

Crisleide Maria Lazzarotto

**Adaptabilidade das espécies exóticas *Greenidea ficicola* Takahashi e
Greenidea psidii Van Der Goot (Hemiptera: Aphididae)
modelada pela Lógica Fuzzy**

Tese apresentada à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas

Orientadora: Profa. Dra. Sonia M. N. Lazzari
Co-orientadora: Dra. Regina Célia Zonta-de-Carvalho

Curitiba
2009

AGRADEÇO

Pela vida
Pela esperança
Pelo amor
Pela certeza de que este trabalho foi
mais uma oportunidade permitida por
Deus e que Ele estará sempre
presente em minha vida!

DEDICO

Aos meus pais
Algacir (*in memoriam*) e Antonia
Pelo carinho sempre presente, incentivo e por
serem exemplo de caráter em minha vida

À minha querida irmã
Deise
Sempre presente, sempre ouvinte, sempre incentivadora

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora

Professora Dra. Sonia Lazzari, ajudadora, apoiadora, incentivadora, incansável em ensinar, em proporcionar oportunidades, em esperar para que eu pudesse galgar uma milha a mais; obrigada pelo grande privilégio de usufruir sua competência e sensatez e, acima de tudo, *thanks so much* pelo carinho e amizade!

À minha irmã

Deise, fiel amiga, paciente em minhas tantas questões “Dom Pedro morreu???” , obrigada por tantos momentos agradáveis, felizes e descontraídos. Obrigada por introduzir-me ao conhecimento da Lógica Fuzzy e me ensinar e apoiar durante a realização deste trabalho. Dionizinha, por estar presente em minha vida.

Ao meu irmão

Dílson, pra mim você tem sido um exemplo de superação!

Aos meus queridos sobrinhos,

Daniel, Thaíz e Luane, vocês me ensinam muito nesta vida, sabiam?

À minha querida família

Tios(as), primos(as), e Lazzari family sempre me encorajando e me colocando diante do Pai e pelo interesse demonstrado em que eu vencesse mais esse desafio.

Aos meus grandes e fiéis amigos

Detinha, Eliane e Jean, o mais novo integrante do grupo; Lena e Marleide. Detinha, valeram as coletas! Muito obrigada pela sua incansável e fiel ajuda durante dois anos! Obrigada por vocês fazerem parte da minha vida. “Amôcêis”.

Às amizades antigas e novas feitas durante o curso

Josiane (Josi muito obrigada pela companhia nas viagens de coleta, foram semanas cansativas, mas muito agradáveis), Mariza, Dani, Jana, Gabrielzinho, Adelita, Scheila (pelas horas juntas no lab molecular), Fabi, Camila, Amanda, Caito, Marina, Angela, Vanusa, Anderson, e Paula (bem no finalzinho, mas expressiva).

Aos colegas e amigos de curso

....pelos bate-papos de corredor

Aos professores

....que colaboraram para o meu aperfeiçoamento como profissional.

À Dra. Susete Penteado

Pelo constante auxílio e ensino com a técnica EPG no Laboratório de Entomologia da Embrapa Florestas, muito obrigada por sempre disponibilizar do seu tempo para me apoiar e obrigada pelo seu carinho e amizade.

À Dra. Regina Zonta-de-Carvalho

Pela ajuda no início do projeto e também pela disponibilização dos equipamentos no Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti, SEAB e ajuda para obtenção dos dados morfométricos dos afídeos e também pela co-orientação, obrigada.

Aos que ajudaram na molecular

Valter, muito obrigada pela tua disponibilidade em ajudar e correr as amostras na Bioquímica, aprendi um montão com você. Ao prof. Dr. Leonardo que auxiliou com o software NTSYS e ao prof. Dr Emanuel em disponibilizar a infraestrutura do depto de Bioquímica para as análises com AFLP. À Milena do LAMEF pelas dicas com os marcadores dominantes e à você Liana, que com paciência ensinou os programas GeneScan e Genotyper.

Aos que ajudaram com amostras de afídeos

Sonia, Josi, William (Costa Rica), Deise, Dalva, Adelita, Angela, Dani, Paulo.

Aos que ajudaram com análises estatísticas

Paula, Jaime e Jonny

Aos membros da banca examinadora, Dr. Ernesto Prado, Dr. Paulo Pereira, Prof. Dr. Mauricio Moura, Profa. Dra. Lucia Massuti e Dra. Regina Zonta de Carvalho pela participação, pela contribuição e críticas construtivas que me auxiliaram a ver mais adiante nas propostas da tese.

À coordenadora Profa. Dra. Luciane Marinoni por fazer “várias” concessões de tempo e espaço, apoiando e contribuindo com a finalização da tese.

Às bibliotecárias

Clarice, Telma e Isabela sempre prontas para ajudar e facilitar minha vida.

Ao Curso de Pós-Graduação, pela oportunidade

Ao Jorge pelas informações e trâmites burocráticos

Ao CNPq pela concessão da bolsa

“O essencial da vida não são os acontecimentos, mas, sim,
o que aprendemos e nos tornamos com eles”. CML

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	5

Capítulo 1. Flutuação populacional de *Greenidea ficicola* e *Greenidea psidii*

em suas respectivas plantas hospedeiras e detectada com

armadilhas amarelas de água	8
Resumo	9
1. Introdução	10
2. Material e Métodos	12
2.1. Monitoramento de <i>Greenidea ficicola</i> com armadilhas e nas plantas	12
2.2. Monitoramento de <i>Greenidea psidii</i> com armadilhas e nas plantas	15
2.3. Análise dos dados	17
3. Resultados e Discussão	17
3.1. Registro de <i>G. ficicola</i> e <i>G. psidii</i> em armadilhas-amarelas-de-água	17
3.2. Flutuação populacional de <i>G. ficicola</i> em <i>F. benjamina</i> e de <i>G. psidii</i> associada à fenologia de <i>P. guajava</i>	24
3.2.1. <i>Greenidea ficicola</i>	24
3.2.2. <i>Greenidea psidii</i>	28
4. Conclusões	33
5. Referências Bibliográficas	34

Capítulo 2. Caracterização do comportamento alimentar de *Greenidea ficicola*

e *Greenidea psidii* pela técnica de monitoramento eletrônico – EPG

40	
Resumo	41
1. Introdução	42
2. Material e Métodos	45
3. Resultados e Discussão	47
4. Conclusões	54
5. Referências Bibliográficas	55

Capítulo 3. Caracterização e diferenciação morfométrica de <i>Greenidea ficicola</i> e <i>Greenidea psidii</i>	59
Resumo	60
1. Introdução	61
2. Material e Métodos	63
2.1. Coleta e preparação dos exemplares de <i>G. ficicola</i> e <i>G. psidii</i>	63
2.2. Morfometria e análise dos resultados	64
3. Resultados e Discussão	67
3.1. Dados morfométricos comparativos entre populações de <i>G. ficicola</i> e <i>G. psidii</i>	67
3.2. Dados morfométricos comparativos entre as populações de <i>G. ficicola</i> e <i>G. psidii</i> e os exemplares da região de origem (asiática) segundo Noordam (1994)	76
3.3. Caracteres morfométricos na diferenciação de <i>G. ficicola</i> e <i>G. psidii</i>	80
4. Conclusão.....	83
5. Referências Bibliográficas	84
Capítulo 4. PCR-AFLP na avaliação da variabilidade populacional de <i>Greenidea ficicola</i> e <i>Greenidea psiidi</i>	89
Resumo	90
1. Introdução	91
2. Material e Métodos	94
2.1. Coleta dos Insetos	94
2.2. Extração do DNA.....	95
2.3. Digestão do DNA.....	95
2.4. Ligação dos Adaptadores.....	95
2.5. Amplificação pré-seletiva	96
2.6. Amplificação seletiva.....	96
2.7. Preparo das amostras amplificadas para obtenção dos fragmentos em seqüenciador ABI Prism® 377	96
2.8. Análise dos fragmentos.....	96
2.9. Análise dos dados	97
3. Resultados e Discussão	97

3.1. Dendrograma de similaridade e distância genética entre as populações de <i>G. ficicola</i> e <i>G. psidii</i>	98
3.2. Estrutura genética das populações de <i>G. ficicola</i> e <i>G. psidii</i>	101
3.3. Isolamento por distância das populações de <i>G. ficicola</i> e <i>G. psidii</i>	105
4. Conclusões	106
5. Referências Bibliográficas	107

Capítulo 5. Grau de adaptabilidade de espécies exóticas ao novo ambiente

modelada pela Lógica Fuzzy	112
Resumo	113
1. Introdução	114
2. Material e Métodos	121
2.1. Modelo biológico	121
2.2. Sistema de Inferência Fuzzy (SIF)	122
3. Resultados e Discussão	125
3.1. Construção do Modelo	125
3.1.1. Categorias para variáveis e indicadores	125
3.1.2. Quais os fatores que favorecem o sucesso adaptativo de uma espécie exótica?	125
3.1.2.1. Indicador “Potencial Ecológico”	128
3.1.2.2. Indicador “Diversidade Genética”	139
3.2. Estudo de casos – Aplicação da Lógica Fuzzy	150
3.2.1. <i>Greenidea ficicola</i>	150
3.2.2. <i>Greenidea psidii</i>	154
3.2.3. <i>Cinara atlantica</i>	158
3.3. Estrutura do Modelo de Inferência Fuzzy	162
4. Conclusões	163
5. Referências Bibliográficas	164
ANEXOS	171
Anexo 1	172
Anexo 2	173
Anexo 3	174
Anexo 4	174

RESUMO

Greenidea ficicola e *Greenidea psidii* são originárias da Ásia e foram registradas no sul do Brasil a partir do ano de 2002. Com o intuito de mensurar o grau de adaptabilidade destas espécies frente aos diversos fatores bióticos, abióticos e genéticos foi construído um modelo biológico através do sistema de inferência fuzzy, no qual foram utilizados os dados avaliados no decorrer desta pesquisa, que teve como objetivos: monitorar a ocorrência de *G. ficicola* e *G. psidii* usando armadilhas-amarelas-de-água e a flutuação populacional em relação aos seus respectivos hospedeiros, *Ficus benjamina* e *Psidium guajava*; caracterizar o comportamento alimentar destes afídeos em suas plantas hospedeiras e diferenciar as duas espécies baseando-se em parâmetros alimentares utilizando a técnica de monitoramento eletrônico – EPG; comparar morfometricamente as duas espécies entre si e as populações de cada uma da região de origem com aquelas das áreas onde foram introduzidas; avaliar, usando marcadores AFLP, a similaridade e distância genética entre as espécies e populações de *G. ficicola* e *G. psidii* e determinar a estrutura genética das populações pelos valores de heterozigiosidade (H_e), índice de fixação (F_{st}) e número de migrantes (N_m), e associar a distância genética com a distância geográfica das populações. O monitoramento dos insetos foi conduzido no município de Morretes, Paraná, durante 20 meses. O pico de maior atividade das formas aladas de *G. psidii* ocorreu na primavera de 2005; para *G. ficicola* foram registrados dois picos populacionais, na primavera de 2005 e na de 2006, quando a precipitação média foi inferior a 50 mm e a temperatura média entre 17 e 19°C. As populações de *G. ficicola* em *F. benjamina* foram mais abundantes nos quadrantes Sudeste (35%) e Sudoeste (31%), sugerindo que a distribuição das colônias sofre influência da temperatura e da insolação sazonal. A análise de regressão múltipla indicou que a fase fenológica em botão floral de *P. guajava* contribuiu com 70% para prever a presença de *G. psidii*. O monitoramento eletrônico do comportamento alimentar mostrou que 97% das 14 fêmeas de *G. ficicola* testadas alcançaram o floema e destas, 57% apresentaram fase floemática sustentada; enquanto que para *G. psidii*, 80% alcançaram o floema e somente 17% com alimentação sustentada no floema. As variáveis canônicas separaram as duas espécies com base na duração total na fase floemática, que contribuiu com a VC1 em 60%, e no tempo de caminhamento dos estiletes, com 71% para a VC2. Pelos dados morfométricos de fêmeas partenogênicas vivíparas ápteras, a população de *G. ficicola* da África do Sul diferiu estatisticamente das demais; para *G. psidii*, as populações da Costa Rica diferiram estatisticamente das do PR e MG, mas não diferiram

das de SC. As populações de *G. ficicola* agrupadas pela latitude apresentaram 55% de concordância pelo índice Kappa; para *G. psidii* o maior valor foi para o agrupamento pela divisão política, 60%. A análise de componentes principais dos dados morfométricos revelou que *G. ficicola* e *G. psidii* formam dois grupos bem distintos e os espécimes da região de origem não ficam totalmente separados das demais populações. O polimorfismo obtido pelo marcador AFLP foi considerado alto para afídeos, com 92% e 89%, respectivamente, para *G. ficicola* e *G. psidii*. A menor distância genética foi entre as populações do PR e SC, com 0,0266 para *G. ficicola* e 0,0627 para *G. psidii*. Os valores de H_e , P e N_m foram maiores e o de F_{st} menor para *G. ficicola* em relação a *G. psidii*. Pelo teste de Mantel, as duas espécies não possuem distribuição de acordo com isolamento pela distância, com valores de $r = -0,613$ ($p = 0,7380$) para *G. ficicola* e $r = -0,437$ ($p = 0,5040$) para *G. psidii*. A relação entre a distância geográfica e o F_{st} apresentou correlação de 84% para *G. ficicola*, condizente com o modelo *stepping-stone*; não houve correlação para as populações de *G. psidii*. A modelagem Fuzzy demonstrou que as espécies de *Greenidea* estão em adaptação na região sul do Brasil, com valor defuzzificado de 0,5 para *G. ficicola* e 0,365 para *G. psidii*, enquanto que o pulgão-gigante-do-pinus, *Cinara atlantica*, usado como referência, está adaptado (0,709) aos cultivos de *Pinus* no sul do Brasil. O modelo de indicadores de adaptabilidade de espécies ao ambiente é válido e robusto para inferência da adaptabilidade das espécies exóticas de afídeos. Enfatiza-se a necessidade do conhecimento prático e teórico do pesquisador, para alimentar o modelo com informações precisas, para que o sistema expresse a realidade do evento ou processo em estudo.

ABSTRACT

Greenidea ficicola and *Greenidea psidii* are native from Asia and were recorded in southern Brazil in 2002. In order to measure the degree of adaptability of these species affected by several biotic, abiotic and genetic factors a biologic model was designed using the fuzzy inference system fed with data obtained from this study. The objectives were: to monitor the occurrence of *G. ficicola* and *G. psidii* using yellow pan traps and plant survey on their hosts, *Ficus benjamina* and *Psidium guajava*; to characterize the feeding behavior of aphids on their host plants and distinguish both species based on feeding parameters using the electronic monitoring technique - EPG; to compare morphometrically the two species and compare the populations of each species from their native region to those from areas where they were introduced; to determine using PCR-AFLP markers, the similarity and genetic distance between species and populations of *G. ficicola* and *G. psidii* and the population genetic structure based on values of heterozygosity (H_e), fixation index (F_{ST}), and number of migrants (N_m), linking the genetic distance with geographical distance. Insect monitoring was conducted in the county of Morretes, Paraná, during 20 months. The population peak of alate morphs activity of *G. psidii* was observed in the spring of 2005, whereas for *G. ficicola* two peaks were recorded in the spring of 2005 and in 2006, when the average rainfall was less than 50 mm and average temperature between 17 and 19°C. Populations of *G. ficicola* in *F. benjamina* were more abundant in the southeast quadrant (35%) and Southwest (31%), suggesting that the distribution of the colonies is influenced by seasonal temperature and sunlight. Multiple regression analysis indicated that the flower budding phenological stage of *P. guajava* contributes with 70% to predict the presence of *G. psidii*. The electronic monitoring of feeding behavior showed that 97% of 14 females of *G. ficicola* tested reached the phloem and of these, 57% exhibited sustained phloem phase, whereas for *G. psidii*, 80% reached the phloem and only 17% exhibited sustained feeding. The canonical variables separated the two species based on the total duration of phloem phase which contributed with 60% in the VC1, and the probing stylet path contributing with 71% for VC2. Based on morphometric data of aptera viviparous parthenogenetic females, the population of South Africa *G. ficicola* statistically differed from the others; the population of *G. psidii* from Costa Rica differed statistically from those of PR and MG, but did not differ from those of SC. Populations of *G. ficicola* grouped by latitude showed 55% of agreement by Kappa index, for *G. psidii* the highest value (60%) was for the grouping based on political division. The principal component analysis of morphometric

data showed that *G. ficicola* and *G. psidii* form two distinct groups and that the specimens from the region of origin are not fully separated from other populations. The polymorphism obtained by AFLP markers was considered high for aphids, with 92% and 89%, respectively, for *G. ficicola* and *G. psidii*. The shortest genetic distance was between the populations of PR and SC, with 0.0266 for *G. ficicola* and 0.0627 for *G. psidii*. The values of H, P and Nm were higher for *G. ficicola* than for *G. psidii*, but the *fst* was lower for the former species. Based on the Mantel test, the two species do not present isolated distribution by distance, with values of $r = -0.613$ ($p = 0.7380$) for *G. ficicola* and $r = -0.437$ ($p = 0.5040$) for *G. psidii*. The relationship between geographical distance and *fst* presented correlation of 84% for *G. ficicola*, consistent with the stepping-stone model, whereas there was no correlation for *G. psidii* populations. The Fuzzy modeling has shown that the *Greenidea* species are on adaptation in southern Brazil, with a defuzzified value of 0.5 for *G. ficicola* and 0.365 for *G. psidii*. On the other hand, the giant conifer aphid, *Cinara atlantica*, used as reference, is adapted (0.709) to cultures of *Pinus* in southern Brazil. The model based on indicators of adaptability of species to the environment is valid and robust to infer for the adaptability of exotic aphid species. We emphasize the need for practical and theoretical knowledge of the researcher, to feed the model with accurate information so that the system expresses the reality of the event or process under study.

Adaptabilidade das espécies exóticas *Greenidea ficicola* Takahashi e *Greenidea psidii* Van Der Goot (Hemiptera: Aphididae) modelada pela Lógica Fuzzy

INTRODUÇÃO

As espécies exóticas apresentam padrões diversos de adaptabilidade evolutiva quando chegam a uma nova região geográfica. Cada espécie possui particularidades no desempenho reprodutivo, nas interações bióticas e abióticas e na variabilidade genética, as quais influenciam o potencial adaptativo. Segundo Cox (2004), em alguns casos, a variabilidade genética pode ser muito limitada devido a poucos indivíduos na população fundadora. As características genéticas de uma população estão diretamente relacionadas com a sua ecologia, ou seja, com a adaptabilidade, o desempenho reprodutivo e a probabilidade de deixarem descendentes ao longo de grandes períodos de tempo (Odum 1988).

A adaptação é influenciada por diversos fatores como, densidade, proporção sexual ou composição genética que capacitam os organismos a sobreviver e se reproduzir frente a inumeráveis contingências que os assediam. No entanto, as espécies não são recipientes passivos de um rigoroso destino externo, mas sim, participantes ativas numa troca dialética entre organismos e ambiente (Futuyma 1997).

A complexidade é inerente a qualquer sistema e não é diferente para o sistema biológico de espécies exóticas. Muitas variáveis estão envolvidas no sucesso ou não das espécies em colonizarem um novo ambiente. Segundo Odum (1988), frequentemente, pensamos em “modelos” como sendo equações e computadores, mas de uma forma geral podem ser representações físicas ou abstratas da estrutura e função de sistemas reais, empregando-se modelos gráficos/visuais e verbais no sentido de facilitar a compreensão de processos ecológicos complexos.

A Teoria Fuzzy foi apresentada por Zadeh (1964), defendendo que os conjuntos não possuem fronteiras bem definidas, ou seja, a transição entre os conjuntos é suave e não abrupta. Representa uma ferramenta útil para tratar dados caracterizados pela incerteza, como é o caso de sistemas ecológicos complexos.

Atualmente, enfrenta-se a problemática mundial das muitas invasões animais e vegetais causando grandes prejuízos ambientais e econômicos, como também o número

crecente de espécies introduzidas para controle biológico expressando notavelmente seu potencial ecológico favorecendo o ataque a não hospedeiros (Cox 2004).

As características comuns da adaptação bem sucedida de insetos colonizadores incluem o uso de um habitat pioneiro, curto tempo de geração, alta fecundidade e razão de crescimento elevada (Sakai *et al.* 2001), características estas, também, inerentes aos afídeos (Hemiptera: Aphididae).

Os afídeos evoluíram, primariamente, em regiões temperadas; no entanto, muitas espécies tornaram-se cosmopolitas, estabelecendo-se em regiões tropicais e subtropicais com adaptações ecológicas diversas. Ao longo do tempo, as espécies de afídeos foram introduzidas, acidentalmente, em outras regiões do mundo. No Brasil, tem havido registros, anualmente, de espécies de afídeos introduzidas, na maioria dos casos, juntamente com suas plantas hospedeiras exóticas.

Dixon (2004) afirma que os afídeos são modelos ideais para se estudar e resolver as questões biológicas. Na Europa existe um amplo conhecimento da afidofauna e das interações afídeos-plantas hospedeiras. Entretanto, a afidofauna em muitas partes do mundo tem sido pouco pesquisada, especialmente no Hemisfério Sul, onde a grande maioria das espécies é introduzida.

A subfamília Greenideinae é dividida em três tribos, subdivididas em 16 gêneros com cerca de 150 espécies, sendo diferenciada das demais subfamílias de Aphididae pelo sífúnculo tubular com muitos pelos longos (Remaudière & Remaudière 1997). A maioria dos gêneros pertencente a esta subfamília é originária da Ásia.

O gênero *Greenidea* compreende cerca de 50 espécies, que colonizam principalmente os brotos e folhas jovens de árvores, particularmente Fagaceae, mas também Moraceae, Betulaceae, Juglandaceae, e mais raramente em membros de famílias mais recentes na escala de evolução como Myrtaceae, Rosaceae e Rubiaceae. Poucas informações do ciclo de vida e formas sexuais estão disponíveis na bibliografia. As formas sexuais das espécies mais comuns e amplamente distribuídas são desconhecidas, sendo consideradas espécies anolocíclicas, reproduzindo-se apenas por partenogênese (Blackman & Eastop 1984).

Recentemente, as espécies *Greenidea ficicola* Takahashi 1921 e *Greenidea psiidi* van der Goot 1916, pertencentes à Greenideinae (Aphididae), foram detectadas no Estado do Paraná, Brasil. A espécie *G. ficicola* foi coletada pela primeira vez em 2002, em armadilhas-amarelas-de-água (Lazzari & Zonta de Carvalho 2006). Em 2003 e 2004, ambas foram coletadas em suas respectivas plantas hospedeiras, *G. ficicola* em *Ficus* sp.

(Moraceae) e *G. psidi* em *Psidium guajava* L. e *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae) (Lazzari *et al.* 2006; Sousa-Silva *et al.* 2005).

A goiabeira, *P. guajava*, é nativa do sul do México e América Central, sendo dispersa através da América Tropical, Ásia, África e Ilhas do Pacífico (<http://www.tradewindsfruit.com/guava.htm>). A origem de *Ficus benjamina* L. é ampla, incluindo a Índia, sul da China, sudeste da Ásia, Malásia, Filipinas, norte da Austrália e ilhas do sul do pacífico, sendo, atualmente, cultivada em todos os continentes (http://www.hear.org/starr/hiplants/reports/pdf/ficus_benjamina.pdf).

Para avaliar a adaptabilidade de espécies-praga potenciais, como é o caso dos afídeos, tanto nativos quanto exóticos, é fundamental considerar a dinamicidade do sistema, no que se refere aos fatores bióticos e abióticos e alterações antrópicas direta ou indiretamente impostos sobre o organismo no agroecossistema, afetando suas respostas fisiológicas e comportamentais.

A interação entre espécies exóticas e o novo ambiente representa um sistema biológico altamente complexo e a maioria da literatura disponível aborda somente um ou outro aspecto dentro dos vários fatores envolvidos na dinâmica ecológica/evolutiva desse sistema, em razão da difícil mensuração e abordagem conjunta das variáveis. A hipótese para o fato da adaptabilidade ser o produto de interações complexas é aceita entre os especialistas, porém difícil de ser avaliada pelas análises convencionais. Com base nessas considerações, este estudo propõe-se a testar a hipótese de que, é possível, utilizando a Lógica Fuzzy, mensurar a adaptação das espécies ao ambiente.

Os cinco capítulos que compõe esta tese podem ser lidos e entendidos separadamente, porém, a hipótese central do trabalho estabelece a complementaridade entre cada assunto tratado, e a elaboração do modelo biológico, submetido à Lógica Fuzzy, permite a obtenção do grau de adaptabilidade das espécies de afídeos dentro dos sistemas (ambientes) estudados.

O Capítulo 1 refere-se ao monitoramento de *G. ficicola* e *G. psidii* usando armadilhas-amarelas-de-água e avaliação em suas respectivas plantas hospedeiras, *F. benjamina* e *P. guajava*. A base do capítulo está no fato de que o estabelecimento e desenvolvimento das populações de afídeos em suas plantas hospedeiras estão condicionados à disponibilidade e qualidade do alimento, ao baixo impacto de agentes de controle biológico e a condições climáticas favoráveis. Os fatores climáticos, aos quais os afídeos estão expostos no ambiente, afetam sensivelmente suas populações podendo

reduzí-las ou aumentá-las. Segundo Dixon (1987), os afídeos têm sincronizado seu desenvolvimento com as mudanças sazonais na qualidade do floema de seus hospedeiros.

O Capítulo 2 trata do comportamento alimentar de *G. ficicola* e *G. psidii* usando a técnica de monitoramento eletrônico – EPG. O experimento foi conduzido assumindo que a colonização ou não dos afídeos em uma planta é um processo complexo que envolve uma série de estímulos e respostas e não somente a presença ou ausência de um estímulo específico (Klingauf 1987), mas, segundo Powell *et al.* (2006), a seleção da planta hospedeira é fundamentalmente afetada pelos sinais gustatórios detectados durante a penetração dos estiletes nos tecidos periféricos da planta.

Estes dois primeiros capítulos focam no desempenho individual de cada espécie. A partir do terceiro capítulo, porém, o foco passa a ser o estudo das populações, uma vez que a proposta também contempla o estudo comparativo entre as populações a fim de averiguar a existência ou não de um padrão de adaptação ecológica e geográfica.

O Capítulo 3 refere-se à análise morfométrica de *G. ficicola* e *G. psidii* visando a diferenciação entre as duas espécies. Os afídeos representam um excelente grupo de insetos para estudar as variações morfológicas associadas aos efeitos da alimentação em diferentes plantas hospedeiras e às variações nas condições microclimáticas (Ruiz-Montoya *et al.* 2005). A variação geográfica no tamanho do corpo em insetos reflete a adaptação diferencial de populações às condições ambientais locais, tais como fatores climáticos, disponibilidade de alimento e presença de espécies aparentadas (Masaki 1967, 1978; Roff 1980; Mousseau & Roff 1989; Blanckenhorn & Fairbairn 1995; Sota *et al.* 2000 a, b).

A diversidade genética é um dos atributos mais importantes das populações, tanto animais quanto vegetais. Os ambientes estão em constante mudança e as populações estão em constante evolução e adaptação a novos ambientes. A baixa diversidade genética pode levar ao aumento dos níveis de endocruzamento, podendo reduzir o desempenho (*fitness*) individual e populacional (Freeland 2007). Por outro lado, a variabilidade genética pode contribuir para a capacidade invasora de uma espécie exótica (Cox 2004), dentre outras vantagens adaptativas. Assim, no Capítulo 4, o foco é a análise molecular desenvolvida para determinar, utilizando marcadores AFLP, a magnitude da similaridade e distância genética, a estrutura genética e associação geográfica entre as populações de *G. ficicola* e *G. psidii*.

Considerando que a Lógica Fuzzy é uma lógica especial multivalorada endereçada a fenômenos imprecisos (Novák 2006) e favorável para descrever sistemas ecológicos que

são caracterizados pela incerteza tanto na estrutura quanto na precisão das medidas, foi proposto um modelo biológico de indicadores de adaptabilidade de espécies ao ambiente (IADEA) descrito no Capítulo 5. Primeiramente, cada variável do IADEA foi modelada utilizando o sistema de inferência fuzzy para uma dada espécie exótica hipotética. Com o objetivo de testar a robustez do modelo, tanto no aspecto lógico quanto biológico, o mesmo foi alimentado com dados obtidos nos capítulos anteriores, referentes às interações bióticas, abióticas e genéticas de *G. ficicola* e *G. psidii*, e também com dados do pulgão-gigante-do-pinus, *Cinara atlantica* (Wilson, 1919), que tem demonstrado alto potencial invasor e status de praga em áreas de plantio de *Pinus* (Pinaceae) onde foi introduzida (dados de Penteado 2007). Por fim, o produto da modelagem foi a obtenção de um valor numérico que representa o grau de adaptabilidade destas espécies de afídeos, permitindo a validação da hipótese que norteou o estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blackman R L, Eastop V F (1984) Aphids on the world's crop – an identification guide. Chichester, Wiley, 466p.
- Blanckenhorn W U, Fairbairn D J (1995) Life history adaptation along a latitudinal cline in the water strider *Aquarius remigis* (Heteroptera: Gerridae). J Evol Biol 8:21-41.
- Cox G W (2004) Alien species and evolution: The evolutionary ecology of exotic plants, animals, microbes and interacting native species. Washington, Island Press, 377p.
- Dixon A F G (2004) Past and future of aphid biology, p.17-25. In Simon J C, Dedryver C A, Rispé C, Hullé M Aphids in a new millennium, INRA, Paris, 549p.
- Dixon A F G (1987) Seasonal development in aphids. In Minks A K, Harrewijn P. Aphids their biology, natural enemies and control. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Science Publishers B.V., 450p.
- Freeland J R (2007) Molecular Ecology. England, John Wiley & Sons, Ltd, 388p.

- Futuyma D J (1997) *Biologia Evolutiva*. 2^a ed. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética/CNPq, 646p.
- Klingauf F A (1987) Biology - Host plant finding and acceptance. In Minks A K, Harrewijn P. *Aphids their biology, natural enemies and control*. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Science Publishers B.V., 450p.
- Lazzari S M N, Zonta de Carvalho R C, Cardoso J T, Calado D C (2006) First record of *Greenidea psidii* van der Goot and comparison with *Greenidea ficicola* Takahashi (Hemiptera: Aphididae) in Brazil. *Zootaxa* 1235: 63–68.
- Masaki S (1967) Geographic variation and climatic adaptation in a field cricket (Orthoptera: Gryllidae). *Evolution* 21:725-741.
- Masaki S (1978) Climatic adaptation and species status in the lawn ground crickets. II. Body size. *Oecologia* 35:342-356.
- Mousseau T A, Roff D A (1989) Adaptation to seasonality in a cricket: patters of phenotypic and genotypic variation in body size and diapause expression along a cline in season length. *Evolution* 43:1483-1496.
- Novák V (2006) “What is Fuzzy Logic?” *Fuzzy Sets and Systems* 157:595–596.
- Odum E P (1988) *Ecologia*. Rio de Janeiro, Editora Guanabara S.A., 434p.
- Penteadó S R C (2007) Parâmetros biológicos, tabelas de vida e comportamento alimentar de *Cinara atlantica* (Wilson) (Hemiptera, Aphididae) em laboratório e sua flutuação populacional e danos em progênies de *Pinus taeda* L. (Pinaceae), em campo. Tese de Doutorado, Curitiba, UFPR, 223p.
- Powell G, Tosh CR, Hardie J (2006) Host plant selection by aphids: behavioral, evolutionary, and applied perspectives. *Annual Review Entomology* 51: 309-330.

- Remaudière J, Remaudière M (1997) Catalogue of the World's Aphididae. Institut National de La Recherche Agronomique, Paris, INRA, 473 p.
- Roff D A (1980) Optimizing development time in a seasonal environment: the “ups and downs” of clinal variation. *Oecologia* 45:202-208.
- Ruiz-Montoya L, Núñez-Farfán J, Dominguez C A (2005) Changes in morphological traits of the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) associated with the use of different host plants. *Ecol Res* 20:591-598.
- Sakai A K, Allendorf F W, Holt J S, Lodge D M, Molofsky J, With K A, Baughman S, Cabin R J, Cohen J E, Ellstrand N C, McCauley D E, O'Neil P, Parker I M, Thompson J N, Weller S G (2001) The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecological Systematic*, 32:305-332.
- Sota T, Takami Y, Kubota K, Ishikawa R (2000a) Geographic variation in the body size of some Japanese *Leptocarabus* species (Coleoptera, Carabidae): The “toppled-domino pattern” in species along a geographic cline. *Entomol Sci* 3:309-320.
- Sota T, Takami Y, Kubota K, Ujiie M, Ishikawa R (2000b) Interspecific body size differentiation in species assemblages of the carabid subgenus *Ohomopterus* in Japan. *Popul Ecol* 42:279-291.
- Sousa-Silva C R, Brombal J C, Ilharco F A (2005) *Greenidea ficicola* Takahashi (Hemiptera: Greenideidae), a New Aphid in Brazil. *Neotrop Entomol* 34(6):1023-1024.
- Zadeh L A (1964) Fuzzy Sets. *Information and control* 8:338-353.

CAPÍTULO 1

Flutuação populacional de *Greenidea ficicola* e *Greenidea psidii* em suas respectivas plantas hospedeiras e em armadilhas amarelas de água

RESUMO

Em função da escassez de dados ecológicos sobre as espécies de afídeos de origem asiática, *Greenidea ficicola* e *Greenidea psidii* (Hemiptera: Aphididae), recentemente introduzidas no Brasil, e no intuito de contribuir com estudos sobre a adaptação de espécies exóticas, este estudo teve como objetivos: monitorar a ocorrência de *G. ficicola* e *G. psidii* em uma área na Serra do Mar, PR; estudar a flutuação populacional de *G. ficicola* associando sua abundância com sua distribuição em diferentes quadrantes de um bosque de *Ficus benjamina*; estudar a flutuação populacional de *G. psidii* correlacionando sua presença à fenologia de sua planta hospedeira *Psidium guajava*. Para o monitoramento dos afídeos foram instaladas armadilhas-amarelas-de-água, tipo Möericke, em um bosque de ficus para *G. ficicola*, e em um pomar de goiabeira, para *G. psidii*, avaliadas quinzenalmente durante 20 meses. No bosque de ficus foram caracterizados os quadrantes Nordeste, Sudeste, Noroeste e Sudoeste, de onde foram cortados galhos, ao acaso, para avaliar o nível de infestação. Na área de goiabeiras, foram avaliadas as fases fenológicas das plantas e a presença de afídeos. As médias de captura nas armadilhas foram notavelmente baixas, com pico de maior atividade de formas aladas de *G. psidii* na primavera de 2005 e dois picos populacionais de *G. ficicola* na primavera de 2005 e 2006, quando a precipitação média foi inferior a 50 mm e a temperatura média entre 17 e 19°C. As populações de *G. ficicola* em *F. benjamina* foram mais abundantes nos quadrantes Sudeste (35%) e Sudoeste (31%), com as análises sugerindo que a distribuição das colônias nos quadrantes sofre influência da insolação sazonal. A presença de *G. psidii* foi detectada em apenas 6,4% das árvores monitoradas. A análise de regressão múltipla indicou que a fase fenológica em botão floral de *P. guajava* contribui com 70% para predizer a presença de *G. psidii*. Com a aplicação do modelo de regressão linear múltipla ao conjunto dos dados obtidos, foi possível concluir que a presença, tanto de *G. ficicola* quanto de *G. psidii* não é expressiva nas áreas, e sua maior atividade está relacionada com temperaturas mais amenas e baixa precipitação da primavera; observa-se correlação entre a presença de *G. ficicola* e a posição da planta hospedeira nos quadrantes; há sincronismo de *G. psidii* com sua planta hospedeira, cuja fenologia é influenciada pelo fotoperíodo, sendo a fase de botões florais a melhor correlacionada com a presença deste afídeo.

1. INTRODUÇÃO

O estabelecimento e desenvolvimento das populações de afídeos (Hemiptera: Aphididae) em suas plantas hospedeiras estão condicionados à disponibilidade e qualidade do alimento, ao baixo impacto de agentes de controle biológico e a condições climáticas favoráveis. Os fatores climáticos, aos quais os afídeos estão expostos no ambiente, afetam sensivelmente suas populações podendo reduzi-las ou aumentá-las. Agarwala & Bhattacharya (1993) citam que em clima tropical e subtropical, as espécies de afídeos em geral sobrevivem e se reproduzem favoravelmente em temperaturas entre 18 e 24°C. As mudanças sazonais na qualidade do floema são bem definidas e os afídeos têm sincronizado seu desenvolvimento com o padrão de sazonalidade das plantas que é grandemente diferente entre as diferentes espécies (Dixon 1987) e regiões geográficas. A estrutura clonal e a presença de diversas formas funcionais (polimorfismo) favorecem o aumento populacional dos afídeos, com formas adaptadas à dispersão, reprodução e sobrevivência refletindo a tendência sazonal na qualidade do habitat (Dixon 1987b; Dixon & Welling 1982).

Existem vários trabalhos abordando aspectos ecológicos, como a sazonalidade e a influência da fenologia da planta, que determinam a preferência e o desempenho de insetos fitófagos em função da qualidade nutricional do hospedeiro. Segundo Scheirs *et al.* (2002), a qualidade nutricional foliar está diretamente relacionada com a sazonalidade. Com relação às mudanças globais no clima, Bale *et al.* (2002) discutem que a temperatura tem um efeito direto no desenvolvimento, sobrevivência, distribuição e abundância de insetos herbívoros, sendo que os insetos que possuem ampla distribuição geográfica tendem a ser menos afetados por essas mudanças climáticas. Segundo Wolda (1978), a sazonalidade e abundância de grupos de insetos podem ser estritamente controladas pela disponibilidade de alimento e, qualquer distúrbio no ambiente pode afetar a quantidade de alimento disponível e, conseqüentemente, a flutuação das espécies. A sincronização dos herbívoros com a fenologia de suas plantas hospedeiras determina a qualidade e quantidade dos recursos alimentares e o elo entre o desempenho/preferência e abundância dos herbívoros (Yukawa 2000). Haddad & Parra (1984) afirmam que a temperatura é o elemento climático que mais afeta o ciclo de vida do inseto, sendo que as necessidades térmicas do inseto e do local analisado favorecem maiores ou menores populações da praga estudada.

