em média, 177,35 e 135,48% mais ninfas do que os não atendidos, respectivamente, nos experimentos  $E_A$  e  $E_C$ . No segundo, a fecundidade dos atendidos foi 34,88% maior no experimento  $E_C$ . No quinto dia, os pulgões atendidos de  $E_A$  e  $E_C$  produziram, respectivamente, 53,95 e 45,94% mais ninfas (Figura 4).

Por outro lado, os pulgões atendidos tiveram uma prole significativamente menor no oitavo dia ( $E_A$ :  $t_{1, 84} = -4,3$ ;  $P < 0,0001$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,017$ ;  $E_C$ :  $t_{1, 168} = -5,03$ ;  $P < 0,0001$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,0005$ ), nono dia ( $E_A$ :  $t_{1, 84} = -5,51$ ;  $P < 0,0001$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,0001$ ;  $E_C$ :  $t_{1, 168} = -7,48$ ;  $P < 0,0001$ ;  $P_{\text{Sidak}} < 0,0001$ ), e no décimo dia ( $E_C$ :  $t_{1, 168} = -5,03$ ;  $P < 0,0001$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,0005$ ). Em média, os pulgões atendidos dos experimentos  $E_A$  e  $E_C$

produziram, respectivamente, 41,01 e 37,27% menos ninfas no oitavo dia. Em relação ao nono dia do período reprodutivo, os atendidos de  $E_A$  e  $E_C$ , produziram, respectivamente, 71,08 e 67,77% menos ninfas. No décimo dia, no  $E_C$ , a fecundidade diária dos pulgões atendidos foi 73,21% menor do que dos não atendidos.

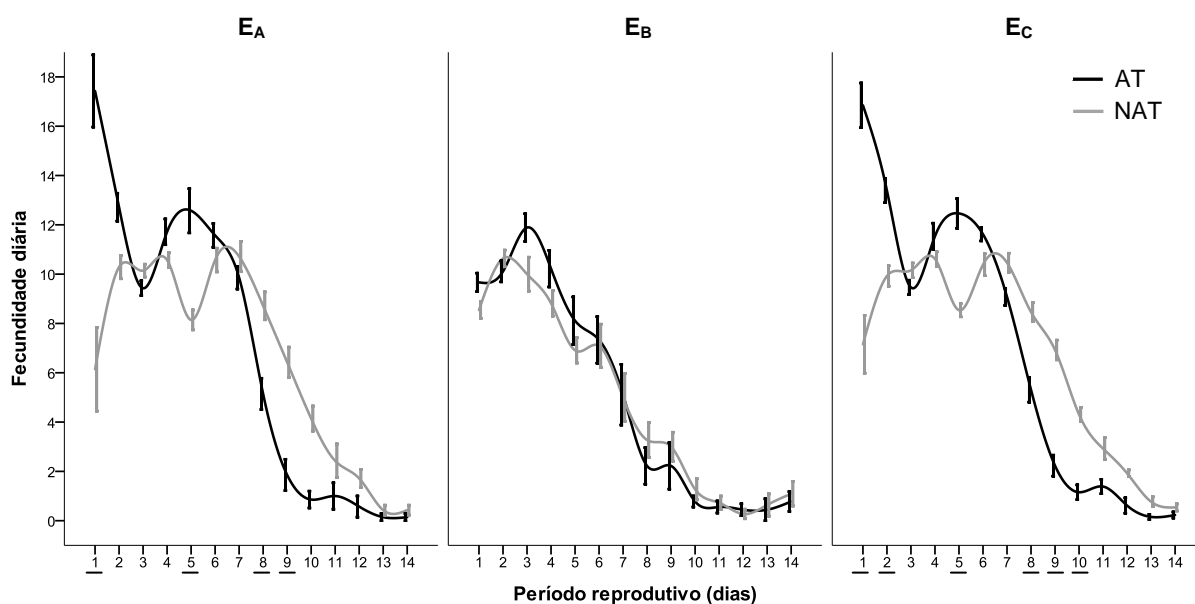


FIGURA 4. Fecundidade diária média ( $\pm$  EP) do pulgão *Toxoptera citricidus* atendido (AT) e não atendido (NAT) pela formiga *Camponotus punctulatus* em três experimentos ( $E_A$ ,  $E_B$ ,  $E_C$ ). Dados assinalados (—) indicam diferença resultante do atendimento para o mesmo dia (teste  $t$ ;  $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ).

#### 4.1.2 Parâmetros populacionais

Em contraste aos parâmetros individuais, os cinco parâmetros populacionais analisados foram afetados pelo atendimento nos experimentos  $E_A$  e  $E_C$ , mas o mesmo não teve efeito sobre estes parâmetros em  $E_B$  (Tabela 4). A taxa líquida de reprodução foi maior nos pulgões atendidos nos experimentos  $E_A$  e  $E_C$  ( $E_A$ :  $F_{1,6} = 29,35$ ;  $P = 0,0016$ ;  $E_C$ :  $F_{1,12} = 11,59$ ;  $P = 0,0052$ ), diferença não detectada no  $E_B$  ( $F_{1,4} = 0,31$ ;  $P = 0,6053$ ). A taxa intrínseca de crescimento foi maior para os pulgões atendidos em  $E_A$  e  $E_C$  ( $E_A$ :  $F_{1,6} = 66,82$ ;  $P = 0,0002$ ;  $E_C$ :  $F_{1,12} = 62,67$ ;  $P < 0,0001$ ),

enquanto em  $E_B$  não foram encontradas diferenças ( $F_{1,4} = 0,44$ ;  $P = 0,5441$ ). O intervalo médio entre gerações foi significativamente reduzido nos pulgões atendidos em  $E_A$  e  $E_C$  ( $E_A$ :  $F_{1,6} = 24,72$ ;  $P = 0,0025$ ;  $E_C$ :  $F_{1,12} = 49,59$ ;  $P < 0,0001$ ), porém não foram encontradas diferenças em  $E_B$  ( $F_{1,4} = 0,78$ ;  $P = 0,4270$ ). O tempo de duplicação foi significativamente menor nos atendidos de  $E_A$  e  $E_C$  ( $E_A$ :  $F_{1,6} = 52,71$ ;  $P = 0,0003$ ;  $E_C$ :  $F_{1,12} = 51,20$ ;  $P < 0,0001$ ), mas estas diferenças não ocorreram no  $E_B$  ( $F_{1,4} = 0,44$ ;  $P = 0,5441$ ). A taxa finita de aumento foi maior nos pulgões atendidos em  $E_A$  e  $E_C$  ( $E_1$ :  $F_{1,6} = 69,12$ ;  $P = 0,0002$ ;  $E_3$ :  $F_{1,12} = 65,37$ ;  $P < 0,0001$ ), enquanto em  $E_B$  não foram detectadas diferenças ( $F_{1,4} = 0,44$ ;  $P = 0,5440$ ).

Considerando o número de ninfas iniciais no experimento  $E_B$  não foram detectadas diferenças significativas para qualquer um dos parâmetros da tabela de vida: taxa líquida de reprodução (Número:  $F_{2,4} = 1,07$ ;  $P = 0,4237$ ; Número\*Atendimento:  $F_{2,4} = 0,31$ ;  $P = 0,7512$ ), taxa intrínseca de crescimento (Número:  $F_{2,4} = 2,48$ ;  $P = 0,1990$ ; Número\*Atendimento:  $F_{2,4} = 3,22$ ;  $P = 0,1468$ ), intervalo médio entre gerações (Número:  $F_{2,4} = 0,20$ ;  $P = 0,8274$ ; Número\*Atendimento:  $F_{2,4} = 1,30$ ;  $P = 0,3666$ ), tempo de duplicação (Número:  $F_{2,4} = 2,53$ ;  $P = 0,1949$ ; Número\*Atendimento:  $F_{2,4} = 3,41$ ;  $P = 0,1368$ ), taxa finita de aumento (Número:  $F_{2,4} = 2,47$ ;  $P = 0,1999$ ; Número\*Atendimento:  $F_{2,4} = 3,18$ ;  $P = 0,1491$ ).

TABELA 4. Valores médios ( $\pm$  EP) para a taxa líquida de reprodução ( $r_o$ ), taxa intrínseca de crescimento ( $r_m$ ), intervalo médio entre gerações ( $img$ ), tempo de duplicação ( $td$ ) e taxa finita de aumento ( $\lambda$ ) para o pulgão *Toxoptera citricidus* atendido (AT) e não atendido (NAT) pela formiga *Camponotus punctulatus* em mudas de *Citrus sinensis* em três experimentos ( $E_A$ ,  $E_B$  e  $E_C$ ) (fotofase de 16 horas;  $25 \pm 1$  °C;  $60 \pm 5\%$  UR).

Parâmetro	Experimentos					
	$E_A$		$E_B$		$E_C$	
	AT (7) <sup>1</sup>	NAT (7)	AT (9)	NAT (11)	AT (13)	NAT (13)
$r_o$	95,57 $\pm$ 2,836 a <sup>2</sup>	78,00 $\pm$ 2,388 b	63,94 $\pm$ 3,388 a	63,16 $\pm$ 2,710 a	85,49 $\pm$ 1,684 a	78,23 $\pm$ 1,393 b
$r_m$	0,54 $\pm$ 0,007 a	0,46 $\pm$ 0,009 b	0,42 $\pm$ 0,003 a	0,42 $\pm$ 0,004 a	0,53 $\pm$ 0,004 a	0,47 $\pm$ 0,007 b
$img$	8,50 $\pm$ 0,095 a	9,37 $\pm$ 0,164 b	9,92 $\pm$ 0,110 a	9,81 $\pm$ 0,092 a	8,40 $\pm$ 0,056 a	9,34 $\pm$ 0,121 b
$td$	1,29 $\pm$ 0,018 a	1,49 $\pm$ 0,030 b	1,65 $\pm$ 0,012 a	1,64 $\pm$ 0,015 a	1,31 $\pm$ 0,010 a	1,49 $\pm$ 0,022 b
$\lambda$	1,71 $\pm$ 0,013 a	1,59 $\pm$ 0,014 b	1,52 $\pm$ 0,005 a	1,53 $\pm$ 0,006 a	1,70 $\pm$ 0,007 a	1,59 $\pm$ 0,011 b

<sup>1</sup>número de repetições entre parênteses;

<sup>2</sup>médias seguidas por letras distintas diferem entre colunas para o mesmo experimento (teste  $t$ ;  $P_{Sidak} < 0,05$ ).



### 4.1.3 Número relativo de formigas atendentes

Comparando o número relativo diário médio de formigas atendentes, entre os três experimentos, durante o estágio imaturo dos pulgões, o tamanho da colônia teve efeito significativo ( $F_{2, 14} = 173,99$ ;  $P < 0,0001$ ). Durante este período, o número relativo de formigas diferiu para todas as combinações, sendo que a colônia 1 teve mais formigas atendentes por pulgão em comparação às outras duas colônias (Colônia 2:  $t_{1, 14} = 17,39$ ;  $P < 0,0001$ ;  $P_{\text{Sidak}} < 0,0001$ ; Colônia 3:  $t_{1, 14} = 15,90$ ;  $P < 0,0001$ ;  $P_{\text{Sidak}} < 0,0001$ ). O número relativo também foi diferente entre as colônias 2 e 3 ( $t_{1, 14} = 2,91$ ;  $P = 0,0114$ ;  $P_{\text{Sidak}} < 0,0339$ ) (Tabela 5).

Quando o número relativo médio de formigas atendentes foi comparado entre os experimentos durante o estágio adulto de pulgão, também foram detectadas diferenças resultantes do tamanho da colônia ( $F_{2, 14} = 15,45$ ;  $P = 0,0003$ ). Entretanto, diferentemente do estágio imaturo, o número de formigas atendentes das colônias 1 e 3 não diferiu ( $t_{1, 14} = 0,70$ ;  $P = 0,4835$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,8701$ ). Já o número relativo de formigas da colônia 2 foi menor do que das outras duas colônias (Colônia 1:  $t_{1, 14} = 4,83$ ;  $P = 0,0003$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,0008$ ; Colônia 3:  $t_{1, 14} = 4,75$ ;  $P = 0,0003$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,0009$ ).

TABELA 5. Número relativo diário médio ( $\pm$  EP) de operárias da formiga *Camponotus punctulatus* de três colônias atendendo ao pulgão *Toxoptera citricidus* durante o seu estágio imaturo e adulto para três experimentos (E<sub>A</sub>, E<sub>B</sub> e E<sub>C</sub>).

Colônia	Experimento	Número relativo de formigas atendentes	
		Imaturo	Adulto
1 (7) <sup>1</sup>	E <sub>A</sub>	2,32 $\pm$ 0,097 a <sup>2</sup>	1,07 $\pm$ 0,110 a
2 (9)	E <sub>B</sub>	0,13 $\pm$ 0,085 b	0,48 $\pm$ 0,099 b
3 (13)	E <sub>C</sub>	0,44 $\pm$ 0,071 c	0,99 $\pm$ 0,084 a

<sup>1</sup>número de repetições entre parênteses;

<sup>2</sup>médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si (teste *t*; P<sub>Sidak</sub> < 0,05).

#### 4.1.4 Simulação do crescimento populacional de *Toxoptera citricidus*

O impacto da alteração da fecundidade do primeiro dia é apresentado na Figura 5. Caso os pulgões parissem 20, 15 e 10 ninfas no primeiro dia, ao final de 25 dias teríamos, respectivamente, 61.017,56, 44.929,89 e 27.758,94 pulgões, enquanto se os pulgões tivessem parido 5,8 ninfas a cada dia teríamos 4.641,45 pulgões ao final do período simulado.

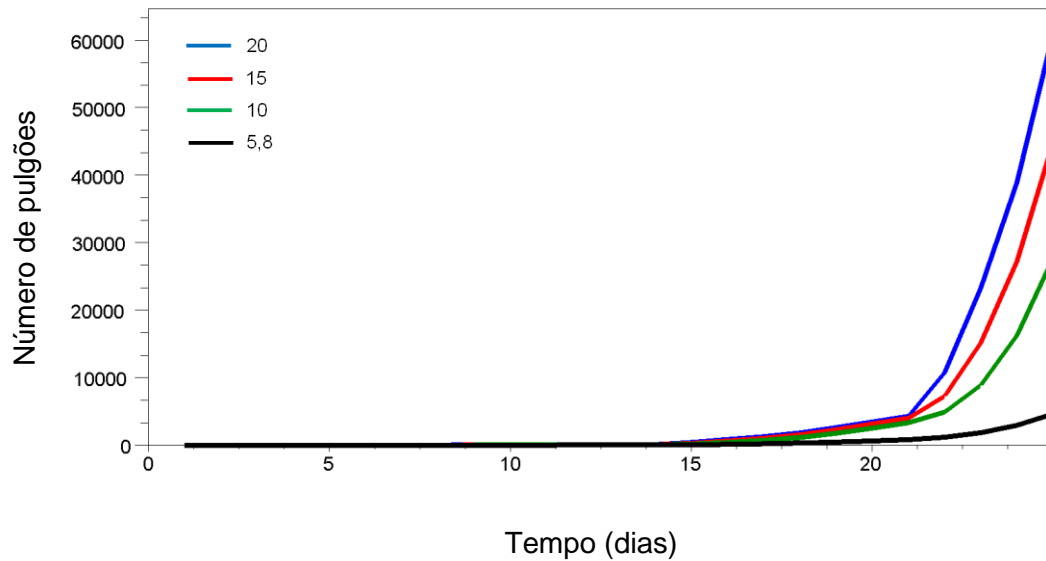


FIGURA 5. Simulação do crescimento populacional do pulgão *Toxoptera citricidus* baseado na repetição do comportamento individual observado (fecundidade total = 99) ao longo do tempo com variação da fecundidade diária no primeiro dia ( $n_{t1} = 20, 15$  e  $10$  ninfas) e usando a fecundidade média para todos os dias ( $n = 5,82$  ninfas/dia).

A partir da taxa intrínseca de crescimento ( $r_m$ ) estimada para os pulgões de cada experimento, foi utilizado o valor médio para atendidos ( $r_m = 0,50$ ) e não atendidos ( $r_m = 0,45$ ). Quando esta taxa foi incluída na equação exponencial de crescimento populacional, se observa que, após 25 dias, o número de pulgões na população atendida por formigas é de 268.337,28 indivíduos, o que representa um aumento de cerca de 350% na população de pulgões atendidos em comparação aos não atendidos (Figura 6).