De todos os processos envolvidos no desenvolvimento das plantas, o mais estudado é a floração, sendo que os fatores considerados principais para o desenvolvimento do

sistema reprodutor são luz, temperatura, disponibilidade de nutrientes e água (Kerbaux 2004), e destes, o fator que mais influencia é o fotoperíodo (Taiz & Zeiger 2004).

Marques *et al.* 2004, estudando os padrões fenológicos de plantas de Floresta de Araucária, encontraram forte correlação com o fotoperíodo e a temperatura, indicando que, mesmo em regiões onde o padrão sazonal não é tão marcante, as plantas são sensíveis a padrões não tão evidentes de sazonalidade. Em Floresta de Restinga, na Ilha do Mel, PR, o pico de produção de botões e de flores foi correlacionado com o aumento do fotoperíodo (Marques & Oliveira 2004).

A flutuação populacional, a migração e a atividade de vôo dos afídeos variam durante o ano, pois são afetadas principalmente pela ocorrência de chuvas, ventos, variações de temperatura e falta de alimento (Bertels *et al.* 1971). Embora sejam pouco eficientes para enfrentar essas condições desfavoráveis, os afídeos possuem grande capacidade reprodutiva e um rápido desenvolvimento. Rossi *et al.* (1990) sugerem que a interpretação dos efeitos dos fatores climáticos deve ser avaliada conjuntamente, e não avaliando individualmente cada fator. Segundo Auad (1996), a análise de correlação entre fatores climáticos e número de afídeos mostrou que a temperatura e a umidade relativa exerceram maior influência na densidade populacional de *Brachycaudus schwartzi* (Börner, 1931) do que a precipitação. O maior número de espécies de afídeos monitoradas da Serra do Mar, PR por Lazzari & Lazzarotto (2005) foi registrado no mês de setembro em que ocorreram temperaturas amenas (em torno de 20°C).

A flutuação sazonal dos afídeos também está relacionada com o hábito alimentar da espécie, uma vez que, se esta é polífaga, capaz de se alimentar de diversas plantas hospedeiras, sua presença será favorecida ao longo de todo o ano. De acordo com Cermeli (1970), algumas espécies podem estar presentes durante todo o ano, mas com épocas de maior incidência, enquanto outras ocorrem em apenas uma estação do ano.

Afídeos de árvores têm sido investigados recentemente no sul do Brasil. Cardoso (2007) verificou que o padrão de flutuação sazonal de *Pineus boernerii* Annand, 1928 (Hemiptera: Adelgidae) não é bem definido em plantios de *Pinus* sp. (Pinaceae), mas, aparentemente, o aumento populacional é influenciado por temperaturas de amenas a altas e baixa pluviosidade. Penteado (2007), estudando o comportamento de *Cinara atlantica* (Wilson, 1919) em *Pinus taeda* L., registrou os maiores picos populacionais na primavera e, outros mais discretos no verão e outono.

Dados de monitoramentos de afídeos em seus hospedeiros não revelam diferenças significativas com relação à distribuição dos insetos nos diferentes quadrantes das plantas (Cardoso 2007; Primiano 2005; Zonta-de-Carvalho 2004).

Recentemente, as espécies de origem asiática, *Greenidea ficicola* Takahashi 1921 e *Greenidea psiidi* van der Goot 1916, pertencentes à subfamília Greenideinae (Hemiptera: Aphididae), foram detectadas no Estado do Paraná, Brasil. A espécie *G. ficicola* foi coletada pela primeira vez em 2002, em armadilhas-amarelas-de-água. Em 2003 e 2004, ambas foram coletadas em suas respectivas plantas hospedeiras, *G. ficicola* em *Ficus* sp. (Moraceae) e *G. psiidi* em *Psidium guajava* L. e *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae) (Lazzari *et al.* 2006, Souza-Silva *et al.* 2005).

Em função da escassez de dados ecológicos sobre *G. psidii* e *G. ficicola*, principalmente nas regiões onde são exóticas, e no intuito de contribuir com estudos da adaptação de novas espécies de afídeos registradas fora de sua região de origem, este estudo teve como objetivos:

1. Monitorar a ocorrência de *G. ficicola* e *G. psidii* usando armadilhas-amarelas-de-água em uma área na Serra do Mar, PR;
2. Estudar a flutuação populacional de *G. ficicola* associando sua abundância com sua distribuição em árvores dos diferentes quadrantes em um bosque de *Ficus benjamina* L. (Moraceae);
3. Estudar a flutuação populacional de *G. psidii* correlacionando sua presença à fenologia de sua planta hospedeira *P. guajava*;

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Monitoramento de *Greenidea ficicola* com armadilhas e coletas nas plantas

O experimento foi conduzido na propriedade Belvedere Plantas Ornamentais, situada no município de Morretes, PR. Uma das áreas era de plantio comercial de *F. benjamina* e *Ficus variegata* Blume, de aproximadamente um ano de idade; a outra era um bosque de 80 m x 50 m não comercial de *F. benjamina* com árvores adultas de aproximadamente cinco anos de idade, com roçadas periódicas no interior do bosque e poda dos galhos da borda. Dados de precipitação (mm), temperatura máxima (°C), média (°C) e mínima (°C), umidade relativa do ar (UR%) e fotoperíodo (fotofase em horas –

nascer e ocaso do sol) e velocidade do vento (m/s) foram obtidos da Estação Meteorológica da Estação Experimental do IAPAR I, a 11 km do local do experimento.

Foram instaladas duas armadilhas-amarelas-de-água, tipo Moericke (Figura 1), em lados opostos (leste/oeste) do bosque com árvores adultas de *F. benjamina* (Figura 2). As armadilhas continham água com algumas gotas de detergente para quebrar a tensão superficial e 50 mL de formol a 10%, a fim de conservar os insetos. No período de agosto/2005 a abril/2007, quinzenalmente, os insetos capturados eram retirados das armadilhas escorrendo-se a água em uma peneira e transferidos para um frasco contendo álcool etílico a 70%; e as armadilhas eram cheias novamente. Os insetos eram levados ao laboratório e triados com o objetivo de separar os afídeos e, destes, os exemplares de *G. ficicola*.



Figura 1. Armadilha-amarela-de-água, instalada a 1,2 m de altura, utilizada para monitorar *G. ficicola* e *G. psidii*, em Morretes, PR.

As coletas nas plantas da área comercial foram realizadas, quinzenalmente, de junho/2006 a abril/2007. As mudas estavam dispostas em 29 linhas com, aproximadamente, 30 plantas de *F. variegata* por linha e 28 linhas com aproximadamente 30 plantas de *F. benjamina* por linha (Figura 2). As plantas foram mapeadas indicando o número da linha e da planta em cada linha. Em cada data de coleta, fez-se o sorteio de 30 plantas de cada espécie, e de cada uma foi cortado um galho de aproximadamente 20 cm com tesoura de poda. Os galhos foram colocados em sacos plásticos com identificação da planta e levados ao laboratório para verificação da presença de afídeos e contagem dos mesmos.

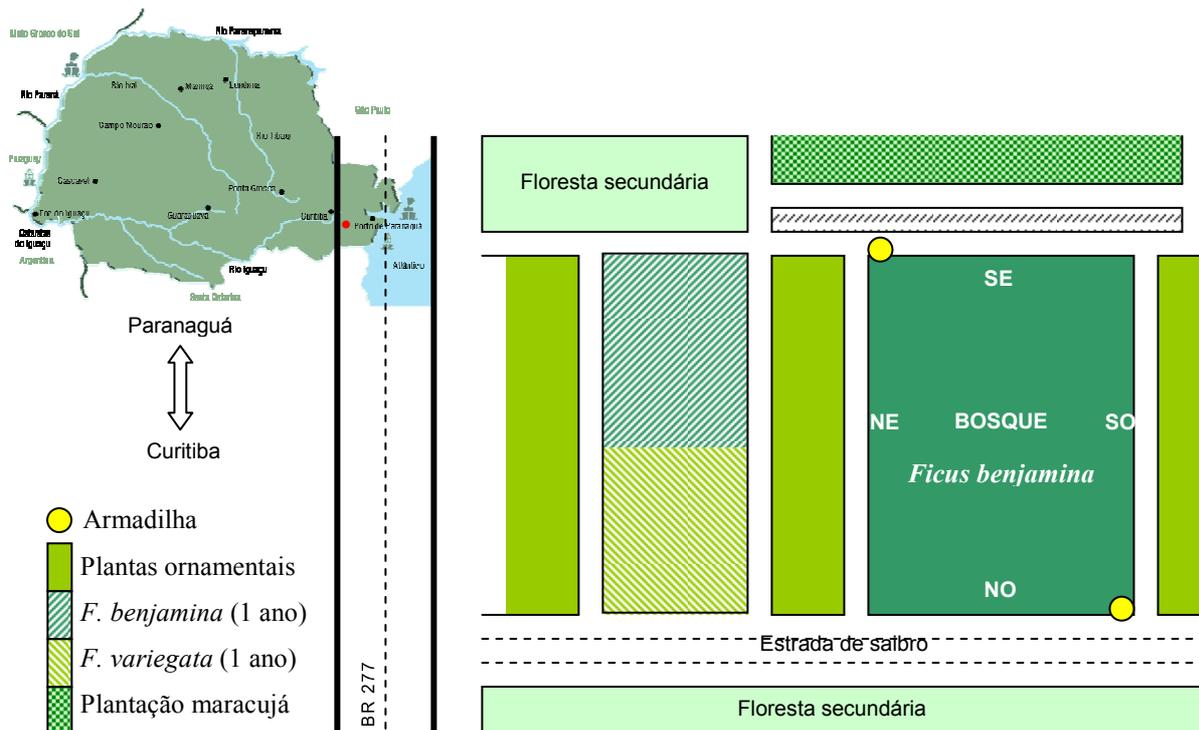


Figura 2. Área de monitoramento de *G. ficicola* em plantio de *Ficus* spp. na Belvedere Plantas Ornamentais, apresentando a disposição dos locais de coleta e a posição das armadilhas-amarelas-de-água, no município de Morretes, PR, no período de agosto/2005 a abril/2007.

No bosque de *F. benjamina*, cada lado foi caracterizado segundo as coordenadas geográficas nos quadrantes Nordeste (NE), Sudeste (SE), Noroeste (NO) e Sudoeste (SO) (Figuras 2 e 3). Quinzenalmente, foram cortados, ao acaso, 10 galhos de aproximadamente 60 cm de comprimento, de árvores em cada face do bosque. Os galhos foram cortados com podão extensor de até 6 m, possibilitando a coleta de galhos até a altura de 8 m. Os galhos coletados foram acondicionados em sacos plásticos com identificação e levados ao laboratório para verificação da presença e contagem dos afídeos.



Figura 3. Bosque de *F. benjamina* de aproximadamente cinco anos de idade, apresentando os quadrantes Noroeste (NO), Nordeste (NE), Sudoeste (SO) e Sudeste (SE), de cujas árvores foram cortados galhos para o monitoramento de *G. ficicola*; no município de Morretes, PR, no período de agosto/2005 a abril/2007.

2.2. Monitoramento de *Greenidea psidii* com armadilhas e coletas nas plantas

As coletas foram realizadas em um pomar de *P. guajava* na Estação Experimental do Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR) Sede I, com área de 79 m x 79 m, no município de Morretes, a 25°30'S (latitude), 48°49'W (longitude) e altitude de 59 m s.n.m.

Foram instaladas três armadilhas-amarelas-de-água tipo Moericke nas bordaduras do pomar de goiaba, monitoradas quinzenalmente, no período de agosto/2005 a abril/2007, seguindo o mesmo procedimento adotado para *G. ficicola*.

As coletas nas plantas foram realizadas em um pomar de goiaba, em uma área de 5184 m², que apresentava 14 linhas com 12 plantas em média por linha, totalizando 125 árvores. O experimento foi dividido em dois conjuntos de árvores, goiabeiras não aleatórias (30) e aleatórias (30). As 30 árvores não aleatórias foram sorteadas no início do

experimento e avaliadas quinzenalmente, até o final do experimento. As 30 árvores aleatórias eram sorteadas a cada coleta. Tanto nas não aleatórias quanto nas aleatórias foram avaliadas 10 fases fenológicas de *P. guajava*: 1. folhas maduras; 2. brotação inicial; 3. brotação média; 4. brotação avançada; 5. botão floral; 6. flor; 7. fruto imaturo; 8. fruto maduro; 9. fruto podre e 10. queda de folhas (Figura 4). A presença de afídeos foi monitorada em três brotos de 10 a 20 cm coletados ao acaso nas árvores aleatórias e levados ao laboratório para posterior verificação da presença de afídeos. Nas árvores não aleatórias, amostradas no período de maio/2006 a abril/2007, os brotos não eram retirados para não alterar a arquitetura da planta e perturbar as colônias do inseto, avaliando-se a presença dos mesmos diretamente nas plantas.



Figura 4. Fases fenológicas de *P. guajava* avaliadas no período de maio/2006 a abril/2007 na Estação Experimental do IAPAR, Morretes, PR, [1 - (BI – broto inicial, BM – Broto médio, BA – broto avançado); 2 – botão floral; 3 – flor; 4 – fruto).

2.3. Análise dos dados

Os dados de abundância dos afídeos coletados com as armadilhas e nas plantas e os dados climáticos foram normalizados e plotados em gráficos bivariados (x, y), a fim de avaliar a tendência das variáveis ao longo das coletas.

Análises de regressão linear múltipla (Sokal & Rohlf 1991) foram utilizadas para verificar a contribuição das variáveis climáticas e da abundância de *G. ficicola* nos quadrantes (NO – Noroeste; SO – Sudoeste; NE – Noedeste; SE – Sudeste) no bosque de *F. benjamina* e também a contribuição das variáveis climáticas e das fases fenológicas de *P. guajava* na ocorrência de *G. psidii* nas árvores da área de Morretes. A importância dos preditores selecionados foi aferida através do coeficiente de correlação parcial (R_{parcial}), que representa a variância explicada por um preditor relativa à variância total da variável dependente, controlando o efeito dos demais preditores, e através do coeficiente angular padronizado (*Beta*), que é o parâmetro da relação bivariada (x-y) calculado. Os pressupostos destas análises foram analisados nos gráficos dos resíduos a fim de verificar presença ou não de multicolinearidade (tendências de comportamento dos resíduos).

A equação do modelo de regressão foi representada da seguinte forma:

$$Y = i + B_1x_1 + B_2x_2 + \dots B_nx_n, \text{ onde}$$

Y = variável resposta (dependente)

i = intercepto do eixo x

B_n = valor de B (coeficiente de regressão)

x_n = variáveis preditoras (independentes)

A análise de regressão linear múltipla e os gráficos de correlação das variáveis significativas foram realizados através do aplicativo computacional Statistica 7.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Registro de *G. ficicola* e *G. psidii* em armadilhas-amarelas-de-água

A captura dos afídeos nas armadilhas-amarelas-de-água foi baixa, com apenas 29 exemplares alados de *G. ficicola* em duas armadilhas e 52 de *G. psidii* em três armadilhas, nas respectivas áreas. As médias de captura em cada armadilha foram de 14,5 e 17,3

espécimes alados de *G. ficicola* e *G. psidii*, respectivamente, num total de 36 coletas no período de 20 meses. (Tabela 1).

Apesar da baixa ocorrência, observou-se um pico de maior atividade dos afídeos alados na primavera de 2005 para *G. psidii* e dois picos populacionais de *G. ficicola* na primavera tanto de 2005 quanto na de 2006. A maioria dos afídeos é atraída pela coloração amarela das armadilhas (Möericke 1951, Eastop 1978), porém alguns afídeos são atraídos pela coloração verde das armadilhas (Halbert *et al.* 1986, Avinent *et al.* 1991). Há possibilidade de os afídeos do gênero *Greenidea* não responderem à coloração amarela como os demais, o que pode ter afetado as coletas no presente estudo. Sugere-se, assim, experimentos com diferentes cores de armadilhas a fim de se estabelecer a cor mais eficiente para captura destes afídeos. Outros fatores, como condições climáticas e colônias mais dispersas nas plantas, conforme discutido a seguir, também afetam a produção e dispersão de formas aladas e, conseqüentemente, sua captura nas armadilhas.

Müller *et al.* (2001) relatam que temperaturas relativamente mais altas favorecem o desenvolvimento numérico de formas ápteras de afídeos, enquanto que temperaturas mais baixas favorecem a produção de formas aladas; contudo, em condições extremas, as temperaturas baixas em torno de -5°C não são suficientes para induzir formas aladas, já que os aspectos nutricionais dos hospedeiros são afetados pelas baixas temperaturas. No presente estudo, tanto para *G. ficicola* quanto para *G. psidii*, o pico das formas aladas capturadas nas armadilhas foi logo após o pico das fêmeas ápteras registradas nas plantas, sendo que em *G. psidii* o pico nas armadilhas para o ano de 2006 foi menor que o de *G. ficicola* no mesmo período (Figura 5). Dixon (1977) e Robert (1987) observaram que a superpopulação de indivíduos ápteros na planta hospedeira induz a formação de formas aladas. Cividanes (2002) observou o aumento progressivo na captura de indivíduos alados do pulgão-da-couve proporcional ao aumento do crescimento populacional das formas ápteras na couve, com os picos populacionais destas formas na mesma época, isto é, no final de setembro em Jaboticabal.

A maior atividade dos alados foi nos meses de outubro a novembro, com pico populacional nos dois anos de registros para *G. ficicola* (Figura 6) e um pico em novembro de 2005 para *G. psidii* (Figura 7). Neste período do monitoramento, a precipitação média foi inferior a 50 mm e a temperatura média ficou entre 17 e 19°C . Esta faixa de temperatura está dentro do intervalo de 14,4 a $20,2^{\circ}\text{C}$, em cuja condição Aheer *et al.* (2008) registraram o maior pico populacional de afídeos alados em armadilhas-amarelas-de-água em cultura de trigo no Paquistão. Cividanes (2002) constatou a maior atividade de

pulgão-da-couve, *Brevicoryne brassicae* (L.) nos meses de agosto a outubro em Jaboticabal, SP em armadilhas amarelas de água, com o pico populacional em setembro, sendo que e a partir de outubro a precipitação aumentou consideravelmente; portanto, um pouco anterior aos picos registrados no presente trabalho.

Durante os meses de verão e no início do outono de 2006 e 2007 observou-se ausência dessas espécies de *Greenidea* na área do estudo. Em 2006, apesar da baixa precipitação, foram registradas as maiores temperaturas máxima e mínima de todo o período do experimento, 34,8°C e 20,8°C, respectivamente. Em 2007, apesar da temperatura não ter atingido o máximo do período, a média da precipitação atingiu 174 mm, sendo que os fatores limitantes para ausência de formas aladas *G. ficicola* e *G. psidii* em armadilhas amarelas de água no período do experimento foram altas temperaturas e altas precipitações. Para *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach, 1843) (Hemiptera: Aphididae) criados em condições constantes de temperatura e umidade, as temperaturas acima de 30°C e inferiores a 10°C foram desfavoráveis em termos de tamanho populacional (Liu & Yue 2001). Durante o período de inverno de 2006 *G. ficicola* estava presente nas armadilhas em todas as datas de coleta, enquanto *G. psidii* somente no início de setembro, quando a temperatura máxima ficou entre 20 e 25°C e a precipitação não ultrapassou 25 mm.

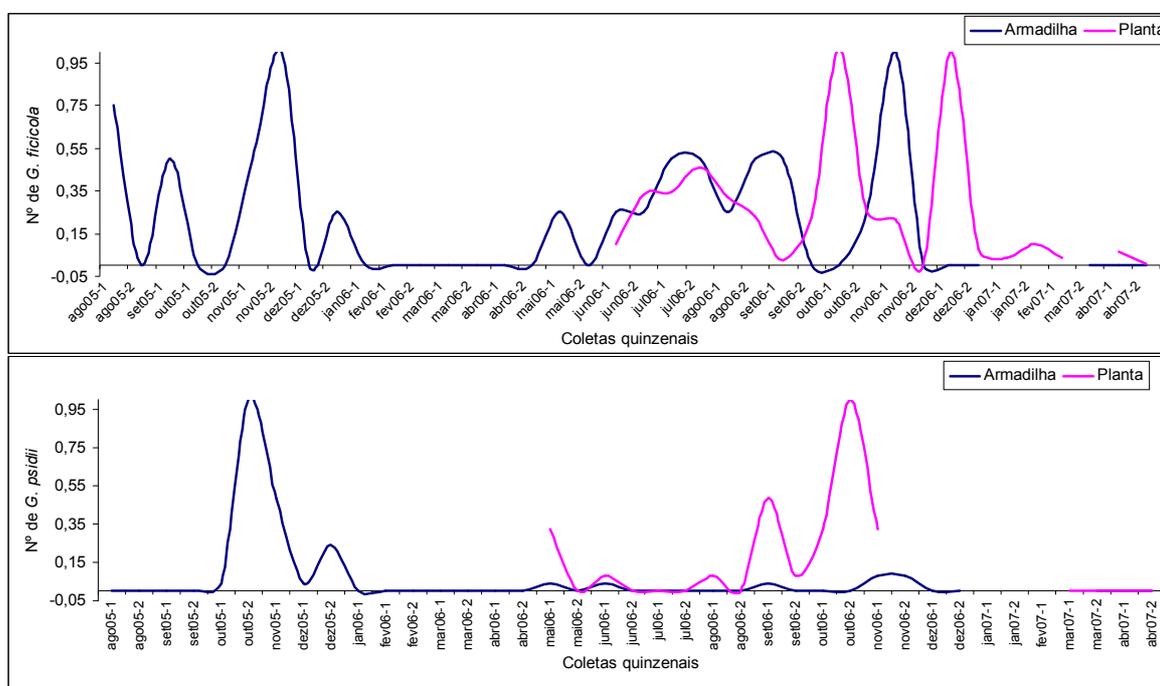


Figura 5. Curva de captura de *G. ficicola* e *G. psidii* em armadilhas amarelas de água no período de agosto/2005 a abril/2007 e nas plantas no período de junho/2006 a abril/2007 em *F. benjamina* para *G. ficicola* e de maio/2006 a abril/2007 em *P. guajava* para *G. psidii* em Morretes, PR (Nº de afídeos normalizados).

Segundo Walkers & Dixon (1984), a velocidade do vento pode afetar o vôo dos afídeos e, de acordo com Silveira Neto *et al.* (1976), os alados podem ser levados facilmente pelas correntes de ar. No presente trabalho, o número de indivíduos alados de *G. ficicola* capturados nas armadilhas apresentou uma correlação próxima a zero ($r = 0,038$) em relação à velocidade do vento, ou seja, estatisticamente, não existe correlação entre a atividade da espécie e a velocidade do vento. Para *G. psidii* a correlação foi positiva, mas baixa ($r = 0,33$). A umidade relativa do ar (UR%) foi praticamente constante, variando entre 77 e 92,5% durante o período experimental, observando-se ausência de *G. ficicola* e presença de *G. psidii* na UR% máxima acompanhada de alta precipitação (169 mm). A UR% mínima registrada foi acompanhada de precipitação inferior a 10 mm ao longo do período amostrado, observando-se a presença de *G. ficicola* e *G. psidii*. Aheer *et al.* (2008) registraram população maior de afídeos a 59,5 UR% e menor a 78 UR%.

A fotofase apresentou um declínio, esperado, no período de inverno do ano de 2006, quando a média das horas do nascer ao ocaso do sol não foi superior a 11 h diárias. A correlação entre a abundância dos afídeos e a fotofase foi de 11% para *G. ficicola* e 32% para *G. psidii* (Figuras 6C e 7C).

Zúñiga (1985) discute que a ocorrência de chuva, mesmo considerada de baixa intensidade (7,4 mm em 24 h), provoca redução na população dos afídeos, principalmente de *Sitobion avenae* (Fabricius, 1775). Kaakeh & Dutcher (1993) indicam que as chuvas rápidas e pesadas reduzem as populações de afídeos, mas, frequentemente, aumentam após uma semana seguida de chuvas. No presente trabalho, para as duas espécies de afídeos foi observado que após um período intenso de precipitação ocorreram os dois picos de abundância para *G. ficicola* e um pico de abundância de *G. psidii* (Figuras 6A e 7A).

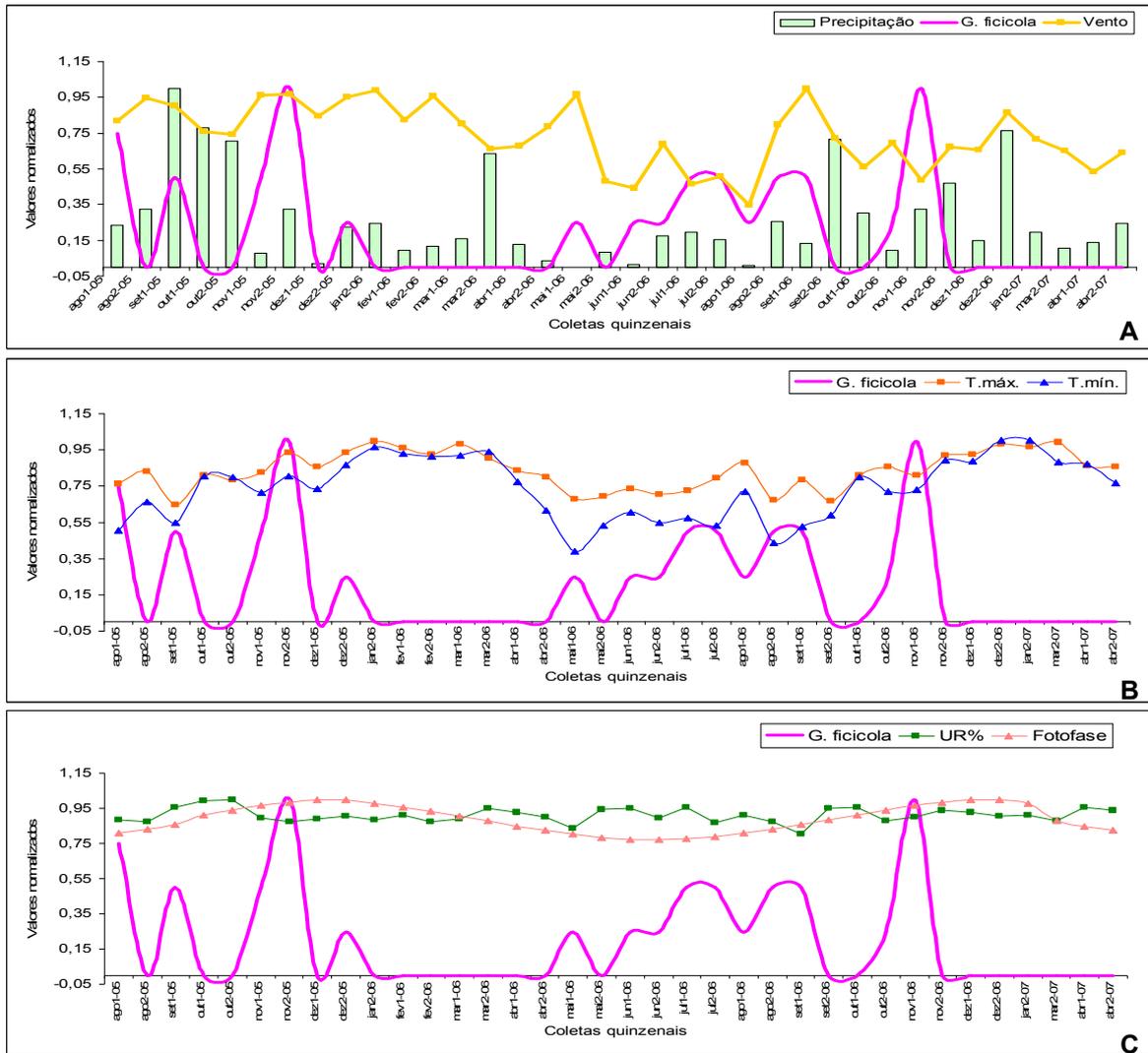


Figura 6. Número de indivíduos alados de *G. ficicola* capturado em armadilhas-amarelas-de-água, na propriedade Belvedere, no município de Morretes, PR, no período de agosto/2005 a abril/2007, com dados de precipitação e velocidade do vento (A); temperatura máxima e mínima em °C (B); e UR(%) e fotofase (horas de luz) (C).

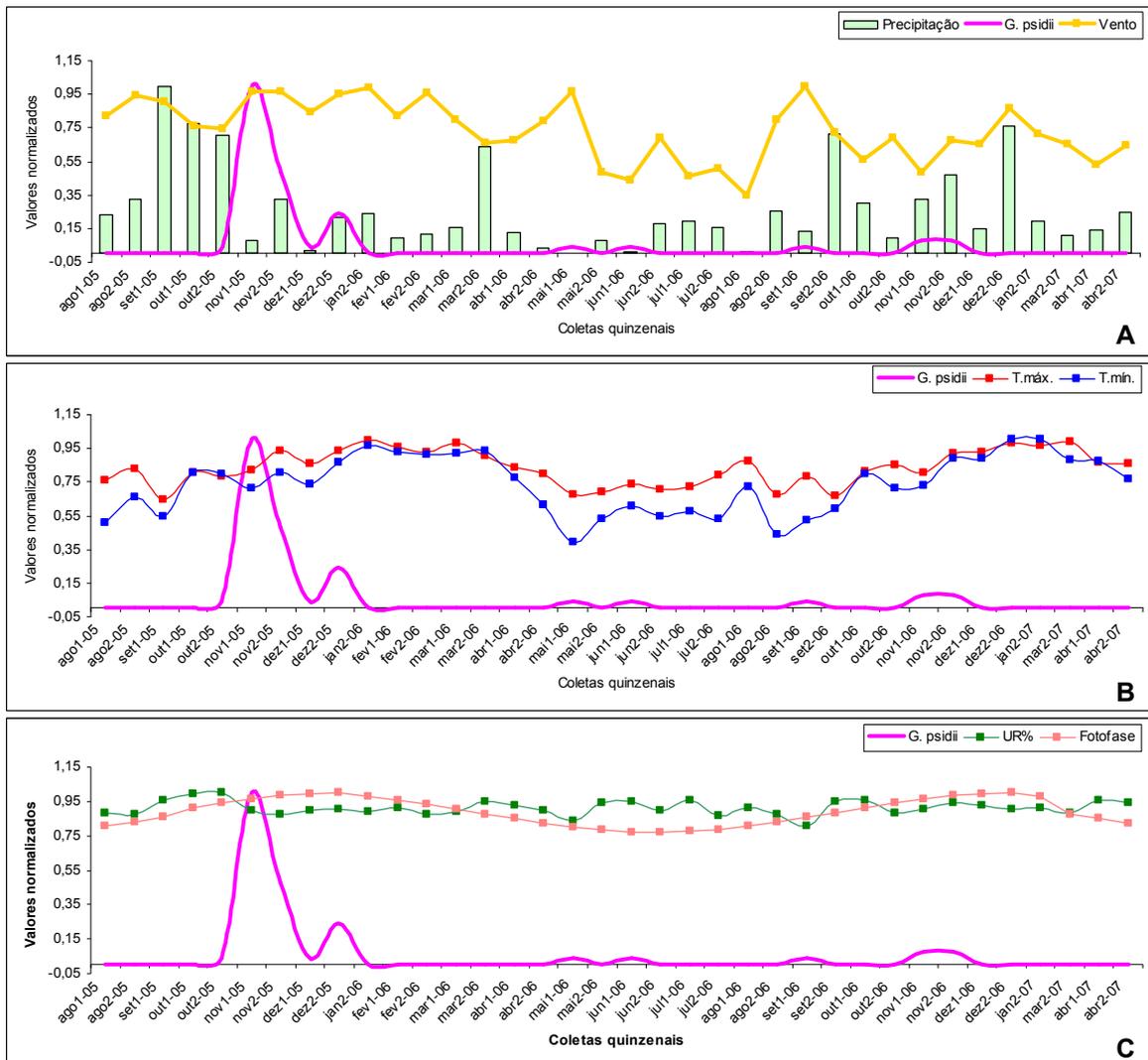


Figura 7. Número de *G. psidii* capturado em armadilhas amarelas de água na Estação Experimental do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), no município de Morretes, PR, no período de agosto/2005 a abril/2007, com dados de precipitação e velocidade do vento (A); temperatura máxima e mínima em °C (B); e UR(%) e fotofase (horas de luz) (C).

Não somente as variáveis climáticas, como abordadas neste experimento, explicam a dinâmica dos afídeos alados coletados nas armadilhas, pois segundo Robert (1987) e Agarwala (2007), a dispersão dos afídeos ocorre na primavera para a exploração de ambientes e hospedeiros mais favoráveis para a geração seguinte, sendo que os fatores abióticos interagem e podem favorecer o desempenho dos afídeos. Apesar dos fatores abióticos serem responsáveis por explicar grande parte do comportamento e ecologia dos afídeos, as funções vitais para a continuidade da espécie, como a dispersão detectada através das coletas em armadilhas, influenciam consideravelmente no comportamento sazonal das espécies.

Tabela 1. Dados climáticos e número de *G. ficiola* e *G. psidii* capturado em armadilhas-amarelas-de-água, respectivamente, na propriedade Belvedere e Estação Experimental do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), no período de agosto/2005 a abril/2007.

Ano	Mês	Quinz.	GF	GP	P (mm)	TMA (°C)	TMI (°C)	TME (°C)	UR (%)	FF (h)	VV (km)	
2005	Ago	1	3	0	53,7	21,6	9,3	14,1	81,6	666	116,1	
		2	0	0	74,5	23,5	12,2	16,6	80,8	686	134,1	
	Set	1	2	0	227,4	18,3	10,1	13,1	88,5	708	128,0	
		2	0	0	176,9	22,8	14,8	17,7	91,7	752	107,2	
	Out	1	0	1	160,8	22,1	14,7	17,4	92,5	775	105,3	
		2	2	25	18,1	23,3	13,1	17,2	83,0	795	136,4	
	Nov	1	4	12	73,8	26,5	14,8	19,6	80,9	812	137,0	
		2	0	1	4,4	24,3	13,5	17,8	82,5	822	119,7	
	Dez	1	1	6	50,2	26,5	16,0	20,1	83,8	825	134,6	
		2	0	0	55,4	28,3	17,8	21,8	81,9	806	140,3	
	2006	Jan	1	0	0	21,8	27,2	17,1	21,0	84,3	788	116,6
			2	0	0	26,6	26,2	16,8	20,4	81,1	769	135,9
Fev		1	0	0	36,2	27,8	17,0	20,8	82,4	747	113,3	
		2	0	0	145	25,5	17,3	20,2	87,6	724	94,0	
Mar		1	0	0	29,4	23,7	14,2	17,7	85,9	701	95,8	
		2	0	0	8,3	22,7	11,3	15,8	83,1	680	111,5	
Abr		1	1	1	0	19,2	7,2	11,9	77,1	662	137,3	
		2	0	0	19	19,6	9,8	13,7	87,3	647	68,3	
Mai		1	1	1	3,4	20,8	11,1	14,7	87,8	637	62,7	
		2	1	0	40,2	19,9	10,1	13,8	82,9	635	97,8	
Jun		1	2	0	44,1	20,5	10,6	14,3	88,3	639	65,5	
		2	2	0	35,3	22,4	9,8	14,9	80,3	650	71,4	
Jul		1	1	0	1,7	24,8	13,3	17,7	84,4	666	49,4	
		2	2	0	57,9	19,0	8,1	12,9	80,9	686	112,8	
Ago		1	2	1	29,8	22,2	9,7	15,2	74,6	707	141,6	
		2	0	0	162,9	18,9	10,9	13,9	87,8	729	102,2	
Set		1	0	0	68,5	22,9	14,7	17,8	88,6	752	79,1	
		2	1	0	22,1	24,2	13,2	17,6	81,4	774	98,2	
Out	1	4	2	73,5	22,9	13,5	17,1	83,5	795	68,5		
	2	0	2	107,3	26,0	16,4	20,1	86,9	811	95,3		
Nov	1	0	0	34,1	26,2	16,4	20,1	85,6	822	92,9		
	2	0	0	173,5	27,7	18,4	22,0	83,1	825	122,3		
2007	Jan	1	0	0	44,6	27,3	18,4	21,8	84,5	807	101,7	
		2	0	0	24,5	28,0	16,3	21,1	81,4	724	92,4	
	Mar	1	0	0	31,4	24,4	16,1	19,0	88,4	701	75,4	
		2	0	0	56,2	24,3	14,1	18,0	87,1	680	91,1	

GF – número de *G. ficiola*; GP – número de *G. psidii*; P – precipitação; TMA – temperatura máxima; TMI – Temperatura mínima; TME – temperatura média; UR – umidade relativa do ar; FF – Fotofase (do nascer ao ocaso do sol).

3.2. Flutuação populacional de *G. ficicola* em *F. benjamina* e de *G. psidii* associada à fenologia de *P. guajava*

3.2.1. *Greenidea ficicola*

Nas mudas de um ano de *F. benjamina* e *F. variegata* não foram registradas colônias de *G. ficicola*, num total de 1140 galhos analisados, sendo 570 em cada hospedeiro, nas 19 coletas realizadas no período de junho/2006 a abril/2007.

Nas árvores adultas do bosque de *F. benjamina* foram examinados 760 galhos, sendo 190 galhos em cada quadrante (Nordeste-NE, Noroeste-NO, Sudeste-SE, Sudoeste-SO) nas 19 coletas, no período de junho/2006 a abril/2007. A abundância total de *G. ficicola* nas plantas foi de 3360 indivíduos ápteros distribuídos nos quatro quadrantes da área, com 28,2% em NE, 5,57% em NO, 35,4% em SE e 30,9% em SO (Tabela 2).

A Figura 8 mostra que os quadrantes NE e SE contribuíram para o pico de abundância total dos afídeos em outubro/2006 (início da primavera), enquanto que NO e SO contribuíram com a abundância total no início do verão. Observa-se que no início da primavera a temperatura máxima média foi de 22,9°C e no início do verão foi de 26,2°C, chegando até 32,2°C. Tsai & Wang (1999) registraram baixos índices de sobrevivência de *Toxoptera citricidus* (Kirkaldy, 1907) a 32°C. De acordo com a Tabela 3 observa-se que a preferência de *G. ficicola* foi para o quadrante SE seguida de NE, e somente no verão a abundância foi maior em SO. As faces a leste estão sujeitas a maior radiação solar do que a oeste e, no período do verão, a radiação se intensifica ocasionando provável migração dos indivíduos de *G. ficicola* para os quadrantes a oeste ou pela maior mortalidade nas faces a leste. Cardoso (2007), estudando a presença de *P. boernerii* em *Pinus* sp., não encontrou diferença significativa entre os quadrantes norte, sul, leste e oeste de cada árvore em relação à distribuição dos afídeos. O estudo de Primiano (2005) sobre a distribuição de afídeos nos estratos de árvores de citros e nos quadrantes primários norte, sul, leste e oeste, também não indicou diferença significativa entre eles.