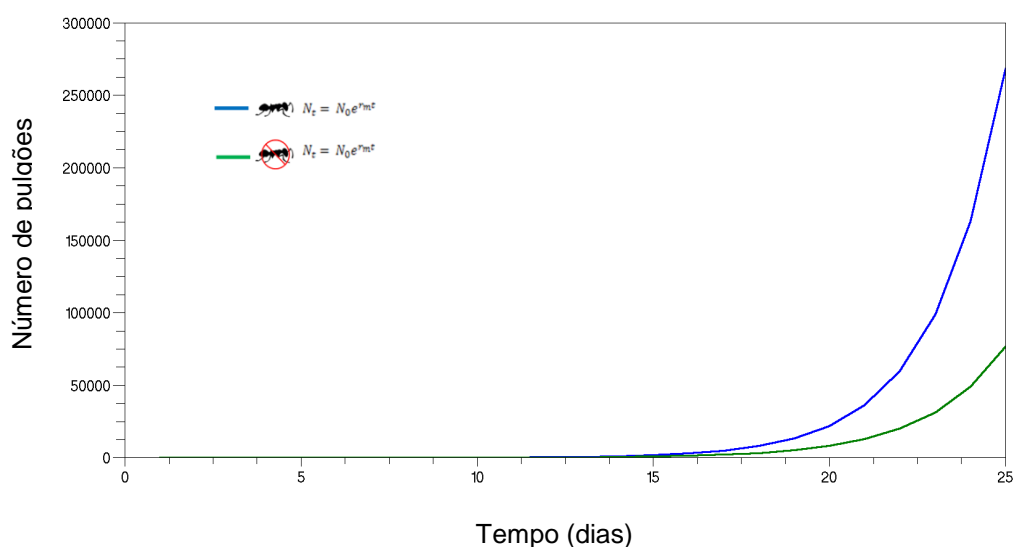


FIGURA 6. Crescimento populacional hipotético do pulgão *Toxoptera citricidus* atendido pela formiga *Camponotus punctulatus* através do uso da equação exponencial com a taxa intrínseca de crescimento estimada para pulgões atendidos ( $r_m = 0,50$ ; em azul) e não atendidos ( $r_m = 0,45$ ; em verde).

## 4.2 Interação formiga-joaninha-pulgão em mudas de citros

### 4.2.1 Número relativo de formigas atendentes

O número relativo médio de formigas atendendo aos pulgões antes das observações comportamentais com as joaninhas foi maior para a colônia grande ( $0,43 \pm 0,034$ ) do que para a colônia pequena ( $0,31 \pm 0,027$ ) ( $F_{1, 50} = 7,05$ ;  $P = 0,0106$ ).

### 4.2.2 Tempo de permanência

O tempo de permanência das joaninhas foi afetado pelo tamanho das colônias ( $F_{2, 34} = 92,81$ ;  $P < 0,0001$ ), efeito não observado considerando o sexo ( $F_{1, 34} = 1,58$ ;  $P = 0,2176$ ) ou pela combinação dos efeitos ( $F_{2, 34} = 0,73$ ;  $P = 0,4887$ ). Em comparação a fêmeas e machos controle, o tempo de permanência foi menor para adultos tanto com formigas da colônia pequena ( $t_{1, 34} = -11,56$ ;  $P <$

0,0001;  $P_{\text{Sidak}} < 0,0001$ ) quanto da colônia grande ( $t_{1, 34} = -11,86$ ;  $P < 0,0001$ ;  $P_{\text{Sidak}} < 0,0001$ ). Considerando só os casos com formigas, o tamanho das colônias não afetou o tempo de permanência ( $t_{1, 34} = 0,09$ ;  $P = 0,9323$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,9997$ ) (Tabela 6).

TABELA 6. Tempo médio (s) de permanência ( $\pm$  EP) de fêmeas e machos de *Cycloneda sanguinea* em colônias de *Toxoptera citricidus* atendidas pela formiga *Camponotus punctulatus* (f, colônia pequena; ff, colônia grande) e não atendidas (sf).

Formiga	Fêmea	Macho
f	82,72 $\pm$ 40,873 (8) <sup>1</sup> a <sup>2</sup>	14,70 $\pm$ 4,235 (7) a
ff	40,05 $\pm$ 16,620 (8) a	42,46 $\pm$ 29,505 (8) a
sf	1140,14 $\pm$ 59,859 (8) b	941,89 $\pm$ 170,726 (9) b

<sup>1</sup>número de repetições indicado entre parênteses;

<sup>2</sup>médias seguidas por letras distintas diferem entre si entre linhas e entre colunas (teste  $t$ ,  $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ).

O tempo de permanência das larvas foi significativamente afetado pelo tamanho das colônias de formigas ( $F_{2, 38} = 11,4$ ;  $P = 0,0001$ ). As larvas, na ausência das formigas, permaneceram por  $4.800 \pm 0,000$  segundos, tempo significativamente maior tanto comparado às larvas com formigas da colônia pequena ( $t_{1, 38} = -3,01$ ;  $P = 0,0046$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,0138$ ) que permaneceram por  $3.113,56 \pm 485,177$  segundos, quanto comparado às larvas com formigas da colônia grande ( $t_{1, 38} = -4,71$ ;  $P < 0,0001$ ;  $P_{\text{Sidak}} < 0,0001$ ) que permaneceram por  $2.157 \pm 508,021$  segundos. Comparando somente o tempo de permanência das larvas na presença de formiga, o tamanho da colônia não foi significativo ( $t_{1, 38} = 1,71$ ;  $P = 0,0962$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,2617$ ) (Figura 7).

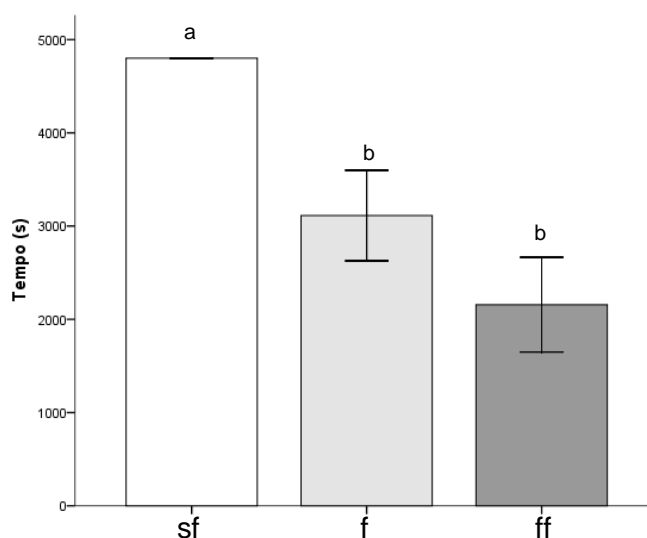


FIGURA 7. Tempo médio (s) de permanência ( $\pm$  EP) de larvas de *Cycloneda sanguinea* em colônias de *Toxoptera citricidus* atendidas pela formiga *Camponotus punctulatus* (f, colônia pequena; ff, colônia grande) e não atendidas (sf). Letras distintas indicam diferença significativa (teste *t*,  $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ).

Considerando o mesmo tempo de observação (1.200 s) para os casos controle e com formiga, foi possível comparar adultos e imaturos numa única análise. O tempo de permanência foi afetado tanto pelo tamanho das colônias quanto pelo sexo das joaninhas (Tamanho:  $F_{2, 80} = 66,85$ ;  $P < 0,0001$ ; Sexo:  $F_{2, 80} = 35,72$ ;  $P < 0,0001$ ) bem como pela combinação destes (Tamanho\*Sexo:  $F_{4, 80} = 5,72$ ;  $P = 0,0004$ ).

Nesta comparação entre adultos e imaturos, fêmeas, machos e larvas controle permaneceram por tempo semelhante ( $P_{\text{Sidak}} > 0,05$ ). Larvas com formiga, tanto da colônia pequena quanto da grande, permaneceram por mais tempo do que fêmeas e machos, independente do tamanho da colônia de formigas ( $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ). O tempo de permanência das larvas com formigas da colônia pequena foi semelhante às larvas com formigas da colônia grande e às larvas controle, assim como também foi semelhante ao tempo de fêmeas e

machos controle (Larva colônia grande:  $t_{1, 80} = 2,33$ ;  $P = 0,0222$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,5547$ ; Larva controle:  $t_{1, 80} = 3,03$ ;  $P = 0,0033$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,1131$ ; Fêmea controle:  $t_{1, 80} = 1,53$ ;  $P = 0,1303$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,9934$ ; Macho controle:  $t_{1, 80} = -0,29$ ;  $P = 0,7711$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 1,000$ ). Na presença das formigas da colônia grande, as larvas permaneceram por tempo semelhante a fêmeas e machos controle, mas por tempo inferior às larvas controle (Fêmea controle:  $t_{1, 80} = 3,25$ ;  $P = 0,0017$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,059$ ; Macho controle:  $t_{1, 80} = 2,09$ ;  $P = 0,0397$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,7678$ ; Larva controle:  $t_{1, 80} = 5,36$ ;  $P < 0,0001$ ;  $P_{\text{Sidak}} < 0,0001$ ). Com formigas, fêmeas e machos permaneceram por tempo semelhante independente do tamanho da colônia, mas sempre por um tempo inferior aos controles de fêmeas, machos e larvas e inferior também às larvas com formiga ( $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ).

#### 4.2.3 Probabilidade de permanência

As curvas da probabilidade de permanência das joaninhas adultas controle e com formiga foram significativamente diferentes (Log-rank = 44,582;  $P < 0,0001$ ) (Figura 8). A probabilidade de permanência das joaninhas nas plantas com formiga foi significativamente reduzida tanto para as fêmeas ( $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ) quanto para os machos ( $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ) em comparação a adultos controle. Considerando somente os casos onde as formigas estavam presentes, a probabilidade não diferiu nem em função do tamanho colônia ( $P_{\text{Sidak}} > 0,05$ ) nem em relação ao sexo ( $P_{\text{Sidak}} > 0,05$ ). Na ausência das formigas, fêmeas e machos não diferiram na probabilidade de permanecerem nas plantas (Log-rank = 0,024;  $P = 0,876$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 1,000$ ).

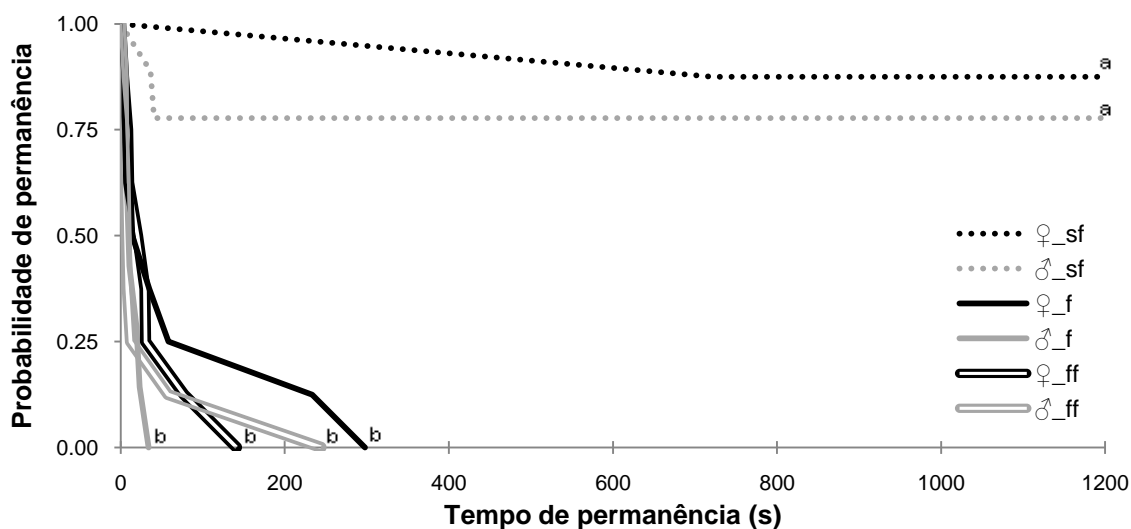


FIGURA 8. Probabilidade de permanência de fêmeas (♀) e machos (♂) de *Cycloneda sanguinea* em colônias de *Toxoptera citricidus* atendidas pela formiga *Camponotus punctulatus* (f, colônia pequena; ff, colônia grande) e não atendidas (sf). Curvas seguidas por letras distintas diferem entre si (teste Log-rank,  $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ).

Assim como os adultos, as curvas de probabilidade de permanência das larvas controle e com formigas foram significativamente distintas (Log-rank = 17,084;  $P = 0,0002$ ). A probabilidade de permanência das larvas, na ausência de formigas, foi semelhante a das larvas na presença de formigas da colônia pequena (Log-rank = 5,129;  $P = 0,0235$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,0689$ ), mas significativamente diferente das larvas na presença da formigas da colônia grande (Log-rank = 17,076;  $P < 0,0001$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,0001$ ). Considerando somente os casos com formiga presente, o tamanho das colônias de formiga não teve efeito (Log-rank = 3,306;  $P = 0,0690$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,1930$ ) (Figura 9).



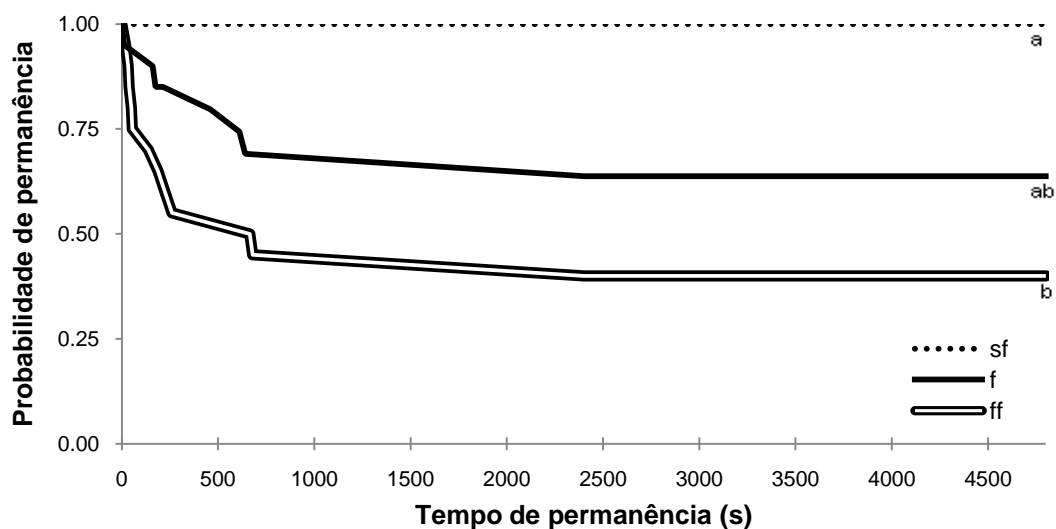


FIGURA 9. Probabilidade de permanência de larvas de *Cycloneda sanguinea* em colônias de *Toxoptera citricidus* atendidas pela formiga *Camponotus punctulatus* (f, colônia pequena; ff, colônia grande) e não atendidas (sf). Curvas seguidas por letras distintas diferem entre si (teste Log-rank,  $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ).

#### 4.2.4 Tempo de predação

O tempo em que os adultos de *C. sanguinea* predaram os pulgões foi influenciado pelo tamanho das colônias de formigas ( $F_{1, 34} = 26,61$ ;  $P < 0,0001$ ), pelo sexo ( $F_{1, 34} = 7,31$ ;  $P = 0,0106$ ) e pela combinação destes ( $F_{2, 34} = 6,56$ ;  $P = 0,0039$ ). A presença das formigas reduziu o tempo de predação de fêmeas e inibiu a predação por machos comparados às fêmeas controle ( $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ). Entretanto, na ausência das formigas, os machos passaram menos tempo predando do que as fêmeas ( $t_{1, 34} = 4,6$ ;  $P < 0,0001$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,0008$ ) (Tabela 7).

TABELA 7. Tempo médio (s) de predação ( $\pm$  EP) de fêmeas e machos de *Cycloneda sanguinea* em colônias de *Toxoptera citricidus* atendidas pela formiga *Camponotus punctulatus* (f, colônia pequena; ff, colônia grande) e não atendidas (sf).

Formiga	Fêmea	Macho
f	7,83 $\pm$ 7,708 (8) <sup>1</sup> Aa <sup>2</sup>	-
ff	0,47 $\pm$ 0,474 (8) Aa	-
sf	429,43 $\pm$ 104,612 (8) Bb	138,77 $\pm$ 47,692 (9) A

<sup>1</sup>número de repetições indicado entre parênteses;

<sup>2</sup>médias seguidas por letras distintas diferem entre linhas (minúscula) e entre colunas (maiúscula) (teste *t*;  $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ).

Para as larvas controle e com formiga, o tempo de predação foi significativamente afetado pelo tamanho das colônias de formigas ( $F_{2, 38} = 38,23$ ;  $P < 0,0001$ ). Na ausência de formigas, as larvas passaram  $1.017,55 \pm 82,544$  segundos predando os pulgões, tempo significativamente superior ao das larvas na presença de formigas tanto da colônia pequena ( $t_{1, 38} = -7,03$ ;  $P < 0,0001$ ;  $P_{\text{Sidak}} < 0,0001$ ) quanto da colônia grande ( $t_{1, 38} = -8,02$ ;  $P < 0,0001$ ;  $P_{\text{Sidak}} < 0,0001$ ), que passaram, respectivamente,  $260 \pm 93,296$  e  $152 \pm 83,573$  segundos predando. Considerando somente os casos com formiga, o tempo de predação não diferiu para o tamanho da colônia ( $t_{1, 38} = 1,00$ ;  $P = 0,3255$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,6931$ ) (Figura 10).

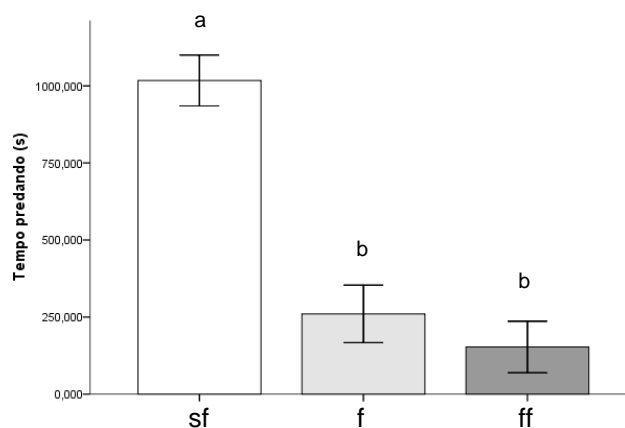


FIGURA 10. Tempo médio (s) de predação ( $\pm$  EP) de larvas de *Cycloneda sanguinea* em colônias de *Toxoptera citricidus* atendidas pela formiga *Camponotus punctulatus* (f, colônia pequena; ff, colônia grande) e não atendidas (sf). Letras distintas indicam diferença significativa (teste  $t$ ,  $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ).

#### 4.2.5 Número de pulgões atacados

O número de pulgões atacados pelos adultos de *C. sanguinea* foi influenciado pelo tamanho das colônias de formigas ( $F_{2, 34} = 29,08$ ;  $P < 0,0001$ ), mas não pelo sexo ( $F_{1, 34} = 1,27$ ;  $P = 0,2684$ ) e nem pela combinação destes efeitos ( $F_{2, 34} = 0,20$ ;  $P = 0,8202$ ). Na ausência de formigas, fêmeas e machos atacaram, respectivamente,  $4,25 \pm 0,750$  e  $3,44 \pm 0,915$  pulgões, valores significativamente superiores ( $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ) ao das fêmeas na presença de formigas tanto da colônia pequena quanto da colônia grande. Na presença das formigas, os machos não atacaram os pulgões, enquanto as fêmeas com formigas das colônias pequena e grande atacaram, respectivamente,  $0,63 \pm 0,498$  e  $0,13 \pm 0,125$  pulgões ( $t_{1, 34} = 0,63$ ;  $P = 0,5342$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 1,000$ ).

O número de pulgões atacados pelas larvas controle e com formiga foi afetado pelo tamanho das colônias ( $F_{2, 38} = 6,11$ ;  $P = 0,005$ ). Na ausência de formigas, as larvas atacaram  $0,95 \pm 0,088$  pulgões, não diferindo dos  $0,55 \pm 0,153$  atacados pelas larvas com formigas da colônia pequena ( $t_{1, 38} = -2,29$ ;  $P = 0,0277$ ;

$P_{\text{Sidak}} = 0,0808$ ) mas diferindo dos  $0,35 \pm 0,167$  atacados pelas larvas com formigas da colônia grande ( $t_{1, 38} = -3,43$ ;  $P = 0,0015$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,0043$ ). Considerando somente o número de pulgões atacados na presença das formigas, não houve diferença significativa ( $t_{1, 38} = 1,14$ ;  $P = 0,2595$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,5939$ ) (Figura 11).

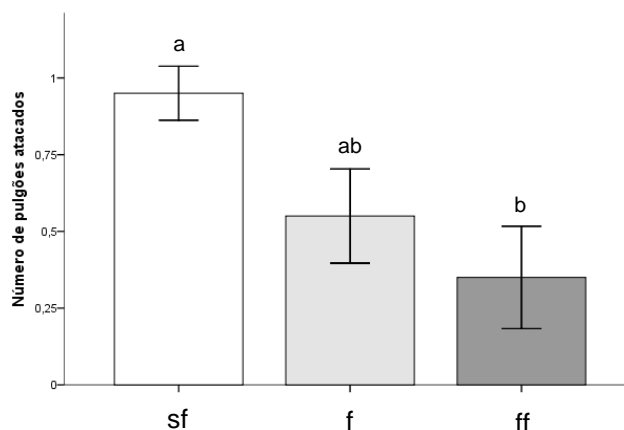


FIGURA 11. Número médio de pulgões atacados ( $\pm$  EP) por larvas de *Cycloneda sanguinea* em colônias de *Toxoptera citricidus* atendidas pela formiga *Camponotus punctulatus* (f, colônia pequena; ff, colônia grande) e não atendidas (sf). Letras distintas indicam diferença significativa (teste  $t$ ,  $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ).

#### 4.2.6 Comportamento das formigas

O tempo de encontro, isto é, o tempo em que as formigas efetivamente mantiveram contato físico com as joaninhas adultas, não foi afetado pelo tamanho das colônias ( $F_{1, 20} = 1,39$ ;  $P = 0,2519$ ), nem pelo sexo ( $F_{1, 20} = 2,63$ ;  $P = 0,1208$ ) e nem pela combinação destes ( $F_{1, 20} = 1,7$ ;  $P = 0,2069$ ). As formigas da colônia pequena mantiveram contato com fêmeas e machos, respectivamente, por  $44,45 \pm 24,991$  e  $5,59 \pm 2,317$  s. As formigas da colônia grande mantiveram contato com fêmeas e machos, respectivamente, por  $11,44 \pm 4,201$  e  $7,24 \pm 3,391$  s.

Assim como em adultos, o tempo de encontro das formigas com as larvas não teve influência do tamanho das colônias ( $F_{1, 19} = 0,20$ ;  $P = 0,6611$ ). As

formigas das colônias pequena e grande mantiveram contato com as larvas, respectivamente, por  $617,37 \pm 104,895$  e  $549,98 \pm 116,301$  s.

De um total de onze categorias comportamentais para as formigas, os comportamentos Antena A, Agarra D e Atende ocorreram exclusivamente em resposta à presença das larvas, enquanto que o comportamento Persegue ocorreu somente na presença de adultos. O comportamento de Abertura de Mandíbulas foi registrado para as formigas das colônias pequena e grande em resposta às larvas, mas em resposta à presença dos adultos foi somente registrado nas formigas da colônia grande. Embora o comportamento Limpa tenha sido desempenhado pelas formigas da colônia pequena e grande na presença das larvas, na de adultos ocorreu somente quando as formigas da colônia pequena encontraram as fêmeas. Além disso, o comportamento Agarra P não foi registrado em formigas da colônia pequena interagindo com machos.

O tempo de duração dos comportamentos foi medido em oito das onze categorias. Na presença de joaninhas adultas, a duração do comportamento das formigas, não foi afetada pelo tamanho das colônias, pelo sexo das joaninhas e nem pela combinação destes efeitos (Tabela 8). A ausência de efeito significativo para o tamanho da colônia na duração dos atos também foi verificada nas formigas em resposta às larvas, exceto para o comportamento Atende, que ocorreu por mais tempo nas formigas da colônia pequena ( $F_{1, 19} = 5,80$ ;  $P = 0,0263$ ) (Tabela 9).

TABELA 8. Análise estatística (procedimento Glimmix) do tempo de duração (s) dos atos comportamentais da formiga *Camponotus punctulatus* de colônia pequena e grande em resposta à presença de adultos e imaturos de *Cycloneda sanguinea* com o pulgão *Toxoptera citricidus*.

Comportamento	Efeito	Adultos			Imaturos		
		g.l.	F	P	g.l.	F	P
Antena A	Sexo	-	-	-	-	-	-
	Tamanho	-	-	-	1, 19	1,29	0,2710
	Sexo*Tamanho	-	-	-	-	-	-
Antena I	Sexo	1, 20	0,13	0,7228	-	-	-
	Tamanho	1, 20	0,04	0,8512	1, 19	0,03	0,8563
	Sexo*Tamanho	1, 20	1,10	0,3060	-	-	-
Atende	Sexo	-	-	-	-	-	-
	Tamanho	-	-	-	1, 19	5,80	0,0263
	Sexo*Tamanho	-	-	-	-	-	-
Agarra D	Sexo	-	-	-	-	-	-
	Tamanho	-	-	-	1, 19	0,68	0,4212
	Sexo*Tamanho	-	-	-	-	-	-
Agarra P	Sexo	1, 20	1,25	0,2773	-	-	-
	Tamanho	1, 20	1,23	0,2801	1, 19	0,09	0,7650
	Sexo*Tamanho	1, 20	1,40	0,2501	-	-	-
Limpa	Sexo	-	-	-	-	-	-
	Tamanho	-	-	-	1, 19	0,66	0,4283
	Sexo*Tamanho	-	-	-	-	-	-
Persegue	Sexo	1, 20	0,00	0,9918	-	-	-
	Tamanho	1, 20	0,66	0,4278	-	-	-
	Sexo*Tamanho	1, 20	1,55	0,2280	-	-	-
Tamborila	Sexo	1, 20	0,91	0,3519	-	-	-
	Tamanho	1, 20	1,62	0,2171	1, 19	1,00	0,3299
	Sexo*Tamanho	1, 20	1,54	0,2286	-	-	-

TABELA 9. Tempo médio (s) de duração ( $\pm$  EP) dos atos comportamentais da formiga *Camponotus punctulatus* (f, colônia pequena; ff, colônia grande) em resposta à presença de adultos (fêmeas e machos) e larvas de *Cycloneda sanguinea* em colônia de *Toxoptera citricidus*.

Estágio	Sexo	Formiga	Ato comportamental							
			Antena A <sup>(ns)2</sup>	Antena I <sup>(ns)</sup>	Atende	Agarra D <sup>(ns)</sup>	Agarra P <sup>(ns)</sup>	Limpa <sup>(ns)</sup>	Persegue <sup>(ns)</sup>	Tamborila <sup>(ns)</sup>
Adulto	Fêmea	f (8) <sup>1</sup>	-	0,92 $\pm$ 0,745	-	-	17,03 $\pm$ 14,270	14,75 $\pm$ 11,875	0,29 $\pm$ 0,270	8,43 $\pm$ 4,511
		ff (8)	-	0,40 $\pm$ 0,368	-	-	0,05 $\pm$ 0,050	-	3,65 $\pm$ 2,673	1,72 $\pm$ 0,854
	Macho	f (7)	-	0,08 $\pm$ 0,077	-	-	-	-	2,35 $\pm$ 1,692	2,58 $\pm$ 1,926
		ff (8)	-	0,81 $\pm$ 0,788	-	-	0,55 $\pm$ 0,550	-	1,60 $\pm$ 1,152	2,49 $\pm$ 1,612
Imaturo	Larva	f (20)	117,92 $\pm$ 57,785	509,60 $\pm$ 108,059	149,11 $\pm$ 55,957 a <sup>3</sup>	29,60 $\pm$ 19,504	8,31 $\pm$ 3,658	89,38 $\pm$ 29,865	-	0,06 $\pm$ 0,062
		ff (20)	57,68 $\pm$ 16,160	535,63 $\pm$ 139,639	26,96 $\pm$ 19,327 b	12,54 $\pm$ 7,094	6,62 $\pm$ 4,230	62,42 $\pm$ 18,371	-	0,20 $\pm$ 0,138

<sup>1</sup>número de repetições entre parênteses;

<sup>2</sup>(ns) = diferença não significativa para o mesmo estágio (teste *t*,  $P_{\text{Sidak}} > 0,05$ );

<sup>3</sup>médias seguidas de letras distintas diferem entre linhas do mesmo estágio (teste *t*,  $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ).

O número de encontros de formigas com adultos não foi afetado pelo tamanho das colônias ( $F_{1, 20} = 0,93$ ;  $P = 0,3463$ ), sexo ( $F_{1, 20} = 0,29$ ;  $P = 0,5934$ ) e nem pela combinação destes ( $F_{1, 20} = 0,47$ ;  $P = 0,5023$ ). O número total de formigas que entraram em contato com machos e fêmeas também não foi influenciado pelo tamanho das colônias ( $F_{1, 20} = 0,18$ ;  $P = 0,677$ ), sexo ( $F_{1, 20} = 1,09$ ;  $P = 0,3081$ ) e nem pela combinação dos efeitos ( $F_{1, 20} = 0,89$ ;  $P = 0,3575$ ). O número de formigas por encontro também não foi afetado pelo tamanho ( $F_{1, 20} = 0,16$ ;  $P = 0,6926$ ), sexo ( $F_{1, 20} = 0,01$ ;  $P = 0,9185$ ) e nem pela combinação destes ( $F_{1, 20} = 0,00$ ;  $P = 0,9906$ ) (Tabela 10).

Da mesma forma, o tamanho das colônias de formiga não teve efeito significativo sobre a resposta das formigas à presença das larvas para o número de encontros ( $F_{1, 19} = 0,01$ ;  $P = 0,9078$ ), número de formigas ( $F_{1, 19} = 0,18$ ;  $P = 0,6748$ ) e nem em relação ao número de formigas por encontro ( $F_{1, 19} = 0,7$ ;  $P = 0,4131$ ) (Tabela 10).

TABELA 10. Número médio ( $\pm$  EP) de encontros, de formigas e relação entre número de formigas/número de encontros para *Camponotus punctulatus* (f, colônia pequena; ff, colônia grande) em resposta à presença de adultos (fêmeas e machos) e larvas de *Cycloneda sanguinea* em colônia de *Toxoptera citricidus*.

Estágio	Sexo	Formiga	Número de encontros <sup>(ns)2</sup>	Número de formigas <sup>(ns)</sup>	Formigas/Encontro <sup>(ns)</sup>
Adulto	Fêmea	f (8) <sup>1</sup>	2,38 $\pm$ 0,532	4,25 $\pm$ 1,306	1,53 $\pm$ 0,265
		ff (8)	2,63 $\pm$ 0,905	3,63 $\pm$ 1,281	1,44 $\pm$ 0,148
	Macho	f (7)	1,29 $\pm$ 0,184	1,86 $\pm$ 0,340	1,50 $\pm$ 0,289
		ff (8)	2,75 $\pm$ 1,346	3,50 $\pm$ 1,402	1,42 $\pm$ 0,207
Imaturo	Larva	f (20)	2,45 $\pm$ 0,413	5,75 $\pm$ 0,951	2,65 $\pm$ 0,349
		ff (20)	2,40 $\pm$ 0,505	6,15 $\pm$ 1,170	3,08 $\pm$ 0,547

<sup>1</sup>número de repetições entre parênteses;

<sup>2</sup>(ns) = diferença não significativa para o mesmo estágio (teste *t*;  $P_{\text{Sidak}} > 0,05$ ).