Tabela 2. Abundância de *G. ficicola* em árvores adultas de *F. benjamina* nos quatro quadrantes (NE, NE, SE, SO) da área de plantio na propriedade Belvedere, no município de Morretes, PR, por data de coleta com as respectivas variáveis climáticas, no período de junho/2006 a abril/2007.

Ano	Mês	Quinz.	GF	Quadrantes				Variáveis climáticas						
				NE	NO	SE	SO	P (mm)	TMA (°C)	TMI (°C)	TME (°C)	UR (%)	FF (h)	VV (km)
2006	Jun	1	70	22	1	46	1	3,4	20,8	11,1	14,7	87,8	637	62,7
		2	230	59	0	165	6	40,2	19,9	10,1	13,8	82,9	635	97,8
	Jul	1	239	26	0	198	15	44,1	20,5	10,6	14,3	88,4	639	65,5
		2	319	221	24	64	10	35,3	22,4	9,8	14,9	80,4	650	71,4
	Ago	1	223	24	6	74	119	1,7	24,8	13,3	17,7	84,4	666	49,4
		2	157	57	12	28	60	57,9	19,0	8,1	12,9	81,0	686	112,8
	Set	1	16	0	0	12	4	29,8	22,2	9,7	15,2	74,6	707	141,6
		2	157	93	0	63	1	162,9	18,9	10,9	13,9	87,8	729	102,2
	Out	1	705	241	0	365	99	68,5	22,9	14,7	17,8	88,6	752	79,1
		2	173	52	0	88	33	22,1	24,2	13,2	17,6	81,5	774	98,2
	Nov	1	151	1	10	10	130	73,5	22,9	13,5	17,1	83,5	795	68,5
		2	1	0	0	0	1	107,3	26,0	16,4	20,1	87,0	811	95,3
Dez	1	691	84	113	71	423	34,1	26,2	16,4	20,1	85,7	822	92,9	
	2	54	11	0	5	38	173,5	27,7	18,4	22,0	83,8	825	122,3	
2007	Jan	1	26	22	0	0	4	44,6	27,3	18,4	21,8	87,0	820	100,6
		2	69	6	0	0	63	132,6	27,6	17,6	21,6	84,6	807	101,7
	Fev	1	27	4	0	0	23	61	25,8	16,4	20,1	81,9	788	120,9
		2	45	24	21	0	0	31,4	24,4	16,1	19,0	88,4	701	75,4
Abr	1	7	0	0	0	7	56,2	24,3	14,1	18,0	87,1	680	91,1	
	2	7	0	0	0	7	56,2	24,3	14,1	18,0	87,1	680	91,1	
Total/Média			3360	947	187	1189	1037	62,1	23,6	13,6	17,5	84,5	732,8	92,1

GF – Abundância de *G. ficicola*; NE- Nordeste; NO – Noroeste; SE – Sudeste; SO – Sudoeste; P – precipitação; TMA – temperatura máxima; TMI – temperatura mínima; TME – temperatura média; UR – umidade relativa do ar; FF – fotofase do nascer ao ocaso do sol; VV – velocidade do vento.

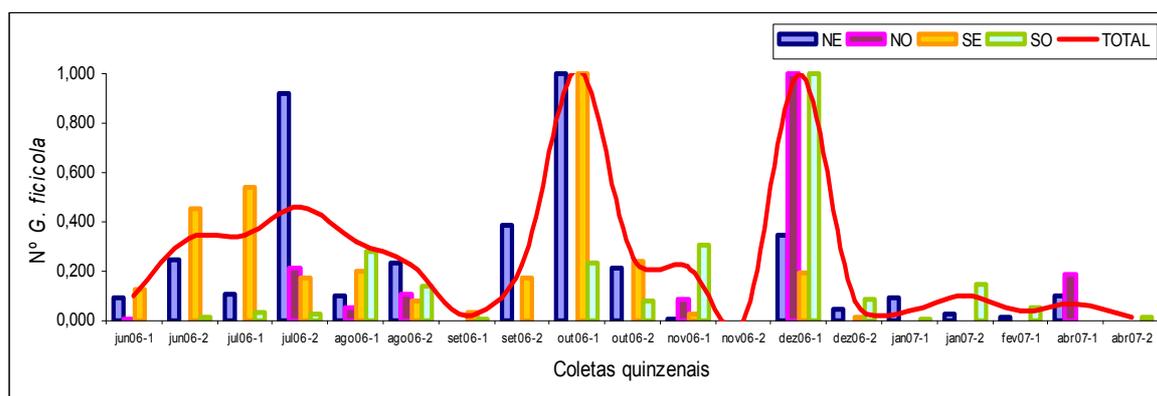


Figura 8. Abundância total de *G. ficicola* em árvores adultas de *F. benjamina* e distribuição nos quadrantes (Nordeste - NE, Noroeste - NO, Sudeste - SE, Sudoeste - SO) por data de coleta, em área de plantio na propriedade Belvedere, no município de Morretes, PR, no período de junho/2006 a abril/2007. (Nº *G. ficicola* – dados normalizados).

Tabela 3. Abundância sazonal de *G. ficicola* em árvores adultas de *F. benjamina* distribuída nos quatro quadrantes (NE, NO, SE, SO) em área de plantio na propriedade Belvedere, no município de Morretes, PR, no período de junho/2006 a abril/2007.

Estação	Distrib.	GF	NE	NO	SE	SO
Outono	Total	122	46	22	46	8
	Média	40,7	15,3	7,3	15,3	2,7
	%	100	37,7	18,0	37,7	6,6
Inverno	Total	1184	387	42	541	214
	Média	197,3	64,5	7,0	90,2	35,7
	%	100	32,7	3,5	45,7	18,1
Primavera	Total	1187	387	10	526	264
	Média	237,4	77,4	2,0	105,2	52,8
	%	100	32,6	0,8	44,3	22,2
Verão	Total	867	127	113	76	551
	Média	44,0	25,4	22,6	15,2	110,2
	%	100	14,6	13,0	8,8	63,6

GF – Abundância de *G. ficicola*; NE – Nordeste; NO – Noroeste; SE – Sudeste; SO - Sudoeste

As correlações entre cada quadrante e a abundância total de *G. ficicola* foi acima de 60% e significativas com valor de $p < 0,01$. A menor correlação foi com o quadrante NO ($r = 0,6059$), registrando a ausência de afídeos em 63% das coletas, e a maior com o quadrante NE ($r = 0,7474$) (Figura 9).

As correlações significativas ($p < 0,01$) das seis combinações dos quadrantes entre si foram NE:SE com $r = 0,6740$ e, NO:SO com $r = 0,8789$. As demais combinações apresentaram correlações abaixo de 21% ($p > 0,01$) (Tabela 4). Desta forma, a maior correlação foi obtida entre as combinações a leste ou a oeste e não norte ou sul, sugerindo que o comportamento de *G. ficicola* acompanha ou, é diretamente proporcional à direção do sol leste/oeste. A correlação mais próxima de zero, indicando quase ausência de correlação foi entre NO:SE (-0,028). O quadrante NO, além de receber menor incidência do sol, estava localizado em frente (distante 10 m) a uma floresta secundária, estando suscetível a períodos mais prolongados de sombra. De acordo com Souza *et al.* (2002), as árvores de *F. benjamina* apresentam grande resistência a longos períodos sem exposição solar direta. E a maior diversidade da vegetação pela presença da floresta secundária dificulta a localização das plantas hospedeiras pelos afídeos. Dixon *et al.* (1987) discutem que a pequena quantidade de afídeos nos trópicos é resultado da grande quantidade de espécies de plantas, além da baixa eficiência destes insetos em localizar seu hospedeiro. Segundo Heie (1994), os afídeos são um grupo pouco especializado para explorar novos ambientes com flora diversificada.

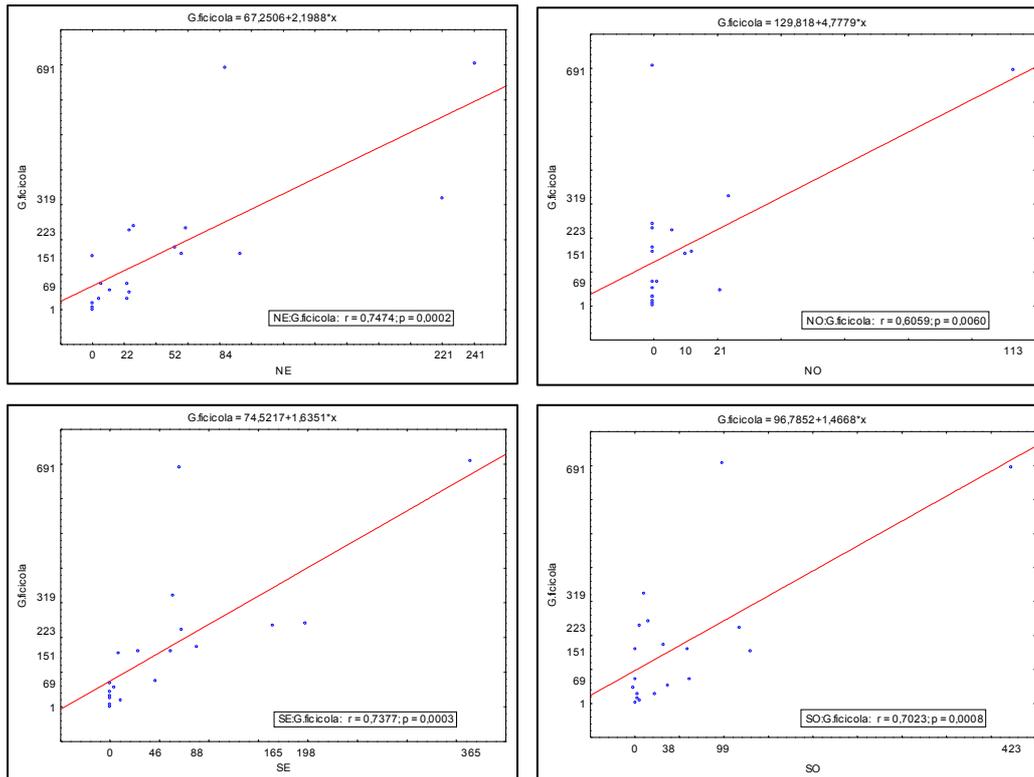


Figura 9. Correlação entre a abundância total de *G. ficicola* e nos quadrantes (Nordeste - NE, Noroeste - NO, Sudeste - SE, Sudoeste - SO) na propriedade Belvedere, no município de Morretes, PR, no período de junho/2006 a abril/2007.

Tabela 4. Correlação da abundância de *G. ficicola* entre os quadrantes (NE, NO, SE, SO) na área de plantio da propriedade Belvedere, no município de Morretes, PR, no período de junho/2006 a abril/2007 e comparação das análises com a retirada de até dois *outliers* destacando a maior correlação em cada combinação.

Q	NE			NO			SE			SO		
	T	1otl	2otl	T	1otl	2otl	T	1otl	2otl	T	1otl	2otl
NE	1	1	1									
NO	0,2087	0,3363	0,5839	1	1	1						
SE	0,674*	0,6763*	0,03142	-0,028	-0,1721	-0,1089	1	1	1			
SO	0,1606	0,1272	-0,1888	0,8789*	0,0812	0,1441	0,1273	0,2547	-0,0812	1	1	1

* significativo $p < 0,01$ (intervalo de confiança a 95%)

Q – quadrantes; NE – Nordeste; NO – Noroeste; SE – Sudeste; SO – Sudoeste

T – todas as coletas; 1otl – coletas sem 1 *outlier* (dez06-1); 2otl – coletas sem 2 *outliers* (dez06-1 e out06-1)

Dentre as variáveis climáticas, a única que obteve significância no valor de $p < 0,05$ foi a fotofase com o quadrante SO, contribuindo com $Beta = 1,27$, explicado em 61% (R), e o *p-valor* da análise de variância oriundo da regressão foi $p = 0,36 > 0,05$.

Apesar das variáveis ambientais serem consideradas as mesmas para cada quadrante e sem correlação com a abundância de *G. ficicola* através da análise de regressão

múltipla, constata-se a influência, principalmente, da temperatura e da fotofase, na abundância pontual dos afídeos em razão tanto da intensidade sazonal da radiação solar (temperatura) quanto da intensidade luminosa nos quadrantes da área estudada. Agarwala (2007) relatou que a temperatura geralmente tem influência associada com outros fatores ambientais, como a fotofase e a qualidade nutricional do hospedeiro.

Não foi possível, no presente estudo, estabelecer se houve, além dos fatores abióticos, influência direta da condição fenológica da planta hospedeira, uma vez que *F. benjamina* é uma planta perene que não apresenta diferenciação visual bem definida da fenologia. Assim, a análise sazonal do aspecto nutricional da planta nos diversos quadrantes é um estudo a ser considerado posteriormente.

3.2.2. *Greenidea psidii*

Foram monitoradas 1080 árvores de *P. guajava* em 18 coletas na Estação Experimental do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), no período de maio/2006 a abril/2007. Do total de árvores monitoradas, sete foram excluídas ao longo das coletas (6 secaram e 1 foi cortada) totalizando 1073.

Os valores apresentados na Tabela 5 indicam o número de árvores em que *G. psidii* foi registrada e o número de árvores em determinada fase fenológica de *P. guajava*. A presença de *G. psidii* foi registrada em apenas 69 das árvores monitoradas (6,43%). Com relação à fenologia das plantas, a fase registrada com maior frequência foi a de brotação média (89,6%), brotação avançada (84,7%) e brotação inicial (67,0%), seguidas de 272 árvores com presença de botão floral representando 25,35% das árvores monitoradas.

Tabela 5. Presença de *G. psidii* e fases fenológicas em 1073 árvores de *P. guajava* na Estação Experimental do IAPAR, em Morretes, PR, no período de maio/2006 a abril/2007.

Variáveis	Total	Média	%
<i>G. psidii</i>	69	3,83	6,43
Broto inicial	719	39,94	67,01
Broto médio	962	53,44	89,66
Broto avançado	909	50,50	84,72
Botão floral	272	15,11	25,35
Flor aberta	106	5,89	9,88
Fruto imaturo	245	13,61	22,83
Fruto maduro	126	7,00	11,74
Fruto podre	130	7,22	12,12

Foram registrados dois picos populacionais de *G. psidii*, relativos à sua presença em maior número de árvores, um na primeira quinzena de setembro/2006 e outro na segunda quinzena de outubro/2006. O primeiro corresponde ao período da primavera em que a temperatura máxima média registrada ficou entre 18,9 a 26,2°C. Na segunda quinzena de setembro/2006 observou-se queda na presença dos afídeos, provavelmente explicada pela alta precipitação (125,3 mm) na semana que antecedeu a coleta. Na primeira quinzena de novembro/2006 também foi observada queda na presença dos insetos, sendo que nos dois dias anteriores à coleta, a precipitação foi de 60,8 mm. Entre o final de dezembro/2006 e fins de fevereiro/2007 não foi possível realizar as coletas pois justamente nas datas estipuladas para coleta a área estava totalmente alagada devido a chuvas torrenciais. Pelo gráfico de flutuação observa-se uma pequena tendência no aumento da população de *G. psidii*, porém em razão da alta precipitação neste período (173,5 mm em dez/2006; 177,2 mm em jan/2007; e 186,0 mm em fev/2007) pode-se inferir que a sua presença e flutuação neste período sem coleta não foi relevante (Figura 10). Os picos de presença de *G. psidii* e de botões florais de *P. guajava* foram coincidentes na primavera, quando há uma maior translocação de seiva para essas estruturas da planta, resultando em maior disponibilidade de nutrientes para os afídeos. Segundo Scheirs *et al.* (2002), a variação na qualidade nutricional das plantas está diretamente relacionada com a sazonalidade.

O resultado da análise de regressão múltipla com os dados climáticos indica que os valores da presença de *G. psidii* em 60 árvores de *P. guajava* podem ser preditos utilizando-se os valores da fotofase, temperatura mínima e precipitação, como no modelo a seguir:

$$GP = -0,0572 + 0,0018FF - 0,0199TMI - 0,0011P \text{ (Modelo 1)}$$

onde:

GP – presença de *G. psidii*

FF – fotofase (minutos)

TMI – temperatura mínima (°C)

P – precipitação (mm)

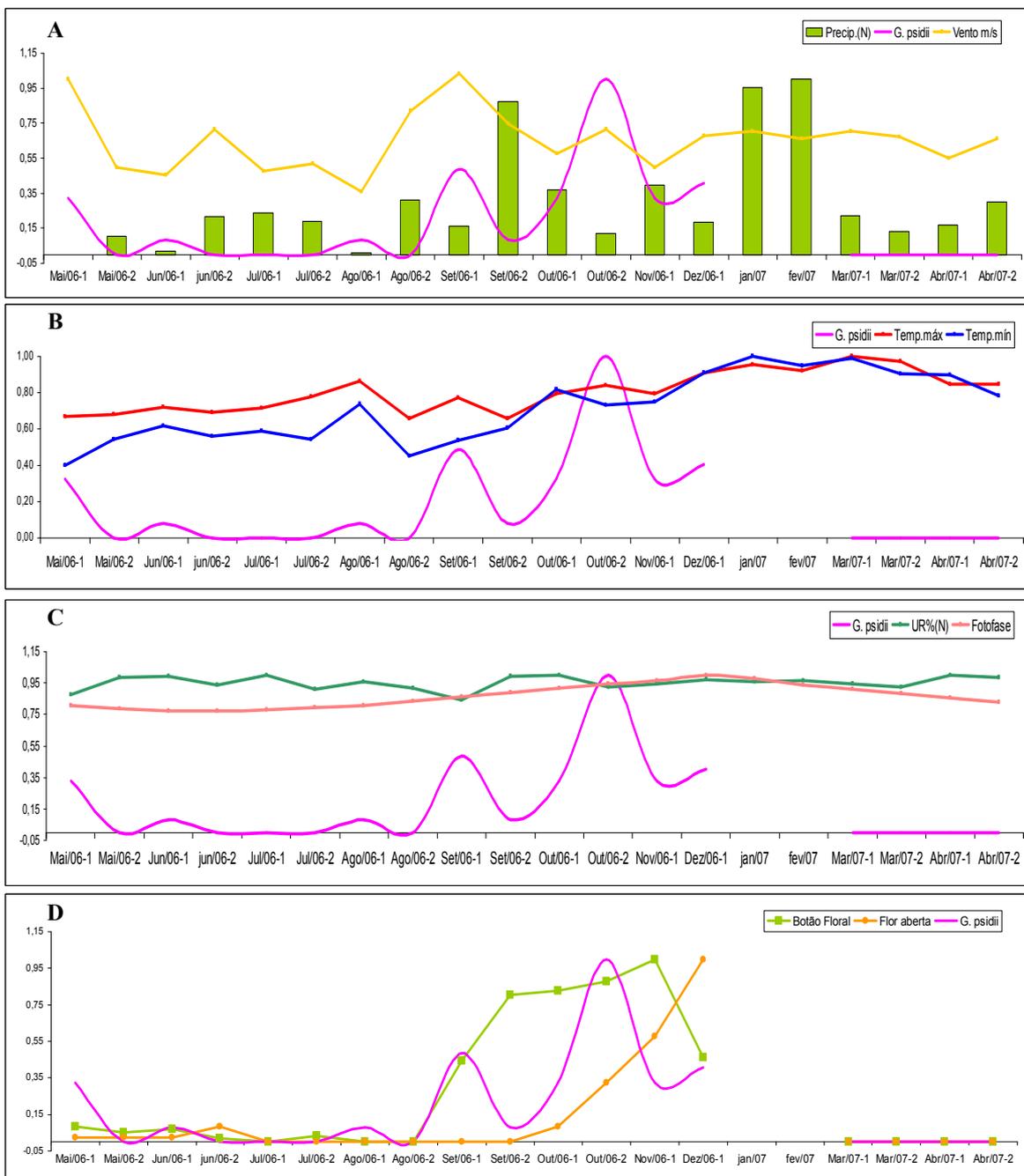


Figura 10. Flutuação da presença de *G. psidii* em *P. guajava* com dados climáticos, temperatura e velocidade do vento (A), temperatura máxima e mínima (B) e umidade relativa do ar e fotofase (C) e características fenológicas relacionadas positivamente, botão floral e flor aberta (D) no período de maio/2006 a abril/2007, na Estação Experimental IAPAR, no município de Morretes, PR. (Valores das variáveis normalizados).

As variáveis que mais se destacaram para a elaboração do modelo foram as que apresentaram os maiores valores de correlação parcial (R_{parcial}) e coeficiente angular padronizado ($Beta$), que podem ser observadas na Tabela 6, juntamente com a porcentagem de explicação do modelo (R).

Com relação à fenologia da planta hospedeira verifica-se uma relação direta da presença de *G. psidii* com a presença do botão floral e da flor aberta (Figura 10D).

A análise da regressão múltipla indicou que somente a fase fenológica em botão floral de *P. guajava* é suficiente para prever os valores da presença de *G. psidii* em seu hospedeiro, resultando na porcentagem de contribuição no modelo de 70% com $p < 0,05$ (Figura 11), porém, associado indiretamente a fatores climáticos que influenciam na fenologia de *P. guajava* (Tabela 6).

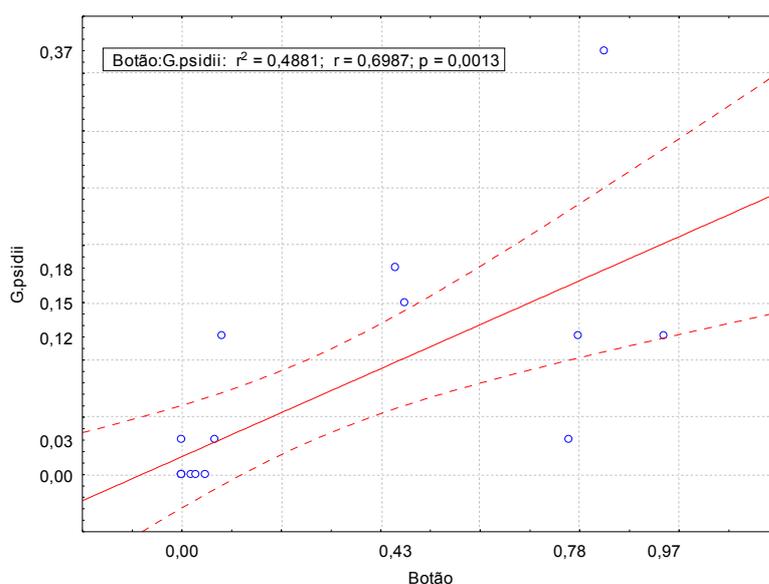


Figura 11. Correlação da presença de botão floral de *P. guajava* em relação à presença de *G. psidii* nas plantas, na Estação Experimental IAPAR, no município de Morretes, PR, no período de maio/2006 a abril/2007.

Neste estudo verificou-se que a fase de botão floral está relacionada com a fotofase e a temperatura máxima, sendo que estas variáveis podem prever a presença e início da floração em *P. guajava*, apresentando o seguinte modelo de regressão linear múltipla:

$$BF = -2,5574 + 0,0067FF - 0,0749TMA \text{ (Modelo 2)}$$

Resultados de outros estudos corroboram os obtidos na presente pesquisa, como a correlação da floração de diversas espécies vegetais em florestas de restinga na Ilha do Mel, PR, com o fotoperíodo (Marques & Oliveira 2004). Outros trabalhos demonstram que a concentração de espécies em flor no período de setembro a novembro nos neotrópicos

está relacionada com o comprimento do dia (Ter Steege & Persuad 1991; Rivera & Borchert 2001; Morellato *et al.* 2000).

Nos resultados da regressão com a fase de floração em si, além das variáveis fotofase e temperatura máxima, foi incluído no modelo a precipitação, sendo dados preditores para a presença da floração e conseqüente formação de frutos em *P. guajava*, de acordo com o seguinte modelo:

$$FA = -1,92027 + 0,00447FF - 0,00255P - 0,03578TMA \text{ (Modelo 3)}$$

As variáveis que mais se destacaram para a elaboração do modelo foram as que apresentaram os maiores valores de correlação parcial (R_{parcial}) e coeficiente angular padronizado (*Beta*), que podem ser observadas na Tabela 6, juntamente com a porcentagem de explicação do modelo.

Tabela 6. Sumário das análises de regressão linear múltipla em relação à abundância de *G. psidii*, presença de botão floral e flor em *P. guajava* no período de maio/2006 a abril/2007, na Estação Experimental IAPAR, no município de Morretes, PR. Somente as relações significativas ($p < 0,05$) foram apresentadas.

	Dependente	Independentes	Beta	R_{parcial}	t	p
Modelo 1	GP	Intercepto			-4,50721	0,000492
		FF	1,094726	0,803380	5,04809	0,000178
		TMI	-0,630663	-0,633332	-3,06212	0,008444
		P	-0,438625	-0,565934	-2,56842	0,022306
	R	R²	SQ	GL	F	p-valor
	0,8064	0,5753	0,1068	3	8,6780	0,0016
Modelo 2	BF	Intercepto			-4,57179	0,000435
		FF	1,077799	0,883042	7,04044	0,000006
		TMA	-0,635213	-0,742009	-4,14138	0,000998
		R	R²	SQ	GL	F
	0,8843	0,7353	1,700420	3	16,74715	0,000066
Modelo 3	FA	Intercepto			-4,64956	0,000455
		FF	1,163801	0,834482	5,46020	0,000109
		P	-0,428213	-0,553143	-2,39397	0,032449
		TMA	-0,491871	-0,547487	-2,35894	0,034644
	R	R²	SQ	GL	F	p-valor
	0,8486	0,6342	0,5958	4	8,3687	0,0014

De acordo com as análises de regressão linear múltipla, os modelos 2 e 3 se complementam com o modelo 1 (presença de *G. psidii*) em relação à fotofase e precipitação, diferindo somente em relação à temperatura máxima e mínima, sendo que a fotofase apresentou maior contribuição nos três modelos. Com base nestes resultados da análise de regressão pode-se inferir que, nas condições em que o monitoramento dos afídeos e o acompanhamento da fenologia da planta hospedeira foram realizados, a ocorrência de *G. psidii* está fortemente relacionada com a fase fenológica de seu hospedeiro, corroborando com a afirmação de Dixon (1987b) de que o crescimento e floração das plantas hospedeiras nas regiões tropicais e subtropicais ocorrem periodicamente e esta sazonalidade provavelmente se reflete no ciclo de vida dos afídeos.

Apesar de ser esperada uma alta correlação de *G. psidii* com as brotações inicial, média e avançada, por ser seu sítio alimentar bem como da maioria dos afídeos (Blackman & Eastop 1984), estudos têm comprovado que na floração, a planta requer mais energia para modificar o meristema vegetativo em reprodutivo, sendo considerada uma fase com alto nível nutricional (Taiz & Zeiger 2004). Segundo Kerbauy (2004), experimentos laboratoriais demonstraram que o estímulo floral pode ser transportado via floema, como açúcares e nutrientes, os quais têm sido considerados componentes importantes como sinalizadores da floração. Esta constatação pode explicar a alta correlação da presença de *G. psidii* com o botão floral, pois o floema é a principal fonte de nutrição dos afídeos (Srivastava, 1987), e tendem a preferir plantas nutricionalmente mais favoráveis (Raven *et al.* 1996). Steinmann-Oelck (1985) *apud* Klingauf (1987) relatou que variedades de *Vicia faba* L. (Fabaceae), com certo grau de resistência, podem tornar-se muito suscetíveis ao ataque pelo afídeo *Aphis fabae* Scopoli, 1763 durante o estágio de floração. Segundo Klingauf (1987) as partes em floração da planta formam um sítio de alta atividade metabólica, suprindo os afídeos com altas taxas de nutrientes.

4. CONCLUSÕES

- A captura de formas aladas de *G. ficicola* e *G. psidii* não foi expressiva em armadilhas-amarelas-de-água;
- Os afídeos alados das duas espécies apresentam maior atividade na primavera, quando as temperaturas são amenas, precedendo períodos de alta precipitação;

- A ocorrência de *G. ficicola* apresenta relação direta com a posição das árvores hospedeiras nos quadrantes caracterizados pelo deslocamento solar leste/oeste na área;
- Ocorre sincronismo entre a ocorrência de *G. psidii* com a fenologia de sua planta hospedeira *P. guajava*, sendo que a maior abundância do afídeo nas plantas está correlacionada positivamente com a fase fenológica de botões florais;
- O fotoperíodo influencia e condiciona a floração em *P. guajava*, refletindo-se na abundância do inseto.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agarwala B K (2007) Phenotypic plasticity in aphids (Homoptera: Insecta): Components of variation and causative factors. *Current Science* 93(3):308-313.

Agarwala B K, Bhattacharya S (1993) Survival and reproductive strategy in the black citrus aphid *Toxoptera aurantii* in the tropics. In Kindlmann P, Dixon A F G (eds.). *Critical Issues in aphid biology*. Czech Republic, University of South Bohemia, p.9-16.

Aheer G M, Ali A, Ahmad M (2008) Abiotic factors effect on population fluctuation of alate aphids in wheat. *J Agric Res* 46(4):367-371.

Auad A M (1996) Dinâmica populacional do pulgão-do-pessegueiro, *Brachycaudus (Appelia) schwartzi* (Börner, 1931) (Homoptera: Aphididae). Tese de Mestrado. UFL. Lavras, Minas Gerais, 58p.

Avinent L, Hermoso de Mendoza A, Llácer G (1991) Comparison of traps for capture of alate aphids (Homoptera, Aphidinea) in apricot tree orchards. *Agronomie* 11:613-618.

Bale J S, Masters G J, Hodkinson I D, Awmack C, Bezemer T M, Brown V K, Butterfield J, Buse A, Coulson J C, Farrar J, Good J E G, Harrington R, Hartley S, Jones T H, Lindroth R L, Press M C, Symrnioudis I, Watt A D, Whittaker J B (2002) Herbivory in

global climate change research: direct effects of rising temperature on insect herbivores. *Global Change Biology* 8(1):1-16.

Bertels A, Ferreira E, Casa Grande W (1971) Problemas de vetores de vírus da batata e seu combate nas condições do Rio Grande do Sul. *Pesq Agropec Bras* 6: 291-306.

Blackman R L, Eastop VF (1984) *Aphids on the world's crop – an identification guide*. Chichester, Wiley, 466 p.

Cardoso J T (2007) Morfologia, bioecologia e comportamento alimentar de *Pineus boernerii* Annand, 1928 (Hemiptera: Adelgidae) em *Pinus* spp. (Pinaceae). Tese de Doutorado, Curitiba, UFPR, 147p.

Cermeli M (1970) Notas preliminares sobre la fluctuacion de áfidos en Cagua, Estado Aragua, Venezuela. *Agron Trop* XX:311-321.

Cividanes F J (2002) Flutuação populacional de formas aladas de *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae). *Brag* 61(2):143-150.

Dixon A F G (1977) Aphid ecology: life cycles, polymorphism, and population regulation. *Ann Rev Ecol Syst* 8: 329-353.

Dixon A F G, Wellings P W (1982) Seasonality and reproduction in aphids. *Int J Invert Reprod* 5: 83-89.

Dixon A F G (1987a) The way of life of aphids: host specificity, speciation and distribution In Minks A K, Harrewijn P. *Aphids their biology, natural enemies and control*. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Science Publishers B.V., 450p.

Dixon A F G (1987b) Seasonal development in aphids. In Minks A K, Harrewijn P. *Aphids their biology, natural enemies and control*. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Science Publishers B.V., 450p.

- Dixon A F G, Kindlmann P, Leps J, Holman J (1987) Why there are so few species of aphids, especially in the tropics. *The American Naturalist* 129:580-592.
- Eastop V F (1978) Diversity of the Sternorrhyncha within major climatic zones. *Symposium of the Royal Entomological Society of London* 9:71-88.
- Haddad M L, Parra J R P (1984) Métodos para estimar os limites térmicos e a faixa ótima de desenvolvimento das diferentes fases do ciclo evolutivo de insetos. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários “Luiz de Queiroz”, 12 p.
- Halbert S E, Zhang G-X, Pu Z-Q (1986) Comparison of sampling methods for alate aphids and observations on epidemiology of soybean mosaic virus in Nanjing, China. *Ann. appl. Biol.* 109:473-483.
- Heie O E (1994) Why are there so few aphid species in the temperate areas of the southern hemisphere? *Eur J Entomol* 91:127-133.
- Kaakeh W, Dutcher J D (1993) Effect of rainfall on population abundance of aphids (Homoptera: Aphididae) on pecan. *J Entomol Sci* 28:283-286.
- Kerbauy G B (2004) *Fisiologia Vegetal*. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan S.A., 452p.
- Klingauf F A (1987) Biology - Host plant finding and acceptance. In Minks A K, Harrewijn P. *Aphids their biology, natural enemies and control*. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Science Publishers B.V., 450p.
- Lazzari S M N, Lazzarotto C M (2005) Distribuição sazonal e altitudinal de afídeos (Hemiptera:Aphididae) na Serra do Mar, Paraná, Brasil. *Rev Bras Zool* 22(4):891-897.
- Liu T X, Yue B (2001) Comparison of some life history parameters between alate and apterous forms of turnip aphid (Homoptera: Aphididae) on Cabbage under constant temperature. *Florida Entomologist* 84(2):239-242.

- Marques M C M, Roper J J, Salvalaggio A P B (2004) Phenological patterns among plant life-forms in a subtropical Forest in southern Brazil. *Plant Ecology*, 173:203-213.
- Marques M C M, Oliveira P E A M (2004) Fenologia de espécies do dossel e do sub-bosque de duas Florestas de Restinga na Ilha do Mel, sul do Brasil. *Rev Bras Bot* 27(4):713-723.
- Möericke V (1951) Eine Farfalle zur Kontrolle des Fluges von Blattläusen, insbesondere der Pflirsichblattlaus, *Myzodes persicae* (Sulz.). *Nachr Bl dt Pflschutzdienst Stuttgart* 3:23-24.
- Müller C B, Williams I S, Hardie J (2001) The role of nutrition, crowding and interespecific interactions in the development of winged aphids. *Ecol Entomol* 26:330-340.
- Morellato L P C, Talora D C, Takahasi, A, Bencke C C, Romera E C, Zipparro V B (2000) Phenology of Atlantic Rain Forest trees: a comparative study. *Biotrop* 32:811-823.
- Penteado S R C (2007) Parâmetros biológicos, tabelas de vida e comportamento alimentar de *Cinara atlantica* (Wilson) (Hemiptera, Aphididae) em laboratório e sua flutuação populacional e danos em progênies de *Pinus taeda* L. (Pinaceae), em campo. Tese de Doutorado, Curitiba, UFPR, 223p.
- Primiano E L V (2005) Dinâmica populacional de afídeos (Hemíptera: Aphididae) em árvores cítricas no município de Nova Granada – SP. Dissertação de Mestrado, Piracicaba, 74p.
- Raven H P, Evert F R, Eichhorn S E (1996) *Biologia Vegetal*. Rio de Janeiro, Editora Guanabara, Koogan S.A., 587p.
- Rivera G, Borchert R (2001) Induction of flowering in tropical trees by a 30-min reduction in photoperiod: evidence from field observations and herbarium specimens. *Tree Physiology* 21:201-212.

- Robert Y (1987) Aphids and their environment - Dispersion and Migration. In Minks A K, Harrewijn P. Aphids their biology, natural enemies and control. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Science Publishers B.V., 450p.
- Rossi M M, Matioli J C, Carvalho C F (1990) Efeitos de fatores climáticos sobre algumas espécies de pulgões (Homoptera: Aphididae) na cultura da batata, em Lavras - MG. An. Soc. entomol. Brasil 19:75-86.
- Scheirs J, Bruyn L D, Verhagen R (2002) Seasonal changes in leaf nutritional quality influence grass miner performance. Ecol Entomol 27(1):84-93.
- Silveira Neto S, Nakano O, Vila Nova N A (1976) Manual de ecologia de insetos. Piracicaba, SP, Ceres, 419p.
- Sokal R R, Rohlf F J (1991) Biometry: The principles and practice of statistics in biological research. New York W. H. Freeman and Company.
- Souza S R, Vasconcellos P C, Mantovani W, Carvalho L R F (2002) Emissão por folhas de *Ficus benjamina* L. (Moraceae) de compostos orgânicos voláteis oxigenados. Rev Bras Bot 25(4):413-418.
- Srivastava P N (1987) Nutritional physiology. In Minks A K, Harrewijn P. Aphids their biology, natural enemies and control. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Science Publishers B.V., 450p.
- Taiz L, Zeiger E (2004) Fisiologia Vegetal. São Paulo, 3ª ed., ARTMED Editora S.A., 719p.
- Ter Steege H, Persaud C A (1991) The phenology of Guyanese timber species: a compilation of a century of observations. Vegetatio 95:177-198.
- Tsai J H, Wang K (1999) Life table study of Brown citrus aphid (Homoptera: Aphididae) at different temperatures. Environ Entomol 28:412-419.

- Walkers K F A, Dixon A F G (1984) The effect of temperature and wind on the flight activity of cereal aphids. *Ann Appl Biol* 104:17-26.
- Wolda H (1978) Seasonal fluctuations in rainfall, food and abundance of tropical insects. *J Anim Ecol* 47:369-381.
- Yukawa J (2000) Synchronization of gallers with host plant phenology. *Popul Ecol*, 42: 105-113.
- Zonta de Carvalho R C (2004) Bioecologia de *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy) (Hemiptera: Aphididae) em *Lagerstroemia indica* L. (Lythraceae), em Curitiba, Paraná, e Variabilidade Genética Determinada por PCR-RAPD. Tese de Doutorado, UFPR, Curitiba, 130p.
- Zúñiga E S (1985) Efecto de la lluvia en la abundancia de afidos y afidos momificados en trigo (Homoptera: Aphidae). *Rev Chil ent* 12:205-208.