A frequência das categorias comportamentais das formigas, na presença das joaninhas adultas, não foi afetada pelo tamanho das colônias, pelo sexo e nem pela combinação destes efeitos (Tabela 11). O comportamento das formigas também não teve sua frequência alterada em função do tamanho das colônias quando as larvas estavam presentes, exceto para o comportamento Atende, que teve maior frequência nas formigas da colônia pequena ( $F_{1, 19} = 5,14$ ;  $P = 0,0353$ ) (Tabela 12).

TABELA 11. Análise estatística (procedimento Glimmix) da frequência dos atos comportamentais da formiga *Camponotus punctulatus* em resposta à presença de adultos e imaturos de *Cycloneda sanguinea* em colônia de *Toxoptera citricidus*.

Comportamento	Efeito	Adultos			Imaturos		
		g.l.	F	P	g.l.	F	P
Antena A	Sexo	-	-	-	-	-	-
	Tamanho	-	-	-	1, 19	0,02	0,8987
	Sexo*Tamanho	-	-	-	-	-	-
Antena I	Sexo	1, 20	0,52	0,4806	-	-	-
	Tamanho	1, 20	0,01	0,9144	1, 19	0,40	0,5338
	Sexo*Tamanho	1, 20	0,01	0,9144	-	-	-
Atende	Sexo	-	-	-	-	-	-
	Tamanho	-	-	-	1, 19	5,14	0,0353
	Sexo*Tamanho	-	-	-	-	-	-
Agarra D	Sexo	-	-	-	-	-	-
	Tamanho	-	-	-	1, 19	0,52	0,4794
	Sexo*Tamanho	-	-	-	-	-	-
Agarra P	Sexo	1, 20	1,92	0,1811	-	-	-
	Tamanho	1, 20	1,49	0,2357	1, 19	0,11	0,7481
	Sexo*Tamanho	1, 20	1,92	0,1811	-	-	-
Flexão	Sexo	1, 20	2,31	0,1441	-	-	-
	Tamanho	1, 20	0,24	0,6262	1, 19	1,17	0,2929
	Sexo*Tamanho	1, 20	2,31	0,1441	-	-	-
Limpa	Sexo	1, 20	2,11	0,1614	-	-	-
	Tamanho	1, 20	2,11	0,1614	1, 19	0,42	0,5236
	Sexo*Tamanho	1, 20	2,11	0,1614	-	-	-
MOR	Sexo	1, 20	0,96	0,3377	-	-	-
	Tamanho	1, 20	3,78	0,0661	1, 19	0,97	0,3369
	Sexo*Tamanho	1, 20	0,88	0,3581	-	-	-
Morde	Sexo	1, 20	1,93	0,1799	-	-	-
	Tamanho	1, 20	0,76	0,3937	1, 19	0,14	0,7157
	Sexo*Tamanho	1, 20	2,35	0,1409	-	-	-
Persegue	Sexo	1, 20	0,05	0,8239	-	-	-
	Tamanho	1, 20	1,70	0,2073	-	-	-
	Sexo*Tamanho	1, 20	0,34	0,5665	-	-	-
Tamborila	Sexo	1, 20	0,81	0,3803	-	-	-
	Tamanho	1, 20	1,30	0,2670	1, 19	0,00	1,000
	Sexo*Tamanho	1, 20	0,67	0,4243	-	-	-

TABELA 12. Frequência média ( $\pm$  EP) dos atos comportamentais da formiga *Camponotus punctulatus* (f, colônia pequena; ff, colônia grande) em resposta à presença de adultos (fêmeas e machos) e larvas de *Cycloneda sanguinea* em colônia de *Toxoptera citricidus*.

			Ato comportamental										
E <sup>1</sup>	S <sup>2</sup>	F <sup>3</sup>	Antena A <sup>(ns)5</sup>	Antena I <sup>(ns)</sup>	Atende	Agarra D <sup>(ns)</sup>	Agarra P <sup>(ns)</sup>	Flexão <sup>(ns)</sup>	Limpa <sup>(ns)</sup>	Abertura mandíbula <sup>(ns)</sup>	Morde <sup>(ns)</sup>	Persegue <sup>(ns)</sup>	Tamborila <sup>(ns)</sup>
A	F	f (8) <sup>4</sup>	-	0,63 $\pm$ 0,498	-	-	2,13 $\pm$ 1,469	3,88 $\pm$ 1,381	0,88 $\pm$ 0,581	-	29,50 $\pm$ 11,611	0,38 $\pm$ 0,263	9,25 $\pm$ 4,678
		ff (8)	-	0,63 $\pm$ 0,498	-	-	0,13 $\pm$ 0,125	1,88 $\pm$ 0,666	-	1,13 $\pm$ 0,743	12,75 $\pm$ 2,161	1,25 $\pm$ 0,840	3,25 $\pm$ 1,634
	M	f (7)	-	0,29 $\pm$ 0,286	-	-	-	0,86 $\pm$ 0,404	-	-	9,14 $\pm$ 2,241	0,57 $\pm$ 0,297	4,00 $\pm$ 3,117
		ff (8)	-	0,38 $\pm$ 0,263	-	-	0,13 $\pm$ 0,125	1,88 $\pm$ 1,093	-	0,38 $\pm$ 0,263	13,75 $\pm$ 6,114	0,88 $\pm$ 0,398	3,00 $\pm$ 1,773
I	L	f (20)	4,80 $\pm$ 1,657	18,20 $\pm$ 3,514	3,75 $\pm$ 1,487 a <sup>6</sup>	0,30 $\pm$ 0,128	0,70 $\pm$ 0,231	1,05 $\pm$ 0,336	4,90 $\pm$ 1,720	5,95 $\pm$ 1,592	2,25 $\pm$ 0,517	-	0,20 $\pm$ 0,200
		ff (20)	4,60 $\pm$ 1,070	15,70 $\pm$ 2,847	1,20 $\pm$ 0,731 b	0,50 $\pm$ 0,246	0,60 $\pm$ 0,266	0,60 $\pm$ 0,245	3,65 $\pm$ 0,862	7,90 $\pm$ 1,525	2,05 $\pm$ 0,285	-	0,20 $\pm$ 0,138

<sup>1</sup>E, estágio; A, adulto; I, imaturo;

<sup>2</sup>S, sexo; F, fêmea; M, macho; L, larva;

<sup>3</sup>F, formigas;

<sup>4</sup>número de repetições entre parênteses;

<sup>5</sup>(ns) = diferença não significativa para o mesmo estágio (teste *t*; P<sub>Sidak</sub> > 0,05).

<sup>6</sup>médias seguidas de letras distintas diferem entre linhas do mesmo estágio (teste *t*; P<sub>Sidak</sub> < 0,05).

#### 4.2.7 Escore de agressão

Quanto ao escore de agressão ( $EA_0$ ) em resposta a presença de fêmeas e machos adultos, os valores não foram afetados pelo tamanho das colônias ( $F_{1,20} = 0,6$ ;  $P = 0,4487$ ), sexo ( $F_{1,20} = 2,17$ ;  $P = 0,1562$ ) e nem pela combinação destes ( $F_{1,20} = 2,27$ ;  $P = 0,1479$ ). O mesmo padrão foi observado para escore modificado  $EA_1$ , que não foi afetado nem pelo tamanho das colônias e nem pelo sexo (Tamanho:  $F_{1,20} = 0,62$ ;  $P = 0,4394$ ; Sexo:  $F_{1,20} = 2,1$ ;  $P = 0,1628$ ; Tamanho\*Sexo:  $F_{1,20} = 2,13$ ;  $P = 0,1599$ ) (Tabela 13).

Em relação à presença das larvas, o tamanho das colônias também não afetou significativamente o escore de agressão  $EA_0$  ( $F_{1,19} = 0,04$ ;  $P = 0,8453$ ) e nem o escore  $EA_1$  ( $F_{1,19} = 0,05$ ;  $P = 0,8329$ ) (Tabela 13).

TABELA 13. Escores médio ( $\pm$  EP) de agressão ( $EA_0$  e  $EA_1$ ) da formiga *Camponotus punctulatus* (f, colônia pequena; ff, colônia grande) em resposta a adultos (fêmeas e machos) e larvas de *Cycloneda sanguinea* em colônia de *Toxoptera citricidus*.

Estágio	Sexo	Formiga	$EA_0^{(ns)2}$	$EA_1^{(ns)}$
Adulto	Fêmea	f (8) <sup>1</sup>	147,62 $\pm$ 57,915	193,38 $\pm$ 76,640
		ff (8)	67,50 $\pm$ 13,017	88,50 $\pm$ 17,934
	Macho	f (7)	42,85 $\pm$ 11,574	57,71 $\pm$ 16,992
		ff (8)	68,62 $\pm$ 31,348	89,00 $\pm$ 41,109
Imaturo	Larva	f (20)	53,15 $\pm$ 6,786	86,60 $\pm$ 11,912
		ff (20)	51,70 $\pm$ 6,342	83,85 $\pm$ 10,881

<sup>1</sup>número de repetições entre parênteses;

<sup>2</sup>(ns) = diferença não significativa para o mesmo estágio (teste *t*;  $P_{\text{Sidak}} > 0,05$ ).

#### 4.2.8 Comportamento das joaninhas

O tempo até uma joaninha adulta encontrar a primeira formiga não foi afetado pelo tamanho das colônias ( $F_{1,20} = 1,03$ ;  $P = 0,3215$ ), sexo ( $F_{1,20} = 1,11$ ;

$P = 0,3056$ ) e nem mesmo pela combinação dos efeitos ( $F_{1, 20} = 1,38$ ;  $P = 0,2539$ ). Na presença de formigas da colônia pequena, fêmeas e machos levaram, respectivamente,  $16,01 \pm 7,917$  e  $6,17 \pm 1,945$  s para encontrar a primeira formiga. Na presença de formigas da colônia grande, fêmeas e machos levaram, respectivamente,  $6,33 \pm 1,064$  e  $6,87 \pm 2,482$  s para encontrar a primeira formiga. Da mesma forma, o tempo até uma fêmea encontrar o primeiro pulgão não foi afetado pelo tamanho das colônias e nem pelo sexo (Tamanho:  $F_{1, 20} = 0,81$ ;  $P = 0,3786$ ; Sexo:  $F_{1, 20} = 1,97$ ;  $P = 0,1757$ ; Tamanho\*Sexo:  $F_{1, 20} = 0,81$ ;  $P = 0,3786$ ). Independentemente do tamanho das colônias, os machos nunca chegaram a encontrar um pulgão. As fêmeas levaram  $3,08 \pm 2,491$  e  $0,67 \pm 0,673$  s para encontrar o primeiro pulgão na presença de formigas da colônia pequena e da colônia grande, respectivamente.

As larvas levaram tempo semelhante para encontrar a primeira formiga ( $F_{1, 19} = 0,04$ ;  $P = 0,8367$ ), sendo  $69,68 \pm 14,053$  e  $75,96 \pm 30,346$  s na presença das formigas da colônia pequena e da colônia grande, respectivamente. O tempo até encontrar o primeiro pulgão também não foi influenciado pelo tamanho das colônias ( $F_{1, 19} = 0,02$ ;  $P = 0,8903$ ), sendo de  $72,24 \pm 32,356$  e  $63,15 \pm 56,496$  s na presença das formigas da colônia pequena e da colônia grande, respectivamente.

Das seis categorias comportamentais registradas para *C. sanguinea*, Lateraliza e Recolhe foram exclusivas de adultos, enquanto que Sangramento somente foi registrado no comportamento das larvas. Os machos não foram observados realizando o comportamento Preda, que ocorreu em fêmeas e larvas.

O tempo de duração dos comportamentos de adultos não foi afetado pelo tamanho da colônia das formigas, pelo sexo e nem pela combinação destes efeitos, exceto para o comportamento Para, que ocorreu por mais tempo nas

fêmeas ( $F_{1, 20} = 5,29$ ;  $P = 0,0324$ ) (Tabela 14). A duração das categorias comportamentais das larvas não foi afetada pelo tamanho das colônias (Tabela 15).

TABELA 14. Análise estatística (procedimento Glimmix) do tempo de duração dos atos comportamentais de adultos e imaturos de *Cycloneda sanguinea* em reposta à presença da formiga *Camponotus punctulatus* em colônia de *Toxoptera citricidus*.

Comportamento	Efeito	Adultos			Imaturos		
		g.l.	F	P	g.l.	F	P
Fuga	Sexo	1, 20	0,21	0,6501	-	-	-
	Tamanho	1, 20	0,97	0,3366	1, 19	2,16	0,1584
	Sexo*Tamanho	1, 20	0,15	0,6981	-	-	-
Para	Sexo	1, 20	5,29	0,0324	-	-	-
	Tamanho	1, 20	2,57	0,1246	1, 19	0,23	0,6339
	Sexo*Tamanho	1, 20	1,27	0,2723	-	-	-
Lateraliza	Sexo	1, 20	1,75	0,2002	-	-	-
	Tamanho	1, 20	1,57	0,2249	-	-	-
	Sexo*Tamanho	1, 20	2,34	0,1421	-	-	-
Recolhe	Sexo	1, 20	0,04	0,8518	-	-	-
	Tamanho	1, 20	1,20	0,2862	-	-	-
	Sexo*Tamanho	1, 20	0,64	0,4324	-	-	-
Preda	Sexo	1, 20	1,08	0,3121	-	-	-
	Tamanho	1, 20	0,84	0,3692	1, 19	0,97	0,336
	Sexo*Tamanho	1, 20	0,84	0,3692	-	-	-

TABELA 15. Tempo médio (s) de duração ( $\pm$  EP) dos atos comportamentais de adultos (fêmeas e machos) e de larvas de *Cycloneda sanguinea* em resposta à formiga *Camponotus punctulatus* (f, colônia pequena; ff, colônia grande) em colônias de *Toxoptera citricidus*.

Estágio	Sexo	Formiga	Ato comportamental				
			Fuga <sup>(ns)2</sup>	Parada	Lateraliza <sup>(ns)</sup>	Recolhe <sup>(ns)</sup>	Preda <sup>(ns)</sup>
Adulto	Fêmea	f (8) <sup>1</sup>	19,35 $\pm$ 8,003	6,50 $\pm$ 3,383 a <sup>3</sup>	41,16 $\pm$ 27,017	1,44 $\pm$ 1,06	7,83 $\pm$ 7,708
		ff (8)	27,77 $\pm$ 14,696	1,96 $\pm$ 1,735 a	1,98 $\pm$ 0,871	2,01 $\pm$ 1,696	0,47 $\pm$ 0,474
	Macho	f (7)	7,18 $\pm$ 3,697	-	0,96 $\pm$ 0,509	0,39 $\pm$ 0,193	-
		ff (8)	26,82 $\pm$ 21,590	0,02 $\pm$ 0,020 b	4,85 $\pm$ 2,929	3,90 $\pm$ 3,454	-
Imaturo	Larva	f (20)	130,47 $\pm$ 51,567	413,26 $\pm$ 101,514 a	-	-	260,35 $\pm$ 93,296
		ff (20)	51,49 $\pm$ 17,748	363,98 $\pm$ 103,862 a	-	-	152,98 $\pm$ 83,573

<sup>1</sup>número de repetições entre parênteses;

<sup>2</sup>(ns) = diferença não significativa para o mesmo estágio (teste *t*;  $P_{\text{Sidak}} > 0,05$ ).

<sup>3</sup>médias seguidas de letras distintas diferem entre linhas para o mesmo estágio (teste *t*;  $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ).

A frequência das categorias comportamentais de adultos não teve influência do tamanho da colônia de formigas, nem do sexo e nem pela combinação destes dois efeitos, exceto pelos comportamentos Fuga e Para, que ocorreram mais em fêmeas (Fuga:  $F_{1, 20} = 5,73$ ;  $P = 0,0266$ ; Para:  $F_{1, 20} = 6,36$ ;  $P = 0,0203$ ) (Tabela 16). O comportamento Lateraliza, só registrado em adultos, foi significativamente afetado pela combinação dos efeitos tamanho da colônia e sexo ( $F_{1, 20} = 4,69$ ;  $P = 0,0425$ ), decorrente da tendência de maior frequência deste comportamento nas fêmeas em relação aos machos na presença das formigas da colônia pequena ( $t_{1, 20} = 2,58$ ;  $P = 0,0179$ ;  $P_{\text{Sidak}} = 0,1025$ ). O tamanho das colônias de formigas não teve efeito sobre a frequência comportamental das larvas (Tabela 17).