Capítulo 2

**Caracterização do comportamento alimentar de
Greenidea ficicola e *Greenidea psidii* pela
técnica de monitoramento eletrônico - EPG**

RESUMO

A razão de crescimento das populações de afídeos depende da qualidade e quantidade de alimento consumido, além de sua habilidade em alcançar o floema. Os objetivos deste estudo foram: caracterizar o comportamento alimentar de *Greenidea ficicola* em *Ficus benjamina* e *Greenidea psidii* em *Psidium guajava*; diferenciar o comportamento alimentar das duas espécies de afídeos. Foram testadas quinze fêmeas partenogênicas de cada espécie pelo sistema de monitoramento eletrônico EPG. Cada inseto foi arranjado sobre sua planta hospedeira, sendo uma muda de *F. benjamina* de um ano de idade, para *G. ficicola*, e broto excisado de *P. guajava*, para *G. psidii*, e monitorado durante 24 h no equipamento GIGA 4 – DC. O registro das ondas que indicam as atividades relacionadas ou não com a alimentação foi bastante consistente, e com base nesses padrões de onda foram determinados parâmetros indicativos do comportamento alimentar das espécies. Para *G. ficicola*, 97% dos insetos alcançaram o floema e destes, 57% apresentaram fase floemática sustentada; enquanto que para *G. psidii*, 80% alcançaram o floema e destes, somente 17% apresentaram alimentação sustentada no floema. Pelo valor de U (Mann-Whitney), ambas as espécies apresentaram comportamento alimentar diferenciado em três dos parâmetros analisados: duração total de np, tempo para realizar a primeira penetração e número de pd após a primeira penetração. A análise de componentes principais (ACP) mostrou que as variáveis duração de np no total de registro explicou 89% da distribuição intra e interespecífica das espécies, sendo formados dois grupos, que apresentaram sobreposição de diversos pontos, corroborando com os resultados da correlação e do teste de Mann-Whitney. Entretanto, a combinação linear das variáveis originais da ACP produziu a separação das duas espécies com base nas variáveis canônicas; sendo que o parâmetro que mais contribuiu com a VC1 foi a duração total na fase floemática com 60% e na VC2 o tempo de caminhamento contribuiu com 71%. Os dados demonstram que as fêmeas adultas de *G. ficicola* e *G. psidii* permanecem pouco tempo na fase floemática sustentada, sugerindo aceitação do hospedeiro limitada pelo fato de despenderem um período prolongado em tentativas de penetração nos tecidos das plantas; *G. ficicola* apresenta desempenho alimentar melhor do que *G. psidii* evidenciado pelo menor número de não penetrações (np) após a primeira fase floemática e o maior tempo de permanência na fase floemática; o comportamento alimentar de *G. ficicola* e *G. psidii* diferem apenas na duração da fase floemática e da fase de caminhamento, em seus respectivos hospedeiros.

1. INTRODUÇÃO

A dispersão é um processo básico e histórico da vida de todos os organismos, e todos possuem uma etapa na vida que se adapta, de algum modo, ao transporte. Este processo é de grande importância para as espécies exóticas na exploração de novos ambientes onde poderão se estabelecer com sucesso (Cox 2004).

As características comuns da adaptação bem sucedida de insetos colonizadores incluem o uso de um habitat pioneiro, curto tempo de geração, alta fecundidade e razão de crescimento elevada (Sakai *et al.* 2001), características estas encontradas nos afídeos. A reprodução nos insetos depende da interação de processos fisiológicos e comportamentais, os quais estão intimamente relacionados ao consumo e utilização do alimento (Panizzi & Parra 1991). A colonização ou não dos afídeos em uma planta é um processo complexo que envolve uma série de estímulos e respostas e não somente a presença ou ausência de um estímulo específico (Klingauf, 1987), mas a seleção da planta hospedeira é fundamentalmente afetada pelos sinais gustatórios detectados durante a penetração dos estiletes nos tecidos periféricos da planta (Powell *et al.* 2006).

A família Aphididae compreende mais de 4300 espécies, todas especializadas em alimentação no floema (Blackman & Eastop 1994; Srivastava 1987), que é um tecido com capacidade de manter o suprimento de nutrientes sob pressão (Mittler 1957). Sendo o floema o principal recurso de nutrientes (Tosh *et al.* 2002), a razão de crescimento dos afídeos depende da qualidade e quantidade de alimento consumido (Kordan *et al.* 2008), além da habilidade dos afídeos em alcançar o floema (Klingauf 1987). De acordo com Schoonhoven *et al.* (1998), o aceite da planta pelos afídeos pode ser confirmado pela ingestão da seiva e/ou pela reprodução. Dentre os fatores que estão relacionados à alimentação dos afídeos, Klingauf (1987) descreve alguns como, a idade do hospedeiro, fatores abióticos, responsáveis pelo desenvolvimento das plantas hospedeiras, fatores bióticos incluindo o próprio comportamento dos afídeos exercendo pressão sobre o hospedeiro e os requerimentos nutricionais como aminoácidos, vitaminas, açúcares (sucrose) e minerais.

Klingauf (1987) afirma que os afídeos demonstram adaptação à natureza do alimento e ao tipo de plantas onde são criados, de modo que, ao serem transferidos para um novo hospedeiro, precisam de algum tempo para se readaptar. Somente após explorações repetidas no novo hospedeiro, apresentam aumento na aceitação, com mais indivíduos se estabelecendo na planta, enquanto alguns são incapazes de fazê-lo.

Lazzari & Zonta-de-Carvalho (2009) apresentam uma revisão extensiva sobre a biologia nutricional dos insetos sugadores de seiva, mencionando os fatores relacionados com a interação inseto-planta que afetam a alimentação e a nutrição dos afídeos, com destaque para o estado fisiológico/nutricional, idade e fenologia, estresse hídrico, morfologia e compostos secundários não nutricionais das plantas hospedeiras. Os autores chamam a atenção para o fato de, aparentemente, a presença de aleloquímicos na planta não afetar significativamente a alimentação e o comportamento alimentar dos sugadores de seiva do floema, como ocorre com os insetos mastigadores filófagos, uma vez que muitos desses compostos secundários são sintetizados em áreas específicas de determinados tecidos e não são, normalmente, transportados pelo floema. Segundo Niemeyer (1990) a maioria dos aleloquímicos fica armazenada nos vacúolos das células, o que reduz sua toxicidade e, de acordo com Powell *et al.* (1995) e Martin *et al.* (1997), os afídeos podem ingerir essas substâncias durante provas intracelulares, porém não limitam seu alcance ao floema.

O processo de alimentação dos afídeos inicia-se pela prova do hospedeiro com a introdução dos estiletos nos tecidos vegetais, perfurando, inicialmente a epiderme, seguindo uma trajetória pelo mesófilo e células parenquimáticas até atingir os vasos do floema. Todo este processo pode ser registrado pela técnica de monitoramento eletrônico (*Electronic penetration graph* – EPG), sendo que as breves penetrações nas células são caracterizadas como quedas de potencial (pd) (Tjallingii 1985). De acordo com Tjallingii (1994), os períodos de contato dos estiletos com o floema por mais de 10' podem caracterizar o aceite do floema pelo inseto, que pode permanecer por várias horas nesse sítio de alimentação. Powell *et al.* (2006), consideram que os fatores que mais influenciam a preferência e aceitação da planta pelos afídeos são determinados somente após a inserção dos estiletos e realização das provas.

O floema tem como principal função transportar nutrientes por toda a planta e o desvio desses nutrientes pelos insetos que se alimentam da seiva elaborada pode acarretar prejuízo para as plantas (Douglas 2006). O dano mecânico infligido nos tecidos vegetais durante o caminhar dos estiletos pode desencadear uma resposta fisiológica da planta ao ataque pelo inseto (Tjallingii & Esch 1993). Segundo Prado & Tjallingii (1994), a atividade do afídeo imediatamente após a inserção do estilete no floema é a secreção de saliva aquosa seguida pela ingestão da seiva e, de acordo com Klingauf (1987), a saliva geleificada funciona como um tampão entre as substâncias agressivas da planta e o afídeo, possibilitando a penetração dos estiletos e conseqüente alimentação e nutrição.

Pesquisas utilizando a técnica de EPG têm sido realizadas para avaliar o comportamento alimentar, aceite e adaptabilidade na planta hospedeira pelos afídeos; e também para o estudo dos mecanismos de transmissão de vírus e os de defesa envolvidos na resistência de plantas a insetos (Lazzari *et al.* 2009; Kordan *et al.* 2008; Tosh *et al.* 2003; Tosh *et al.* 2002; Müller *et al.* 2001).

Lazzari & Zonta-de-Carvalho (2009) destacam que a relação entre o inseto sugador da seiva do floema e sua planta hospedeira representa uma interação biótica altamente especializada, e que tal inseto é capaz de sobreviver em uma dieta nutricionalmente não balanceada (como é o floema) e de minimizar as respostas de defesa de sua planta hospedeira. Afirmam que as informações sobre a alimentação dos afídeos obtidas com a utilização do monitoramento eletrônico EPG auxiliam na compreensão da bioecologia da nutrição e das interações dos afídeos com suas plantas hospedeiras, permitindo que se aprimorem as estratégias de manejo das espécies-praga.

Os registros eletrônicos baseados no sistema DC (corrente contínua submetida ao circuito), desenvolvido por Tjallingii (1988), têm possibilitado melhor entendimento da interação afídeo-planta. Para a obtenção dos registros, um fio de ouro fino, fixado com cola condutiva, é preso ao dorso do afídeo para conectá-lo à entrada do amplificador. Uma pequena voltagem DC é aplicada na planta por meio de um eletrodo instalado no solo do vaso. A cutícula da planta e os tarsos do afídeo são efetivos isolantes elétricos, não produzindo sinal elétrico pelo andar do afídeo na superfície da planta. Entretanto, a penetração dos estiletes permite o fluxo de corrente através dos canais alimentar e salivar, produzindo sinal elétrico na entrada do amplificador. Uma série de ondas é produzida pela penetração dos estiletes do afídeo na planta. Alterações na condutibilidade, principalmente no estilete dos afídeos ao longo do tempo resultam no reconhecimento e padronização de ondas que podem ser correlacionadas ao comportamento alimentar e penetração dos estiletes na planta.

Recentemente, as espécies de afídeos de origem asiática *Greenidea ficicola* Takahashi 1921 e *Greenidea psidii* Van Der Goot 1916 (Hemiptera: Aphididae) foram registradas no Brasil, associadas a plantas de importância econômica, incluindo espécies de Moraceae e Myrtaceae (Lazzari *et al.* 2006). Contudo, não há estudos disponíveis sobre sua biologia, ecologia e outros aspectos que permitam inferir sobre o comportamento e adaptação destas espécies exóticas no País. Com o intuito de conhecer o comportamento alimentar destas duas espécies de *Greenidea* e de avaliar sua interação com suas plantas hospedeiras no Brasil, foram propostos os seguintes objetivos:

1. Caracterizar o comportamento alimentar de *G. ficicola* em *Ficus benjamina* (Moraceae) e *G. psidii* em *Psidium guajava* (Myrtaceae);
2. Diferenciar o comportamento alimentar das duas espécies de afídeos baseando-se nos parâmetros alimentares registrados pelo monitoramento eletrônico EPG.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os afídeos foram coletados diretamente em árvores de *F. benjamina* (ficus) e *P. guajava* (goiabeira) em Curitiba, Paraná, Brasil. Foram selecionadas quinze fêmeas adultas partenogenéticas de cada espécie, procedentes de uma colônia da mesma árvore, para serem avaliadas no sistema EPG. Cada inseto foi monitorado durante 24 h pelo equipamento GIGA 4 - DC (Tjallingii 1978) colocado no interior de uma Gaiola de Faraday, que reduz ruídos alheios ao sistema (Figuras 1 e 2). Os insetos foram fixados a um fio de ouro preso a um eletrodo, ligados a uma sonda e posicionados na superfície aérea das plantas, conforme descrito por Penteadó (2007).



Figura 1. Equipamento GIGA 4 – DC, com quatro canais, para a avaliação simultânea do comportamento alimentar de quatro fêmeas partenogenéticas de *G. ficicola*, dispostas sobre mudas de *F. benjamina*, dentro de uma Gaiola de Faraday.



Figura 2. Brotos de *P. guajava* (15 cm) utilizados nos experimentos do comportamento alimentar de *G. psidii*, pelo monitoramento eletrônico EPG, utilizando o equipamento GIGA 4 – DC.

Para os experimentos com *G. psidii* foram testados, com sucesso, 12 espécimes em brotos de *P. guajava* de aproximadamente 15 cm. Os espécimes de *G. ficicola* foram colocados em mudas de *F. benjamina* de um ano de idade, com aproximadamente 40 cm de altura, sendo que 14 resultaram em registros bem sucedidos.

A penetração dos estiletes do afídeo na planta modifica a tensão do sinal, e as diferentes ondas revelam informações sobre o comportamento do inseto, bem como a localização dos estiletes durante a penetração. A atividade dos estiletes foi gravada utilizando PROBE 3.0 - Acq 3/2 software para a aquisição de dados digitalizados. Após o registro, as ondas foram analisadas para cada inseto, de acordo com o tipo e tempo de cada registro, usando o software Ana 3.2. Os dados obtidos foram exportados para o programa Excel para as análises numéricas.

As seguintes ondas foram registradas e reconhecidas: não penetração (np), fase de caminhamento (C), injeção de saliva e ingestão passiva do floema (E1 + E2) e quedas de potencial (pd). O registro da ocorrência de cada padrão permitiu a avaliação dos seguintes parâmetros: (1) número de np (2); duração total de np; (3) porcentagem de np comparado com o tempo total de registro (%); (4) tempo de penetração do início do experimento; (5) duração da primeira penetração do início do registro; (6) número total de penetrações; (7) duração dos períodos de caminhamento; (8) contribuição da fase de caminhamento no total

do registro (%); (9) número de pd após a primeira penetração; (10) tempo para atingir o floema desde o início do registro; (11) tempo para atingir o floema desde o início da primeira penetração; (12) tempo para atingir o floema nesta penetração; (13) tempo para a ingestão sustentada no floema desde o início da gravação; (14) tempo para a ingestão sustentada no floema nesta penetração; (15) tempo entre a fase floemática e a ingestão sustentada; (16) número de fases floemáticas; (17) número de np's após a primeira fase floemática; (18) duração total da fase floemática; (19) porcentagem de tempo no floema em comparação com o tempo total de registro (%). As ondas E1 e E2 não foram analisadas separadamente, mas agrupadas e consideradas como fase floemática em razão da baixa duração nesta fase pelas duas espécies de *Greenidea*.

Os dados foram submetidos a testes de Shapiro-Wilk para testar a normalidade, antes de se proceder às demais análises estatísticas. Como os dados para os parâmetros não obtiveram distribuição normal, estes foram submetidos ao teste de Mann-Whitney ($\alpha=0,05$), para verificar a relação entre as espécies de afídeos estudados. Comparações interespecíficas entre as duas espécies de *Greenidea* foram realizadas aplicando a análise de componentes principais (ACP) e análise de variáveis canônicas para os dados registrados pelo EPG. Para essas análises, foram utilizados o Aplicativo computacional STATISTICA 7.0, e PAST 1,73. A fase floemática sustentada (parâmetros 13, 14 e 15 - Tabela 1) foi excluída da análise estatística, pois a relação hora/atividade poderia ser interpretada como zero o que superestimaria estes parâmetros.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O padrão de ondas registrado para *G. ficicola* e *G. psidii* foi semelhante aos padrões da maioria das espécies de afídeos (Figura 1); somente as ondas G, que correspondem à ingestão de xilema e F, dificuldade de penetração dos estiletos, não foram registradas durante os testes com estas duas espécies.

O total de horas registradas e analisadas para os 14 espécimes de *G. ficicola* foi de 336 h; e para os 12 espécimes de *G. psidii* foi de 288 h. O registro das ondas que indicam as atividades relacionadas ou não com a alimentação foi bastante consistente, distinguindo-se as seguintes ondas: não penetração (np – tempo em que o inseto permanece com o estilete fora da planta); fase de caminhamento (C – caminhamento do estilete entre as células vegetais); fase floemática (E1 - injeção de saliva + E2 - ingestão do floema) e

queda de potencial (pd – durante o caminhamento, o estilete perfura uma célula vegetal). Com base nesses padrões de onda foram determinados 19 parâmetros indicativos do comportamento alimentar das espécies (Tabela 1).

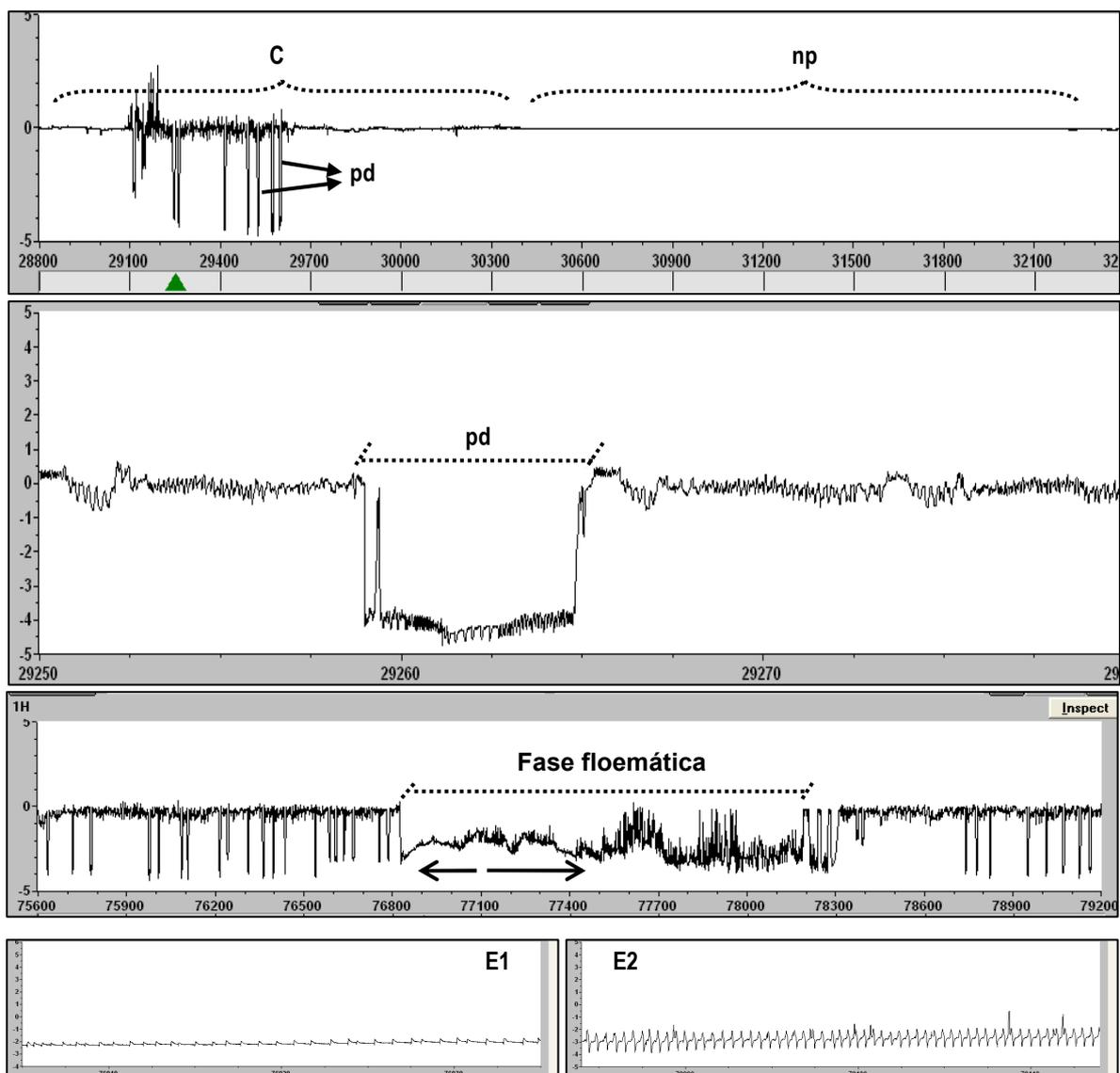


Figura 1. Padrão de ondas do comportamento alimentar de *G. ficicola* e *G. psidii* em suas respectivas plantas hospedeiras, *F. benjamina* e *P. guajava*, utilizando a técnica EPG. (C - caminhamento; np - não penetração; pd - queda de potencial; E1 - injeção de saliva no floema; E2 - ingestão passiva do floema).

Para *G. ficicola*, 97% dos insetos alcançaram o floema e destes, 57% apresentaram fase floemática sustentada; enquanto que para *G. psidii*, 80% alcançaram o floema e destes, somente 17% apresentaram alimentação sustentada no floema. Segundo Tosh *et al.* (2003),

85% a 100% de várias formas de *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae) alcançaram o floema no hospedeiro primário *Euonymus europaeus* (Celastraceae), sendo que uma das formas (a ginópara) foi a que apresentou menor contribuição na fase floemática sustentada com 55% dos indivíduos, porém acima do registrado na presente pesquisa para *G. psidii*.

A média de np e C foi de 20 h para *G. ficicola* e 23 h para *G. psidii*. Em 24 h de registro foram observadas duração média de 3 h no floema para *G. ficicola* e somente 0,21 h para *G. psidii*. Os valores para as duas espécies de *Greenidea* foram bem abaixo dos registros de Penteadó (2007) para o pulgão-gigante-do-pinus *Cinara atlantica* (Wilson, 1919) (Hemiptera: Aphididae), de 12,2 h na fase floemática em *Pinus taeda* (Pinaceae).

Os parâmetros de 1 a 8 (Tabela 1), os quais não se referem a alimentação propriamente dita, foram maiores para *G. psidii*, enquanto que os parâmetros 18 e 19, que se referem diretamente à alimentação, foram maiores para *G. ficicola*. A média do número total de penetrações foi alta para as duas espécies, *G. ficicola* com 23,3 e *G. psidii* com 25. Estes valores são consideravelmente elevados se comparados à média total de penetrações de *C. atlantica* (1,4); contudo, 100% dos espécimes testados de *C. atlantica* apresentaram fase floemática sustentada, indicando aceite incontestável da planta hospedeira (Penteadó 2007). Por outro lado, Kordan *et al.* (2008) registraram grande número de penetrações para *Acyrtosiphon pisum* (Harris 1776) em *Lupinus angustifolius* (Fabaceae), o qual foi considerado hospedeiro não adequado, pois, após várias penetrações, os afídeos não alcançaram o floema.

O fato de as duas espécies de *Greenidea* realizarem grande número de penetrações e pouco tempo no floema está mais de acordo com os registros de Kordan *et al.* (2008), sugerindo um comportamento de aceitação parcial do hospedeiro. Há possibilidade de que as plantas oferecidas às espécies de *Greenidea* não sejam plenamente adequadas aos insetos, pois foram usados brotos cortados de *P. guajava*, que apesar de serem frescos, podem ter a pressão do floema alterada. No caso de *F. benjamina*, as mudas eram de apenas um ano de idade, sendo que *G. ficicola* demonstra notável preferência por árvores adultas de *Ficus*, conforme constatado nos experimentos de campo (Capítulo 1).

A maioria das referências bibliográficas menciona que os afídeos preferem as brotações das plantas e também plantas mais jovens, em razão da alta concentração de nitrogênio nas fases iniciais do desenvolvimento vegetal (Srivastava 1987). Outro aspecto a ser considerado, não mensurado no presente trabalho, é o fato de *G. ficicola* e *G. psidii* serem espécies exóticas recém-introduzidas no Brasil, podendo não estar adaptadas aos hospedeiros nas condições ambientais atuais, mesmo que essas plantas hospedeiras sejam

as mesmas que ocorrem na região de origem destes insetos. Alterações fisiológicas das plantas, como deficiências nutricionais e estresse hídrico, por exemplo, podem ocorrer de um local para outro, de forma a não proporcionar alimentação adequada para os insetos. Ou, ainda, espécies ou variedades de plantas podem ser dotadas de algum fator de resistência físico ou químico (não determinado neste estudo) capaz de alterar o comportamento alimentar dos afídeos.

Tabela 1. Padrão e duração das ondas (h) registradas para fêmeas adultas ápteras de *G. ficicola* (*Gf*) e *G. psidii* (*Gp*), em suas respectivas plantas hospedeiras, *F. benjamina* e *P. guajava*, utilizando a técnica EPG (equipamento GIGA 4-DC), analisadas pela correlação e teste de Mann-Whitney (diferença significativa* das populações se $p < \alpha = 0,05$).

PARÂMETROS	Média		Correlação	U	p
	<i>Gf</i> (n=14)	<i>Gp</i> (n=12)			
1. Número de não penetrações (np)	24,27	25,67	-0,17	62	0,58
2. Duração total de np	8,74	11,79	0,02	37	0,05*
3. % de np no total do registro	37,21	49,59	0,01	39,5	0,06
4. Tempo para realizar a primeira penetração	0,95	1,79	-0,14	35,5	0,04*
5. Duração da primeira penetração	0,73	1,62	0,68	49	0,19
6. Número total de penetrações	23,29	25,00	-0,13	60	0,51
7. Duração da fase de caminhamento (C)	11,43	11,68	-0,17	70	0,93
8. % de C no total de registro	46,58	49,36	-0,02	66	0,75
9. Número de pd após a primeira penetração	2,16	0,07	-0,11	34	0,03*
10. Tempo para atingir o floema do início do registro	7,52	6,87	-0,44	66	0,75
11. Tempo para atingir o floema do início da 1ª penetração	6,67	4,65	-0,39	56	0,37
12. Tempo para atingir o floema nesta penetração	0,79	0,36	-0,04	42	0,09
13 ¹ . Tempo p/ a ingestão sustentada no floema do início do registro	8,52	14,62	-	-	-
14 ¹ . Tempo para a ingestão sustentada no floema nesta penetração	0,66	1,66	-	-	-
15 ¹ . Tempo entre a fase floemática e a ingestão sustentada	0,88	9,90	-	-	-
16. Número de fases floemáticas	2,73	4,33	-0,13	44,5	0,12
17. Número np após a primeira fase floemática	9,71	22,08	0,39	44,5	0,12
18. Duração total da fase floemática	3,19	0,21	-0,28	50,5	0,22
19. % de tempo no floema, em relação ao tempo total de registro	13,59	0,88	-0,29	51,5	0,25
% de insetos em fase floemática	87	80			
% de insetos na ingestão sustentada	47	13			

(¹) *Gf* n=8, *Gp* n=2

O valor do índice de Mann-Whitney (U) variou de 34 a 70, sendo que entre os parâmetros não houve grande variação para diferenciação das espécies. Porém quanto menor o valor de U, maior será a evidência de que as populações são diferentes entre si (Arango 2001). Pelo valor de U (Mann-Whitney), ambas as espécies apresentaram comportamento alimentar diferenciado em três dos parâmetros analisados: duração total de np, tempo para realizar a primeira penetração e número de pd após a primeira penetração. Correlação negativa tendendo a zero foi registrada em 75% dos parâmetros comparando as espécies. Forte correlação positiva foi obtida apenas para a duração da primeira penetração. A fase de caminhar (6, 7, 8) e o tempo para alcançar o floema (10, 11) apresentaram um alto valor de p (U), não indicando diferença entre as duas espécies (Tabela 1), já que os valores altos de U não são suficientes para inferir semelhança entre as populações (Arango 2001).

A análise de componentes principais mostrou que as variáveis 2 e 3 (duração de np no total de registro) explicaram 89% da distribuição intra e interespecífica entre as espécies. Na Figura 1, foram formados dois grupos, que apresentaram sobreposição de diversos pontos, corroborando com os resultados da correlação e do teste de Mann-Whitney.

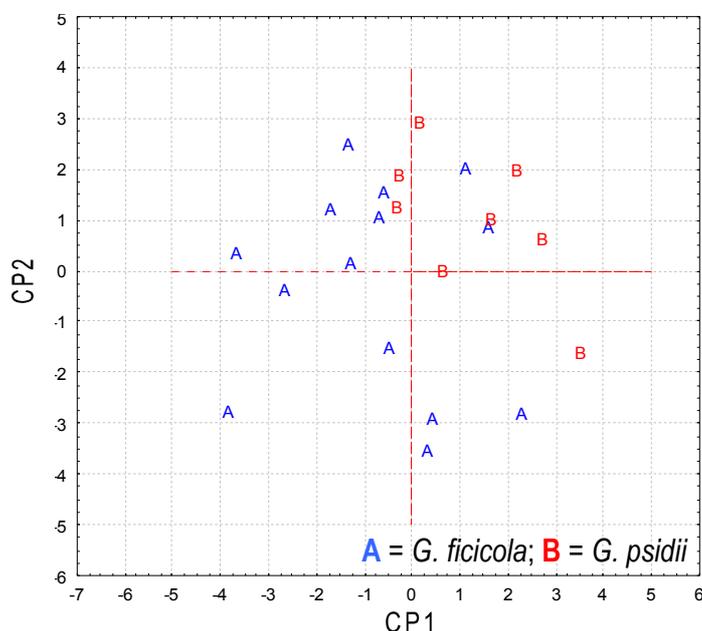


Figura 1. Distribuição entre as espécies *G. ficicola* (n=14) e *G. psidii* (n=12) em suas respectivas plantas hospedeiras, *F. benjamina* e *P. guajava*, utilizando a técnica EPG (ver Tabela 1 para os parâmetros alimentares avaliados).

Entretanto, a combinação linear das variáveis originais produziu a separação das duas espécies de *Greenidea* através das variáveis canônicas (Figura 2); sendo que o parâmetro que mais contribuiu com a VC1 foi a duração total na fase floemática com 60% e na VC2 o tempo de caminhamento contribuiu com 71% (Tabela 2). As duas espécies de *Greenidea* apresentaram pouco tempo na primeira penetração em contraste com os registros de aceitação da planta hospedeira da maioria dos afídeos, que permanecem mais tempo na primeira penetração como observado por Caillaud & Via (2000).

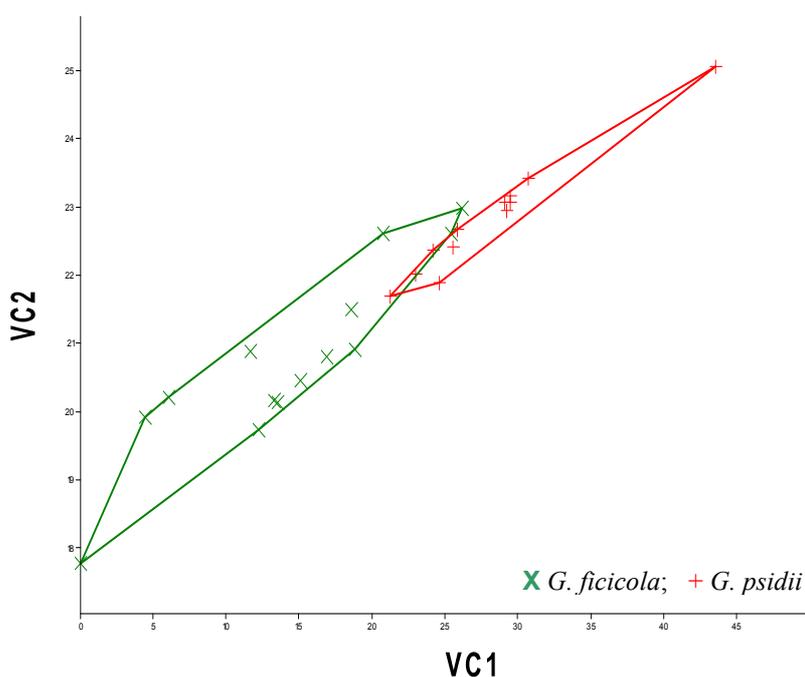


Figura 2. Formação de dois grupos distintos entre *G. ficicola* (n=14) e *G. psidii* (n=12), pela análise canônica de parâmetros alimentares dos afídeos em suas respectivas plantas hospedeiras, *F. benjamina* e *P. guajava*, utilizando a técnica EPG (ver Tabela 1 para os parâmetros alimentares avaliados).

A elevada porcentagem de tempo gasto por *G. ficicola* e *G. psidii* em não penetrações (np), contrastada com o tempo limitado na alimentação sustentada no floema, pode sugerir a presença de compostos químicos na epiderme da planta, que afetam sua permanência neste sítio de alimentação. Klingauf (1987) menciona que a aceitação de uma planta hospedeira por um afídeo depende de sua capacidade de acesso e de alimentação no floema. Montllor & Tjallingii (1989) e Tjallingii (1995) consideram que o percurso curto dos estiletos associado ao período de longa duração de ingestão no floema indicam aceitação da planta hospedeira pelos afídeos. Tjallingii & Mayoral (1992) definem que a

ingestão sustentada do floema por mais de 10' indica aceitação da planta pelo inseto. Diaz-Montano *et al.* (2007) relatam que o pulgão da soja *Aphis glycines* Matsumura, 1917 apresenta, em genótipos suscetíveis de soja, maior número de quedas de potencial (pd) do que em genótipos resistentes, registros que corroboram com a aceitação da planta hospedeira. Dentro deste contexto, a duração da fase de caminhamento dos estiletos, que inclui pd, representando quase 50% do tempo despendido por *G. ficicola* e *G. psidii*, é indício de aceite da planta hospedeira, podendo ser limitado pela idade e galhos cortados dos respectivos hospedeiros. Desta forma, a fase de caminhamento e o padrão de onda pd são parâmetros dotados de significado biológico, cujo registro pela técnica de EPG permite determinar os sítios primários de ingestão e, conseqüentemente, inferir sobre a aceitação ou rejeição da planta hospedeira (Jiang & Walker 2001; Johnson & Walker 1999).

Tabela 2. Variáveis canônicas com a representatividade em cada parâmetro alimentar de *G. ficicola* (n=14) e *G. psidii* (n=12) em suas respectivas plantas hospedeiras, *F. benjamina* e *P. guajava*, utilizando a técnica EPG (ver Tabela 1 para os parâmetros alimentares avaliados).

Parâmetros	Variáveis Canônicas	
	VC1	VC2
1. Número de não penetrações (np)	-0,00365	-0,28899
2. Duração total de np	0,33073	0,17592
3. % de np no total do registro	0,25205	0,20435
4. Tempo para realizar a primeira penetração	-0,01196	-0,28224
5. Duração da primeira penetração	0,26689	-0,08776
6. Número total de penetrações	-0,12659	0,24004
7. Duração da fase de caminhamento (C)	-0,0424	0,71363
8. % de C no total de registro	0,10024	0,035606
9. Número de pd após a primeira penetração	-0,06788	0,061641
10. Tempo para atingir o floema do início do registro	-0,08658	0,23895
11. Tempo para atingir o floema do início da 1ª penetração	-0,06507	-0,27482
12. Tempo para atingir o floema nesta penetração	-0,23937	0,10762
16. Número de fases floemáticas	0,12605	0,020429
17. Número np após a primeira fase floemática	0,42273	0,079615
18. Duração total da fase floemática	0,60437	0,030354
19. % de tempo no floema, em relação ao tempo total de registro	-0,30716	0,18051

O fato de *G. ficicola* apresentar melhor desempenho alimentar do que *G. psidii*, pode dever-se às condições de alimentação às quais os insetos foram submetidos durante os testes, sendo que *F. benjamina* possuía um fluxo contínuo de seiva por estar plantada em vaso; enquanto *P. guajava*, pelo fato de serem galhos excisados, pode ter apresentado redução no fluxo de seiva. Estas questões não puderam ser contornadas nos experimentos em razão da indisponibilidade de plantas de tamanho compatível com o tamanho da gaiola e/ou em estado fenológico ou nutricional inadequado para os testes. As diferenças de desempenho entre as duas espécies podem estar relacionadas com a questão levantada por Klingauf (1987), de que os afídeos exibem adaptação às condições nutricionais, espécie ou variedade da planta hospedeira onde são criados, de modo que ao serem transferidos para um novo hospedeiro precisam de algum tempo para se readaptar. Somente após explorações repetidas no novo hospedeiro, demonstram aumento na aceitação, com mais indivíduos se estabelecendo na planta, enquanto alguns são incapazes de fazê-lo. Porém, algumas espécies de afídeos não exibem este comportamento, como relatado por Penteado (2007), podendo-se inferir que as espécies *G. ficicola* e *G. psidii* possuem sensibilidade maior à manipulação, como constatado nos testes de biologia intentados no início do trabalho, mas sem sucesso (dados não apresentados).

Considerando que o comportamento alimentar dos afídeos afeta seu desempenho reprodutivo e, conseqüentemente, seu potencial para causar danos às plantas, os registros de EPG revestem-se de especial valor para o entendimento das interações inseto-planta e para fundamentar, assim, decisões de manejo das espécies-praga. A continuidade destes estudos, testando outras populações destas mesmas espécies de *Greenidea* combinadas com outras espécies, intactas ou excisadas, de plantas hospedeiras, inclusive pertencentes a outras famílias, conforme sugerido por Noordam (1994), possibilitará a complementação e aprofundamento deste estudo.

4. CONCLUSÕES

- Fêmeas partenogênicas de *G. ficicola* e *G. psidii* permanecem pouco tempo na fase floemática sustentada, sugerindo aceitação limitada do hospedeiro;
- *G. ficicola* apresenta desempenho alimentar melhor do que *G. psidii*, conforme sugerem o menor número de não penetrações (np) após a primeira fase floemática e o maior tempo de permanência na fase floemática.

- *G. ficicola* e *G. psidii* apresentam comportamento semelhantes para a maioria dos parâmetros analisados; contudo, a duração da fase floemática e da fase de caminhamento, em seus respectivos hospedeiros, caracteriza e distingue o comportamento alimentar das espécies.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arango H G (2001) Bioestatística teórica e computacional. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S.A., 235p.
- Blackman R L, Eastop V F (1994) Aphids on the world's trees: an identification and information guide. Wallingford: CAB International, p.688-689.
- Caillaud M C & Via S (2000) Specialized feeding behaviour influences both ecological specialization and assortative mating in sympatric host races of pea aphids. *American Naturalist* 156: 606-621.
- Cox G W (2004). Alien species and evolution: The evolutionary ecology of exotic plants, animals, microbes, and interacting native species. London, Island Press, 377p.
- Douglas AE (2006) Phloem-sap feeding by animals: problems and solutions. *J Exper Bot* 57: 747-754.
- Klingauf F A (1987) Biology - Host plant finding and acceptance. In Minks A K, Harrewijn P. Aphids their biology, natural enemies and control. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Science Publishers B.V., 450p.
- Kordan B, Gabrys B, Dancewicz K, Lahuta LB, Piotrowicz-Cieslak A & Rowińska E (2008) European yellow lupine, *Lupinus luteus*, and narrow-leaf lupine, *Lupinus angustifolius*, as hosts for the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Entomol Exp Appl* 128: 139-146.

- Lazzari S M N, Zonta-de-Carvalho R C (2009) Sugadores de seiva (Aphidoidea), p.771-840. In Panizzi A R, Parra J R P (eds.) Bioecologia e nutrição de insetos: Base para o manejo integrado de pragas. Brasília, Embrapa, 1164 p.
- Lazzari S, Starkey S, Reese J, Ray-Chandler, McCubrey A R, Smith C M (2009) Feeding behavior of Russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae) biotype 2 in response to wheat genotypes exhibiting antibiosis and tolerance resistance. J Econ Entomol 102:1291-1300.
- Martin B, Collar J L, Tjallingii W F, Fereres A (1997). Intracellular ingestion and salivation by aphids may cause the acquisition and inoculation of non-persistently transmitted plant viruses. J Gen Virol 78: 2701–2705.
- Mittler TE (1957) Studies on the feeding and nutrition of *Tuberolachnus salignus* (Gmelin) (Homoptera, Aphididae). I. The uptake of phloem sap. University of Cambridge. St Jean, Quebec, Canada, pp. 74-84.
- Montllor C B, Tjallingii W F (1989) Stylet penetration by two aphid species on susceptible and resistant lettuce. Entomol Exp Appl 52: 103 – 111.
- Müller CB, Williams IS & Hardie J (2001) The role of nutrition, crowding and interspecific interactions in the development of winged aphids. Ecological Entomology 26: 330-340.
- Niemeyer H M (1990) The role of secondary plant compounds in aphid-host interactions. In: Campbell R K, Eikenbary R D (eds.) Aphid: Plant Genotype Interactions. Amsterdam, Elsevier, p.187–205.
- Noordam D (1994) Greenideinae from Java (Homoptera: Aphididae). National Natuurhistorische Museum, Leiden, The Netherlands. 284 p.
- Panizzi A R, Parra J R P (1991) Ecologia Nutricional de Insetos e suas Implicações no Manejo de Pragas. São Paulo, Editora Manole, 359 p.

- Penteado S R C (2007) Parâmetros biológicos, tabelas de vida e comportamento alimentar de *Cinara atlantica* (Wilson) (Homoptera, Aphididae) em laboratório e sua flutuação populacional e danos em progênies de *Pinus taeda* L. (Pinaceae), em campo. Tese de Doutorado, Curitiba, UFPR, 223p.
- Powell G, Pirone T, Hardie J (1995) Aphid stylet activities during potyvirus acquisition from plants and an *in vitro* system that correlate with subsequent transmission. *Eur J Plant Pathol* 101: 411–420.
- Powell G, Tosh CR, Hardie J (2006) Host plant selection by aphids: behavioral, evolutionary, and applied perspectives. *Ann Rev Entomol* 51: 309-330.
- Prado E, Tjallingii W F (1994) Aphid activities during sieve element punctures. *Entomol Exp Appl* 72: 157 – 165.
- Sakai AK, Allendorf F W, Holt J S, Lodge D M, Molofsky J, With K A, Baughman S, Cabin R J, Cohen J E, Ellstrand N C, McCauley D E, O’Neil P, Parker I M, Thompson J N, Weller S G (2001) The population biology of invasive species. *Ann Rev Ecol Syst* 32:305-332.
- Schoonhoven LM, Jermy T, Van Loon JJA (1998) *Insect-Plant Biology: From Physiology to Evolution*. Chapman & Hall, London, UK, 409p.
- Srivastava P N (1987) Nutritional physiology. In Minks A K, Harrewijn P. *Aphids their biology, natural enemies and control*. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Science Publishers B.V., 450 p.
- Tjallingii W F (1978) Electronic recording of penetration behaviour by aphids. *Entomol Exp Appl* 24: 721–730.
- Tjallingii W F (1985) Electrical nature of recorded signals during stylet penetration by aphids. *Entomol Exp Appl* 38: 177–186.

- Tjallingii W F (1988) Electrical recording of stylet penetration activities. In Minks A K, Harrewijn P (eds) *Aphids, their Biology, Natural Enemies and Control*. Amsterdam, Elsevier, p.95–108.
- Tjallingii W F, Mayoral A (1992) Criteria for host acceptance by aphids. In Menken S B J, Visser J H, Harrewijn P (eds) *Proceeding 8th Int. Symp. Insect-plant relationships*, The Netherlands, Kluwer Acad. Publ. Dordrecht, p.280-282.
- Tjallingii W F, Esch T H (1993) Fine structure of the stylet route in plant tissues by some aphids. *Physiol Entomol* 18: 317–328.
- Tjallingii WF (1994) Sieve element acceptance by aphids. *Eur J Entomol* 91: 47–52.
- Tjallingii WF (1995) Regulation of phloem sap feeding by aphids. *Regulatory mechanisms in insect feeding* (ed. by RF Chapman & G Boer) Chapman & Hall, London, UK, pp190-209.
- Tosh CR, Powell G & Hardie J (2002) Maternal reproductive decisions are independent of feeding in the black bean aphid, *Aphis fabae*. *J Insect Physiol* 48: 619-629.
- Tosh CR, Powell G & Hardie J (2003) Decision making by generalist and specialist aphids with the same genotype. *J Insect Physiol* 49: 659-669.

Capítulo 3

**Caracterização e diferenciação
morfométrica de *Greenidea ficicola* e
*Greenidea psidii***

RESUMO

Análises da variação geográfica no tamanho do corpo e outros caracteres morfológicos ou funcionais são importantes para o entendimento das adaptações locais, as quais produzem diversidade morfológica intraespecífica. Os objetivos deste estudo foram: analisar dados morfométricos de populações de *Greenidea ficicola* e *G. psidii* de diferentes localidades; comparar morfometricamente as duas espécies entre si e as populações de cada uma da região de origem com aquelas das áreas onde foram introduzidas. Fêmeas partenogênicas ápteras foram montadas em lâminas permanentes, medidas e fotografadas em sistema digital. Dentre os caracteres morfométricos analisados, somente o 1º segmento tarsal de *G. ficicola* e a largura do corpo de *G. psidii* não obtiveram homocedasticidade, pelo teste de Levene. Analisando as diferenças obtidas pelo teste de Tukey a 5%, observa-se que a população de *G. ficicola* da África do Sul foi a que mais diferiu estatisticamente das demais populações. Em relação a *G. psidii*, as populações da Costa Rica diferiram estatisticamente das populações do PR e MG, mas sem diferença com as populações de SC para comprimentos do corpo, sífinculo, tibia posterior, base do processo terminal, último segmento rostral e para a largura da cabeça. A análise de Componentes Principais (ACP) mostrou que a população sul-africana de *G. ficicola* foi claramente separada das demais, as quais não apresentaram um padrão de agrupamento definido. No caso de *G. psidii*, a ACP revelou que as populações possuem um padrão de agrupamento com sobreposições, porém não tão disperso como o de *G. ficicola*. A maior concordância, determinada pelo índice Kappa, para as populações de *G. ficicola*, foi obtida para os grupos separados pela latitude, com valor de 55%; enquanto que para *G. psidii* os grupos foram separados pela divisão política das localidades de procedência, com 60%. A ACP dos dados morfométricos revelam que os espécimes da região de origem não ficaram totalmente independentes das demais populações, tanto na análise das médias de cada população quanto das médias das populações de cada estado. Pela ACP, *G. ficicola* e *G. psidii* formam dois grupos bem distintos, sendo que as variáveis responsáveis pelo agrupamento do primeiro componente (que respondeu por 55% da variação) foram o último segmento rostral em relação ao segundo segmento tarsal e o comprimento do corpo; para o segundo componente (com 30% da variação) foram o comprimento do corpo e da tibia posterior. Não se detectou variação morfométrica significativa entre as populações da mesma espécie, sugerindo que estes insetos ainda não estão especializados localmente.

1. INTRODUÇÃO

A variação geográfica no tamanho do corpo em insetos reflete a adaptação diferencial de populações às condições ambientais locais, tais como fatores climáticos, disponibilidade de alimento e a presença de espécies aparentadas (Masaki 1967, 1978; Roff 1980; Mousseau & Roff 1989; Blanckenhorn & Fairbairn 1995; Sota *et al.* 2000 a, b). Análises da variação geográfica no tamanho do corpo e outros caracteres morfológicos ou funcionais são importantes para o entendimento das adaptações locais, as quais produzem diversidade morfológica intraespecífica podendo levar a especiação (Sota *et al.* 2007). As populações de insetos e de inúmeros grupos biológicos, freqüentemente apresentam variações genótípicas e fenotípicas correlacionadas às regiões geográficas, as quais podem ser atribuídas a diversas causas como deriva genética e seleção natural, que por muitas vezes são influenciadas por fatores ambientais (Futuyma 1997). Entre os fatores abióticos existentes, a temperatura é a que mais influencia a morfologia, padrão de pigmentação e distribuição dos organismos (Hoffman & Parson 1997). As respostas fenotípicas morfológicas podem ser lentas comparadas com respostas fisiológicas ou comportamentais exibidas pelos animais em resposta à dieta (Wainwright *et al.* 1991; Price 2006).

Os afídeos representam um excelente grupo de insetos para estudar as variações morfológicas associadas aos efeitos da alimentação em diferentes plantas hospedeiras e as variações nas condições microclimáticas, para a compreensão dos padrões de evolução e especiação simpátrica (Ruiz-Montoya *et al.* 2005). A maioria dos trabalhos que considera dados morfométricos de afídeos aborda dados comparativos entre hospedeiros e biótipos diferentes, ou comparação de insetos criados em temperaturas e fotoperíodos diferentes, ou ainda em trabalhos para diferenciação de ínstaes ou taxonômicos para diferenciação entre espécies (Blackman & Spence 1994; Rakauskas 1998; Kanegae & Lomônaco 2003; Ruiz-Montoya *et al.* 2005; Poullos *et al.* 2007; Penteado 2007; Cardoso 2007).

Ruiz-Montoya *et al.* (2005), estudando as mudanças morfológicas, através da Análise de Componentes Principais (ACP), em *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae) associada a diferentes plantas hospedeiras, encontrou maior relação dos afídeos entre os hospedeiros do que entre as localidades, bem como diferenças no tamanho dos apêndices; sugerindo que essas adaptações podem ser dirigidas pela pilosidade presente ou não nos hospedeiros.

A complexidade dos padrões de variação morfométrica dos organismos requer o uso de análises multivariadas que permitam considerar os padrões de variação e covariação

simultâneos de um conjunto de caracteres quantitativos (Cavalcanti & Lopes 1998). A ACP é uma ferramenta extremamente útil na ordenação dos dados morfométricos, permitindo que parâmetros biológicos subjacentes às relações morfológicas entre indivíduos ou grupos possam ser mais facilmente detectados e interpretados (Reis 1988).

O gênero *Greenidea* (Hemiptera: Aphididae) é natural da Ásia, sendo que a maioria dos trabalhos enfocando este grupo de afídeos foi realizada na China, Himalaia e Japão, restringindo-se a registros novos e descrições morfológicas das espécies da subfamília Greenideinae (Noordam 1994; Zhang & Zhong 1985; Remaudiere 1988; Chang & Zhong 1982; Agarwala & Raychaudhuri 1982; Maity & Chakrabarti 1980; Singh *et al.* 1980; Qiao & Zhang 2000; Chang & Zhong 1979; Liao 1978; Sorin & Agarwala 2002; Remaudiere *et al.* 1992; Halbert 2004).

As espécies *Greenidea ficicola* Takahashi 1921 e *Greenidea psidii* van der Goot 1916 foram detectadas em suas respectivas plantas hospedeiras no Estado do Paraná, a partir de 2002; *G. ficicola* em *Ficus* sp. (Moraceae) e *G. psidii* em *Psidium guajava* e *Psidium cattleianum* (Myrtaceae) (Lazzari *et al.* 2006, Sousa-Silva *et al.* 2005). Segundo Blackman & Eastop (1994), a espécie *Greenidea (Trichosiphum) formosana* Maki, 1917, sinônimo de *G. psidii*, pode ser encontrada, além de seu hospedeiro usual, em árvores do gênero *Ficus* sp.

Frente à escassez de estudos relacionados com a diferenciação populacional entre as duas espécies de *Greenidea* e possíveis modificações morfométricas associadas à invasão e às diferentes regiões geográficas e com o intuito de contribuir para o conhecimento da diferenciação morfológica entre populações de espécies exóticas, foram propostos os seguintes objetivos:

1. Analisar dados morfométricos de populações de *G. ficicola* e *G. psidii* procedentes de diferentes localidades;
2. Comparar os dados morfométricos das populações de *G. ficicola* e *G. psidii* dentro e fora da região de origem (asiática);
3. Caracterizar e diferenciar morfometricamente as espécies *G. ficicola* e *G. psidii*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Coleta e preparação dos exemplares de *G. ficicola* e *G. psidii*

Os afídeos foram coletados diretamente em suas plantas hospedeiras, *G. ficicola* em *F. benjamina* e *G. psidii* em *P. guajava*, usando um pincel fino, colocados em tubos tipo *ependorf* de 1,5 mL contendo álcool etílico absoluto, e identificados com a data, local e planta hospedeira. As amostras foram coletadas em várias cidades de Santa Catarina e Paraná, duas em Minas Gerais, cinco na Costa Rica e uma na África do Sul (Tabela 1).

Tabela 1. Procedência de amostras de *G. ficicola* e *G. psidii* para análise morfométrica de fêmeas partenogenéticas adultas.

UF ou País	Cidade	Latitude	Longitude	Altitude (m a.n.m.)	Temp. (°C)	Espécie ¹
SC	Camboriú	26°59'26"S	48°38'30"O	2 m	22,5	<i>Gp</i>
SC	Chapecó	27°06.327"S	52°36.149"O	713 m	20,0	<i>Gp</i>
SC	Ibicaré	27°05.400"S	51°21.912"O	559 m	17,9	<i>Gf</i>
SC	Palmitos	27°04.205"S	53°09.655"O	409 m	23,0	<i>Gf</i>
SC	Joaçaba	27°10.701"S	51°30.036"O	552 m	18,0	<i>Gp</i>
SC	Piratuba	27°25.164"S	51°46.504"O	405 m	21,5	<i>Gp</i>
SC	Videira	27°00'30"S	51°09'06"O	750 m	15,0	<i>Gp</i>
SC	São Miguel D'Oeste	26°43.910"S	53°31.110"O	660 m	22,0	<i>Gf</i>
PR	Gaiotas	25°49'03"S	48°32'34"O	5 m	22,0	<i>Gp</i>
PR	Assaí	23°22'286" S	50°50.758"O	590 m	20,0	<i>Gf</i>
PR	Bom Sucesso	23°42'803"S	51°45.915"O	573 m	20,0	<i>Gf</i>
PR	Irati	25°28.073"S	50°38.251"O	845 m	20,0	<i>Gf, Gp</i>
PR	Ivaiporã	24°14.395"S	51°42.341"O	690 m	21,0	<i>Gf</i>
PR	Palmital	24°52.888"S	52°13.041"O	848 m	21,0	<i>Gf</i>
MG	Patos de Minas	18°34'44"S	46°31'04"O	815 m	21,0	<i>Gp</i>
MG	Uberlândia	18°55'07"S	48°16'38"O	863 m	22,0	<i>Gf, Gp</i>
Costa Rica	San José de Alajuela	10°00'5360" N	-84°26'6131" O	1436 m	20,0	<i>Gp-</i>
Costa Rica	Coronado	9°98'5327" N	-83°82'5897" O	844 m		<i>Gp-</i>
Costa Rica	San Caytano					<i>Gp</i>
Costa Rica	Uvita	9°15'757" N	-83°73'357" O	31 m		<i>Gp</i>
Costa Rica	Villa Neily	8°64'353" N	-82°96'358" O	24 m		<i>Gp</i>
África do Sul	Porto Elizabeth	33°57'29"S	25°36'00"L		18,0	<i>Gf</i>

¹ *Gf* = *Greenidea ficicola*; *Gp* = *Greenidea psidii*

Fêmeas partenogenéticas adultas ápteras das duas espécies de afídeos foram preparadas e montadas em lâminas permanentes (Martin 1983, com pequenas modificações). Primeiramente, os afídeos foram colocados em tubos de ensaio (5 mL) com

etanol a 70% e fervidos em banho-maria para retirar o excesso da gordura; a seguir, foram colocados em hidróxido de sódio (NaOH a 10%) para a maceração, durante 3 a 15 minutos em banho-maria; posteriormente, lavados com água destilada durante 15 minutos; seguindo-se a desidratação com ácido acético glacial em banho-maria por 4 minutos. Finalizado o processo, os afídeos foram colocados em óleo de cravo para a clarificação, onde foram conservados até a montagem das lâminas permanentes. A montagem das lâminas foi realizada sob microscópio estereoscópico, arranjando os afídeos com estiletos finos sobre lâminas limpas, contendo uma gota de bálsamo-do-Canadá e, finalmente, cobertos com lamínula e deixados para secar em temperatura ambiente.

2.2. Morfometria e análise dos resultados

Foram medidos 11 caracteres morfológicos de 30 fêmeas adultas de *G. ficicola* e *G. psidii* de cada localidade, mas em alguns casos foram medidos menos insetos, no mínimo cinco espécimes. Cada espécime foi colocado sob microscópio estereoscópico ou ótico, conforme a estrutura a ser medida, fotografado pelo sistema Window Canon Power Shot A620 acoplado ao microscópio, medindo-se, em seguida, os caracteres utilizando o programa Axion Vision 4,5. Foram medidos os seguintes caracteres: comprimento do corpo (CC), largura do corpo (LC), comprimento do sifúnculo (CS), largura do sifúnculo (LS), comprimento do 1º tarsômero da perna posterior (1TRS), 2º tarsômero da perna posterior (2TRS), comprimento da tíbia posterior (TB), comprimento da base do último antenômero (BPT), comprimento do processo terminal da antena (PT), largura da cabeça incluindo os olhos (LCO), comprimento do último artículo rostral (IV+V) (USR) (Figura 1). A unidade da maioria das medidas foi em milímetro (mm); apenas as medidas do comprimento do último segmento rostral (IV+V) foram em micrômetro (μm), posteriormente transformadas em mm, a fim de padronizar os dados para a análise estatística.

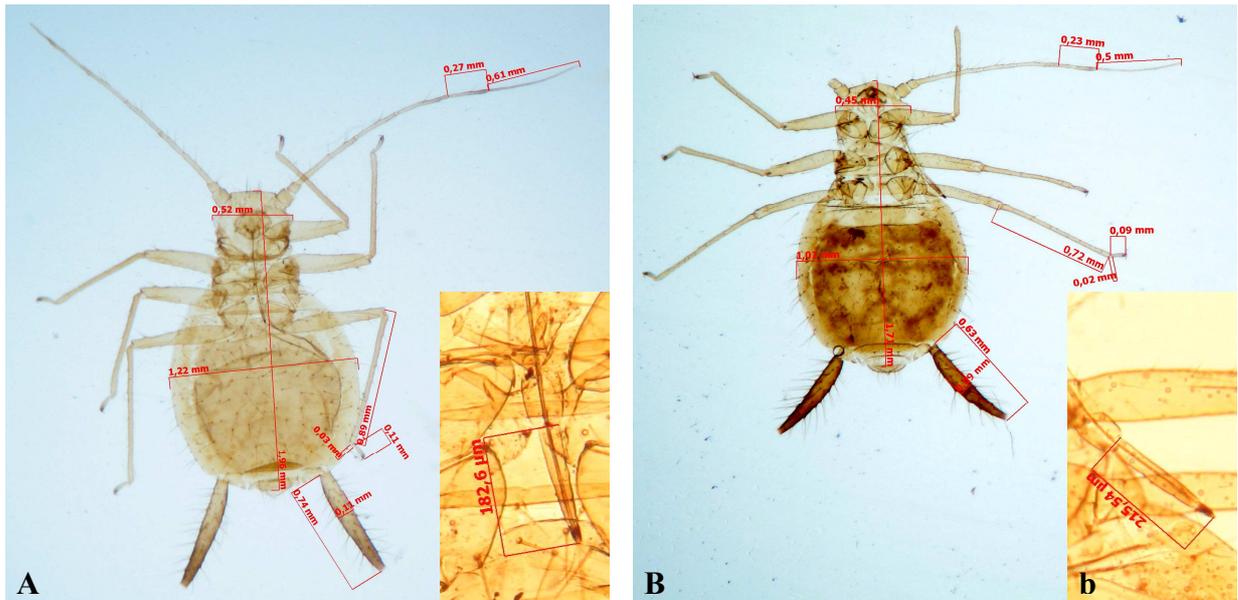


Figura 1. Caracteres morfométricos de fêmeas partenogenéticas ápteras de *G. ficicola* (A) e *G. psidii* (B) medidos pelo sistema Window Canon Power Shot A620 acoplado ao microscópio, utilizando o programa Axion Vision 4,5. Detalhe da medida do último segmento rostral (a, b).

As medidas foram submetidas a Análise de Variância, seguida do teste de Levene, para verificar a homocedasticidade das variâncias entre as populações. Os caracteres morfométricos com valores de p acima de 0,05, ou seja, variância não homogênea, foram submetidos ao teste de Tukey *a posteriori*, a 5% de probabilidade.

Foram utilizadas 11 variáveis comuns a todas as populações, para a Análise de Componentes Principais (ACP), utilizando a matriz de variância-covariância, pois as variáveis foram medidas na mesma unidade (mm).

O fato da divisão das populações em cidades ser de caráter político, não levando em consideração critérios naturais, optou-se por calcular o índice de concordância Kappa agrupando as populações por latitude, longitude, altitude e média da temperatura anual das localidades. Escolheu-se o Índice Kappa para avaliar a concordância das medidas por ser mais sensível às variações de erros de omissão e inclusão (Cohen 1960), cuja grande vantagem é que para o seu cálculo não são incluídos somente os elementos da diagonal principal e sim todos os elementos da matriz de erro (Moreira 2001). Para a classificação da concordância entre as populações adotou-se a classificação de Landis & Koch (1977) com modificações:

< 0	- ruim
0,00-0,20	- fraca
0,21-0,40	- considerável
0,41-0,60	- regular
0,61-0,80	- boa
0,81-0,99	- ótima
1,00	- perfeita

A fim de possibilitar a comparação da morfometria das populações estudadas com aquelas apresentadas por Noordam (1994) referentes às populações nativas da Ásia, foi calculada a média para cada caractere das várias localidades (cidades) dos estados ou países. Os caracteres utilizados para estas análises foram: comprimento do corpo (CC), largura da cabeça incluindo os olhos (LCO), comprimento do processo terminal (PT), comprimento do último segmento rostral (IV+V) (USR), comprimento da tíbia posterior (TB), comprimento do 1° e 2° tarsômeros (1TRS e 2TRS) e as relações entre comprimento do sífúnculo/comprimento do corpo (CS/CC), comprimento do sífúnculo/largura da cabeça incluindo os olhos (CS/LCO), último segmento rostral/2° tarsômero (USR/2TRS), tíbia posterior/largura da cabeça incluindo os olhos (TB/LCO) e comprimento do corpo/largura do corpo (CC/LC).

As análises para diferenciação morfométrica das espécies de *Greenidea* foram efetuadas utilizando-se os mesmos caracteres morfométricos para análise das populações dentro e fora da região de origem. Baseando-se na ACP, foram selecionadas as variáveis que apresentaram maiores valores dentre as componentes que explicaram o agrupamento e foi confeccionado um dendrograma com o algoritmo UPGMA com distância Euclidiana.

Os testes ANOVA, Levene e Tukey foram realizados no Aplicativo Computacional Statistica 7.0. A ACP e dendrogramas de similaridade analisados no Aplicativo Computacional PAST 1.74 e o índice Kappa no Aplicativo Computacional JMP 3.2.2.

Lâminas permanentes de referência foram depositadas na Coleção de Entomologia Pe. Jesus Santiago Moure, do Departamento de Zoologia da UFPR (DZUP).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Dados morfométricos comparativos entre populações de *G. ficicola* e *G. psidii*

Foram comparadas, morfometricamente, considerando 11 caracteres, fêmeas partenogenéticas ápteras de 10 populações de *G. ficicola*, provenientes de Santa Catarina (3), Paraná (5), Minas Gerais (1) e África do Sul (1), totalizando 106 exemplares. Para *G. psidii* foram comparadas entre si 10 populações (119 exemplares) de Santa Catarina (5), Paraná (2), Minas Gerais (2) e Costa Rica (1), nesta última foram combinadas cinco amostras consideradas como uma população única.

Dentre os caracteres morfométricos calculados pela análise de variância, somente o 1º tarsômero de *G. ficicola* e a largura do corpo de *G. psidii* não obtiveram homocedasticidade através do teste de Levene. Os demais caracteres foram significativos a uma probabilidade de 1% com homocedasticidade entre as médias das populações (Tabelas 2 e 3).

Analisando as diferenças obtidas através do teste de Tukey, observa-se que a população de *G. ficicola* da África foi a que mais diferiu estatisticamente das demais populações. Em todos os caracteres medidos, foi diferente entre pelo menos uma população e no comprimento e largura do corpo foi estatisticamente diferente a todas as populações (Tabela 2).

Em relação a *G. psidii*, as populações da Costa Rica diferiram estatisticamente das populações do PR e MG e semelhantes às populações de SC nos seguintes caracteres: comprimentos do corpo, sifúnculo, tibia posterior, base do processo terminal, último segmento rostral e largura da cabeça. As médias do processo terminal apresentaram diferença somente das populações do PR; o comprimento do 1º e 2º tarsômeros não foi significativamente diferente entre a maioria das populações (Tabela 3).

Tabela 2. Análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey dos dados morfométricos (valores em mm) de fêmeas partenogenéticas ápteras de populações de *G. ficiala*, provenientes de 10 localidades.

ANOVA ¹		Teste de Tukey ³											
Variáveis	SS ²	F ¹	L ⁴	Santa Catarina			Paraná			Minas Gerais		Africa do Sul	
				Ibicaré (n=10)	S. Miguel D'Oeste (n=7)	Palmital (n=13)	Bom Sucesso (n=13)	Palmitos (n=7)	Assis (n=7)	Ivaiporã (n=22)	Irati (n=15)	Uberlândia (n=4)	Porto Elizabeth (n=8)
Comp. Corpo	0,600	7,94*	-	1,734b	1,797ab	1,924a	1,845ab	1,850ab	1,866ab	1,882a	1,899a	1,818ab	2,065c
Larg. Corpo	0,303	8,76*	-	1,024b	1,073ab	1,159a	1,122a	1,083ab	1,114ab	1,128a	1,113a	1,065ab	1,258c
Comp. sífunculo	0,256	8,95*	-	0,550b	0,560bc	0,616abc	0,662ad	0,610abc	0,630abc	0,636ac	0,685ad	0,715ad	0,725d
Larg. sífunculo	0,006	4,05*	-	0,080b	0,090ab	0,102a	0,097ab	0,094ab	0,111a	0,101a	0,097ab	0,103ab	0,111a
1º tarsômero	0,000	1,10	p<α	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2º tarsômero	0,001	2,30*	-	0,097a	0,099ab	0,105ab	0,102ab	0,104ab	0,107ab	0,105ab	0,106ab	0,103ab	0,111b
Tíbia posterior	0,194	7,79*	-	0,694a	0,693ab	0,762abc	0,752abc	0,737abc	0,777abc	0,763bc	0,740abc	0,813cd	0,870d
Base proc. terminal	0,008	2,87*	-	0,234ab	0,229a	0,238ab	0,243ab	0,233ab	0,249ab	0,231a	0,242ab	0,250ab	0,261b
Processo terminal	0,091	2,70*	-	0,481ab	0,440b	0,491ab	0,505ab	0,510ab	0,529ab	0,519ab	0,540a	0,560ab	0,555a
Largura cabeça	0,025	3,12*	-	0,452a	0,466ab	0,492ab	0,478ab	0,470ab	0,480ab	0,483ab	0,465ab	0,488ab	0,515b
Últ. segm. rostral	0,003	8,22*	-	0,165d	0,170ad	0,176ab	0,178abc	0,173ab	0,176abc	0,175ab	0,181bc	0,182abc	0,185c

¹ANOVA - * significativo p<0,05; ²SS – soma dos quadrados

³Teste de Tukey – Letras minúsculas diferentes nas linhas indicam diferenças estatísticas significativas (p<0,05)

⁴L – Teste de Levene p< α=0,01 variâncias heterogêneas

Tabela 3. Análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey dos dados morfométricos (valores em mm) de fêmeas partenogenéticas ápteras de populações de *G. psidii*, provenientes de 10 localidades.

ANOVA ¹		Teste de Tukey ³										
Variáveis	SS ²	F ¹	Santa Catarina			Paraná		Minas Gerais		Costa Rica		
			Joaçaba (n=5)	Vieira (n=13)	Piratuba (n=11)	Camboriú (n=16)	Chapécó (n=18)	Gaivotas (n=10)	Irati (n=6)	Patos (n=5)	Uberl. (n=4)	Costa Rica (n=31)
Comp. Corpo	1,990	23,90*	1,570a	1,600a	1,680a	1,710a	1,860c	1,892bc	2,013c	1,908bc	2,048c	1,690a
Larg. Corpo	0,870	19,52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Comp. sifúnculo	0,220	10,90*	0,590ac	0,600a	0,591a	0,646abc	0,657bc	0,694bd	0,705bd	0,722bd	0,748d	0,612ac
Larg. sifúnculo	0,008	6,59*	0,090c	0,098c	0,106ac	0,118ab	0,113ab	0,123ab	0,122ab	0,118b	0,120ab	0,112ab
1º tarsômero	0,001	3,14*	0,024b	0,029ab	0,031ab	0,032ab	0,029ab	0,032ab	0,033a	0,028ab	0,032ab	0,028ab
2º tarsômero	0,003	4,11*	0,094ab	0,095a	0,100abc	0,103abc	0,107bc	0,108abc	0,110abc	0,108abc	0,118c	0,100ab
Tíbia posterior	0,490	14,69*	0,684a	0,746ac	0,720a	0,773ac	0,807cd	0,877bd	0,912b	0,894bd	0,922b	0,743a
Base proc. terminal	0,012	10,62*	0,216b	0,222bd	0,224bcd	0,238acd	0,246a	0,243ac	0,253a	0,246ac	0,260a	0,224b
Processo terminal	0,290	10,15*	0,470b	0,490b	0,523bcd	0,576ac	0,572ac	0,611a	0,638a	0,602acd	0,665a	0,518bd
Largura cabeça	0,100	23,83*	0,416d	0,439bd	0,455bc	0,477ce	0,483ef	0,512a	0,533a	0,516af	0,530a	0,459bc
Último segm. rostral	0,005	5,27*	0,211ab	0,218ac	0,204b	0,216ab	0,215ab	0,220ac	0,235c	0,221abc	0,217abc	0,210ab

¹ANOVA - * significativo p<0,05; ²SS – soma dos quadrados

³Teste de Tukey – Letras minúsculas diferentes nas linhas indicam diferenças estatísticas significativas (p<0,05)

⁴L – Teste de Levene p< α=0,01 variâncias heterogêneas

Através da Análise de Componentes Principais (ACP) das populações de *G. ficicola*, pode-se observar (Figura 2) que a população sul-africana de Porto Elizabeth foi claramente separada das demais. Ibicaré, SC, também teve um agrupamento diferenciado, porém com algumas sobreposições. As demais populações de SC, PR e MG não apresentaram um padrão de agrupamento definido, estando dispersas e sobrepondo-se umas às outras.

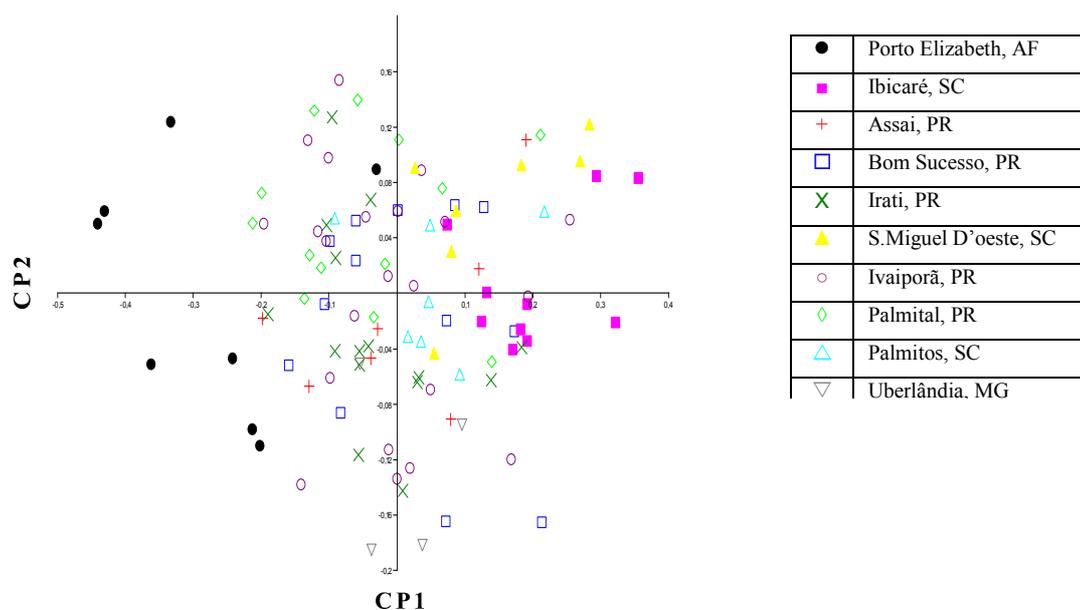


Figura 2. Plotagem do primeiro (CP1) e segundo (CP2) componentes principais dos dados morfométricos de fêmeas partenogenéticas ápteras de populações de *G. ficicola*, provenientes de 10 localidades diferentes.

Dos 11 componentes principais, os três primeiros estão dentro do valor significativo calculado das variâncias de cada autovalor (Jolliffe cut-off $> 0,0022707$) (Jolliffe 1986); no entanto, considerou-se para a análise as duas primeiras que explicaram 83% do agrupamento entre as populações de *G. ficicola*, sendo o primeiro componente com 66% e o segundo com 17,2%. As variáveis que mais contribuíram com o valor do primeiro componente foram o comprimento do corpo (72%) e a largura do corpo (46%), no segundo componente as variáveis com valores maiores foram comprimento do processo terminal (58%) e comprimento do sífunculo (55%). A variável que menos contribuiu com agrupamento das populações nos três componentes foi o tamanho do 1° tarsômero (Tabela 4). Os caracteres que obtiveram maiores valores corroboram com os resultados obtidos no teste de comparação de médias (Tukey), em que o comprimento e largura do corpo foram

as únicas variáveis que separaram a população de Porto Elizabeth (AF) das demais (Tabela 2).

Tabela 4. Valores percentuais de explicação dos componentes principais (CP) e indicação dos maiores valores de cada variável morfométrica (VM) para o agrupamento das populações de *G. ficicola*. Ver texto para símbolos das variáveis morfométricas indicadas.

Componentes principais			Dados morfométricos			
CP	Autovalor	% Variância	VM	1CP	2CP	3CP
1	0,023477	65,794	CC	-0,7157	0,3886	-0,07268
2	0,006147	17,228	LC	-0,4588	0,3036	-0,08565
3	0,002277	6,3825	CS	-0,3207	-0,5456	0,5775
4	0,001406	3,9412	LS	-0,05613	-0,00177	-0,01726
5	0,001353	3,7929	1TRS	-0,00298	-0,00142	-0,01637
6	0,000526	1,4732	2TRS	-0,02505	0,002225	-0,02756
7	0,00024	0,672	TP	-0,3345	-0,3263	0,2401
8	0,000155	0,43384	BPT	-0,0641	-0,07818	0,007816
9	5,07E-05	0,14199	PT	-0,1999	-0,5797	-0,7364
10	2,91E-05	0,081592	LCO	-0,1163	-0,097	-0,2282
11	2,11E-05	0,059195	USR	-0,03316	-0,03205	0,02375

Através da ACP das populações de *G. psidii*, pode-se observar (Figura 3) que as populações possuem um padrão de agrupamento com sobreposições, porém não dispersas como em *G. ficicola*.

Dos 11 componentes principais, os dois primeiros estão dentro do valor significativo calculado das variâncias de cada autovalor (Jolliffe cut-off > 0,0035984) (Jolliffe 1986), as quais explicaram 92,3% do agrupamento entre as populações de *G. psidii*. O primeiro componente contribuindo com 85,9% e o segundo com 6,4%. As variáveis que apresentaram maiores valores no primeiro componente foram o comprimento do corpo (71%) e a largura do corpo (46%), no segundo componente as variáveis com valores maiores foram comprimento do processo terminal (52%) e comprimento da tíbia posterior (47%). A variável que menos contribuiu com agrupamento das populações nos dois componentes foi o comprimento do 1º tarsômero (Tabela 5). Os caracteres que obtiveram maiores valores corroboram com três das variáveis obtidas no teste de comparação de médias (Tukey), comprimento e largura do corpo e comprimento da tíbia, os quais obtiveram médias significativas para a separação das populações de Costa Rica das do PR e MG (Tabela 3).