TABELA 16. Análise estatística (procedimento Glimmix) da frequência dos atos comportamentais de adultos e imaturos de *Cycloneda sanguinea* em reposta à presença da formiga *Camponotus punctulatus* em colônia de *Toxoptera citricidus*.

Comportamento	Efeito	Adultos			Imaturos		
		g.l.	F	P	g.l.	F	P
Fuga	Sexo	1, 20	5,73	0,0266	-	-	-
	Tamanho	1, 20	1,73	0,2030	1, 19	0,04	0,8438
	Sexo*Tamanho	1, 20	0,01	0,9329	-	-	-
Para	Sexo	1, 20	6,36	0,0203	-	-	-
	Tamanho	1, 20	0,08	0,7822	1, 19	0,04	0,8379
	Sexo*Tamanho	1, 20	0,71	0,4105	-	-	-
Lateraliza	Sexo	1, 20	2,42	0,1352	-	-	-
	Tamanho	1, 20	0,46	0,5051	-	-	-
	Sexo*Tamanho	1, 20	4,69	0,0425	-	-	-
Recolhe	Sexo	1, 20	1,76	0,1992	-	-	-
	Tamanho	1, 20	0,21	0,6552	-	-	-
	Sexo*Tamanho	1, 20	0,02	0,8981	-	-	-
Preda	Sexo	1, 20	1,99	0,1739	-	-	-
	Tamanho	1, 20	0,88	0,3584	1, 19	1	0,3299
	Sexo*Tamanho	1, 20	0,88	0,3584	-	-	-
Sangra	Sexo	-	-	-	-	-	-
	Tamanho	-	-	-	1, 19	2,27	0,1485
	Sexo*Tamanho	-	-	-	-	-	-

TABELA 17. Frequência média ( $\pm$  EP) dos atos comportamentais de adultos (fêmeas e machos) e de larvas de *Cycloneda sanguinea* em resposta à formiga *Camponotus punctulatus* (f, colônia pequena; ff, colônia grande) em colônias de *Toxoptera citricidus*.

Estágio	Sexo	Formiga	Ato comportamental					
			Fuga	Para	Lateraliza <sup>(ns)</sup> 3	Recolhe <sup>(ns)</sup>	Sangra <sup>(ns)</sup>	Preda <sup>(ns)</sup>
Adulto	Fêmea	f (8) <sup>1</sup>	3,00 $\pm$ 0,535 a <sup>2</sup>	0,75 $\pm$ 0,313 a	2,88 $\pm$ 1,025	1,00 $\pm$ 0,500	-	0,63 $\pm$ 0,498
		ff (8)	4,00 $\pm$ 1,282 a	0,50 $\pm$ 0,267 a	1,13 $\pm$ 0,398	1,25 $\pm$ 0,773	-	0,13 $\pm$ 0,125
	Macho	f (7)	1,00 $\pm$ 0,218 b	-	0,57 $\pm$ 0,297	0,57 $\pm$ 0,297	-	-
		ff (8)	2,13 $\pm$ 0,875 b	0,13 $\pm$ 0,125 b	1,50 $\pm$ 0,866	0,63 $\pm$ 0,375	-	-
Imaturo	Larva	f (20)	3,60 $\pm$ 0,745 a	4,15 $\pm$ 0,726 a	-	-	0,25 $\pm$ 0,123	0,55 $\pm$ 0,153
		ff (20)	3,40 $\pm$ 0,933 a	3,95 $\pm$ 0,972 a	-	-	0,05 $\pm$ 0,050	0,35 $\pm$ 0,167

<sup>1</sup>número de repetições entre parênteses;

<sup>2</sup>médias seguidas de letras distintas diferem entre linhas para o mesmo estágio (teste *t*,  $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ );

<sup>3</sup>(ns) = diferença não significativa para o mesmo estágio (teste *t*;  $P_{\text{Sidak}} > 0,05$ ).

A frequência com que os adultos alteraram o comportamento anterior quando encontraram as formigas não foi afetado pelo tamanho das colônias ( $F_{1, 20} = 0,00$ ;  $P = 0,9831$ ), sexo ( $F_{1, 20} = 0,44$ ;  $P = 0,5136$ ) e nem pela combinação de ambos ( $F_{1, 20} = 0,77$ ;  $P = 0,3895$ ). O tamanho das colônias também não teve efeito significativo para as larvas considerando a frequência de alteração do comportamento ( $F_{1, 19} = 0,03$ ;  $P = 0,8582$ ) (Tabela 18).

A frequência com que os adultos mantiveram o comportamento anterior quando encontraram as formigas não foi afetado pelo tamanho das colônias ( $F_{1, 20} = 1,70$ ;  $P = 0,2068$ ), sexo ( $F_{1, 20} = 0,09$ ;  $P = 0,7665$ ) e nem pela combinação destes efeitos ( $F_{1, 20} = 0,01$ ;  $P = 0,9211$ ). Nas larvas, a frequência de alteração do comportamento também teve influência do tamanho das colônias ( $F_{1, 19} = 0,43$ ;  $P = 0,5177$ ) (Tabela 18).

TABELA 18. Frequência média ( $\pm$  EP) de alteração e manutenção do comportamento de adultos (fêmeas e machos) e de larvas de *Cycloneda sanguinea* quando encontram a formiga *Camponotus punctulatus* (f, colônia pequena; ff, colônia grande) em colônia de *Toxoptera citricidus*.

Estágio	Sexo	Formiga	Altera <sup>(ns)2</sup>	Mantem <sup>(ns)</sup>
Adulto	Fêmea	f (8) <sup>1</sup>	1,88 $\pm$ 0,581	0,75 $\pm$ 0,164
		ff (8)	1,38 $\pm$ 0,706	1,63 $\pm$ 0,706
	Macho	f (7)	1,00 $\pm$ 0,309	1,00 $\pm$ 0,378
		ff (8)	1,50 $\pm$ 0,732	1,75 $\pm$ 0,901
Imaturo	Larva	f (20)	1,70 $\pm$ 0,341	1,05 $\pm$ 0,256
		ff (20)	1,65 $\pm$ 0,399	0,75 $\pm$ 0,376

<sup>1</sup>número de repetições entre parênteses;

<sup>2</sup>(ns) = diferença não significativa para o mesmo estágio (teste *t*;  $P_{\text{Sidak}} > 0,05$ ).

#### 4.2.9 Escore de reação

O escore de reação ( $ER_0$ ) dos adultos foi maior para as fêmeas ( $F_{1, 20} = 6,37$ ;  $P = 0,0201$ ) e não foi afetado pelo efeito tamanho das colônias ou pela combinação (Tamanho:  $F_{1, 20} = 0,29$ ;  $P = 0,5932$ ; Tamanho\*Sexo:  $F_{1, 20} = 1,04$ ;  $P = 0,3209$ ). O tamanho das colônias também não influenciou o escore de reação das larvas ( $F_{1, 19} = 0,01$ ;  $P = 0,9311$ ) (Tabela 19).

TABELA 19. Escore médio ( $\pm$  EP) de reação ( $ER_0$ ) de adultos (fêmeas e machos) e de larvas de *Cycloneda sanguinea* em resposta à presença da formiga *Camponotus punctulatus* (f, colônia pequena; ff, colônia grande) em colônia de *Toxoptera citricidus*.

Estágio	Sexo	Formiga	$ER_0$
Adulto	Fêmea	f (8) <sup>1</sup>	35,63 $\pm$ 7,478 a <sup>2</sup>
		ff (8)	32,75 $\pm$ 7,681 a
	Macho	f (7)	14,43 $\pm$ 2,202 b
		ff (8)	23,63 $\pm$ 8,349 b
Imaturo	Larva	f (20)	20,75 $\pm$ 3,635 a
		ff (20)	21,20 $\pm$ 4,778 a

<sup>1</sup>número de repetições entre parênteses;

<sup>2</sup>médias seguidas de letras distintas diferem para o mesmo estágio (teste  $t$ ,  $P_{\text{Sidak}} < 0,05$ ).

## 5 DISCUSSÃO

As interações mutualísticas formigas-hemípteros são dinâmicas e dependentes do contexto (Yoo & Holway, 2011), sendo que os custos e benefícios da interação variam de acordo com o cenário ecológico (Cushman & Whithman, 1989; 1991). A relação entre o custo/benefício provido pela interação pode estar ligada à densidade dos organismos envolvidos (Bronstein, 1994; Holland & DeAngelis, 2002). Na associação entre a formiga *C. punctulatus* e o pulgão *T. citricidus*, o atendimento, na ausência de predadores, promoveu aumento da fecundidade média, da taxa intrínseca de crescimento e da taxa finita de aumento em  $E_A$  e  $E_C$ , mas não teve qualquer efeito sobre  $E_B$ . A intensidade de atendimento parece ter sido um fator fundamental para as diferenças encontradas. Nos dois experimentos ( $E_A$  e  $E_C$ ) onde os pulgões atendidos apresentaram alteração dos parâmetros avaliados, a intensidade de atendimento foi maior do que no outro experimento ( $E_B$ ).

O aumento da fecundidade média esteve acompanhado da redução da longevidade, em  $E_C$ , o que levanta a questão se esta redução seria considerada um efeito positivo ou negativo para o pulgão *T. citricidus*. Flatt & Weisser (2000) consideraram o aumento da longevidade dos pulgões atendidos como um fator positivo, pois outros parâmetros biológicos, como o tamanho dos indivíduos, foram também superiores naqueles pulgões. Os pesquisadores observaram que a

fecundidade total, a fecundidade média e a longevidade do pulgão *Metopeurum fuscoviride* atendido pela formiga *Lasius niger* em *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) são superiores aos dos pulgões não atendidos. Além disso, encontraram que as variações para a fecundidade total e a longevidade estavam positivamente correlacionadas à intensidade do atendimento das formigas.

No presente estudo, os pulgões não tiveram seus dados biométricos avaliados. Entretanto, levando-se em consideração a redução do intervalo médio entre gerações e o tempo de duplicação, além do aumento da fecundidade diária para o primeiro dia, é plausível considerar a redução da longevidade como um fator positivo. Além disso, a fecundidade total não foi afetada, indicando que o atendimento acelera os eventos da história de vida do pulgão. Com base na simulação do crescimento populacional pode-se supor que a diferença no número de prole gerada em um único dia leva a um incremento populacional mais rapidamente. Esta situação parece ser ideal ao pulgão-preto-dos-citros, já que as brotações têm duração reduzida.

A fecundidade total de *T. citricidus*, não sofreu influência do atendimento pela formiga, apesar de outros estudos relatarem que o atendimento pode levar ao aumento deste parâmetro (El-Ziady & Kennedy, 1956; Banks, 1958; El-Ziady, 1960). Já o afídeo *Tuberculatus quercicola* sofreu custos significativos quando atendido pela formiga *Formica yessensis* em *Quercus dentata* (Fagaceae) (Yao *et al.* 2000). Neste sistema, os indivíduos atendidos pelas formigas geraram adultos menores e menos fecundos (número total de embriões) como resultado de uma provável maior alocação dos aminoácidos ingeridos pelo pulgão para o *honeydew* em detrimento do próprio desenvolvimento e da prole.

É reconhecido que os afídeos alteram o comportamento em função de receberem ou não o atendimento pelas formigas (Way, 1963; Rauch *et al.*, 2002). A

taxa de excreção do *honeydew*, particularmente, é muito influenciada por estímulos tácteis (Banks & Nixon, 1958). No afídeo *Aphis craccivora*, a taxa de excreção dos pulgões aumentou cerca de sete vezes nos atendidos (Takeda *et al.*, 1982) e, em *Aphis fabae*, o aumento foi de duas vezes (Banks & Nixon, 1958). Estes fatos sugerem que o atendimento pelas formigas estimula a alimentação e a consequente taxa de liberação. Banks & Nixon (1958) confirmaram que a taxa de alimentação do pulgão *A. fabae* atendido é maior e, portanto, o afídeo altera a atividade de alimentação pelo controle da bomba de sucção localizada na sua cabeça. Empregando uma técnica diferente de estudo, Rauch *et al.* (2002) não detectaram esta alteração para o pulgão *Metopeurum fuscoviride* quando atendido pela formiga *Lasius niger*.

O aumento da taxa de alimentação de pulgões atendidos não leva, necessariamente, ao aumento proporcional nas taxas reprodutivas *per capita* (Banks & Nixon, 1958; Takeda *et al.*, 1982). Segundo Yao *et al.* (2000) o fato de o aumento na taxa de alimentação e/ou excreção não levar ao aumento da taxa reprodutiva correspondente poderia estar ligado ao fato de que quanto mais rápida for a absorção de nutrientes pelos pulgões mais rápida será possível a liberação do *honeydew* às formigas, sem que seja utilizado pelo próprio pulgão. Por outro lado, não há indicação de que o oposto não ocorra, isto é, a maior taxa de alimentação provocada pela pressão das formigas poderia, caso houvesse nutrientes suficientes, promover tanto a liberação de uma quantidade/qualidade de *honeydew* às formigas quanto a utilização dos nutrientes para o desenvolvimento dos pulgões e aceleração da maturação dos embriões. Esta hipótese poderia ser aplicada os resultados encontrados no presente estudo, isto é, ausência de efeito sobre a fecundidade total e aumento da taxa de fecundidade. Embora não tenha sido estudada a interação com formigas, Nevo & Coll (2001) observaram que o aumento da adubação

nitrogenada em algodoeiro provoca aumento da fecundidade e da taxa intrínseca de crescimento do pulgão *Aphis gossypii*. Somado a isso, os autores detectaram que o estado nutricional da planta dos progenitores tem mais influência na história de vida do que o estado da planta onde o pulgão está se alimentando. Esse efeito já foi relatado e descrito, sendo parte da biologia dos afídeos que apresentam gerações telescópicas (Dixon, 1998). Entretanto, no presente estudo todas as plantas foram adubadas igualmente antes e durante a realização dos experimentos.

Outra hipótese que poderia explicar o aumento da fecundidade diária e redução da longevidade dos resultados está ligada ao efeito “tranquilizador” sobre os pulgões atendidos (El-Ziady, 1960; Way, 1963). No estudo de Oliver *et al.* (2007), o pulgão *Aphis fabae* apresenta redução da velocidade de deslocamento e da velocidade de dispersão quando está sobre um substrato visitado pela formiga *Lasius niger*.

No presente estudo não foram detectados efeitos negativos na biologia do pulgão em função do atendimento, embora um dos três experimentos não tenha tido qualquer efeito sobre os pulgões. É possível que o requerimento de proteínas de *C. punctulatus* fosse inferior ao de colônias com rainhas em condições naturais, mas isto não pode ser verificado. Se esta hipótese fosse verdadeira e, se a fonte de proteínas em colônias com rainhas fosse obrigatoriamente satisfeita através da predação de insetos, então a pressão sobre os pulgões atendidos nos experimentos estaria subestimada em relação àquela esperada sob condições naturais. Mas, nos experimentos realizados, as operárias geraram machos alados, provavelmente em função da própria ausência de rainhas (Holldöbler & Wilson, 1990), o que permite afirmar que as colônias apresentavam necessidade de proteínas para o desenvolvimento destes indivíduos (Markin, 1970; Sorensen & Vinson, 1981; Beattie, 1985; Cassill & Tschinkel, 1999). Além disso, as formigas utilizadas nos



experimentos não recebiam qualquer fonte de proteínas há sete dias, bem como não receberam durante a realização dos mesmos. Então, de que forma as colônias eram supridas com quantidades significativas de proteínas?

O *honeydew* é considerado como a principal fonte de recurso alimentar para as espécies de *Camponotus* (Levieux, 1975; Levieux & Louis, 1975; Fowler & Roberts, 1980; Retana *et al.*, 1988; Rico-Gray & Sternberg, 1991). Além dos açúcares presentes no *honeydew*, estão presentes aminoácidos, amidos, lipídios, esteróis, ácidos orgânicos, auxinas, sais e minerais e vitaminas do complexo B (Maltais & Auclair, 1952; Auclair, 1963; Way, 1963; Strong, 1965), embora nem todos os dez aminoácidos essenciais estejam presentes (Hagen, 1987). Será que, sob condições naturais, ou mesmo em laboratório com ausência da rainha, porém com produção de machos, o *honeydew* sozinho poderia suprir as necessidades nutricionais da colônia sem que os pulgões tivessem que ser predados?

A presença de endosimbiontes em espécies de *Camponotus* está ligada a síntese de aminoácidos essenciais, mesmo nas formigas que se alimentavam de dietas sem qualquer aminoácido (Feldhaar *et al.*, 2007). Um endosimbionte intracelular obrigatório, do gênero *Blochmannia*, já foi encontrado em mais de 30 espécies de *Camponotus* (Bolton, 1995; Sameshima *et al.*, 1999; Sauer *et al.*, 2000; Degnan *et al.*, 2004). *Blochmannia* é capaz de sintetizar todos os aminoácidos essenciais, exceto arginina, e aminoácidos não-essenciais (Gil *et al.*, 2003; Zientz *et al.*, 2004; Degnan *et al.*, 2005). Também há indícios de que este endosimbionte seja capaz de sintetizar tirosina, um aminoácido que está relacionado à formação e coloração da cutícula (Hopkins & Kramer, 1992).

Desta forma, uma dieta pobre em aminoácidos poderia não interferir na interação mutualística entre as espécies de *Camponotus* e os seus trofobiontes, isto é, independente das necessidades nutricionais da prole, as formigas poderiam

manter o atendimento aos pulgões sem terem o comportamento alterado à predação ou mesmo “forçando” os pulgões a liberarem um *honeydew* rico em nitrogênio em detrimento do seu desenvolvimento e da sua prole (Yao *et al.*, 2000).

Ademais, o pulgão *T. citricidus* nunca foi observado sendo predado pela formiga *C. punctulatus* em observações de campo e laboratório com colônias contendo rainha e prole (obs. pessoal). Este fato é extremamente importante, já que algumas espécies de formigas que apresentam interação mutualística com pulgões, como *L. niger*, já foram relatadas tanto atendendo quanto predando o pulgão *Aphis fabae* em função de requerimentos nutricionais (Offenberg, 2001).

Considerando o que foi exposto, os efeitos da formiga sobre os pulgões encontrados no presente estudo poderiam ser condensados na ideia que o pulgão *T. citricidus* atendido pela formiga *C. punctulatus* parece acelerar os processos da sua história de vida, incluindo aí a redução da longevidade, do intervalo médio entre gerações e do tempo de duplicação, bem como do aumento da taxa de fecundidade. Com base nos trabalhos publicados e aqui referidos, parece que uma hipótese explicativa plausível está relacionada ao seguinte cenário: os pulgões atendidos são solicitados pelas formigas a aumentar a taxa de liberação de *honeydew*, o que provoca o aumento da taxa de alimentação, que é possível pela disponibilidade de nutrientes na planta (adubada pré-experimentação) e incrementada pela redução do tempo em que os pulgões se deslocam pela planta em função da marcação química deixada pelas formigas. O aumento da taxa de liberação e alimentação não priva os pulgões de nutrientes, mas provoca a aceleração da maturação dos embriões e conseqüente aumento da fecundidade média acompanhada pela redução da longevidade, em  $E_C$ , dependendo da intensidade do atendimento.

A estes resultados da interação formiga-pulgão, somam-se os achados quando a interação incluiu o predador *C. sanguinea*. As formigas protegem,

parcialmente, o pulgão do ataque, como também é relatada para outras interações (Bartlett, 1961; Banks, 1962; Jiggins *et al.*, 1993). Esta proteção é dependente do estágio de vida da joaninha, sendo mais pronunciada em machos do que em fêmeas. Já as larvas de 1º instar são toleradas por mais tempo do que adultos em colônias do pulgão atendidas pela formiga *C. punctulatus*, dependendo da intensidade de atendimento provida aos pulgões.

Neste estudo, os adultos foram perseguidos pelas formigas, como descrito em outros trabalhos (Bradley, 1973; McLain, 1980; Itioka & Inoue, 1996; Sloggett, 1998), enquanto que as larvas não, mesmo quando estas fugiram. Em resposta ao ataque pelas formigas, as larvas geralmente se mantiveram imóveis, embora em algumas ocasiões tenham fugido e caído da planta ou tenham sido carregadas para fora da mesma, comportamentos também já descritos para outras espécies (Bradley, 1973; Vinson & Scarborough, 1989; Bach, 1991; Jiggins *et al.*, 1993; Sloggett & Majerus 2003). Mesmo na presença das larvas, as formigas atenderam os pulgões, deixando de lado as mesmas, comportamento mais frequente e mais duradouro quando a intensidade de atendimento foi menor. Este comportamento não havia sido relatado em trabalhos anteriores.

A tolerância das joaninhas à agressividade das formigas depende, em parte, da sua capacidade de defesa (Majerus *et al.*, 2007). Como observado no presente estudo, a defesa dos coccinelídeos pode ser comportamental, física ou química, podendo ser dependente do estágio de vida da joaninha (Pasteels *et al.*, 1973; Richards, 1980, 1985; Majerus, 1994).

Em resposta ao ataque, as larvas geralmente fugiram se deslocando em outra direção ou caíram das plantas, enquanto os adultos, além de fugirem caminhando, geralmente voam (Banks, 1962; Bradley, 1973; Itioka & Inoue, 1996). Muitas vezes a defesa das larvas foi permanecer imóvel, mesmo quando as formigas as agrediam.

O mesmo foi verificado em adultos, porém estes geralmente recolham pernas e antenas e aproximavam o corpo ao substrato, comportamento reconhecido como *clamp down* (Bradley 1973; Jiggins *et al.* 1993; Majerus 1994). Além disso, os adultos também lateralizavam o corpo em direção à formiga de forma a tocar o corpo com o substrato, comportamento comum em Coccinellinae (Jiggins *et al.*, 1993; Sloggett, 1998).

O sangramento foi registrado nas larvas e, embora não visualizado nas fêmeas, este pode ter ocorrido, pois as formigas foram observadas se limpando após o contato com as mesmas. Durante o sangramento são liberados alcaloides e pirazinas (Moore *et al.*, 1990; Dalozze *et al.*, 1995), substâncias com propriedades repelentes (Happ & Eisner, 1961; Pasteels *et al.*, 1973; Sloggett, 1998). A frequência com que adultos realizam o sangramento parece depender tanto da espécie de joaninhas quanto da intensidade do ataque e quando não há opção de voo (Marples, 1993; Jiggins *et al.*, 1993; Banks, 1962; Bhatkar, 1982; Majerus, 1994). Por sua vez, as larvas facilmente sangram em resposta ao ataque (El-Ziady & Kennedy, 1956; Happ & Eisner, 1961; Bradley, 1973; Sloggett, 1998), já que estas correm mais risco de serem atacadas do que os adultos (Majerus, 1994).

## 6 CONCLUSÕES

A formiga *Camponotus punctulatus* tem efeito nulo a positivo sobre a história de vida do pulgão *Toxoptera citricidus*. Quando há efeito, a fecundidade média dos pulgões atendidos é maior, podendo, também, apresentar redução da longevidade e da duração do ciclo total.

Os pulgões afetados pelo atendimento apresentam elevação da taxa líquida de reprodução ( $r_0$ ), da taxa intrínseca de crescimento ( $r_m$ ) e taxa finita de aumento ( $\lambda$ ), ao passo que têm redução do intervalo médio entre gerações ( $img$ ) e do tempo de duplicação ( $td$ ).

As formigas protegem os pulgões ao ataque de joaninhas adultas, embora as larvas de 1º instar sejam parcialmente toleradas. O tempo de permanência de larvas é menor quando a taxa de atendimento de *C. punctulatus* ao pulgão é maior.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados do presente trabalho fornecem informações relevantes e inéditas sobre a interação da formiga *C. punctulatus* com o pulgão *T. citricidus* na presença e na ausência do predador *C. sanguinea*.

A biologia do pulgão pode ser tanto alterada quanto mantida em resposta às formigas atendentes. Supõe-se que esta variação esteja ligada à intensidade do atendimento, muito embora isto não possa ser verificado. Para tal, outros estudos devem ser realizados levando-se em conta a relação de densidade-dependência entre os organismos, manipulando-se a densidade de pulgões por planta, ao invés de manipular a densidade de formigas com base no tamanho de suas colônias. Seria muito interessante também considerar o efeito do atendimento sobre a qualidade do *honeydew* dos pulgões, pois isso elucidaria de que forma os pulgões alocam a energia disponível no alimento em resposta às formigas.

Embora as formigas protejam os pulgões do ataque de adultos de *C. sanguinea* de ambos os sexos, as larvas são mais toleradas. Novamente, há indícios de que a taxa de atendimento é um fator importante na resposta das formigas. Há de se considerar o efeito do modelo experimental para a avaliação da interação. Quando o predador foi introduzido nas plantas, as formigas já estavam atendendo aos pulgões, uma situação semelhante ao que pode ser visto em campo com adultos da joaninha, que chegam à planta em voo. Entretanto, as larvas nunca chegam à colônia de pulgões dessa forma, e, as observações realizadas durante

este estudo mostram que as larvas se aproximam lentamente dos pulgões. Assim, a resposta das formigas às larvas pode ter sido influenciada pela técnica e, sob condições naturais, a agressividade das formigas poderia ser menor. Para melhor elucidar a interação formiga-pulgão-joaninha é necessário conduzir ensaios a campo, onde o experimentador tenha efeito reduzido sobre a interação.

Por fim, estudos de campo que avaliem a densidade dos organismos na interação formiga-pulgão-joaninha, ao longo do tempo, são fundamentais para verificar e validar os resultados aqui apresentados. Somente assim será possível afirmar se há indicação para a remoção das formigas no sistema em que se objetiva o controle biológico dos pulgões.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDICOTT, J.F. A multispecies aphid-ant association: density dependence and species-specific effects. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 57, p. 558-569, 1979.

ATTYGALLE, A.B.; MCCORMICK, K.D.; BLANKESPOOR, C.L.; EISNER, T.; MEINWALD, J. Azamacrolides: a family of alkaloids from the pupal defensive secretion of a ladybird beetle (*Epilachna varivestis*). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 90, p. 5204-5208, 1993.

AUCLAIR, J.L. Aphid feeding and nutrition. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 8, p. 439-490, 1963.

BACH, C.E. Direct and indirect interactions between ants (*Pheidole megacephala*), scales (*Coccus viridis*) and plants (*Pluchea indica*). **Oecologia**, Berlin, v. 87, p. 233-239, 1991.

BALLESTER, J.F.; PINA, J.A.; NAVARRO, L. Estudios sobre el "vein enation-woody gall" de los agrios em España. **Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Serie proteccion vegetal**, Madrid, v. 12, p. 127-138, 1979.

BANKS, C.J.; NIXON, H.L. Effects of the ant, *Lasius niger* (L.), on the feeding and excretion of the bean aphid, *Aphis fabae* Scop. **Journal of Experimental Biology**, Cambridge, UK, v. 35, p. 703-711, 1958.

BANKS, C.J. Effects of the ant *Lasius niger* (L.) on insects preying on small populations of *Aphis fabae* (Scop.) on bean plants. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 50, p. 669-679, 1962.

BANKS, C.J. Effects of the ant, *Lasius niger* (L.), on the behavior and reproduction of the black bean aphid, *Aphis fabae* Scop. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 49, p. 701-714, 1958.

BARTLETT, B.R. The influence of ants upon parasites, predators and scale insects. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 54, p. 543-551, 1961.

BARTOSZECK, A.B. Afídeos de laranjeiras (*Citrus sinensis* Osb.) e mimoseira (*Citrus reticulata* B.), seus predadores e parasitas. **Acta Biologica Paranaense**, Curitiba, v. 5, p. 15-48, 1976.



BASSANEZI, R.B.; BERGAMIM FILHO, A.; AMORIM, L.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOTTWALD, T.R. Spatial and temporal analyses of Citrus Sudden Death as a tool to generate hypotheses concerning its etiology. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 93, n. 4, p. 502-512, 2003.

BEATTIE, A.J. **The evolutionary ecology of ant-plant mutualisms**. Cambridge: Cambridge University Press, 1985. 182 p.

BEGON, M.E.; HARPER, J.L.; TOWNSEND, C.R. **Ecology**. Oxford: Blackwell Science, 1999. 1068 p.

BHATKAR, A.P. Orientation and defense of ladybeetles (Coleoptera: Coccinellidae), following ant trail in search of aphids. **Folia Entomologica Mexicana**, Mexico, v. 53, p. 75-85, 1982.

BLACKMAN, R.L. Reproduction, cytogenetics and development. In: MINKS, A.K.; HARREWIJN, P. (Eds.). **Aphids: their biology, natural enemies and control**. Amsterdam: Elsevier, 1987. p. 163-191. (World Crop Pests, v. 2A)

BLACKMAN, R.L. Stability and variation in aphid clonal lineages. **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v. 11, p. 259-277, 1979.

BOLTON, B. **A New and General Catalogue of the Ants of the World**. Cambridge, MA: Harvard University Press, 1985. 504 p.

BOUCHER, D.H.; JAMES, S.; KEELER, K.H. The ecology of mutualism. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 13, p. 315-47, 1982.

BRADLEY, G.A. Effect of *Formica obscuripes* (Hymenoptera: Formicidae) on the predator-prey relationship between *Hyperaspis congressis* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Toumeyella numismaticum* (Homoptera: Coccidae). **Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 105, p. 1113-1118, 1973.

BRISTOW, C.M. Are ant-aphid associations a tritrophic interaction? Oleander aphids and Argentine ants. **Oecologia**, Berlin, v. 87, p. 514-521, 1991.

BRISTOW, C.M. Differential benefits from ant attendance to two species of Homoptera on New York ironweed. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 53, p. 715-726, 1984.

BRONSTEIN, J.L. Conditional outcomes in mutualistic interactions. **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v. 9, p. 214-217, 1994.

BUCKLEY, R. Interactions involving plants, Homoptera and ants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 18, p. 111-135, 1987.

BUCKLEY, R.C. Interactions involving plants, homoptera, and ants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Stanford, v. 18, p. 11-138, 1987.

CANNON, C.A. **Nutritional ecology of the carpenter ant *Camponotus pennsylvanicus* (De Geer)**: macronutrient preference and particle consumption. Virginia: Virginia Tech, 1998. 158 p. Thesis (PhD) - Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia, USA. 1998.

CARDOSO, J.T.; LÁZZARI, S.M.N. Comparative biology of *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus, 1763) and *Hippodamia convergens* Guérin-Méneville, 1842 (Coleoptera, Coccinellidae) focusing on the control of *Cinara* spp. (Hemiptera, Aphididae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 47, n. 3, p. 443-446, 2003.

CARLIN, N.F.; HÖLLDOBLER, B. The kin recognition system of carpenter ants (*Camponotus* sp.). I. Hierarchical cues in small colonies. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, New York, v. 19, p. 123-134, 1986.

CARVALHO, G.R.; MACLEAN, N.; WRATTEN, S.D.; CARTER, R.E.; THURSTON, J.P.O. Differentiation of aphid clones using DNA fingerprints from individual aphids. **Proceedings of the Royal Society of London B**, London, v. 24, p. 109-114, 1991.

CARVALHO, S.A.; MULLER, G.W.; POMPEU JR., J.; CASTRO, J.L. Transmissão do agente causal da enação das nervuras-galha lenhosas dos citros por *Toxoptera citricidus* Kirk. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 95-98, 2001.

CASSILL, D.L.; TSCHINKEL, W.R. Regulation of diet in the fire ant, *Solenopsis invicta*. **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 12, p. 307-328, 1999.

CHAGAS, E.F.D.; NETO, S.S.; BRAZ, A.J.B.P.; MATEUS, C.P.B.; COELHO, I.P. Population fluctuations of pest and predator insects in citrus. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Serie Agronomia**, Rio de Janeiro, v. 17, p. 817-824, 1982.

CUDJOE, A.R.; NEUENSCHWANDER, P.; COPLAND, M.J.W. Interference by ants in biological control of the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* (Hemiptera: Pseudococcidae) in Ghana. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 83, p. 15-22, 1993.

CUSHMAN, J.H.; ADDICOTT, J.F. Conditional interactions in ant-plant-herbivore mutualism. In: HUXLEY, C.R.; CUTLER, D.F. (Eds.). **Ant-plant interactions**. Oxford, UK: Oxford University Press, 1991. p. 92-103.

CUSHMAN, J.H.; WHITHAM, T.G. Conditional mutualism in membracid-ant association: temporal, age-specific, and density-dependence effects. **Ecology**, Tempe, v. 70, p. 1040-1047, 1989.