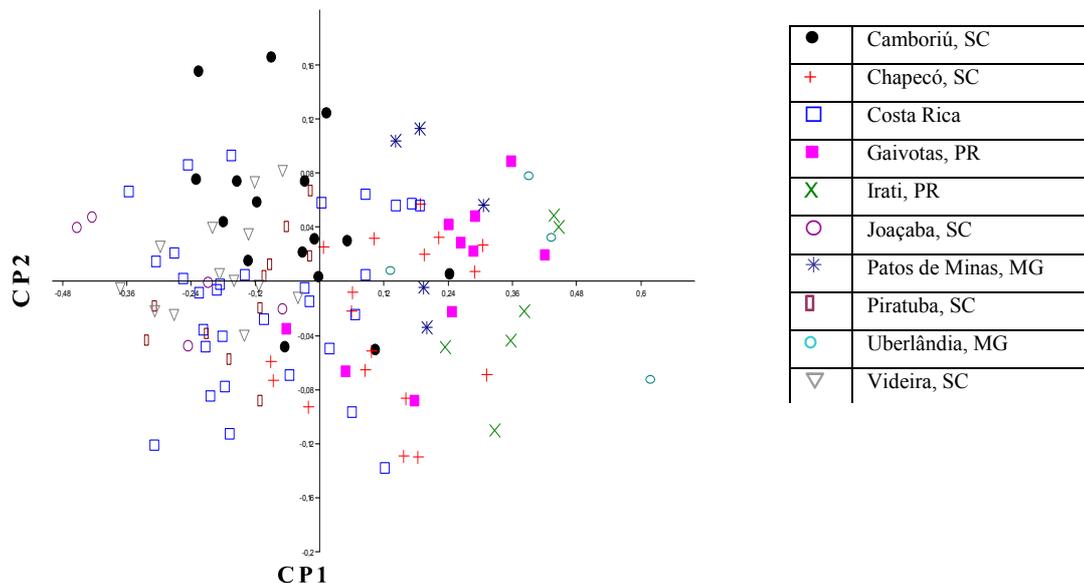


Figura 3. Plotagem do primeiro (CP1) e segundo (CP2) componentes principais dos dados morfométricos de fêmeas partenogenéticas ápteras de populações de *G. psidii*, provenientes de 10 localidades diferentes.

Tabela 5. Valores percentuais de explicação dos componentes principais (CP) e indicação dos maiores valores de cada variável morfométrica (VM) para o agrupamento das populações de *G. psidii*. Ver texto para símbolos das variáveis morfométricas indicadas.

Componentes principais			Dados morfométricos		
CP	Autovalor	% Variância	VM	1CP	2CP
1	0,048561	85,88	CC	0,7067	-0,4047
2	0,003649	6,4536	LC	0,4616	-0,3392
3	0,001871	3,3087	CS	0,2398	0,4485
4	0,001431	2,5309	LS	0,03369	0,0178
5	0,000452	0,79905	1TRS	0,005885	0,009317
6	0,000203	0,35879	2TRS	0,02715	0,02528
7	0,000123	0,21758	TB	0,3628	0,4711
8	9,80E-05	0,17329	BPT	0,05795	0,06846
9	7,05E-05	0,12463	PT	0,2644	0,5244
10	6,82E-05	0,12064	LCO	0,15	0,1274
11	1,85E-05	0,032797	URS	0,02839	0,03406

Nas populações mais distantes entre si ocorreram diferenças pontuais nos estados, diferenças essas insuficientes para explicar um padrão morfométrico entre as populações avaliadas pela ANOVA e teste de comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para a análise das populações de *G. ficicola*, considerando-se a latitude, longitude, altitude e temperatura média anual dos locais foram obtidos 7, 6, 5 e 5 grupos, respectivamente, para cada categoria. Para *G. psidii* foram obtidos 5, 8, 6 e 5 grupos para as categorias latitude, longitude, altitude e temperatura média anual, respectivamente (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5. Grupos (G) categorizados das populações de *G. ficicola* pelas variáveis, latitude, longitude, altitude e temperatura média anual.

LATITUDE			LONGITUDE			ALTITUDE			TEMPERATURA		
G	Localidade		G	Localidade		G	Localidade		G	Localidade	
1	MG	Uberlândia	1	AF	Porto Elizabeth	1	AF	Porto Elizabeth	1	AF	Porto Elizabeth
2	PR	Assai	2	MG	Uberlândia	2	SC	Palmitos	1	SC	Ibicaré
	PR	Bom Sucesso		PR	Assai		PR	Assai		PR	Assai
3	PR	Ivaiporã	3	PR	Irati	3	PR	Bom Sucesso	2	PR	Bom Sucesso
	PR	Palmital		PR	Bom Sucesso		SC	Ibicaré		PR	Irati
4	PR	Irati	4	PR	Ivaiporã	4	PR	Ivaiporã	3	PR	Ivaiporã
5	SC	S. M. D' oeste		SC	Ibicaré		SC	S. M. D' oeste		PR	Palmital
6	SC	Ibicaré	5	PR	Palmital	5	MG	Uberlândia	4	SC	S. M. D' oeste
	SC	Palmitos		SC	S. M. D' oeste		PR	Irati		MG	Uberlândia
7	AF	Porto Elizabeth	6	SC	Palmitos	5	PR	Palmital	5	SC	Palmitos

AF – África; MG – Minas Gerais; PR – Paraná; SC – Santa Catarina

Tabela 6. Grupos (G) categorizados das populações de *G. psidii* pelas variáveis, latitude, longitude, altitude e temperatura média anual.

LATITUDE			LONGITUDE			ALTITUDE			TEMPERATURA			
G	Localidade		G	Localidade		G	Localidade		G	Localidade		
1	CR	S. J. de Alajuela	1	CR	S. J. de Alajuela	1	CR	S. J. de Alajuela	1	SC	Videira	
	CR	Coronado		2	CR		Coronado	2		CR	Coronado	2
	CR	Uvita	CR		Uvita		PR		Irati	3	SC	
	CR	Villa Neilly	3	CR	Villa Neilly		MG	Uberlândia	CR		S. J. de Alajuela	
2	MG	Patos de Minas	4	SC	Chapecó	2	MG	Patos de Minas	3	PR	Irati	
	MG	Uberlândia		5	SC		Joaçaba	3		SC	Chapecó	4
3	PR	Gaivotas	5		SC	Piratuba	4		SC	Videira	4	
	PR	Irati		SC	Videira	4		SC	Joaçaba	PR		Gaivotas
4	SC	Camboriú	6	PR	Irati	5	SC	Piratuba	5	MG	Uberlândia	
5	SC	Chapecó		7	MG		Uberlândia	6		CR	Uvita	5
	SC	Joaçaba	PR		Gaivotas	CR	Villa Neilly					
	SC	Piratuba	SC		Camboriú	PR	Gaivotas					
	SC	Videira	8		MG	Patos de Minas	SC		Camboriú			

CR – Costa Rica; MG – Minas Gerais; PR – Paraná; SC – Santa Catarina; células sombreadas – sem informação para Coronado, Uvita e Villa Neilly

Em relação ao índice Kappa para os dados morfométricos registrados nas populações de *G. ficicola*, a maior concordância foi obtida para os grupos separados pela latitude apresentando o valor de 55%. Para *G. psidii* a maior concordância foi registrada para os grupos separados pela própria divisão política com 60% (Tabela 7). Segundo Landis e Koch (1977), o valor do índice Kappa “0” representa não haver concordância entre as populações além do puro acaso e o valor “1” representa a concordância perfeita. Baseado na classificação de Landis & Koch (1977), o índice de concordância das populações de *G. ficicola* para os grupos formados com o critério latitude e pela divisão política de *G. psidii* são considerados regulares.

Tabela 7. Valores do índice Kappa para os dados morfométricos de fêmeas partenogênicas ápteras de *G. ficicola* e *G. psidii* obtidos dos grupos de populações formados pelas categorias divisão política, latitude, longitude, altitude e temperatura média.

Kappa	Divisão política	Latitude	Longitude	Altitude	T °C
<i>G. ficicola</i>	0,458	0,549	0,378	0,348	0,344
<i>G. psidii</i>	0,599	0,512	0,517	0,542	0,532

A concordância das populações de *G. ficicola* foi mais dispersa do que a de *G. psidii*, sendo que no agrupamento que considera a divisão política, nenhuma das populações de *G. ficicola* apresentou concordância em 100%, enquanto que a população de *G. psidii* de Patos de Minas, MG, apresentou 100% de concordância (Tabela 8), ou seja, entre a distribuição esperada e a observada a concordância foi de 100%.

Tabela 8. Valores de concordância (%) obtidos através do índice Kappa para dados morfométricos de fêmeas partenogênicas ápteras entre populações de *G. ficicola* e *G. psidii*, considerando a divisão política das localidades.

Afideo	Pops.	PE-AF	AS-PR	BS-PR	IB-SC	IR-PR	IV-PR	PL-PR	PS-SC	SM-SC	UB-MG
<i>G. ficicola</i>	PE-AF	75,0	-	7,7	-	-	4,5	-	-	-	-
	AS-PR	-	57,4	7,7	-	-	-	-	-	-	-
	BS-PR	-	-	15,3	-	6,7	9,1	-	14,3	-	25,0
	IB-SC	-	-	7,7	80,0	6,7	-	-	-	14,3	-
	IR-PR	-	-	23,2	-	66,7	4,5	-	14,3	-	-
	IV-PR	12,5	14,2	-	-	6,7	36,5	23,1	14,3	-	-
	PL-PR	12,5	14,2	15,3	-	-	22,7	53,8	-	14,3	-
	PS-SC	-	-	7,7	-	13,2	9,1	7,7	42,8	-	-
	SM-SC	-	14,2	7,7	20,0	-	4,5	15,4	14,3	57,1	-
	UB-MG	-	-	7,7	-	-	9,1	-	-	14,3	75,0
Total	100,0										
Afideo	Pops.	CM-SC	CH-SC	CR	GV-PR	IR-PR	JO-SC	PM-MG	PI-SC	UB-MG	VD-SC
<i>G. psidii</i>	CM-SC	68,75	-	9,7	-	-	-	-	18,2	-	-
	CH-SC	6,25	55,5	3,2	-	-	-	-	-	-	-
	CR	-	11,1	48,3	10	-	-	-	-	-	-
	GV-PR	6,25	16,7	13	60	16,7	-	-	-	-	-
	IR-PR	-	-	-	10	66,6	-	-	-	-	-
	JO-SC	6,25	-	3,2	-	-	80	-	-	-	7,7
	PM-MG	6,25	11,1	-	-	16,7	-	100	-	25	-
	PI-SC	-	-	9,7	-	-	-	-	72,7	-	7,7
	UB-MG	-	5,6	-	20	-	-	-	-	75	-
	VD-SC	6,25	-	12,9	-	-	20	-	9,1	-	84,6
Total	100,0										

Apesar de os grupos formados pela latitude apresentarem o maior índice Kappa em *G. ficicola* (Tabela 7), nenhuma combinação foi concordante em 100%, continuando com padrão de concordância disperso (Tabela 9).

Tabela 9. Valores de concordância (%) obtidos através do índice Kappa para dados morfométricos fêmeas partenogenéticas ápteras entre as populações de *G. ficicola* agrupadas pela latitude das localidades.

		Grupos	1	2	3	4	5	6	7
<i>G. ficicola</i> LATITUDE	1		75,0	5,0	8,6	-	14,3	-	-
	2		25,0	40,0	8,6	13,3	-	-	-
	3		-	10,0	65,8	6,7	14,3	11,8	25,0
	4		-	15,0	2,8	73,3	-	5,8	-
	5		-	15,0	5,7	-	57,1	11,8	-
	6		-	5,0	2,8	6,7	14,3	70,6	-
	7		-	10,0	5,7	-	-	-	75,0
	Total		100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

1 – Uberlândia, MG; 2 – Assai e Bom Sucesso, PR; 3 – Ivaiporã e Palmital, PR; 4 – Irati, PR; 5 – S.M.D’oeste, SC; 6 – Ibicaré e Palmitos, SC; 7 – Porto Elizabeth, AF.

Os valores do índice Kappa não foram representativos nas diferentes categorias adotadas (latitude, longitude, altitude, temperatura) para análise da concordância das populações de *G. ficicola* e *G. psidii*.

Tanto os resultados obtidos no agrupamento quanto na concordância das populações necessitam de investigações mais detalhadas em relação ao hospedeiro e as influências dos microhabitats a que estão sujeitas. Ruiz-Montoya *et al.* (2005) constataram que a diferenciação morfológica de *B. brassicae* é condicionada por diferentes hospedeiros e não pelas condições ambientais de cada local, como posição geográfica, altitude, temperatura e precipitação anual.

3.2. Dados morfométricos comparativos entre as populações de *G. ficicola* e *G. psidii* e os exemplares da região de origem (asiática) segundo Noordam (1994)

A ACP das médias obtidas a partir dos dados morfométricos de *G. ficicola* e *G. psidii* (Tabela 10) revelam que os exemplares da região de origem não ficaram totalmente independentes das demais populações, tanto na análise das médias de cada população quanto das médias das populações de cada estado (Figura 4).

Tabela 10. Média (mm) das medidas de caracteres morfológicos de fêmeas partenogenéticas ápteras de *G. ficicola* e *G. psidii* dentro e fora da região de origem, comparados com os valores registrados por Noordam (1994) para indivíduos da região de origem das duas espécies. Ver texto para parâmetros morfométricos.

Populações		CC	LCO	PT	URS	TB	1TRS	2TRS	CS/CC	CS/LCO	URS/2TRS	TB/LCO	CC/LC
<i>G. ficicola</i>	Noordam	1,950	0,482	0,470	0,189	0,742	0,039	0,110	0,360	1,450	1,860	1,590	1,700
	África	2,070	0,505	0,555	0,185	0,835	0,035	0,110	0,330	1,360	1,680	1,650	1,630
	PR	1,867	0,460	0,500	0,176	0,744	0,034	0,104	0,340	1,420	1,690	1,630	1,660
	SC	1,790	0,450	0,460	0,170	0,690	0,035	0,090	0,310	1,240	1,690	1,540	1,690
	MG	1,825	0,490	0,560	0,185	0,810	0,030	0,100	0,390	1,450	1,850	1,650	1,720
<i>G. psidii</i>	Noordam	1,900	0,476	0,555	0,234	0,811	0,040	0,115	0,340	1,390	2,070	1,680	1,750
	SC	1,680	0,453	0,524	0,213	0,744	0,030	0,099	0,368	1,365	2,155	1,643	1,639
	PR	1,938	0,523	0,593	0,225	0,883	0,035	0,110	0,359	1,330	2,048	1,689	1,578
	CR	1,675	0,460	0,525	0,215	0,740	0,030	0,105	0,370	1,348	2,048	1,609	1,603
	MG	1,990	0,523	0,610	0,218	0,900	0,030	0,113	0,361	1,373	1,935	1,723	1,716

Tanto para *G. psidii* quanto para *G. ficicola*, os exemplares asiáticos foram representados graficamente mais próximos da população de Minas Gerais. Observa-se que as populações da Costa Rica ficaram próximas das de Santa Catarina para *G. psidii* e a população da África foi oposta e distante das demais para *G. ficicola* (Figuras 4a e 4b).

Dos 11 componentes principais resultantes da análise com os caracteres de *G. psidii*, os dois primeiros estão dentro do valor significativo calculado das variâncias de cada autovalor (Jolliffe cut-off > 0,0026095) (Jolliffe, 1986), os quais explicaram 92,9% do agrupamento entre as populações. O primeiro componente contribuindo com 80,4%, o segundo com 12,5%. As variáveis com maior valor no primeiro componente foram comprimento do corpo (78%) e comprimento da tibia posterior (38%). No segundo componente, as relações comprimento do corpo/largura do corpo contribuíram com 88% e comprimento do sifúnculo/largura da cabeça com 30% (Tabela 11).

Os dois componentes principais resultantes da análise com os caracteres de *G. ficicola* explicaram 84,6% dentro da significância segundo Jolliffe (1986) no valor de Jolliffe cut-off > 0,0023052. Os maiores valores das variáveis foram registrados para o comprimento do corpo (62%) e para a relação comprimento sifúnculo/largura da cabeça (48%) para o primeiro componente e a relação do último segmento rostral/segundo tarsômero da perna posterior (65%) e o comprimento do corpo (53%) para o segundo componente (Tabela 11).

Tabela 11. Valores percentuais de explicação dos componentes principais e indicação dos maiores valores de cada variável morfométrica para o agrupamento das populações de *G. psidii* e *G. ficicola*. Ver texto para os símbolos das variáveis morfométricas.

COMPONENTES PRINCIPAIS					CARACTERES MORFOMÉTRICOS				
<i>G. psidii</i>		<i>G. ficicola</i>			<i>G. psidii</i>		<i>G. ficicola</i>		
Autovalor	%variância	Autovalor	%variância		Caractere	1CP	2CP	1CP	2CP
1	0,035981	80,433	0,018693	47,303	CC	-0,7779	0,01428	-0,6261	0,5325
2	0,005597	12,511	0,014734	37,286	LCO	-0,1631	-0,1826	-0,1482	0,02206
3	0,002808	6,2778	0,004071	10,303	PT	-0,1986	-0,123	-0,229	0,02954
4	0,000348	0,77765	0,002019	5,1082	URS	-0,02279	0,03987	-0,05122	-0,01686
5	3,82E-32	8,54E-29	7,15E-32	1,81E-28	TB	-0,3827	-0,2297	-0,3631	0,07182
6	1,75E-68	3,92E-65	6,43E-65	1,63E-61	1TRS	-0,0078	0,02211	-1,1E-05	0,00720
7	0	0	0	0	2TRS	-0,02894	0,02194	-0,05488	0,00989
8	0	0	0	0	CS/CC	0,03173	-0,09226	-0,1261	-0,1991
9	0	0	0	0	CS/LCO	-0,0185	0,3031	-0,4838	-0,4091
10	0	0	0	0	URS/2TRS	0,3213	0,1213	-0,251	-0,6553
11	0	0	0	0	TB/LCO	-0,22	0,05645	-0,2814	0,00521
12	0	0	0	0	CC/LC	-0,167	0,8819	0,06254	-0,2702

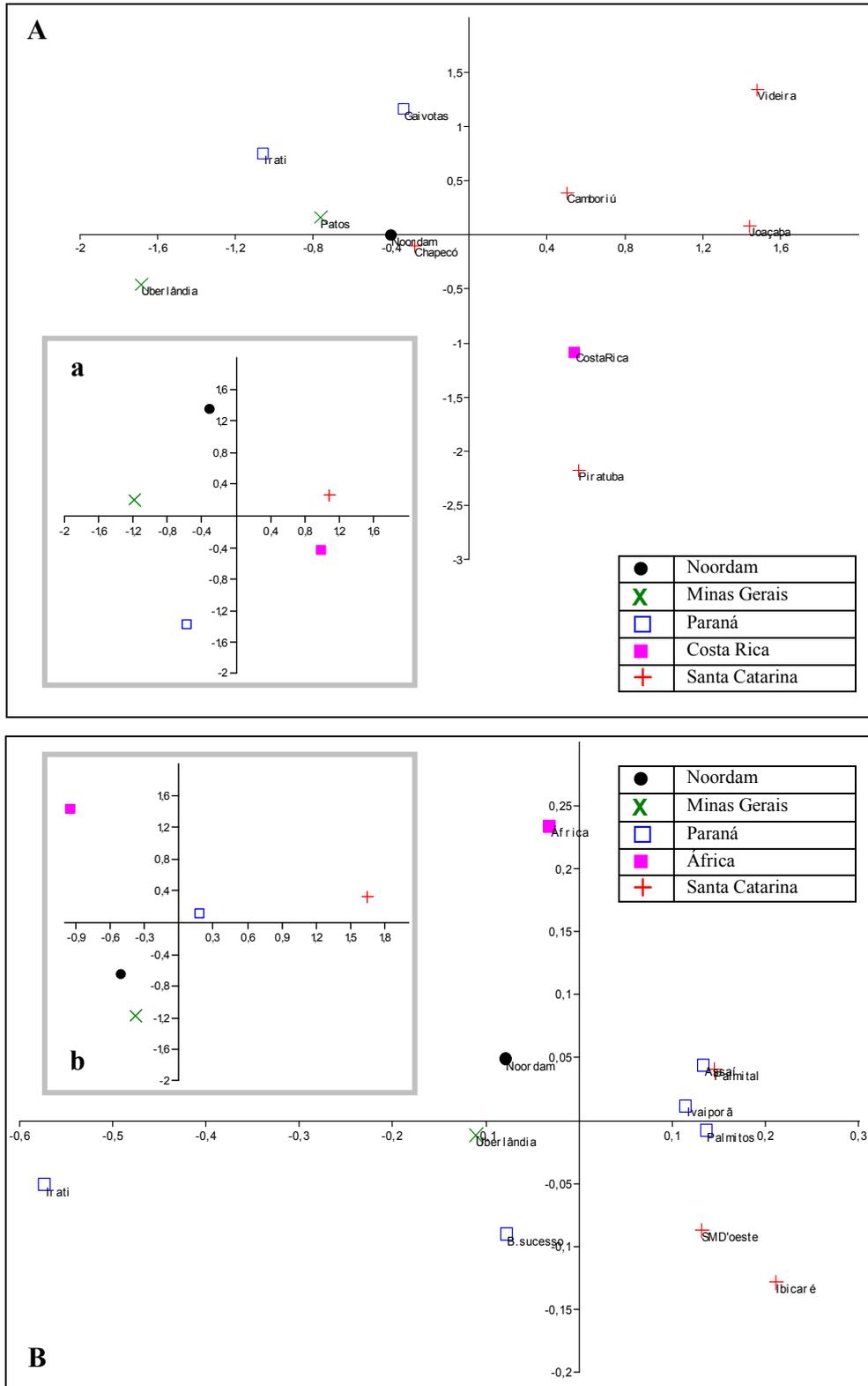


Figura 4. Representação das médias dos dados morfométricos de fêmeas partenogênicas ápteras de populações de *G. psiddi* (A) e *G. ficicola* (B) comparados com as médias das medidas dos exemplares da região asiática (Noordam 1994) e soma das médias das populações dentro do mesmo estado ou país: (a) *G. psiddi*; (b) *G. ficicola* comparados com as médias dos exemplares da região asiática.

Os maiores valores nas CPs registrados para o comprimento do corpo, tibia, antena, rostro e tarso podem indicar forte relação de *G. ficicola* e *G. psidii* com suas plantas hospedeiras e interações presa-predador. Segundo Dixon (1998), Heie (1987), Moran (1986) e Shaposhnikov (1985), o comprimento do corpo está, frequentemente, associado com a taxa de reprodução; o comprimento da tibia e tarso posterior estão relacionados com a mobilidade do afídeo e a sua capacidade para atingir a planta hospedeira ou para escapar de inimigos naturais, as antenas mais longas melhoram a capacidade de orientação na busca por alimento e o último segmento rostral é fortemente correlacionado com a seleção de superfícies foliares de plantas hospedeiras, como a presença e densidade de tricomas. De acordo com Ruiz-Montoya *et al.* (2005), indivíduos do afídeo *Brevicoryne* sp., que se desenvolvem em diferentes ambientes, localidades ou plantas hospedeiras, podem diferir, consideravelmente, nos caracteres morfológicos de relevância ecológica. O recente registro de *G. ficicola* e *G. psidii* no Brasil pode ter contribuído para a pequena diferenciação com os exemplares da região de origem, pois, as respostas da plasticidade fenotípica podem ser mais lentas nas alterações morfológicas exibidas pelos animais em resposta à dieta do que respostas fisiológicas ou comportamentais (Wainwright *et al.* 1991; Price 2006).

3.3. Caracteres morfométricos na diferenciação de *G. ficicola* e *G. psidii*

A ACP mostrou que os caracteres morfométricos analisados neste estudo são suficientes para separar as duas espécies, *G. ficicola* e *G. psidii*, em dois grupos bem distintos (Figura 5).

Os três primeiros componentes principais estão dentro da significância proposta por Jolliffe (1986), os quais apresentam valores acima de Jolliffe cut-off $> 0,0038124$. Portanto, somente foram considerados os dois primeiros por explicarem 85,6% de toda a análise. O primeiro componente principal contribuiu com o agrupamento em 55,6% e o segundo componente com 30,4%. As variáveis responsáveis pelo agrupamento do primeiro componente foram o último segmento rostral em relação ao segundo tarsômero (89%) e o comprimento do corpo com 41%, para o segundo componente o comprimento do corpo contribuiu com 70% e o comprimento da tibia posterior com 45% (Tabela 12).

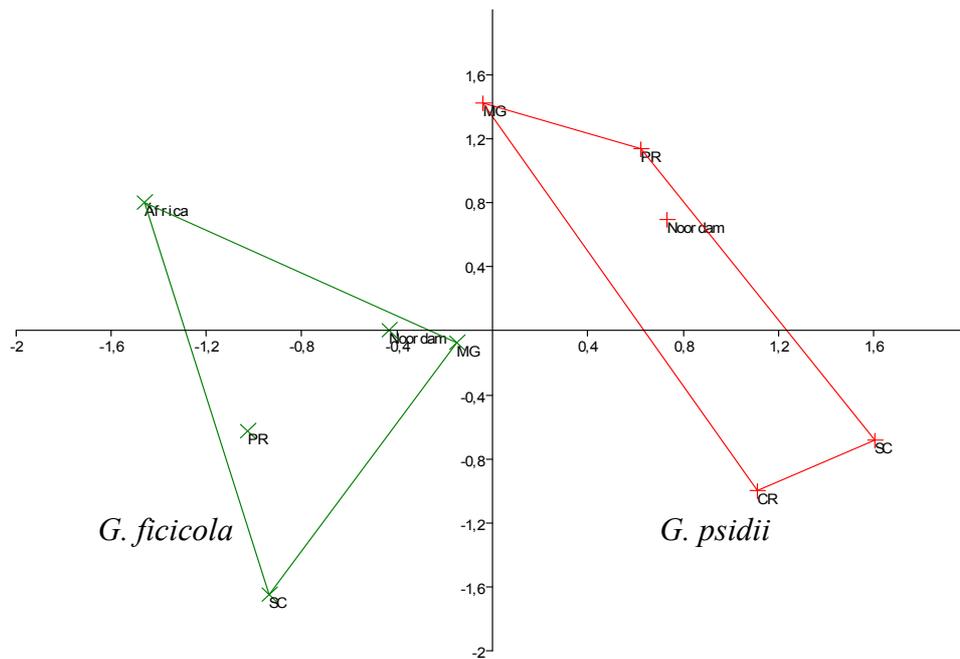


Figura 5. Plotagem do primeiro (CP1) e segundo (CP2) componentes principais dos caracteres morfométricos de fêmeas partenogênicas ápteras de populações de *G. ficicola* e *G. psidii*.

As características diagnósticas utilizadas por Noordam (1986), para separar *G. ficicola* e *G. psidii*, iniciam com chave pictórica diferenciando os subgêneros de *Greenidea* (*Greenidea*) sp. e *Greenidea* (*Trichosiphum*) sp., enfatizando a disposição das imbricações presentes no sífunculo dos dois subgêneros. Ao nível específico são consideradas medidas dos segmentos antenais, último segmento rostral, estilete e sífunculo para *G. (Greenidea) ficicola* e, medidas da cauda, estiletos, pelos da tíbia posterior e do processo terminal para *G. (Trichosiphum) psidii*. Sendo que nas descrições de cada espécie, Noordam (1994) utiliza vários parâmetros morfométricos, dentre os quais, os citados em material e métodos.

Tabela 12. Valores percentuais de explicação dos componentes principais (CP) e indicação dos maiores valores de cada variável morfométrica (VM) para o agrupamento das populações de *G. psidii* e *G. ficicola*. Ver texto para parâmetros morfométricos.

COMPONENTES PRINCIPAIS			CARACTERES MORFOMÉTRICOS		
CP	autovalor	% Variância	VM	1CP	2CP
1	0,036662	55,273	CC	-0,408	0,6958
2	0,020157	30,39	LCO	-0,01934	0,1773
3	0,004682	7,0583	PT	0,07017	0,2844
4	0,00243	3,663	URS	0,09234	0,08414
5	0,002019	3,0435	TB	0,01916	0,4583
6	0,000308	0,46421	1TRS	-0,00547	0,004539
7	4,41E-05	0,066542	2TRS	0,003987	0,04525
8	1,90E-05	0,028681	CS/CC	0,06704	0,03109
9	8,57E-06	0,012913	CS/LCO	-0,00238	0,1304
10	1,89E-33	2,86E-30	URS/2TRS	0,8975	0,2511
11	5,80E-70	8,74E-67	TB/LCO	0,07935	0,3197
12	0	0	CC/LC	-0,05494	0,03306

Utilizando-se das três características que mais contribuíram para os componentes principais, obtém-se a separação total de *G. ficicola* e *G. psidii* através da análise de agrupamento utilizando o algoritmo UPGMA e distância euclidiana entre as variáveis, com correlação cofenética da matriz de distância de 71% (Figura 6).

Observa-se que o agrupamento e disposição das populações corroboraram com os resultados da análise de componentes principais. Nota-se que as medidas de Noordam não se distanciaram das demais populações nas duas espécies confirmando os resultados obtidos na análise comparativa entre as populações fora e dentro da região de origem (item 3.2).

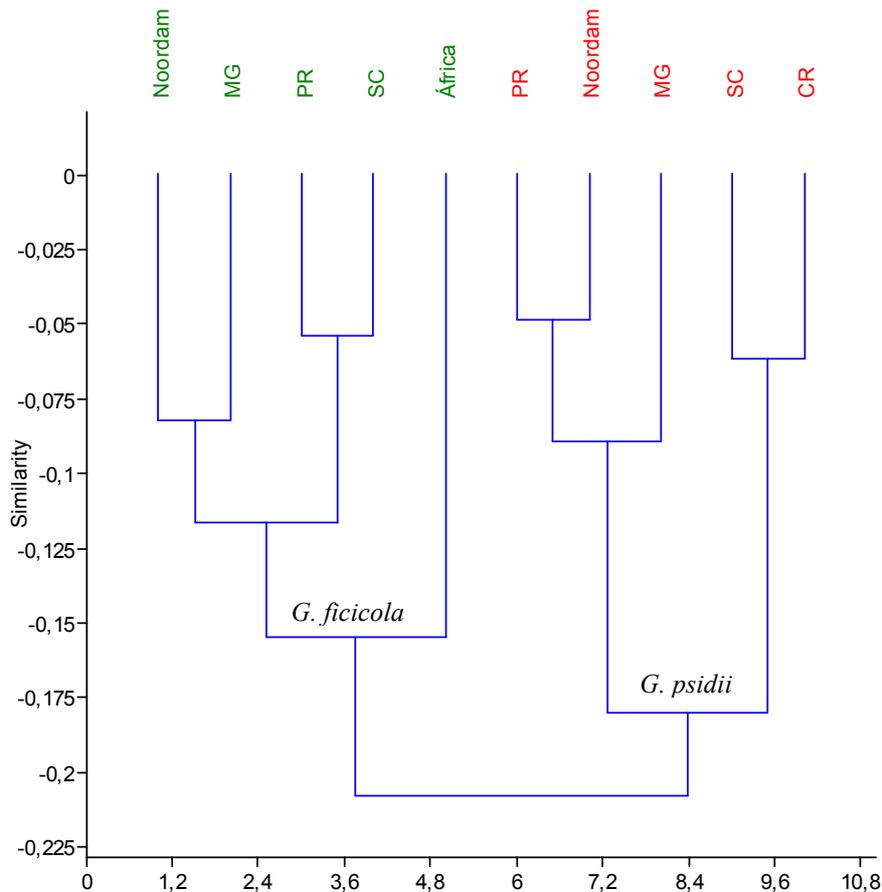


Figura 6. Dendrograma das variáveis morfométricas de fêmeas partenogenéticas ápteras de populações de *G. ficicola* e *G. psidii* com maior contribuição na Análise de Componentes Principais, quais sejam comprimento do corpo e da tibia posterior e relação do último segmento rostral com o segundo segmento tarsal.

4. CONCLUSÃO

- O comprimento do corpo, comprimento da tibia e a relação último segmento rostral vs. segundo tarsômero das pernas posteriores das fêmeas partenogenéticas ápteras diferenciam as fêmeas partenogenéticas ápteras de *G. ficicola* e *G. psidii*;
- As espécies *G. ficicola* e *G. psidii* apresentam padrão disperso e sobreposição entre as populações pelos parâmetros morfométricos de fêmeas partenogenéticas ápteras;
- A formação dos grupos de *G. ficicola* e *G. psidii*, baseados em dados morfométricos, não mostram, para cada uma das espécies separadamente, um padrão de diferenciação entre as populações destes afídeos considerando a latitude,

- longitude, altitude e temperatura média anual das localidades de procedência das amostras;
- Os parâmetros morfométricos das fêmeas partenogenéticas ápteras de *G. ficicola* e *G. psidii* das populações fora da região de origem assemelham-se aos dos indivíduos da região asiática;
 - A semelhança morfométrica entre as populações de cada uma das espécies, sugere que estes insetos ainda não estão especializados localmente, contudo as pequenas diferenças detectadas são indícios de adaptação local mais especializada, que, gradativamente, levarão à uma diferenciação mais evidente entre as populações.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agarwala B K, Raychaudhuri D N (1982) New records of aphids (Homoptera: Aphididae) from Bhutan, India. *Entomol* 6(3):225-228.
- Blackman R L, Eastop V F (1984) *Aphids on the world's crop – an identification guide*. Chichester, Wiley, 466p.
- Blackman R L, Spence J M (1994) The effects of temperature on aphid morphology, using a multivariate approach. *Eur J Entomol* 91:7-22.
- Blanckenhorn W U, Fairbairn D J (1995) Life history adaptation along a latitudinal cline in the water strider *Aquarius remigis* (Heteroptera: Gerridae). *J Evol Biol* 8:21-41.
- Cardoso J T (2007) Morfologia, bioecologia e comportamento alimentar de *Pineus boernerii* Annand, 1928 (Hemiptera: Adelgidae) em *Pinus* spp. (Pinaceae). Tese de Doutorado, Curitiba, UFPR, 147p.
- Cavalcanti M J, Lopes P R D (1998) Variação geográfica de caracteres quantitativos em *Ogcocephalus vespertilio* (Linnaeus) (Teleostei, Lophiiformes, Ogcocephalidae). *Rev Bras Zool* 15(1):125-134.

- Chang G S, Zhong T S (1979) Three new species of *Greenidea* Shouteden from China (Greenideidae, Aphidoidea, Homoptera). *Entomotaxon* 1(2):115-120.
- Chang G S, Zhong T S (1982) 3 new species of *Greenidea* from China (Greenideidae, Aphidoidea, Homoptera). *Entomotaxon* 1(2):115-120.
- Dixon A F G (1998) *Aphid ecology*. Chapman & Hall, London
- Futuyma D J (1997) *Biologia Evolutiva*. 2^a ed. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética/CNPq, 646p.
- Halbert S E (2004) The genus *Greenidea* (Rhyncota: Aphididae) in the United States. *Florida Entomologist*, 87(2):159-163.
- Heie O E (1987) Morphological structures and adaptations. In Minks A K, Harrewijn P (eds) *World crop pests, aphids their biology, natural enemies and control*. Amsterdam Elsevier,
- Hoffman A A, Parsons P A (1997) *Extreme environmental change and evolution*. 2^a ed. London, Cambridge University Press, 259p
- Jolliffe, I.T. 1986. *Principal Component Analysis*. Springer-Verlag, Berlin.
- Kanegae A P, Lomônaco C (2003) Plasticidade morfológica, reprodutiva e assimetria flutuante de *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) sob diferentes temperaturas. *Neotrop Entomol* 32(1):37-43.
- Landis J R, Koch G G (1977) The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 33:159-174.
- Liao H T (1978) The *Greenidea* aphids of Taiwan. *J Agric Res China* 27(4):345-354.
- Maity S P, Chakrabarti S (1980) *Aphids (Homoptera: Aphididae) of Northwest India*. 3

- New species of Greenideinae from Garwhal Himalaya. *Annales Zoologici* (Warsaw), 35(22): 307-327.
- Martin J N (1983) The identification of common aphid pests of tropical agriculture. *Trop Pest Manag* 29:395-411.
- Masaki S (1967) Geographic variation and climatic adaptation in a field cricket (Orthoptera: Gryllidae). *Evolution* 21:725-741.
- Masaki S (1978) Climatic adaptation and species status in the lawn ground crickets. II. Body size. *Oecologia* 35:342-356.
- Moran N (1986) Morphological adaptation to host plants in *Uroleucon* (Homoptera: Aphididae). *Evolution* 40:1044-1050
- Moreira M A (2001) Fundamentos de sensoriamento remoto. São José dos Campos-SP: INPE.
- Mousseau T A, Roff D A (1989) Adaptation to seasonality in a cricket: patterns of phenotypic and genotypic variation in body size and diapause expression along a cline in season length. *Evolution* 43:1483-1496.
- Noordam D (1994) Greenideinae from Java (Homoptera: Aphididae). National Natuurhistorische Museum, Leiden, The Netherlands. 284 p.
- Penteado S R C (2007) Parâmetros biológicos, tabelas de vida e comportamento alimentar de *Cinara atlantica* (Wilson) (Homoptera, Aphididae) em laboratório e sua flutuação populacional e danos em progênies de *Pinus taeda* L. (Pinaceae), em campo. Tese de Doutorado, Curitiba, UFPR, 223 p.
- Poulios K D, Margaritopoulos J T, Tsitsipis J A (2007) Morphological separation of host adapted taxa within the *Hyalopterus pruni* complex (Homoptera: Aphididae). *Eur J Entomol* 104:235-242.

- Price T D (2006) Phenotypic plasticity, sexual selection, and the evolution of colour patterns. *J Exp Biol* 209:2368-2376.
- Qiao G X, Zhang G X (2000) The genus *Cervaphis* from China with description of a new species (Homoptera: Aphidoidea: Greenideidae). *Orient Ins* 34:325-330.
- Rakauskas R (1998) Morphometric analysis of European species of the genus *Aphis* (Sternorrhyncha: Aphididae) inhabiting *Ribes*. *Eur J Entomol* 95:239-250.
- Reis, S F (1988) Morfometria e estatística multivariada em biologia evolutiva. *Rev Bras Zool* 5(4):571-580.
- Remaudière G (1988) A revision of the Schoutedeniini, with the description of a new *Malagassy eonaphis* (Hom. Aphididae Greenideinae). *Bull Soc Entomol France* 93(3-4):65-78.
- Remaudière G, Autrique A, Ntahimpera L (1992) *Greenidea ficicola*, première espèce de la tribu des Greenideini découverte en Afrique (Homoptera, Aphididae, Greenideinae). *Rev Franc d'Entomol (Nouvelle Serie)* 14(3):132.
- Roff D A (1980) Optimizing development time in a seasonal environment: the “ups and downs” of clinal variation. *Oecologia* 45:202-208.
- Ruiz-Montoya L, Nùñez-Farfán J, Dominguez C A (2005) Changes in morphological traits of the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) associated with the use of different host plants. *Ecol Res* 20:591-598.
- Shaposhnikov G C H (1985) The main features of the evolution of aphids. In Szelegiewicz H (ed) *Proceedings of the international aphidological symposium, Jablonna, Ossolineum, Wroclaw, Poland, pp 19–99.*
- Singh T K, Raychaudhuri D, Raha S K, Raychaudhuri D N (1980) Hitherto unknown morphs of aphids (Homoptera: Aphididae) from Manipur and Nagaland, northeast India. *Entomon* 5(2):141-150.