DALOZE, D.; BRAEKMAN, J.C.; PASTEELS, J.M. Ladybird defense alkaloids: structural, chemotaxonomic and biosynthetic aspects (Col.: Coccinellidae). **Chemoecology**, Basel, v. 5/6, n. 3/4, p. 173-183, 1995.

DEGNAN, P.H.; LAZARUS, A.B.; WERNEGREN, J.J. Genome sequence of *Blochmannia pennsylvanicus* indicates parallel evolutionary trends among bacterial mutualists of insects. **Genome Research**, Cold Spring Harbor, v. 15, p. 1023-1033, 2005.

DEGNAN, P.H.; LAZARUS, A.B.; BROCK, C.D.; WERNEGREN, J.J. Host-symbiont stability and fast evolutionary rates in an ant-bacterium association: cospeciation of *Camponotus* species and their endosymbionts, Candidatus *Blochmannia*. **Systematics Biology**, Oxford, UK, v. 53, p. 95-110, 2004.

DELFINO, M.A.; BUFFA, L. Afideos en plantas ornamentales de Córdoba, Argentina (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 37, n. 1, p. 74-80, 2008.

DIEHL, E.; JUNQUEIRA, L.K.; BERTI-FILHO, E. Ant and termite mound coinhabitants in the wetlands of Santo Antonio da Patrulha, Rio Grande do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 65, n. 3. p. 431-437, 2005.

DISNEY, R.H.L.; MAJERUS, M.E.N.; WALPOLE, M. Phoridae (Diptera) parasitising Coccinellidae (Coleoptera). **Entomologist**, London, v. 113, p. 28-42, 1994.

DIXON, A.F.G. **Aphid ecology: an optimization approach**. 2<sup>nd</sup> ed. London: Chapman & Hall, 1998. 300 p.

DIXON, A.F.G. Aphid ecology: life cycles, polymorphism and population regulation. **Annual Review of Ecological Systematics**, Palo Alto, v. 8, p. 329-353, 1977.

DIXON, A.F.G. **Insect herbivore-host dynamics: tree dwelling aphids**. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2004. 208 p.

EASTOP, V. The biology of the principal aphid virus vectors. In: PLUMB, R.T.; THRESH, J.M. (Eds.). **Plant Virus Epidemiology**. Oxford, UK: Blackwell Scientific Press, 1983. p.115-132.

EDWARDS, V.E.; KHAN, A. Development of a fecundity life table for *Toxoptera citricida* on *Citrus aurantifolia*. **Insect Environment**, Bangalore, v. 14, n. 3, p. 99-102, 2008.

EISNER, T.; EISNER, M. Operation and defensive role of "gin traps" in a coccinellid pupa (*Cycloneda sanguinea*). **Psyche: a Journal of Entomology**, Cambridge, Mass., v. 99, p. 265-274, 1992.

EISNER, T.; HICKS, K.; EISNER, M.; ROBSON, D.S. "Wolf-in-sheep's-clothing". Strategy of a predaceous insect larva. **Science**, Washington, v. 199, n. 4330, p. 790-794, 1978.

EL-ZIADY, S.; KENNEDY, J.S. Beneficial effects of the common garden ant, *Lasius niger* L., on the black bean aphid, *Aphis fabae* Scopoli. **Proceedings of the Royal Entomological Society of London A**, London, v. 31, p. 61-65, 1956.

EL-ZIADY, S. Further effects of *Lasius niger* L. on *Aphis fabae* Scopoli. **Proceedings of the Royal Entomological Society of London A**, London, v. 35, p. 3-38, 1960.

FELDHAAR, H.; STRAKA, J.; KRISCHKE, M.; BERTHOLD, K.; STOLL, S.; MUELLER, M.J.; GROSS, R. Nutritional upgrading for omnivorous carpenter ants by the endosymbiont *Blochmannia*. **BMC Biology**, London, v. 5, n. 48, doi:10.1186/1741-7007-5-48, 2007.

FLATT, T.; WEISSER, W.W. The effects of mutualistic ants on aphid life history traits. **Ecology**, Tempe, v. 81, n. 12, p. 3522-3529, 2000.

FOLGARAIT, P.; GOROSITO, N.; PIZZIO, R.; ROSSI, J.P.; FERNÁNDEZ, J. *Camponotus punctulatus* ant's demography: a temporal study across land-use types and spatial scales. **Insectes Sociaux**, Paris, v. 54, p. 42-52, 2007.

FOLGARAIT, P.J.; PERELMAN, S.; GOROSITO, N.; PIZZIO, R.; FERNÁNDEZ, J. Effects of *Camponotus punctulatus* ants on plant community composition and soil properties across land use histories. **Plant Ecology**, Dordrecht, v. 163, p. 1-13, 2002.

FOWLER, H.G.; ROBERTS, R.B. Foraging behavior of the carpenter ant *Camponotus pennsylvanicus* (De Geer) (Hymenoptera: Formicidae) in New Jersey. **Journal of the Kansas Entomological Society**, Manhattan, v. 53, p. 295-304, 1980.

FRAZER, B.D.; VAN DEN BOSCH, R. Biological control of the walnut aphid in California: the inter-relationship of the aphid and its parasite. **Environmental Entomology**, College Park, v. 2, p. 561-568, 1973.

GALATOIRE, I. Vital statistics of *Toxoptera citricidus* (Kirkaldy) (Homoptera: Aphididae). **Revista de la Sociedad Entomologica Argentina**, Buenos Aires, v. 42, p. 353-368, 1983.

GARNSEY, S.M.; LEE, R.F. Tristeza. In: WHITESIDE, J.O.; GARNSEY, S.M.; TIMMER, L.W. (Eds.). **Compendium of citrus disease**. Saint Paul: APS Press, 1993. p. 48-50.

GIL, R.; SILVA, F.J.; ZIENTZ, E.; DELMOTTE, F.; GONZALEZ-CANDELAS, F.; LATORRE, A.; RAUSELL, C.; KAMERBEEK, J.; GADAU, J.; HÖLLDOBLER, B. The genome sequence of *Blochmannia floridanus*: comparative analysis of reduced genomes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 100, p. 9388-9393, 2003.

GODEAU, J.-F. **Adaptations à la cohabitation avec des fourmis: le cas de *Coccinella magnifica* Redtenbacher**. 1997. 42 p. (DEA thesis) - Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux, Gembloux Agro-Bio Tech, Gembloux, Belgique. 1997.

GODFREY, L.D.; ROSENHEIM, J.A.; GOODELL, P.B. Cotton aphid emerges as major pest in SJV cotton. **California Agriculture**, Berkeley, v. 54, n. 6, p. 26-29, 2000.

GOROSITO, N.B. ***Camponotus punctulatus*: su rol en la comunidad de hormigas, colonización de nuevas áreas y causas de su explosión demográfica frente a un disturbio agrícola**. 2007. 353 p. (Tesis (Doctoral)) – Universidad Nacional de Quilmes, Bernal. 2007.

HAGEN, K.S. Nutritional ecology of terrestrial insect predators. In: SLANSKY JR, F.; RODRIGUEZ, J.G. (Eds.). **Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates**. New York: Wiley-Interscience, 1987. p. 533-578.

HANKS, L.M.; SADOFF, C.S. The effect of ants on nymphal survivorship of *Coccus viridis* (Homoptera: Coccidae). **Biotropica**, Washington, v. 22, n. 2, p. 210-213, 1990.

HAPP, G.M.; EISNER, T. Hemorrhage in a coccinellid beetle and its repellent effects on ants. **Science**, Washington, v. 134, p. 329-331, 1961.

HOLLAND, J.N.; DEANGELIS, D.L.; BRONSTEIN, J.L. Population dynamics and mutualism: functional responses of benefits and costs. **American Naturalist**, Chicago, v. 159, p. 231-244, 2002.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E.O. **The Ants**. Cambridge, Mass.: Harvard University Press, 1990. 732p.

HOPKINS, T.L.; KRAMER, K.J. Insect cuticle sclerotization. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 37, p. 273-302, 1992.

ITIOKA, T.; INOUE, T. The role of predators and attendant ants in the regulation of a population of the citrus mealybug *Pseudococcus citriculus* in a Satsuma orange orchard. **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 31, p. 195-202, 1996.

JIGGINS, C.; MAJERUS, M.E.N.; GOUGH, U. Ant defense of colonies of *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae), against predation by ladybirds. **British Journal of Entomology and Natural History**, London, v. 6, p. 129-138, 1993.

JONES, T.H.; BLUM, M.S. Arthropod alkaloids: distribution, functions, and chemistry. In: PELLETIER, S.W. (Ed.). **Alkaloids: chemical and biological perspectives**. New York: Wiley, 1983. vol. 1, p. 33-84

KANEKO, S. Impacts of two ants, *Lasius niger* and *Pristomyrmex pungens* (Hymenoptera: Formicidae), attending the brown citrus aphid, *Toxoptera citricidus* (Homoptera: Aphididae), on the parasitism of the aphid by the primary parasitoid, *Lysiphlebus japonicus* (Hymenoptera: Aphidiidae), and its larval survival. **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 38, n. 3, p. 347-357, 2003.

KATO, T. Effect of ants associated with citrus aphids on the hymenopterous parasite, *Lysiphlebus japonicus* Ashmead. **Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology Chugoku Branch**, Tokyo, v. 21, p. 13-19, 1979.

KLINGAUF, F.A. Host plant finding and acceptance. In: MINKS, A.K.; HARREWIJN, P. (Eds.). **Aphids: their biology, natural enemies and control**. Amsterdam: Elsevier, 1989. p. 209-223.

KOMAZAKI, S. Effects of constant temperatures on population growth of three aphid species, *Toxoptera citricidus* (Kirkaldy), *Aphis citricola* van der Goot and *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) on *Citrus*. **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 17, p. 75-81, 1982.

KROHNE, D.T. **General Ecology**. Belmont, CA: Wadsworth, 1998. 722 p.

KUSNEZOV, N. El género *Camponotus* en la Argentina. **Acta Zoologica Lilloana**, Tucuman, v. 12, p. 183-252, 1951.

LAZZARI, S.M.; LAZZAROTTO, C.M. Distribuição altitudinal e sazonal de afídeos (Hemiptera, Aphididae) na Serra do Mar, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, São Paulo, v. 22, n. 4, p. 891-897, 2005.

LEVIEUX, J.; LOUIS, D. Food of tropical ants. II. **Insectes Sociaux**, Paris, v. 22, n. 4, p. 391-404, 1975.

LEVIEUX, J. Food of tropical ants. I. **Insectes Sociaux**, Paris, v. 22, n. 4, 381-390, 1975.

LIERE, H.; PERFECTO, I. Cheating on a mutualism: indirect benefits of ant attendance to a coccidophagous coccinellid. **Environmental Entomology**, College Park, v. 37, n. 1, p. 143-149, 2008.

LOHMAN, D.J.; LIAO, Q.; PIERCE, N.E. Convergence of chemical mimicry in a guild of aphid predators. **Ecological Entomology**, London, v. 31, p. 41-51, 2006.

MACKAUER, M.; VÖLKL, W. Regulation of aphid populations by aphidiid wasps: does parasitoid foraging behaviour of hyperparasitism limit impact? **Oecologia**, Berlin, v. 94, p. 339-350, 1993.

MAHDI, T.; WHITTAKER, J.B. Do birch trees (*Betula pendula*) grow better if foraged by wood ants? **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 62, p. 101-116, 1993.

MAIA, A.H.N.; LUIZ, A.J.B.; CAMPANHOLA, C. Statistical inference on associated fertility life table parameters using jackknife technique: computational aspects. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 93, n. 2, p. 511-518, 2000.

MAJERUS, M.E.N. *Coccinella magnifica* (Redtenbacher): a myrmecophilous ladybird. **British Journal of Entomology and Natural History**, London, v. 2, p. 97-106, 1989.

MAJERUS, M.E.N. **Ladybirds**. London: Harper Collins, 1994. 368 p. (New Naturalist Series, No. 81)

MAJERUS, M.E.N.; SLOGGETT, J.J.; GODEAU, J.F.; HEMPTINNE, J.L. Interactions between ants and aphidophagous and coccidophagous ladybirds. **Population Ecology**, Tokyo, v. 49, p. 15-27, 2007.

MALTAIS, J.B.; AUCLAIR, J.L. Occurrence of amino acids in the honeydew of the crescent-marked lily aphid, *Myzus circumflexus* (Buck.). **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 30, n. 4, p. 191-193, 1952.

MARKIN, G.P. Food distribution within laboratory colonies of the Argentine ant, *Iridomyrmex humilis* (Mayr). **Insectes Sociaux**, Paris, v. 17, p. 127-158, 1970.

MARPLES, N.M. 1993. Is the alkaloid in 2 spot ladybirds (*Adalia bipunctata*) a defence against ant predation? **Chemoecology**, Basel, v. 4, p. 29-32, 1993.

MARROQUÍN, C.; OLMOS, A.; GORRIS, M.T.; BERTOLINI, E.; MARTÍNEZ, C.; CARBONELL, E.A.; HERMOSO DE MENDONZA, A.; CAMBRA, M. Estimation of the number of aphids carrying *Citrus Tristeza Virus* that visit adult citrus trees. **Virus Research**, Amsterdam, v. 100, p. 101-108, 2004.

McLAIN, D.K. Relationships among ants, aphids, and coccinellids on wild lettuce. **Journal of the Georgia Entomological Society**, Athens, v. 15, p. 417-418, 1980.

- MEYER, J.S.; IGERSELL, C.G.; MCDONALD, L.L.; BOYCE, M.S. Estimating uncertainty in population growth rates: jackknife vs. bootstrap techniques. **Ecology**, Tempe, v. 67, p. 1156-1166, 1986.
- MICHAUD, J.P.; BROWNING, H.W. Seasonal abundance of the brown citrus aphid, *Toxoptera citricida* (Homoptera: Aphididae) and its natural enemies in Puerto Rico. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 82, p. 424-447, 1999.
- MICHAUD, J.P. A review of the literature on *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) (Homoptera: Aphididae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 81, p. 37-61, 1998.
- MICHAUD, J.P. Development and reproduction of ladybeetles (Coleoptera: Coccinellidae) on the citrus aphids *Aphis spiraecola* Patch and *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) (Homoptera: Aphididae). **Biological Control**, Orlando, v. 18, n. 3, p. 287-297, 2000.
- MICHAUD, J.P. Sources of mortality in colonies of brown citrus aphid, *Toxoptera citricida*. **BioControl**, Dordrecht, v. 44, p. 347-367, 1999.
- MOORE, B.P.; BROWN, W.V.; ROTHSCHILD, M. Methylalkylpyrazines in aposematic insects, their hostplants and mimics. **Chemoecology**, Basel, v. 1, p. 43-51, 1990.
- MORAIS, R.M. **Artrópodes predadores em copas de *Citrus deliciosa* Tenore (Rutaceae) var. Montenegrina, sob manejo orgânico, em Montenegro, RS.** 2006. 97 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.
- MÜLLER, G.W.; NEGRI, J.D.; AGUILAR-VILDOSO, C.I.; MATTOS JR., D.; POMPEU JR., J. SOBRINHO, J.T.; CARVALHO, S.A.; GIROTTO, L.F.; MACHADO, M.A. Morte súbita dos citros: uma nova doença na citricultura brasileira. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 23, n. 2, p. 371-386, 2002.
- NAULT, L.R. Arthropod transmission of plant viruses: a new synthesis. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 90, p. 522-541, 1997.
- NEVO, E.; COLL, M. Effect of nitrogen fertilization on *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae): variation in size, color, and reproduction. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 94, p. 27-32, 2001.
- NOVAK, H. The influence of ant attendance on larval parasitism in hawthorn psyllids (Homoptera: Psyllidae). **Oecologia**, Berlin, v. 99, p. 72-78, 1994.
- OFFENBERG, J. Balancing between mutualism and exploitation: the symbiotic interaction between *Lasius* ants and aphids. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, New York, v. 49, p. 304-310, 2001.
- OLIVER, T.H.; MASHANOVA, A.; LEATHER, S.R.; COOK, J.M.; JANSEN, V.A.A. Ant semiochemicals limit apterous aphid dispersal. **Proceedings of the Royal Society of London B**, London, v. 274, p. 3127-3131, 2007.
- ORTIZ, M.S. Aphididae (Homoptera) from the jungle edge: Tingo Maria (Huanuco, Peru). **Revista Peruana de Entomologia**, Lima, v. 23, p. 119-120, 1981.