- Sorin M, Agarwala B K (2002) A new species of the genus *Greenidea* (Hemiptera, Aphididae) from Japan. *Japan J Syst Entomol* 8(1):27-31.
- Sota T, Takami Y, Kubota K, Ishikawa R (2000a) Geographic variation in the body size of some Japanese *Leptocarabus* species (Coleoptera, Carabidae): The “toppled-domino pattern” in species along a geographic cline. *Entomol Sci* 3:309-320.
- Sota T, Takami Y, Kubota K, Ujiie M, Ishikawa R (2000b) Interspecific body size differentiation in species assemblages of the carabid subgenus *Ohomopterus* in Japan. *Popul Ecol* 42:279-291.
- Sota T, Hayashi M, Yagi T (2007) Geographic variation in body and ovipositor sizes in the leaf beetle *Plateumaris constricticollis* (Coleoptera: Chrysomelidae) and its association with climatic conditions and host plants. *Eur J Entomol* 104:165-172.
- Wainwright P C, Osenberg C W, Mittelbach G G (1991) Trophic polymorphism in the Pumpkinseed Sunfish (*Lepomis gibbosus* Linnaeus): effects of environment on ontogeny. *Funct Ecol* 5:40-55.
- Zhang G X, Zhong T S (1985) New species, new subspecies, and new records of Greenideidae from Yunnan, China. *Entomotaxon* 7(3):219-223.

Capítulo 4

**PCR-AFLP na avaliação da
variabilidade populacional de
Greenidea ficicola e *Greenidea psidii***

RESUMO

Com o intuito de se conhecer a variabilidade genética de *Greenidea ficicola* e *Greenidea psidii* e usar o estudo para contribuir com o entendimento da estrutura genética de espécies exóticas, os objetivos deste estudo foram: avaliar a similaridade genética entre as espécies e populações de *G. ficicola* e *G. psidii*; determinar a distância genética entre as populações de cada espécie; avaliar a estrutura genética das populações baseando-se nos valores de heterozigosidade (H_e), índice de fixação (F_{st}) e estimativa do fluxo gênico pelo valor do número de migrantes (N_m); determinar a associação da distância genética com a distância geográfica das populações. Foram utilizados marcadores dominantes AFLP, sendo que após a amplificação seletiva, os fragmentos de DNA foram separados em sequenciador e analisados. O polimorfismo obtido foi considerado alto para afídeos, com 92% e 89%, respectivamente, para *G. ficicola* e *G. psidii*. A população de *G. ficicola* de San Diego-EUA apresentou maior distância genética entre todas as demais; a menor distância foi entre as populações do PR e SC, com 0,0266. Para *G. psidii*, a população de MG apresentou maior distância com as demais, e a menor foi entre PR e SC, com 0,0627. Entre as populações de *G. ficicola*, a H_e e o P foram maiores para o PR comparado com SC. O índice de fixação total (F_{st}) foi de 0,1615, indicando diferenciação genética moderada; o N_m foi de 1,30. As populações de *G. psidii* da Costa Rica apresentaram heterozigosidade e polimorfismo inferiores às do PR e SC. O índice F_{st} para *G. psidii* foi de 0,3239, considerado um nível pronunciado de diferenciação genética. O teste de Mantel entre as matrizes de distância de Nei e a distância geográfica (km) apresentou valor de $r = -0,613$ ($p = 0,7380$) para *G. ficicola* e $r = -0,437$ ($p = 0,5040$) para *G. psidii*, indicando distribuição não isolada pela distância. A relação entre a distância geográfica e o F_{st} apresentou correlação positiva de 84% para *G. ficicola*, sugerindo que populações próximas mantêm fluxo entre elas, que vai diminuindo à medida que se afastam, condizente com o modelo *stepping-stone*, não observado para as populações de *G. psidii*. Considera-se, assim, que há similaridade genética entre as populações de cada uma destas espécies introduzidas no Brasil, sendo que *G. psidii* apresenta menor fluxo gênico entre suas populações do que *G. ficicola*; destaca-se ainda que o movimento de indivíduos e genes entre as populações do PR e SC, para as duas espécies, é maior do que entre as demais populações.

1. INTRODUÇÃO

A diversidade genética é um dos atributos mais importantes das populações, tanto animais quanto vegetais. Os ambientes estão em constante mudança e as populações estão em constante evolução e adaptação a novos ambientes. A baixa diversidade genética pode levar ao aumento dos níveis de endocruzamento, podendo reduzir o desempenho (*fitness*) individual e populacional (Freeland 2007). Por outro lado, a variabilidade genética pode contribuir para a capacidade invasora de uma espécie exótica (Cox 2004), dentre outras vantagens adaptativas.

A estrutura populacional de uma espécie é grandemente dependente das características genéticas da população fundadora, e o isolamento geográfico pode levar a variações genéticas, morfológicas e fisiológicas devido à pressão de seleção causada por fatores bióticos e abióticos, deriva genética e ausência de fluxo gênico (Mayr 1977). Assim, por exemplo, diferenças genéticas em uma espécie introduzida de afídeo (Hemiptera: Aphididae) podem ser decorrentes de variações genômicas da população fundadora, ou ainda, do número de eventos fundadores e da pressão de seleção (Blackman 1985).

A genética de populações investiga a origem, a quantidade e a distribuição da variabilidade genética presente nas populações de organismos no espaço e no tempo (Templeton 2006). A descoberta e o uso cada vez mais frequente de marcadores moleculares no estudo da genética populacional tem contribuído para o entendimento das relações dos organismos nativos e exóticos em determinado ambiente ou região.

Dentre os marcadores dominantes, o polimorfismo de DNA com amplificação ao acaso (*Random Amplification of Polymorphic DNA – RAPD*), Amplificação entre seqüências repetidas (*Inter simple sequence repeat amplification – ISSR*) e Polimorfismo de comprimento de fragmento amplificado (*Amplified Fragment Length Polymorphism – AFLP*) são amplamente utilizados. Lavandero *et al.* (2009) mencionam que tanto AFLP quanto ISSR são altamente confiáveis, e que não devem produzir resultados significativamente diferentes. Ren *et al.* (2008) sugerem a aplicação da técnica AFLP para o estudo da associação de *Schlechtendalia chinensis* (Bell) (Hemiptera: Aphididae) com sua planta hospedeira *Rhus chinensis* Miller (Anacardiaceae), por ser um marcador mais estável e com maior número de bandas do que o ISSR. O AFLP em relação ao RAPD é considerado de alta reprodutibilidade, atingindo até 99% de confiabilidade entre mesmas amostras e produz grande quantidade de fragmentos polimórficos, possibilitando maior

diferenciação entre espécies, populações e indivíduos. Polimorfismos genéticos são utilizados na investigação das relações genéticas entre subpopulações de uma espécie. O princípio é que alelos são compartilhados entre subpopulações por causa da migração, sendo que a similaridade na frequência alélica pode ser usada para estimar a razão da migração (Hartl 1998).

A técnica de AFLP foi descrita por Vos *et al.* (1995) e revisada por Blears *et al.* (1998), e apresenta diversas vantagens em relação a outros sistemas de DNA *fingerprinting*, sendo as mais importantes sua capacidade para detectar polimorfismos e reprodutibilidade no genoma inteiro. Com esta técnica, polimorfismos genéticos são identificados pela presença ou ausência de fragmentos de DNA obtidos através da restrição e amplificação do DNA genômico. A AFLP pode ser usada para amostras de DNA de qualquer origem ou complexidade. Pequenas variações nas sequências podem ser detectadas usando somente pequenas quantidades de DNA (Vos *et al.* 1995).

A técnica AFLP está baseada na amplificação seletiva por PCR de fragmentos de restrição de uma digestão total do DNA genômico. A técnica envolve três etapas: (i) restrição do DNA e ligação de oligonucleotídeos adaptadores; (ii) amplificação seletiva dos grupos de fragmentos de restrição; (iii) análise em gel dos fragmentos amplificados, conforme detalhado a seguir. O DNA é clivado com enzimas de restrição e os adaptadores são ligados nos finais dos fragmentos de DNA para gerar modelos para amplificação. A sequência dos adaptadores e dos sítios adjacentes de restrição serve como sítios de ligação para os *primers* para subsequente amplificação dos fragmentos. Nucleotídeos seletivos são incluídos no final 3' dos *primers* os quais, conseqüentemente, podem iniciar a síntese de DNA de um subconjunto dos sítios de restrição. Qualquer fragmento de restrição no qual o nucleotídeo seletivo flanqueia e se for complementar com o sítio de restrição poderá ser amplificado. Os fragmentos de restrição para amplificação são obtidos, geralmente, por duas enzimas de restrição, uma de corte raro e outra de corte frequente. O procedimento AFLP resulta em amplificações predominantes destes fragmentos, os quais têm uma sequência de corte raro num final e uma sequência de corte frequente no outro. A razão para usar duas enzimas de restrição é pelo fato de que o corte frequente irá gerar pequenos fragmentos de DNA, que serão amplificados e apresentam um tamanho adequado para separação em gel e sequenciamento. Por outro lado, o número de fragmentos para serem amplificados é reduzido pelo uso da enzima de corte raro, desde que somente os fragmentos corte raro/frequente sejam amplificados. Isto limita o número de nucleotídeos seletivos necessários para a amplificação seletiva (Vos *et al.* 1995).

A técnica AFLP tem sido aplicada para avaliar o fluxo gênico e dispersão, introgressão e casos de hibridização. A alta resolução dos marcadores AFLP também possibilita testar identidade clonal entre indivíduos, ou seja, ausência de recombinação, permitindo inferência em relação à reprodução sexual e assexuada (Mueller & Wolfenbarger 1999). O fluxo gênico é a transferência de genes de uma população à outra e o entendimento do movimento dos indivíduos e genes entre populações é fundamental para o estudo de ecologia e genética de populações, pois o fluxo gênico pode influenciar profundamente o tamanho da população, diversidade genética, adaptação local e em última instância a especiação. Os métodos para a medição do fluxo gênico incluem: a captura, marcação e recaptura de organismos, valor do número de migrantes (N_m) para se estimar o fluxo gênico ou através de métodos estatísticos em que são utilizadas inferências Bayesianas (Freeland 2007). Destes, o mais utilizado atualmente é a estimativa através do número de migrantes (Sánchez-Teyer *et al.* 2009; Deng *et al.* 2008). Rápidos ciclos de extinção e colonização afetam a estrutura genética de populações onde frequentes eventos de fundação (*founder events*) durante colonização podem aumentar o valor de F_{ST} , índice de fixação dos alelos (Wright 1951).

Os afídeos são altamente polimórficos, apresentando diversas formas em uma mesma população (alados e ápteros, formas sexuais, variação de cor, tamanho e outras). Essas diferenças podem ser detectadas através da observação de caracteres fenotípicos ou através de testes que detectem as variações moleculares (Dixon 1985; Lushai, *et al.* 1997; Stern *et al.* 1997; Dendryver *et al.* 1998). Mutações, erros na replicação, inserções e deleções podem ocorrer dentro de populações clonais, em diferentes períodos do ano, relacionados às mais diversas funções, resultando em polimorfismo interclonal (linhas clonais de diferentes origens genéticas) ou intraclonal (variação genética em uma única linhagem clonal) (Dixon 1985; Lushai *et al.* 1998; Lushai & Loxdale 2002). Essa variação toda pode ser refletida em interações diferenciadas com a planta hospedeira e sua capacidade de responder à infestação pelo biótipo ou clone do inseto em questão.

Os estudos populacionais com marcadores AFLP em afídeos são fundamentais para determinar a estrutura genética e esclarecer a variação fenotípica observada neste grupo de insetos, que inclui um grande número de espécies pragas de diversas culturas de importância econômica. Como a grande maioria das espécies de afídeos (mais de 90% segundo V. F. Eastop, comunicação pessoal) registradas no Brasil são introduzidas de outras regiões, especialmente do hemisfério norte, os marcadores AFLP podem ser uma

ferramenta particularmente importante para traçar a origem, adaptação e variabilidade genética das populações desses afídeos.

Na presente pesquisa as espécies *Greenidea ficicola* Takahashi 1921 e *Greenidea psidii* Van Der Goot 1916 (Hemiptera: Aphididae), introduzidas há poucos anos no país (Lazzari *et al.* 2006, Sousa-Silva *et al.* 2005), serão analisadas com o intuito de se conhecer a variabilidade genética das mesmas e usar o estudo para contribuir com o entendimento da dinâmica molecular de espécies exóticas. Os objetivos específicos foram:

1. Avaliar a similaridade genética entre as espécies e populações de *G. ficicola* e *G. psidii*;
2. Determinar a distância genética entre as populações de cada uma das duas espécies;
3. Avaliar a estrutura genética das populações de *G. ficicola* e *G. psidii* através dos valores de heterozigosidade (H_e), índice de fixação (F_{st}) e estimativa do fluxo gênico pelo valor do número de migrantes (N_m);
4. Determinar a associação da distância genética com a distância geográfica das populações de *G. ficicola* e *G. psidii*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Coleta dos Insetos

As coletas foram realizadas, esporadicamente, entre os anos de 2006 e 2008, em localidades de alguns estados do Brasil: no Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná e Minas Gerais, e de outros países: na Costa Rica, Estados Unidos e África do Sul (ANEXOS 1 e 2). Os espécimes de *G. ficicola* e *G. psidii* foram coletados diretamente de suas plantas hospedeiras, respectivamente, em *Ficus benjamina* L. (Moraceae) e *Psidium guajava* L. (Myrtaceae), acondicionados em frascos *ependorf* de 1,5 mL contendo álcool etílico a 96% e armazenados a -20°C até a extração do DNA. Cada frasco foi etiquetado com dados da localidade, data, coordenadas geográficas quando possível, e hospedeiro (ANEXOS 1 e 2). De cada localidade foram coletados aproximadamente 30 indivíduos, preferencialmente fêmeas adultas ápteras.

2.2. Extração do DNA

As análises foram realizadas no Laboratório Danúncia Urban de Biologia Molecular do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná; alguns procedimentos específicos foram feitos em outros laboratórios, conforme indicado.

Para cada amostra foram retirados cinco espécimes do material congelado e secos em toalha de papel toalha para retirar o excesso do álcool.

Para a extração do DNA foi utilizado o Kit QIAGEN DNeasy[®] Blood & Tissue Handbook, protocolo Animal Tissues (Spin-Column Protocol). Após a extração foi realizada a quantificação do DNA (1 µL) em espectrofotômetro no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Florestas.

2.3. Digestão do DNA

O DNA amostral foi submetido à digestão em tubos 0,2 mL *snap caps* translúcidos (*thin wall*) contendo 1 µL de Buffer EcoRI, 1 µL da enzima MseI, 1 µL da enzima EcoRI e água MilliQ para completar o volume final de 20 µL. A concentração do DNA utilizada foi de 1,0 µg. Após a homogeneização, foram levados ao termociclador a 37°C durante 4 h seguido de 10' a 65°C para inativação das enzimas de digestão. A solução da digestão foi utilizada imediatamente para as fases seguintes ou armazenada a 4°C para posterior utilização (máximo um mês de armazenamento).

2.4. Ligação dos adaptadores

Antes dos adaptadores EcoRI e MseI (Applied Biosystems) serem utilizados pela primeira vez, foram levados ao termociclador a 95°C por 2' e armazenados em temperatura ambiente. Utilizou-se 3,7 µL da reação de digestão, 1,0 µL de tampão T4, 0,5 µL da enzima T4 e 0,4 µL de cada adaptador EcoRI e MseI para volume final de 6 µL em tubos 0,2 mL *snap caps* translúcidos (*thin wall*). Após, os tubos foram levados ao termociclador a 20°C durante 2 h e, posteriormente, cada reação de ligação foi diluída em 60 µL de TE (0,1x) e armazenada a 4°C ou utilizada imediatamente.

2.5. Amplificação pré-seletiva

Para submeter a reação de ligação à amplificação pré-seletiva utilizou-se o kit de genoma regular (402004) da Applied Biosystems. Para um volume final de reação de 10 μL foram utilizados 2,0 μL da reação de ligação diluída, 0,5 μL de *primers* pré-seletivos e 7,5 μL de *Core Mix* (kit) em tubos de 0,2 mL. Após a mistura, as reações foram levadas ao termociclador (ANEXO 3) e depois diluídas em 20 μL de TE (Tris + EDTA) 0,1x.

2.6. Amplificação seletiva

Para a reação de amplificação seletiva utilizou-se o kit de genoma regular (4303050) da Applied Biosystems. Para um volume final da reação de 10,4 μL misturou-se 1,5 μL da reação pré-seletiva diluída, 7,5 μL de *Core Mix* (Kit), e 0,7 μL dos *primers* EcoRI e MseI em cada reação. As amostras foram levadas ao termociclador para os ciclos de desnaturação, anelamento e extensão (ANEXO 4). As amostras podem ser utilizadas imediatamente ou armazenadas a -4°C por um mês ou até um ano a -20°C .

2.7. Preparo das amostras amplificadas para obtenção dos fragmentos em seqüenciador ABI Prism® 377

Após a última etapa de amplificação, uma alíquota de 0,5 μL de cada amostra foi diluída em solução contendo 0,5 μL do marcador molecular padrão ROX (1000), 0,25 μL de blue dextran/25 mM e 1,25 μL de formamida deionizada (Hi-Di™), desnaturadas a 94°C durante 2' e rapidamente colocadas em gelo para posterior aplicação do volume de 1,6 μL em gel de poliacrilamida desnaturante no seqüenciador.

2.8. Análise dos fragmentos

A imagem dos fragmentos foi capturada pelo programa GeneScan (Applied Biosystems) e, após a corrida e alinhados os tamanhos dos fragmentos com o padrão ROX, procedeu-se à análise dos fragmentos no programa GenoTyper (Applied Biosystems). Através deste programa obteve-se a planilha com as populações e seus tamanhos de fragmentos em pares de bases para cada pico gerado. A partir desta matriz montou-se, no Excel, a planilha presença x ausência dos fragmentos referente a cada tamanho (pb) encontrado em cada combinação de *primer* por amostra. Foi estabelecido um padrão para os comprimentos dos fragmentos, em que, a cada 0,5 pb, todos os fragmentos dentro desta faixa foram considerados do mesmo tamanho, ou seja, o mesmo fragmento.

2.9. Análise dos dados

A matriz binária (1 = banda presente, 0 = banda ausente) foi preparada baseando-se no padrão de bandas AFLP. As bandas polimórficas foram definidas como aquelas que estavam ausentes em pelo menos um indivíduo.

O resultado do dendrograma foi obtido com o algoritmo UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*), usando o SAHN (*Sequential Agglomerative Hierarchical Nested Cluster Analysis*), coeficiente de Dice (1945) com *bootstrapping* de 1000 repetições no Aplicativo Computacional NTSYS 2.02.

Os parâmetros populacionais: heterozigiosidade esperada (H_e), proporção de locos polimórficos (P), índice de fixação (F_{st}) e a distância genética de Nei's (1972) e teste de Mantel foram calculados usando o Aplicativo Computacional TFPGA (*Tools for Population Genetics Analyses*). A variação genética entre e dentro das populações, quando possível, foi avaliada assumindo que as populações estão em Equilíbrio de Hardy-Weinberg para marcadores dominantes (Lynch & Milligan 1994).

A proporção de locos polimórficos foi obtida através da fórmula:

$P = x/m$, onde,

x é o número de locos polimórficos

m é o número total de locos polimórficos da população

O fluxo gênico foi medido com o parâmetro Nm (número de migrantes), usando a seguinte fórmula:

$$Nm = [0,25(1 - F_{st})/F_{st}]$$

O teste de Mantel (Mantel 1967) foi usado para determinar associações entre a distância genética de Nei e a distância geográfica entre as populações. A distância geográfica foi obtida através de cálculos realizados pelo programa Google Earth 5.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os afídeos foram coletados em diversas cidades nos estados do Paraná (16), Santa Catarina (30), Rio Grande do Sul (1), Minas Gerais (3) e amostras representativas da África do Sul (1), Estados Unidos (1) e da Costa Rica (6), totalizando 58 amostras. Todas as amostras foram submetidas à extração, com a concentração de DNA variando de 53

µg/mL a 514 µg/mL. Destas, 40 amostras foram utilizadas para análise populacional das duas espécies (*G. ficicola* e *G. psidii*) (ANEXO 1 e 2).

O total de fragmentos amplificados pela técnica AFLP entre as quatro combinações de *primers* utilizadas foi de 176 para *G. ficicola* e 146 para *G. psidii*, obtendo 92% e 89% de polimorfismo, respectivamente. Alelos raros foram detectados em 30,1% nas populações de *G. ficicola* e 39,7% nas de *G. psidii* (Tabela 1). Os fragmentos amplificados e analisados tiveram tamanho de 25 pb a 415 pb.

Das quatro combinações de *primers* utilizadas, a combinação EcoRI-ACA/MseI-CTA obteve a maior quantidade de fragmentos amplificados para as duas espécies de afídeos, e as combinações que apresentaram menor número de fragmentos foram EcoRI-AGG/MseI-CAG em *G. ficicola* e EcoRI-AGC/MseI-CTA em *G. psidii* (Tabela 1).

Tabela 1. Polimorfismo dos fragmentos amplificados através da técnica AFLP com a combinação de quatro *primers* (EcoRI e MseI) em populações de *G. ficicola* e *G. psidii* provenientes de diferentes localidades.

Afídeos	Primers	Nº Fragmentos	Fragmentos monomórficos	Fragmentos polimórficos	Alelos raros
<i>G. ficicola</i>	EcoRI-ACA/MseI-CTA	58	7	51	19
	EcoRI-ACA/MseI-CTC	43	7	36	11
	EcoRI-AGG/MseI-CAG	33	0	33	10
	EcoRI-AGC/MseI-CTA	42	0	42	13
	Total	176	14	162	53
	%	100,0	8,0	92,0	30,1
<i>G. psidii</i>	EcoRI-ACA/MseI-CTA	50	12	38	21
	EcoRI-ACA/MseI-CTC	47	2	45	11
	EcoRI-AGG/MseI-CAG	29	0	29	18
	EcoRI-AGC/MseI-CTA	20	2	18	8
	Total	146	16	130	58
	%	100,0	11,0	89,0	39,7

3.1. Dendrograma de similaridade e distância genética entre as populações de *G. ficicola* e *G. psidii*

A amostra de Curitiba apresentou 53% dos alelos raros entre todas as localidades, por este fato, foi retirada das análises a fim de evitar erros tendenciosos desta amostra. A correlação cofenética das duas árvores mostrou grande robustez nos agrupamentos, com 87% ($r=0,87937$, $p=0,002$) para as populações de *G. ficicola* e 93% ($r=0,93742$, $p=0,002$)

para *G. psidii* (Figura 1). O agrupamento gerado pelo algoritmo UPGMA para *G. ficicola* apresentou dois grupos maiores com similaridades entre 0,68-0,76. O primeiro grupo com similaridade de 0,73 contendo representantes do PR, SC e África do Sul e no segundo grupo a maioria dos representantes foi de SC, dois do PR e MG com similaridade de 0,70. Observa-se que estes dois grupos formados estão com as populações sobrepostas, porém, o coeficiente de similaridade de 0,60 está representado somente pela amostra de San Diego, EUA (Figura 1A). O grau de diferenciação populacional tende a aumentar com a distância geográfica, porém quanto maior a proximidade das populações em relação à latitude maior a proximidade genética. Esta relação foi encontrada em vários trabalhos com diferentes organismos, (Johansson *et al.* 2006, Falahati-Anbaran *et al.* 2007). Esta relação pode explicar o fato da população da África estar mais próxima geneticamente entre as populações do sul do Brasil já que, latitudinalmente, é mais similar que os EUA.

A Figura 1B mostra que *G. psidii* apresentou somente um grupo com 13 populações pertencentes ao RS, PR, SC e Costa Rica. A partir da similaridade de 0,824 não houve formação de grupos e as populações de Canoinhas-SC, Curitiba-PR, Chapecó-SC, Piratuba-SC, Colombo-PR e Patos de Minas-MG foram decrescendo até atingir 0,64 de similaridade, porém, ainda com maiores coeficientes quando comparados com *G. ficicola*.

Nicol *et al.* (1997), investigando a diversidade genética de duas espécies de afídeos introduzidas na Nova Zelândia, *Metopolophium dirhodum* (Walker, 1842) e *Elatobium abietinum* (Walker, 1842), encontraram grande diferenciação genética amostral através de marcadores dominantes (RAPD). Utilizando também marcadores moleculares RAPD para populações do afídeo-da-extremosa, *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy), Zonta-de-Carvalho (2004) obteve a formação de grupos com similaridades acima de 0,93 utilizando o algoritmo UPGMA. Este valor do coeficiente de similaridade foi notavelmente superior ao encontrado neste trabalho para *G. ficicola* (0,60) e *G. psidii* (0,64), indicando que as populações destas duas espécies são mais diferenciadas entre si do que as de *T. kahawaluokalani*.

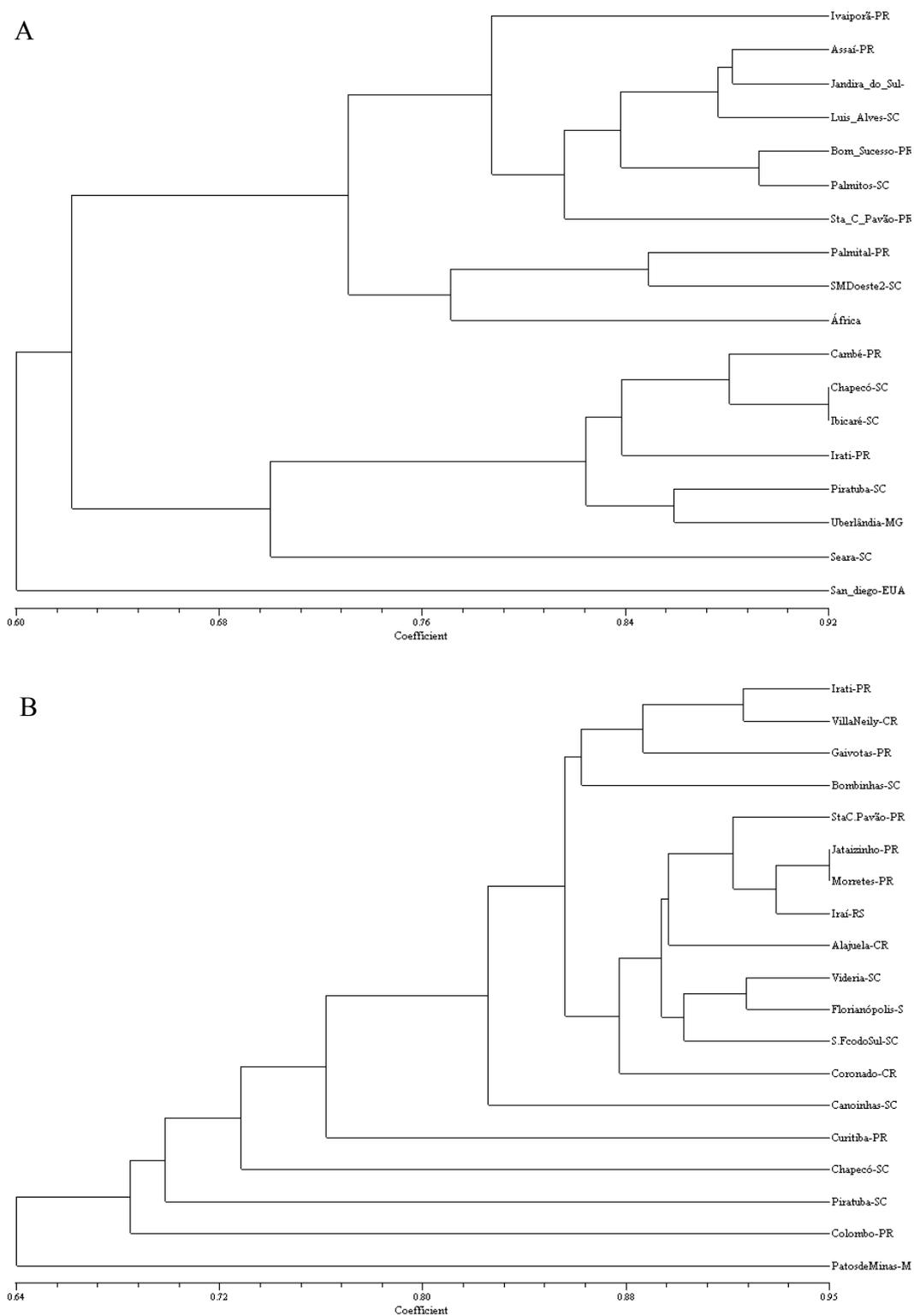


Figura 1. Dendrograma de similaridade genética determinado pelo coeficiente de Dice, utilizando o algoritmo UPGMA, com base em dados de PCR-AFLP, para as populações de *G. ficicola* (A) e *G. psidii* (B) provenientes de diferentes localidades.

O cálculo da distância genética entre duas populações através da identidade genética descrita por Nei (1972), utilizando a frequência alélica baseada na raiz quadrada da frequência do genótipo recessivo (no caso, para marcadores dominantes é a ausência do fragmento), mostrou que, para *G. ficicola*, a população de San Diego-EUA apresentou maior distância genética entre todas as demais; enquanto que a menor distância foi entre as populações do PR e SC, com 0,0266. Para *G. psidii*, a população de MG apresentou maior distância com todas as demais, e a menor distância foi novamente entre PR e SC, com 0,0627.

3.2. Estrutura genética das populações de *G. ficicola* e *G. psidii*

A obtenção do valor da heterozigosidade (H_e) foi possível somente para populações com mais de uma amostra, pois o cálculo considera a frequência alélica dentro da população, igualmente para o polimorfismo (P), o qual leva em consideração as diferenças na presença ou não dos fragmentos entre as amostras dentro da população.

Entre as populações de *G. ficicola*, a H_e e o P foram maiores para o PR comparado com SC. O índice de fixação total (F_{st}) foi de 0,1615, considerado uma diferenciação genética moderada e o número de migrantes (N_m) foi de 1,30 (Tabela 2). Mesmo tendo um fluxo gênico relativamente baixo (1,30), este é suficiente para evitar a diferenciação da população através da deriva genética (Wright 1951). Lembrando que, quanto menor o índice de fixação (F_{st}) maior será o fluxo gênico e, conseqüentemente, menor diferenciação interpopulacional.

As populações de *G. psidii* da CR (0,0581) apresentaram heterozigosidade e polimorfismo inferiores às do PR (0,1249) e SC (0,1216). O índice F_{st} para *G. psidii* foi de 0,3239 que, segundo Freeland (2007), é considerado um nível pronunciado de diferenciação genética. A fixação dos alelos em uma população pode caracterizar o estabelecimento da espécie ao local ou, ecologicamente, favorecer o efeito *bottleneck*, podendo levar à extinção ou, evolutivamente, levar à especiação (Futuyma 1992). De acordo com Lenormand (2002), o baixo fluxo gênico pode alterar as frequências gênicas em razão da seleção, impondo um limite para adaptação local.

A heterozigose e o polimorfismo foram maiores para *G. ficicola* comparados com os valores de *G. psidii*. Frequentemente, biólogos conservacionistas afirmam que a perda da variação genética (baixa heterozigosidade) reduz a capacidade das pequenas populações de evoluir em resposta a novas condições ambientais (Templeton *et al.* 2001) e, segundo Willi *et al.* (2006), marcadores de DNA geralmente revelam baixa heterozigosidade em

pequenas populações. Globalmente, foram registradas perdas significativas de riqueza alélica e heterozigose em populações introduzidas, e grandes ganhos em diversidade foram raros. Portanto, evidência de múltiplas introduções foi associada com aumento da diversidade (Dlugosch & Parker 2008). O índice de fixação de *G. psidii* foi maior do que o de *G. ficicola*, ou seja, a primeira apresenta alelos mais fixados na população, sendo seu fluxo gênico menos expressivo, com valor de $Nm = 0,5218$ (Tabela 2).

Tabela 2. Heterozigosidade esperada (H_e), proporção de polimorfismo por loco (P), índice de fixação (F_{st}) e número de migrantes (Nm) de populações de *G. ficicola* e *G. psidii* provenientes de diferentes localidades.

Espécie	Populações	n	H_e	P	F_{st}	Nm
<i>G. ficicola</i>	Paraná	8	0,2165	72,7273		
	Santa Catarina	9	0,1694	55,6818		
	Minas Gerais	1	-	-	0,1615	1,2979
	Estados Unidos	1	-	-		
	África do Sul	1	-	-		
	Total	20				
<i>G. psidii</i>	Paraná	7	0,1249	45,8904		
	Santa Catarina	7	0,1216	45,8904		
	Minas Gerais	1	-	-	0,3239	0,5218
	Rio Grande do Sul	1	-	-		
	Costa Rica	3	0,0581	15,0685		
	Total	19				

Na Tabela 3 verifica-se que para *G. ficicola*, o maior índice de fixação foi observado para as populações dos EUA e SC (0,4654), seguido dos EUA e PR (0,3627); enquanto que o menor índice foi para PR e SC (0,0445). Ao contrário, o Nm foi maior para PR e SC (5,3679) e menor para os EUA e SC (0,2871) e EUA e PR (0,4392). Segundo Wright (1931), o valor do fluxo gênico (Nm) maior ou igual a 1 é suficiente para contrapor os efeitos da deriva genética, expressando baixa diferenciação genética entre as populações. Estes valores corroboram com a análise de similaridade através do logaritmo UPGMA, em que se discute o maior fluxo entre populações próximas e menor fluxo entre populações distantes. A população sul-africana apresentou valores de F_{st} menores do que a

dos EUA. Considerando o Oceano Atlântico como barreira geográfica, era de se esperar maior F_{st} entre a população da África do Sul com as demais; contudo, além da questão da proximidade em relação à latitude, pode-se também inferir que o pool gênico entre aquela população e as do sul do Brasil seja semelhante, uma vez que sua planta hospedeira, *F. benjamina* é extensamente distribuída por ação antrópica favorecendo o fluxo entre os indivíduos. De acordo com Alvarez *et al.* (2007), insetos fitófagos associados a plantas hospedeiras cultivadas possuem menor distância genética entre localidades no México, devido ao transporte da planta feito pelo homem.

Considerando que estas espécies são introduzidas ou exóticas em todas as localidades estudadas, pode-se inferir que os eventos fundadores tenham sido com linhagens heterogêneas entre a América do Sul e América do Norte, sendo que as populações de Porto Elizabeth na África do Sul representam uma linhagem mais homogênea em relação às populações estudadas no Brasil. Blackman (1985) sugere que novas populações de afídeos podem, teoricamente, ter início a partir de um único genótipo fundador. Assim, o transporte de *F. benjamina*, planta hospedeira de *G. ficicola*, extensivamente utilizada como planta ornamental no Brasil e, principalmente, nos estados do sul, pode favorecer o fluxo gênico entre as localidades resultando em menor diferenciação populacional de *G. ficicola* no país.

Para as populações de *G. psidii* os valores mais altos de F_{st} foram registrados para a população de Costa Rica em relação às demais, sendo maior com MG, que também teve valores maiores entre as demais populações (Tabela 3). O menor valor foi entre PR e SC (0,1421), porém maior do que as populações de *G. ficicola* para os mesmos estados. Mesmo o número de migrantes com valores maiores para PR e SC foi menor do que os observados para *G. ficicola*. Frente a estes dados comparativos entre as duas espécies podemos inferir que a estrutura genética das populações destas duas espécies de *Greenidea* está associada ao modo de distribuição de seus hospedeiros, para *F. benjamina* distribuição contínua e para *P. guajava* distribuição mais discreta.

As exigências quanto aos fatores climáticos são mais acentuadas em goiabeiras, que se desenvolvem melhor em climas quentes e secos. Já, *F. benjamina* possui um limite mais amplo de tolerância aos fatores abióticos. Outra inferência está relacionada ao tempo de introdução fora da região de origem (asiática), sendo que *G. psidii*, introduzida há mais tempo do que *G. ficicola*, estaria melhor estabelecida localmente, fato este corroborado pelo registro de maior número de alelos raros, os quais podem favorecer a seleção natural e posterior estabelecimento em locais mais restritos. Também a partenogênese, que

representa o tipo mais comum de reprodução dos afídeos, tem reflexos marcantes na estrutura geográfica e, talvez possa levar a um isolamento reprodutivo de algumas populações (Roderick 1996).

Tabela 3. Índice de fixação (Fst) e fluxo gênico expresso em Número de Migrantes (Nm) das populações de *G. ficicola* e *G. psidii* provenientes de diferentes localidades.

		PR	SC	MG	EUA	AF	
<i>G. ficicola</i>	Fst	PR	1	0,0445	0,1278	0,3627	0,1315
		SC	0,0445	1	0,0985	0,4654	0,1956
	Nm	PR	1	5,3679	1,7061	0,4392	1,6511
		SC	5,3679	1	2,2880	0,2871	1,0281
<i>G. psidii</i>	Fst	PR	1	0,1421	0,5969	0,2031	0,2259
		SC	0,1421	1	0,6392	0,2760	0,2411
		CR	0,2259	0,2411	0,8084	0,5561	1
	Nm	PR	1	1,5093	0,1688	0,9809	0,8566
		SC	1,5093	1	0,1411	0,6557	0,7869
		CR	0,8566	0,7869	0,0592	0,1995	1

PR – Paraná; SC – Santa Catarina; MG – Minas Gerais; EUA – Estados Unidos; AF – África do Sul; CR – Costa Rica; RS – Rio Grande do Sul.

Simon *et al.* (2003) obtiveram alta diferenciação entre populações de *Acyrtosiphon pisum* (Harris, 1776) em três hospedeiros diferentes, com valor do Fst entre as populações de 0,499. Wei *et al.* (2005), com base em estatística F calculada através de resultados obtidos por microssatélites com populações de *Macrosiphum miscanti* (Takahashi, 1921), na China, concluíram que a média do Fst na diferenciação genética entre diferentes populações geográficas é relativamente baixa, sugerindo que a migração de longas distâncias do pulgão pode aumentar o fluxo de genes diminuindo a diferenciação genética entre diferentes populações. Ou seja, pelos dados da literatura disponível, observa-se o relato de maior diferenciação entre populações com hospedeiros diferenciados do que populações geograficamente diferentes. No presente estudo, encontrou-se maior Fst, ou seja, maior diferenciação genética para populações de *G. psidii* de regiões diferentes, porém, com mesmo hospedeiro.