PASTEELS, J.M.; DEROE, C.; TURSCH, B.; BRAKEMAN, J.C.; DALOZE, D.; HOOTELE, C. Distribution et activites des alcaloides defensifs des Coccinellidae. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 19, p. 1771-1784, 1973.

PEÑA-MARTINEZ, R. Identificación de afidos de importância agricola. In: URIAS, M.C.; RODRÍGUEZ, M.; ALEJANDRE, A.T. (Eds.). **Afidos como vectores de virus en México**. México: Centro de Fitopatología, 1992. v. 2, p.1-135.

PONTIN, A.J. Some records of predators and parasites adapted to attack aphids attended by ants. **Entomologist's Monthly Magazine**, Oxford, v. 95, p. 154-155, 1959.

POPE, R.D. Wax production by coccinellid larvae (Coleoptera). **Systematic Entomology**, Oxford, v. 4, p.171-196, 1979.

PRIMIANO, E.L.V. **Dinâmica populacional de afídeos (Hemiptera: Aphididae) em árvores cítricas no município de Nova Granada - SP**. 2005. 74 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2005.

RAUCH, G.; SIMON, J.C.; CHAUBET, B.; HAACK, L.; FLATT, T.; WEISSER, W.W. The influence of ant-attendance on aphid behaviour investigated with the electrical penetration graph technique. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 102, n. 1, p. 13-20, 2002.

REIMER, N.J.; COPE, M.; YASUDA, G. Interference of *Pheidole megacephala* (Hymenoptera: Formicidae) with biological control of *Coccus viridis* (Homoptera: Coccidae) in coffee. **Biological Control**, Orlando, v. 22, p. 483-488, 1993.

REMAUDIÈRE, G.; REMAUDIÈRE, M. **Catalogue des Aphididae du Monde, Homoptera Aphidoidea**. Paris: INRA, 1997. 473 p.

RETANA, J.; CERDA, X.; ALSINA, A.; BOSCH, J. Field observations of the ant *Camponotus sylvaticus* (Hymenoptera: Formicidae): Diet and activity patterns. **Acta Oecologica**, Paris, v. 9, n. 1, p. 101-109, 1988.

RICHARDS, A.M. Biology and defensive adaptations in *Rodatus major* (Coleoptera: Coccinellidae) and its prey, *Monophlebus pilosior* (Hemiptera: Margarodidae). **Journal of Zoology**, London, v. 205, n. 2, p. 287-295, 1985.

RICHARDS, A.M. Defence adaptations and behaviour in *Scymnodes lividigaster* (Coleoptera: Coccinellidae). **Journal of Zoology**, London, v. 192, n. 2, p. 157-168, 1980.

RICO-GRAY, V.; OLIVEIRA, P.S. **The ecology and evolution of ant-plant interactions**. Chicago: University of Chicago Press, 2007. 320 p.

RICO-GRAY, V.; STERNBERG, L. Carbon-isotopic evidence for seasonal change in feeding habits of *Camponotus planatus* Roger (Formicidae) in Yucatan, Mexico. **Biotropica**, Washington, v. 23, n. 1, p. 93-95, 1991.



RICO-GRAY, V. Use of plant-derived food resources by ants in the dry tropical lowlands of coastal Veracruz, Mexico. **Biotropica**, Washington, v. 25, p. 301-315, 1993.

ROCHA-PEÑA, M.A.; LEE, R.F.; LASTRA, R.; NIBLETT, C.L.; OCHOA-CORONA, F.M.; GARNSEY, S.M.; YOKOMI, R.K. *Citrus tristeza virus* and its aphid vector *Toxoptera citricida*: Threats to citrus production in the Caribbean and Central and North America. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 79, p. 437-443, 1995.

RODRIGUES, W.C.; SPOLIDORO, M.V.; ZINGER, K.; CASSIANO, P.C.R. Forrageamento de formigas em colônias de *Toxoptera citricida* e *Toxoptera aurantii* (Sternorrhyncha, Aphididae) associados a cultivo orgânico de tangerina cv. poncã. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 21, 2006, Recife. **Resumos...** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2006. CD-ROM.

ROISTACHER, C.N.; BAR-JOSEPH, M. Aphid transmission of tristeza virus: a review. **Phytophylactica**, Pretoria, v. 19, p. 163-167, 1987.

ROISTACHER, C.N. **Graft-transmissible disease of citrus: handbook for detection and diagnosis**. Rome: FAO, 1991. 286 p.

ROISTACHER, C.N. Observations on the decline of sweet orange trees in coastal Peru caused by stem-pitting tristeza. **FAO Plant Protection Bulletin**, Rome, v. 36, n. 1, p. 19-26, 1988.

ROMAN, M.P.; CAMBRA, M.; JUAREZ, J.; MORENO, P.; DURAN-VILA, N.; TANAKA, F.A.O.; ALVES, E.; KITAJIMA, E.W.; YAMAMOTO, P.T.; BASSANEZI, R.B.; TEIXEIRA, D.C.; JESUS, W.C.; AYRES, A.J.; GIMENES-FERNANDES, N.; RABENSTEISN, F.; GIROTTO, L.F.; BOVE, J.M. Sudden death of citrus in Brazil: a graft-transmissible, bud union disease. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 88, n. 5, p. 453-467, 2004.

SAMESHIMA, S.; HASEGAWA, E.; KITADE, O.; MINAKA, N.; MATSUMOTO, T. Phylogenetic comparison of endosymbionts with their host ants based on molecular evidence. **Zoological Science**, Tokyo, v. 16, p. 993-1000, 1999.

SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT® 9.2** - User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc, 2008.

SAUER, C.; STACKEBRANDT, E.; GADAU, J.; HÖLLDOBLER, B.; GROSS, R. Systematic relationships and cospeciation of bacterial endosymbionts and their carpenter ant host species: proposal of the new taxon *Candidatus Blochmannia* gen. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 50, n. 5, p. 1877-1886, 2000.

SCHUMACHER, E.; PLATNER, C. Nutrient dynamics in a tritrophic system of ants, aphids and beans. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 133, p. 33-46, 2008.

SCHWARZ, R.E. Aphid-borne virus diseases of citrus and their vectors in South Africa. B. Flight activity of citrus aphids. **South African Journal of Agricultural Science**, Pretoria, v. 8, p. 931-940, 1965.

SHINDO, M. Relation between ants and aphids in a citrus orchard. **Proceedings of the Association for Plant Protection of Kyushu**, Tokyo, v. 18, p. 69-71, 1972.

SLOGGETT, J.J.; MAJERUS, M.E.N. Adaptations of *Coccinella magnifica*, a myrmecophilous coccinellid to aggression by wood ants (*Formica rufa* group). II. Larval behaviour, and ladybird oviposition location. **European Journal of Entomology**, Branisovska, v. 100, p. 337-344, 2003.

SLOGGETT, J.J.; MAJERUS, M.E.N. Aphid-mediated coexistence of ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae) and the wood ant *Formica rufa*: seasonal effects, interspecific variability and the evolution of a coccinellid myrmecophile. **Oikos**, Copenhagen, v. 89, p. 345-359, 2000.

SLOGGETT, J.J. **Interactions between coccinellids (Coleoptera) and ants (Hymenoptera: Formicidae), and the evolution of myrmecophily in *Coccinella magnifica* Redtenbacher**. 1998. 245 p. (Thesis (PhD)) - University of Cambridge, Cambridge. 1998.

SLOGGETT, J.J.; WOOD, R.A.; MAJERUS, M.E.N. Adaptations of *Coccinella magnifica* Redtenbacher, a myrmecophilous coccinellid, to aggression by wood ants (*Formica rufa* group). I. Adult behavioral adaptation, its ecological context and evolution. **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 11, p. 889-904, 1998.

SORENSEN, A.A.; VINSON, S.B. Quantitative food distribution studies within laboratory colonies of the imported fire ant, *Solenopsis invicta* Buren. **Insectes Sociaux**, Paris, v. 28, p. 129-160, 1981.

SOUZA-SILVA, C.R.; ILHARCO, F.A. **Afídeos do Brasil e suas plantas hospedeiras (lista preliminar)**. São Carlos: EDUFSCar, 1995. 85 p.

SQUIRE, F. Entomological problems in Bolivia. **International Journal of Pest Management**, London, v. 18, n. 3, p. 249-268, 1972.

STADLER, B.; DIXON, A.F.G. Ant attendance in aphids: why different degrees of myrmecophily? **Ecological Entomology**, London, v. 24, p. 363-69, 1999.

STADLER, B.; DIXON, A.F.G. Costs of ant attendance for aphids. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 67, p. 454-459, 1998.

STADLER, B.; DIXON, A.F.G. **Mutualism: ants and their insect partners**. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2008. 219 p.

STADLER, B.; DIXON, A.F.G.; KINDLMANN, P. Relative fitness of aphids: effects of plant quality and ants. **Ecology Letters**, Oxford, v. 5, p. 216-222, 2002.

STADLER, B.; FIEDLER, K.; KAWECKI, T.J.; WEISSER, W.W. Costs and benefits for phytophagous myrmecophiles: when ants are not always available. **Oikos**, Copenhagen, v. 92, p. 467-478, 2001.

STADLER, B.; MICHALZIK, B.; MÜLLER, T. Linking aphid ecology with nutrient fluxes in a coniferous forest. **Ecology**, Oxford, v. 79, p. 1514-1525, 1998.

STÄGER, R. Warum werden gewisse Insekten von den Ameisen nicht verzehrt? **Zeitschrift für wissenschaftliche Insektenbiologie**, Berlin, v. 24, p. 227-230, 1929.

STECHMANN, D.H., VÖLKL, W.; STARY, P. Ant-attendance as a critical factor in the biological control of the banana aphid *Pentalonia nigronervosa* Coq. (Hom. Aphididae) in Oceania. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 120, p. 119-123, 1996.

STRAKA, J.; FELDHAAR, H. Development of a chemically defined diet for ants. **Insectes Sociaux**, Paris, v. 54, p. 100-104, 2007.

STRONG, F.E. Detection of lipids in the honeydew of an aphid. **Nature**, London, v. 205, p. 1242, 1965.

SYMES, C.B. Notes on the black citrus aphid. **Rhodesia Agricultural Journal**, Salisbury, v. 11, p. 612-626, 1924.

TAKEDA, S.; KINOMURA, K.; SAKUAI, H. Effects of ant-attendance on the honeydew excretion and larviposition of the cowpea aphid, *Aphis craccivora* Koch. **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 17, p. 133-135, 1982.

TAUBER, M.J., TAUBER, C.A., RUBERSON, J.R.; MILBRATH, L.R.; ALBUQUERQUE, G.S. Evolution of prey specificity via three steps. **Experientia**, Basel, v. 49, p. 1113-1117, 1993.

TIMMER, L.W.; SCORZA, R.; LEE, R.F. Incidence of tristeza and other *Citrus* diseases in Bolivia. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 65, p. 515-517, 1981.

TSAI, J.H.; WANG, K.H. Life table study of brown citrus aphid (Homoptera: Aphididae) at different temperatures. **Environmental Entomology**, College Park, v. 28, p. 412-419, 1999.

TSAI, J.H. Development, survivorship, and reproduction of *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) (Homoptera: Aphididae) on eight host plants. **Environmental Entomology**, College Park, v. 27, n. 5, p. 1190-1195, 1998.

TURSCH, B.; BRAEKMAN, J.C.; DALOZE, D. Arthropod alkaloids. **Experientia**, Basel, v. 32, p. 401-407, 1976.

VAN REGENMORTEL, M.H.V.; FAUQUET, C.M.; BISHOP, D.H.L.; CARSTENS, E.; ESTES, M.K.; LEMON, S.; MANILLOF, J.; MAYO, M.A.; MCGEOTH, D.J.; PRINGLE, C.R.; WICKER, R. **Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses**. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego: Academic Press, 2000. 1162 p.

VENDRAMIM, J.D.; NAKANO, O. Aspectos biológicos de *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Homoptera: Aphididae) em algodoeiro. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 10, n. 2, p. 163-173, 1981.

VINSON, S.B.; SCARBOROUGH, T.A. Impact of the imported fire ant on laboratory populations of cotton aphid (*Aphis gossypii*) predators. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 72, p. 107-111, 1989.

VINSON, S.B.; SCARBOROUGH, T.A. Interactions between *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae), *Rhopalosiphum maidis* (Homoptera: Aphididae), and the parasitoid *Lysiphlebus testaceipes* Cresson (Hymenoptera: Aphidiidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 84, p. 158-164, 1991.

VÖLKL, W.; VOHLAND, K. Wax covers in larvae of two *Scymnus* species: do they enhance coccinellid larval survival? **Oecologia**, Berlin, v. 107, p. 498-503, 1996.

VÖLKL, W. Aphids or their parasitoids: who actually benefits from ant-attendance? **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 61, p. 273-281, 1992.

VÖLKL, W. Behavioral and morphological adaptations of the coccinellid, *Platynaspis luteorubra*, for exploiting ant-attended resources (Coleoptera: Coccinellidae). **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 8, p. 653-670, 1995.

VÖLKL, W. Interactions between ants and aphid parasitoids: patterns and consequences for resource utilization. In: DETTNER, K., BAUER, G.; VÖLKL, W. (Eds.). **Vertical food web interactions: evolutionary patterns and driving forces**. Berlin: Springer-Verlag, 1997. p. 225-240. (Ecological Studies, v. 130)

VÖLKL, W.; WOODRING, J.; FISCHER, M.; LORENZ, M.W.; HOFFMANN, K.H. Ant-aphid mutualisms: the impact of honeydew production and honeydew sugar composition on ant preferences. **Oecologia**, Berlin, v. 118, p. 483-491, 1999.

WAY, M.J. Mutualism between ants and honeydew-producing homoptera. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 8, p. 307-344, 1963.

WESTFALL, P.H.; TOBIAS, R.D.; ROM, D.; WOLFINGER, R.D.; HOCHBERG, Y. **Multiple Comparisons and Multiple Tests Using the SAS System**. Cary, NC: SAS Institute Inc., 1999.

WHEELER, W.M. **Ants: their structure, development and behavior**. New York: Columbia University Press, 1910. 663 p.

WITTE, L.; EHMKE, A.; HARTMANN, T. Interspecific flow of alkaloids from plants via aphids to ladybirds. **Naturwissenschaften**, Berlin, v. 77, p. 540-543, 1990.

YAO, I.; SHIBAO, H.; AKIMOTO, S. Costs and benefits of ant attendance to the drepanosiphid aphid *Tuberculatus quercicola*. **Oikos**, Copenhagen, v. 89, p. 3-10, 2000.

YOKOMI, R.K. Potential for biological control of *Toxoptera citricidus* (Kirkaldy). In: LASTRA, R.; OCHOA, F.L.; LEE, R.F.; NIBLETT, C.L.; ROCHA-PEÑA, M.A.; GARNSEY, S.M.; YOKOMI, R.K. (Eds.). **Citrus tristeza virus and Toxoptera citricidus in Central America: Development of Management Strategies and the Use of Biotechnology for Control**. Maracay, Venezuela: CATIE-University of Florida-INIFAP/SAH-Universidad de Central de Venezuela-USDA, 1992. p. 194-198.

YOKOMI, R.K.; LASTRA, R.; STOETZEL, M.B.; DAMSTEEGT, D.; LEE, R.F.; GARNSEY, S.M.; GOTTWALD, T.R.; ROCHA-PEÑA, M.A.; AND NIBLETT, C.L. Establishment of the Brown citrus aphid (Homoptera: Aphididae) in Central America and the Caribbean Basin and transmission of the *Citrus tristeza virus*. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 87, p. 1078-1085, 1994.

YOO, H.J.S.; HOLWAY, D.A. Context-dependence in an ant-aphid mutualism: direct effects of tending intensity on aphid performance. **Ecological Entomology**, London, v. 36, p. 450-458, 2011.

ZIENTZ, E.; DANDEKAR, T.; GROSS, R. Metabolic interdependence of obligate intracellular bacteria and their insect hosts. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, New York, v. 68, p. 745-770, 2004.