3.3. Isolamento por distância das populações de *G. ficicola* e *G. psidii*

O teste de Mantel entre as matrizes de distância de Nei (1972) e a distância geográfica (km) apresentou o valor de $r = -0,613$ ($p = 0,7380$) para *G. ficicola* e o valor de $r = -0,437$ ($p = 0,5040$) para *G. psidii*, obtendo uma distribuição não isolada pela distância nas duas espécies. O resultado do teste sugere que as populações foram formadas a partir de um número limitado de eventos fundadores, já que, segundo Blackman (1985), uma nova população de afideos pode iniciar-se de um único genótipo fundador. A variação entre populações existe também numa escala geográfica maior, sendo que, geralmente, quanto mais distanciadas estão as populações, mais diferentes elas são em frequências alélicas, embora não haja, freqüentemente, uma correlação estrita. O grau de divergência é extremamente variável (Futuyma 1992).

Por outro lado, a relação entre a distância geográfica e o índice de fixação (F_{st}), apresentou correlação positiva de 84% para *G. ficicola* e não apontou correlação entre as populações de *G. psidii* (Figura 2).

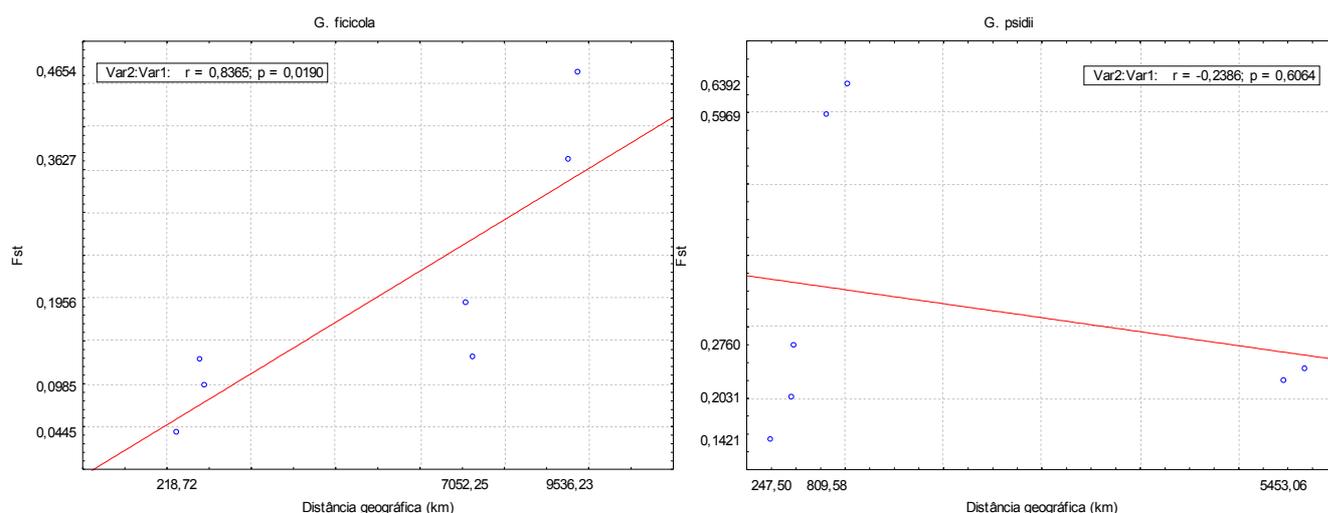


Figura 2. Correlação entre a distribuição geográfica e o índice de fixação (F_{st}) das populações de *G. ficicola* e *G. psidii* obtidas de diversas localidades (ver ANEXO 1 e 2 para localidades).

A correlação positiva significativa para *G. ficicola*, sugere que as populações próximas mantêm o fluxo e à medida que se afastam diminui o fluxo entre as populações, ou seja, há um intercâmbio de indivíduos entre populações próximas em que as razões da diferenciação estão correlacionadas positivamente com a distância entre elas, este modelo é chamado de *stepping-stone* proposto por Kimura (1953). *Stepping stone* pode ser

favorecido pela distribuição contínua de *F. benjamina*, proporcionando fluxo entre populações próximas.

De acordo com Slatkin (1987), a deriva genética é mais evidente em populações com menor número efetivo populacional e consequente menor número de migrantes. Para *G. ficicola* foi registrado menor F_{st} , maior fluxo gênico, maior número de migrantes, resultados que propõe menor deriva genética nas populações deste afídeo. Já para *G. psidii*, foi registrado maior F_{st} , menor fluxo gênico e menor número de migrantes, sugerindo que a deriva genética pode estar mais evidente nas populações gerando maior diversidade genética entre as populações. Segundo Templeton (2006), o F_{st} representa um equilíbrio entre a razão de divergência entre populações causada pela deriva e a similaridade que o fluxo gênico causa entre elas. Em grandes populações a divergência é lenta, de modo que pequenos índices de fluxo gênico são efetivos para contrabalançar a deriva; já em populações menores, razões muito grandes de fluxo gênico são necessárias para contrabalançar o aumento da razão da deriva, a qual induz a divergência genética entre as populações.

Considerando que as duas espécies estudadas, *G. ficicola* e *G. psidii*, são exóticas no Brasil, pelas amostras analisadas das populações pode-se inferir que *G. psidii*, por apresentar elevado índice de fixação (F_{st}) não está em ritmo acelerado de dispersão/migração, podendo ser considerada como espécie em fase de estabelecimento local com consequente diferenciação genética entre as populações. Considerando, ainda, que sua planta hospedeira, *P. guajava*, possui uma distribuição discreta, ou seja, plantas isoladas ou aglomeradas em áreas pouco extensas para produção comercial, não haveria favorecimento expressivo do fluxo ou dispersão de indivíduos de uma área para outra. Já *G. ficicola* apresenta altos índices de migração e, portanto, menor diferenciação genética entre as populações em razão, da grande movimentação antrópica e uniformidade genética de sua planta hospedeira, *F. benjamina*, a qual é utilizada intensivamente como planta ornamental, com distribuição contínua entre cidades e regiões, favorecendo maior movimentação dos indivíduos entre as populações.

4. CONCLUSÕES

- Há similaridade genética entre as populações brasileiras dentro de cada uma das espécies, *G. ficicola* e *G. psidii*;

- A população mais distante das demais para *G. ficicola* é a de San Diego, EUA; para *G. psidii*, é a população de Patos de Minas, MG;
- *G. psidii* possui menor fluxo gênico entre as populações do que *G. ficicola*;
- As populações do Paraná e Santa Catarina possuem maior número de migrantes, ou seja, o movimento de indivíduos e genes é maior comparado com as outras populações analisadas para as duas espécies;
- As espécies *G. ficicola* e *G. psidii* não possuem padrão de isolamento pela distância;
- As populações de *G. ficicola* possuem distribuição segundo o modelo *stepping stone*;
- As populações de *G. psidii* não possuem distribuição geográfica correlacionada com o índice de fixação F_{st} e possuem maior quantidade de alelos raros do que *G. ficicola* sugerindo estabelecimento local das populações.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alvarez N, Hossaert-McKey M, Restoux G, Delgado-Salinas A, Benrey B (2007)

Anthropogenic effects on population genetics of phytophagous insects associated with domesticated plants. *Evolution* 61(12): 2986-2996.

Blackman R L (1985) Aphid cytology and genetics, p.171-237. In *Evolution and Biosystematic of aphids*. Proceedings of the International Aphidology Symposium at Jabloma. Polaska Academia Nauk, Ossolineum.

Bleas M J, De Grandis S A, Lee H, Trevors J T (1998) Amplified fragment length polymorphism (AFLP): a review of the procedure and its applications. *J Indust Microbiol & Biotechnol* 21: 99-114.

Cox G W (2004) *Alien species and evolution: The evolutionary ecology of exotic plants, animals, microbes and interacting native species*. Washington, Island Press, 377 p.

- Dendryver C A, Le Gallic J F, Gauthier J P, Simon J C (1998) Life cycle of the cereal aphid *Sitobion avenae* F.: polymorphism and comparison of the life history traits associated with sexuality. *Ecol Entomol* 23: 123-132.
- Deng S, Huang Y, He H, Tan F, Ni X, Jayatissa L P, Hettiarachi S, Shi S (2008). Genetic diversity of *Aegiceras corniculatum* (Myrsinaceae) revealed by amplified fragment length polymorphism (AFLP). *Aquat. Bot.* doi:10.1016/j.aquabot.2008.11.002 (in press).
- Dice L R (1945) Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology* 26: 297-302.
- Dixon A F (1985) Structure of aphids populations. *Ann Rev Entomol* 30: 155-174.
- Dlugosch K M, Parker I M (2008) Founding events in species invasions: genetic variation, adaptive evolution, and the role of multiple introductions. *Mol Ecol* 17:431–449.
- Falahati-Anbaran M, Habashi A A, Esfahany M, Mohammadi S A, Ghareyazie B (2007) Population genetic structure based on SSR markers in alfalfa (*Medicago sativa* L.) from various regions contiguous to the centres of origin of the species. *J Genet* 86(1): 59-63.
- Freeland J R (2007) *Molecular Ecology*. England, John Wiley & Sons, Ltd, 388 p.
- Futuyma D J (1992) *Biologia Evolutiva*. 2^a ed. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética/CNPq, 646 p.
- Johansson M, Primmer C R, Merilä J (2006) History vs. current demography: explaining the genetic population structure of the common frog (*Rana temporaria*). *Mol Ecol* 15(4): 975-983.
- Hartl D L (1998) *A primer of population genetics*. Sinauer Associates, 305 p.
- Kimura M (1953) “Stepping-stones” model of population. *Annual Report of The*

- National Institute of Genetic, Japan 3: 62-63.
- Lavandero B, Miranda M, Ramírez C C, Fuentes-Contreras E (2009) Landscape composition modulates population genetic structure of *Eriosoma lanigerum* (Hausmann) on *Malus domestica* Borkh in central Chile. Bull Entomol Res 99: 97-105.
- Lazzari S M N, Zonta de Carvalho R C, Cardoso J T, Calado D C (2006) First record of *Greenidea psidii* van der Goot and comparison with *Greenidea ficicola* Takahashi (Hemiptera: Aphididae) in Brazil. Zootaxa 1235: 63–68.
- Lenormand T (2002) Gene flow and the limits to natural selection. Trends Ecol Evol 17(4):183-189.
- Lynch M, Milligan BG (1994) Analysis of population genetic structure with RAPD markers. Mol Ecol 3: 91-99.
- Lushai G, Loxdale H D, Brookes C P, Mende N V, Harrington R, Hardie J (1997) Genotypic variation among phenotypes within aphid clones. Proc Royal Soc London. Series B. 64: 725-730.
- Lushai G, De Barro P J, David O, Sherratt T N, MacClean N (1998) Genetic variation within a parthenogenetic lineage. Insect Molecular Biology 7:337-344.
- Lushai G, Loxdale H D (2002) The biological improbability of a clone. Genetical Research, 79: 1-9.
- Mayr E (1977) Populações, espécies e evolução. Ed. Nacional, Ed. da Universidade de São Paulo, 483p.
- Mantel N (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer Research 27:209-220.
- Mueller U G L, Wolfenbarger L R (1999) AFLP genotyping and fingerprinting. Tree 14: 389-394.

- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 106: 283-292.
- Nicol D, Armstrong K F, Wratten S D, Cameron C M, Frampton C, Fenton B (1997) Genetic variation in a introduced aphid pest (*Metopolophium dirhodum*) in New Zealand and relation to individuals from Europe. *Mol Ecol* 6: 255-265.
- Ren Z, Zhu B, Wang D, Ma E, Su D, Zhong Y (2008) Comparative population structure of Chinese sumac aphid *Schlechtendalia chinensis* and its primary host-plant *Rhus chinensis*. *Genetica* 132: 103-112.
- Roderick, G. K. (1996) Geographic structure of insect populations: gene flow, phylogeography, and their uses. *Ann Rev Ent* 41: 325–352.
- Sánchez-Teyer F, Moreno-Salazar S, Esqueda M, Barraza A, Robert M L (2009) Genetic variability of wild *Agave angustifolia* populations based on AFLP: A basic study for conservation. *J Arid Environ* 73(6-7): 611-616.
- Simon J C, Carre S, Boutin M, Prunier-Leterme N, Sabater-Mun B, Latorre A, Bournoville R (2003) Host-based divergence in populations of the pea aphid: insights from nuclear markers and the prevalence of facultative symbionts. *Proc R Soc Lond* 270: 1703–1712.
- Slatkin M (1987) Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236: 787–792.
- Sousa-Silva C R, Brombal J C, Ilharco F A (2005) *Greenidea ficicola* Takahashi (Hemiptera: Greenideidae), a New Aphid in Brazil. *Neotrop Entomol* 34(6): 1023-1024.
- Stern D L, Aoki S, Kurosu U (1997) Determining aphid taxonomic affinities and life cycles with molecular data: a case of the tribe Cerataphidini (Hormaphididae: Aphidoidea: Hemiptera). *Syst Entomol* 22: 81-96.

- Templeton A R (2006) Population genetics and microevolutionary theory. John Wiley and Sons 705 p.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23(21): 4407-4414.
- Wei G, Zuorui S, Zhihong L, Lingwang G (2005) Migration and population genetics of the grain aphid *Macrosiphum miscanti* (Takahashi) in relation to the geographic distance and gene flow. *Prog Nat Sci* 15(11):1000-1004.
- Wright S (1951) The genetical structure of populations. *Annals of Eeugenics* 15:323-354.
- Zonta de Carvalho. R.C. 2004. Bioecologia de *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy) (Hemiptera: Aphididae) em *Lagerstroemia indica* L. (Lythraceae), em Curitiba, Paraná, e Variabilidade Genética Determinada por PCR-RAPD. Tese de Doutorado, UFPR, Curitiba, 130 p.

Capítulo 5

**Grau de adaptabilidade de espécies
exóticas ao novo ambiente modelada
pela Lógica Fuzzy**

RESUMO

A Lógica Fuzzy caracteriza-se pela capacidade de produzir modelos robustos coerentes com a realidade de eventos de qualquer natureza. Em razão da escassez de trabalhos que avaliam simultaneamente os fatores de um sistema ecológico, e no intuito de colaborar com o entendimento de como e quais os fatores contribuem para o sucesso de uma espécie exótica a um novo ambiente, foi proposta a construção de uma modelagem biológica utilizando o sistema de inferência fuzzy, analisando o nível de adaptabilidade de espécies de afídeos e verificando a validade e robustez do modelo proposto. A arquitetura do modelo foi construída com base em indicadores quantitativos que, juntamente com suas variáveis, foram processados no Sistema de Inferência Fuzzy (SIF), que utiliza a base de dados de entrada (categorias das variáveis) para inferência através de uma base de regras, gerando uma saída através dos operadores fuzzy que possibilitam a defuzzificação dos resultados com base na Lógica Fuzzy (valor de pertinência a um grupo), usando o aplicativo computacional MATLAB 6.1. Primeiramente, o modelo foi construído com base em uma espécie hipotética e, depois de estabelecida a modelagem, diversos parâmetros de *G. ficicola* e *G. psidii* obtidos nos capítulos anteriores e dados de *C. atlantica*, previamente obtidos por outro autor, foram submetidos ao modelo para obtenção do grau de adaptabilidade e verificação da robustez do modelo. Os fatores que interagem simultaneamente para a adaptabilidade foram agrupados em quatro indicadores principais (potencial ecológico, que engloba o desempenho reprodutivo e as interações bióticas e abióticas, e a diversidade genética), com seus respectivos indicadores secundários e variáveis. A adaptabilidade foi classificada em três conjuntos fuzzy: sem indícios de adaptação, em adaptação e adaptada. *G. ficicola* apresentou valor defuzzificado de 0,5 com pertencimento 1 no grupo em adaptação. *G. psidii* com valor defuzzificado de 0,365 e pertinência de 0,6265 no conjunto em adaptação. Já *C. atlantica* foi classificada como espécie adaptada com defuzzificador de 0,709 e pertinência de 0,5225. A robustez do modelo foi comprovada pela coerência dos valores das variáveis fluxo gênico e deriva genética, que são inversamente proporcionais, sendo que quanto maior for o fluxo gênico, maior será a diversidade e menor a deriva e, conseqüentemente, maior a chance da espécie se adaptar ao ambiente. O fato da espécie *C. atlantica* ter obtido maior pertinência no grupo de espécie adaptada também contribuiu com a robustez do modelo, já que esta espécie exótica de afídeo possui status de praga em cultivos de *Pinus* sp. no sul do Brasil.

1. INTRODUÇÃO

A dispersão é um processo básico do ciclo de vida de todos os organismos e de importância central para o estabelecimento de espécies exóticas em novo ambiente (Cox 2004). Cada organismo está adaptado para algum modo de transporte em um dos estágios do ciclo de vida. Fatores físicos e químicos diferentes daqueles da região de origem podem agir como seletivos para a adaptação em um novo habitat. Em alguns casos, pressões bióticas e abióticas são amenas, favorecendo o crescimento rápido da população, alto sucesso reprodutivo e explorações de novas fontes de recursos alimentares pelas espécies exóticas (Cox 2004; Dieckmann *et al.* 1999).

A adaptabilidade como questão inerente às espécies exóticas

Densidade, proporção sexual ou composição genética que capacitam os organismos a sobreviver e se reproduzir frente a inúmeras contingências que os assediam são características de adaptação. As espécies não são recipientes passivos de um rigoroso destino externo, mas sim, participantes ativas numa troca dialética entre organismos e ambiente (Futuyma 1997).

Qualquer característica do ambiente, seja física ou biológica, que se interponha sobre os indivíduos de uma espécie possui diversas propriedades diferentes que poderão afetar o curso da adaptação (Futuyma 1997). De acordo com Sakai *et al.* (2001), o conhecimento de quanto os fatores genéticos e a biologia e ecologia das espécies exóticas diferem entre as áreas nativa e introduzida aprofunda o entendimento da biologia populacional e o sucesso da invasão. As espécies exóticas requerem tempo para se dispersarem em ambientes favoráveis e gerar populações capazes de produzir descendentes em abundância (Cox 2004).

Alguns autores argumentam que o fenômeno da invasão é simplesmente uma aceleração da dispersão natural a taxas comparáveis com os últimos eventos geológicos (Wilson *et al.* 2008). Sem dúvida, o aumento das pesquisas nas últimas décadas vem favorecendo o registro, cada vez mais freqüente, de espécies exóticas. A dispersão, não somente de animais e plantas, mas também deslocamentos do homem entre diversas regiões, aumentam, consideravelmente, a presença de espécies exóticas em todos os continentes. Segundo Ricciardi (2007), análises sugerem que a razão dos movimentos das espécies está muito acelerada – consequência direta da intervenção radical humana. Estudos da genética contemporânea demonstram que a adaptação a novos ambientes pode

ocorrer dentro de 20 gerações ou menos, indicando que o processo evolutivo pode influenciar no potencial invasor de uma espécie (Prentis *et al.* 2008). De acordo com Cox (2004), as espécies exóticas podem ser introduzidas a novas áreas onde possuem baixo potencial de adaptação, nos quais fracassam no estabelecimento, mas com o tempo, por mais que a dispersão das populações seja lenta, pode resultar no sucesso adaptativo da espécie.

Espécies invasoras podem sofrer reduções na diversidade genética durante os eventos fundadores, reduzindo seu potencial adaptativo. As múltiplas introduções podem contribuir com maior diversidade genética e, a longo prazo, poderão contribuir com mudanças adaptativas das populações fundadoras. Neste contexto, as espécies exóticas apresentam pequenas variações em relação à região de origem, podendo minimizar as diferenças nas comparações entre populações introduzidas e de regiões diversas (Dlugosch & Parker 2008). O potencial invasor e adaptação aos novos sistemas ecológicos dependem da adaptabilidade evolutiva das espécies exóticas às condições bióticas e abióticas encontradas (Cox 2004).

Todo sistema ecológico tem influência de vários fatores internos e externos, os quais interagem de maneira complexa dificultando a compreensão da funcionalidade das interações entre ambiente e organismo, instigando, de uma certa forma, a investigação de metodologias e estudos que esclareçam e descrevam a realidade e dinâmica deste sistema. A seguir será apresentado um sistema lógico caracterizado por expressões lingüísticas capaz de expressar a complexidade inerente aos sistemas ecológicos.

Um sistema lógico para interpretação da realidade

A necessidade de se resolver questões cada vez mais complexas em termos de sistemas tem resultado no desenvolvimento de máquinas mais eficientes e que são capazes de imitar parte do raciocínio humano. Expressões lingüísticas, que são definidas como imprecisões que se assemelham à forma humana de raciocinar, são utilizadas na Lógica Fuzzy. A *Teoria Fuzzy* foi apresentada em 1964 por Lotfi A. Zadeh, com a tese de que os conjuntos (categorias de variáveis de um sistema) não possuem fronteiras bem definidas, ou seja, a transição entre os conjuntos é suave e não abrupta (Zadeh 1964).

A Lógica Fuzzy tem como base o princípio formal do raciocínio aproximado com raciocínio visto como um caso limitante. E a habilidade notável do ser humano em ter uma decisão racional em um ambiente impreciso e incerto, requer habilidade para inferir uma resposta aproximada de uma questão baseada na história que é inexata, incompleta ou não

totalmente real (Zadeh 1988). A Lógica Fuzzy é uma lógica especial multivalorada endereçada a fenômenos imprecisos desenvolvendo ferramentas para sua modelagem via graus de verdade em uma escala ordenada (Novák 2006).

Para Zadeh (1988), as principais características do raciocínio da Lógica Fuzzy que a diferenciam da Lógica Binária são: 1. num sistema lógico binário, a proposição p ou é verdadeira ou falsa, p é 0 ou 1 $\{0,1\}$; na Lógica Fuzzy os valores verdades da proposição p são permitidos ao longo da extensão dos subconjuntos fuzzy, permitindo valores entre 0 e 1 $[0,1]$; 2. O predicado da Lógica Binária tem de ser um valor “*crisp*”, ou seja, numérico, e na Lógica Fuzzy o predicado pode ser um valor “*crisp*” ou um valor fuzzy, como: largo, alto, muito, bastante, vários, poucos. No mundo real o homem pode comunicar-se com entendimento sem necessariamente usar valores “*crisps*”: *“Há quinze dias atrás, foi realizada uma coleta e foram encontrados muitos pulgões na maioria dos brotos em quase todas as árvores observadas. A temperatura estava amena, havia muitas nuvens e o sol quase não aparecia”*, em uma sentença como esta há compreensão e entendimento sobre as condições da coleta, na qual pode-se visualizar as condições sem dados quantitativos numéricos.

A Lógica Fuzzy tem seu funcionamento baseado em uma linha de raciocínio, por isso, não há como explicar o “funcionamento da Lógica Fuzzy” e sim seu raciocínio. O raciocínio fuzzy pode ser dividido em cinco etapas. A primeira etapa consiste em analisar o problema, ou seja, ‘fuzzificar’ as entradas estabelecendo categorias para os dados de entrada e saída, por exemplo a variável lingüística “temperatura” classificada em cinco categorias (muito baixa, baixa, média, alta, muito alta). As variáveis lingüísticas são o conceito básico da Lógica Fuzzy. Cada valor da variável lingüística representa uma possibilidade de distribuição. Estas possibilidades de distribuição podem ser calculadas através do uso de técnicas de atributos da gramática (Zadeh 1988). O segundo passo é aplicar os operadores fuzzy, assim como os operadores da Lógica Binária. Os operadores usados na Lógica Fuzzy são “E” e “OU”, conhecidos como operadores de relação. Na Lógica Fuzzy são utilizados para definir o grau máximo e mínimo de pertinência do conjunto. O terceiro passo é aplicar o operador de implicação, usado para definir o peso no resultado e remodelar a função, ou seja, este passo consiste em criar a hipótese de implicação “ENTÃO”. Como por exemplo: “Temperatura é muito alta E/OU precipitação é alta ENTÃO número de afideos é baixo”. No quarto passo ocorre a combinação de todas as saídas em um único conjunto fuzzy, algo semelhante ao processo de união e intersecção, da teoria dos conjuntos clássicos. O quinto e último passo no processo do raciocínio fuzzy é a

‘defuzzificação’, que consiste em se obter um valor numérico (“*crisp*”) dentro da faixa estipulada pela Lógica Fuzzy.

Na Lógica Fuzzy, a participação do pesquisador deve ser mais efetiva ao objeto de estudo, exigindo conhecimento das diferentes variáveis envolvidas no processo e o grau de influência de cada uma delas, a fim de que a base de regras esteja bem formulada para obter resultados aproximados à realidade vivenciada. Casanovas (2002) define que o sucesso do modelo fuzzy depende, em parte, do sucesso na construção da sua estrutura. O principal apelo intuitivo da Lógica Fuzzy está na sua noção comparativa da realidade e não numérica (Hájek 1999).

É importante, porém, ressaltar que, no decurso da ciência, outros pesquisadores demonstraram seu desconforto com relação à lógica binária, relatando sua fragilidade para lidar com situações mais realistas. Quando se depara com a teoria dos conjuntos *fuzzy*, a qual trabalha com graus de pertinência (graus de possibilidade), é comum confundi-la com a teoria de probabilidades de uma função de distribuição estatística (Ortega 2001). A probabilidade está associada à chance de um determinado evento ocorrer, enquanto a possibilidade está relacionada com o quão razoável é um dado evento (Zadeh 1978).

Em áreas onde é necessário lidar com a subjetividade e o desconhecimento, como a biologia, ecologia, medicina, economia, psicologia, ciências sociais, educação e outros aspectos dentro da química e engenharia como a imprecisão, e da física como a incerteza, a Lógica Fuzzy tem demonstrado grande capacidade de aplicação, ajudando na produção de modelos mais de acordo com suas necessidades e realidades (Ortega 2001). A aproximação dos resultados com a realidade é decorrente da forma de análise que considera a natureza nebulosa e imprecisa dos fatores avaliados, os quais não ocorrem deterministicamente na natureza.

Durante o século XIX a informação científica foi considerada exata, não afetada pela imprecisão ou ambigüidade. Os modelos matemáticos não consideravam a incerteza, tanto os dados de entrada como de saída eram exatos. Até tempos recentes todo problema envolvendo incerteza era descrito como probabilístico. Somente na metade do século XX as teorias de incerteza foram descritas como possibilísticas (Mammino 2004).

Aplicações da Lógica Fuzzy

Esta teoria tem sido utilizada em aplicações que vão do controle de eletrodomésticos como fornos microondas (que medem a temperatura, umidade e forma dos alimentos para controlar o tempo de cozimento) e aspiradores de pó (que medem a

quantidade de pó para ajustar a potência de sucção) ao controle de satélites; do mercado financeiro à medicina; e tendem a crescer cada vez mais, sobretudo em sistemas híbridos que incorporam abordagens conexionistas e evolutivas (Sandri & Correa 1999).

Testes com a Lógica Fuzzy e comparações com as lógicas clássicas e lógicas não-clássicas, como os algoritmos genéticos, redes neurais e, inclusive o uso em conjunto destas lógicas, obtêm resultados mais adequados à manipulação dos dados inferidos (Karr 1996; Micera *et al.* 1999; Rojas *et al.* 1999; Buhusi 2000; Chen & Hare 2006). Desde o final da década de 1990 tem sido crescente a quantidade de áreas do conhecimento envolvidas em tomada de decisão, como nos casos de manejo de agroecossistemas e conservação de paisagens naturais; modelos e conceitos ecológicos; computação gráfica para educação ambiental e relações fuzzy em biogeografia (Tepavcevic & Vujic 1996; Wu *et al.* 1996; Mackay & Robinson 2000; Wan-Xiong *et al.* 2003; Wang *et al.* 2004; Ramsey & Veltman 2005; Ioannidou *et al.* 2006; Ocampo-Duque *et al.* 2006). Também em áreas mais específicas dentro da biologia, como genomas de organismos específicos; concentrações de inseticidas ao ataque de pragas; manejo em pomares; interações comportamentais; dinâmica populacional e problemas taxonômicos requerem tomadas de decisões (Bock & Salski 1998; Gouzoules *et al.* 1998; Placer & Slobodchikoff 2000; Mackinson 2000; Peixoto *et al.* 2005; Resson *et al.* 2005; Pappas 2006). Impactos das mudanças climáticas na distribuição de espécies florestais (Skov 2004); estruturas populacionais (Schaefer & Wilson 2002) e zoogeografia de rotíferos (Segers 2001) são trabalhos em que a classificação fuzzy tem sido bastante aplicada, obtendo-se resultados mais próximos da realidade e contribuindo para a compreensão das variáveis dos sistemas. Robertson *et al.* (2004) aplicaram a classificação fuzzy para analisar a distribuição de espécies de plantas invasoras e insetos nativos. Esta classificação pode ser usada para estabelecer o potencial de distribuição de espécies para identificar uma região de risco à invasão por espécies invasoras. Essas conclusões podem ser usadas também em planos de conservação em caso de espécies nativas.

Sistemas ecológicos são caracterizados pela incerteza tanto na estrutura quanto na precisão das medidas. Por esta razão a modelagem determinística, frequentemente, representa uma abordagem insatisfatória para descrever e prever o comportamento de sistemas ecológicos complexos. Na prática, as variáveis naturais, como a precipitação, nunca são constantes e flutuam de maneira imprevisível. Neste sentido, os sistemas nunca estarão em equilíbrio e, ao contrário, poderiam flutuar em uma região próxima ao equilíbrio, dependendo da amplitude da função da variável (Libelli & Cianchi 1996).

Peixoto *et al.* (2005) citam que o objetivo, quando se aplica um inseticida em uma plantação, é eliminar a praga. Por exemplo, é necessário que se decida qual a dosagem de inseticida a ser aplicada em função da quantidade de afídeos presentes numa cultura, ou seja, quanto maior a densidade populacional de afídeos, maior a quantidade de inseticida necessária. Nesse trabalho, os autores optaram por modelar a quantidade de inseticida a ser aplicada por meio de um sistema baseado em regras fuzzy, dependendo da quantidade de insetos presente nas plantas. A Lógica Fuzzy sendo um método de estimativa de entrada e saída livre de modelos matemáticos, foi usada na modelagem da interação presa-predador sem o uso de equações, apenas com regras construídas a partir do conhecimento prévio de especialistas. Constatou-se que uma aplicação moderada e constante de inseticida permite o crescimento da população de afídeos mas reduz a de predadores, sendo que no modelo presa-predador fuzzy, sem aplicação de inseticida, há uma tendência ao estado de equilíbrio, mas o uso de inseticida favorece a população da praga.

Em estudos filogenéticos, Hall (1997) afirma que a classificação fuzzy revela grupos filogenéticos com mais precisão que os métodos cladísticos, os quais trabalham com dados binários.

Biondi *et al.* (2004) desenvolveram um modelo de respostas ambientais da relação entre as plantas, onde as associações podem ser consideradas como conjuntos fuzzy em um contexto operacional para descrever a vegetação ao longo de gradientes ecológicos gerando um maior entendimento da variação da vegetação, sendo que o limite entre uma composição vegetacional e outra é considerado crítico entre os ecologistas.

A importância das modelagens na compreensão de um sistema

Os indicadores representam uma construção lógico-conceitual que permite uma interpretação mais correta da realidade e dá subsídios para tomadas de decisão. A estruturação de um indicador depende da clareza no estabelecimento dos objetivos e metas (Maia 2001). Em todas as áreas do conhecimento humano há a necessidade de se conhecer o desempenho de determinado sistema, seja social (índice de desenvolvimento humano); econômico (renda per capita); saúde (índice de natalidade, índice de mortalidade); educação (índice de repetência, índice de analfabetismo) ou ambiental (qualidade do ar). Para se quantificar este desempenho é necessário estabelecer variáveis passíveis de serem agrupadas caracterizando um indicador.

Segundo Kangas & Kangas (2004), freqüentemente a palavra ‘incerteza’ tem sido igualada com variabilidade ao acaso. Na teoria dos conjuntos fuzzy a incerteza significa

mais uma definição imprecisa do que ao acaso. A incerteza está sempre presente em algum processo de tomada de decisão ou planejamento. Em uma situação ideal, todos os tipos de dados seriam usados e todos os tipos de incertezas seriam considerados em um mesmo planejamento. Antes de tudo o mais importante é que a incerteza não seja ignorada, mas que seja adicionada à tomada de decisão.

Um modelo para interpretação de dados não é ou não deveria ser um fim em si mesmo. Um modelo pode ser considerado, em termos de sucesso, somente como uma ferramenta de trabalho para atingir uma meta. O esforço para descrever o comportamento de um sistema natural como um todo requer frequentemente, a aplicação de modelos descritivos absolutos das relações entre as variáveis (Rabbinge & Dixon 1988). No entanto, as limitações desses modelos restringem-se à leitura das interações de um sistema que é definido como uma parte limitada da realidade com limites bem definidos os quais são preditos pelos objetivos do modelo.

Os modelos descritivos revelam a ausência de entendimento detalhado do sistema. Para entender e manipular um sistema ecológico necessita-se de acuracidade e realismo (embora a tecnologia necessite somente da acuracidade, raramente os trabalhos são concluídos com exatidão sem a presença do realismo). Este fato torna os modelos analíticos pouco utilizados. Os modelos de simulação numérica analisam componentes estocásticos, os quais dependem de outros fatores para acontecer, requerendo um conhecimento exaustivo das variáveis do sistema (Rabbinge & Dixon 1988).

Segundo Starfield & Bleloch (1986), a modelagem matemática vem se transformando no instrumento mais eficaz da previsão de mudanças em ecossistemas. De acordo com Angelini (1999) os modelos são construídos para organizar a compreensão dos sistemas e idéias; avaliar os dados observados; permitir o entendimento das ligações entre os componentes; definir os problemas e fazer previsões.

A Lógica Fuzzy já tem um lugar de destaque, com aplicações práticas cada vez mais bem sucedidas, incluindo modelagem de fenômenos biológicos (Barros & Bassanezi 2006). A progressão da lógica binária à Lógica Fuzzy é um passo significativamente positivo na evolução da ciência. Em escala maior, o mundo real é um mundo fuzzy. Nos próximos anos é possível que a Lógica Fuzzy cresça em visibilidade, importância e aceitação (Zadeh 2008). Dados que somente apresentam valores determinísticos não necessitam ser tratados como incertos, neste caso a Lógica Fuzzy não apresentará resultados diferentes dos já obtidos através da Lógica Clássica.

A interação entre espécies exóticas e o novo ambiente representa um sistema biológico altamente complexo e a maioria da literatura disponível aborda somente um ou outro aspecto dentro dos vários fatores envolvidos na dinâmica ecológica/evolutiva desse sistema, em razão da difícil mensuração e abordagem conjunta das variáveis. A hipótese para o fato da adaptabilidade ser o produto de interações complexas é aceita entre os especialistas, porém difícil de ser avaliada pelas análises convencionais. Com base nessas considerações, este estudo propõe-se a testar a hipótese de que, é possível, utilizando a Lógica Fuzzy, mensurar a adaptação das espécies ao ambiente. Com o intuito de comprovar esta hipótese e em razão da escassez de trabalhos e metodologias robustas que avaliam simultaneamente a influência dos fatores envolvidos no sucesso ou não da adaptação de espécies de insetos a um novo ambiente, foi proposta a construção de uma modelagem biológica utilizando o sistema de inferência fuzzy. Para tal, inicialmente, foi construído o modelo biológico, baseado em conceitos biológicos clássicos disponíveis na literatura, aplicado a uma espécie hipotética, caracterizando cada passo da modelagem. A partir do modelo definido, foram utilizados dados obtidos das espécies estudadas nos capítulos anteriores, *Greenidea ficicola* Takahashi 1921 e *Greenidea psidii* van der Goot 1916, e dados de *Cinara atlantica* (Wilson) (Hemiptera: Aphididae) registrados por Penteadó (2007).

Os objetivos contemplados neste estudo foram:

1. Construir um modelo biológico para adaptabilidade de espécies animais a um novo ambiente, baseado no Sistema de Inferência Fuzzy (SIF);
2. Analisar o nível de adaptabilidade de três espécies exóticas de afídeos usando o modelo construído;
3. Verificar a validade e robustez do modelo utilizando dados de três espécies exóticas de afídeos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Modelo biológico

O desenvolvimento do modelo biológico para expressar a adaptabilidade das espécies exóticas ao novo ambiente se deu primeiramente com o estabelecimento de parâmetros que refletem a adaptação de organismos nesse ambiente. Há uma gama muito grande de variáveis envolvidas neste processo biológico, de igual ou maior importância,

dependendo dos aspectos comportamentais de cada espécie em questão e respostas que se desejam obter; contudo, nem todas serão contempladas no modelo desenvolvido neste trabalho.

A arquitetura do modelo foi construída com base em indicadores quantitativos, os quais são formados por um agrupamento e combinação de variáveis de modo a produzir uma nova entidade que possua um significado de interesse particular, conforme demonstrado por Lazzarotto (2005), Lazzarotto *et al.* (2005) e Trzesniak (1998).

Os indicadores de modo geral apresentam pressupostos que devem ser seguidos na montagem de um modelo. Para os indicadores de adaptabilidade de organismos proposto neste estudo, recomenda-se que devam ser:

- sensíveis a variações nos sistemas ambientais;
- capazes de mostrar tendências e permitirem comparações entre os organismos;
- facilmente disponíveis através de metodologias bioecológicas aplicadas nas variáveis de cada indicador.

2.2. Sistema de Inferência Fuzzy (SIF)

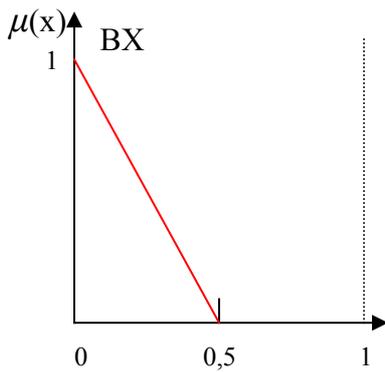
Os indicadores estabelecidos juntamente com suas variáveis foram processados no Sistema de Inferência Fuzzy (SIF), que utiliza a base de dados de entrada (categorias das variáveis) para inferência através de uma base de regras (combinação das variáveis), gerando uma saída através dos operadores fuzzy que possibilitam a defuzzificação dos resultados aplicando a Lógica Fuzzy (valor de pertinência a um grupo), utilizando o aplicativo computacional MATLAB 6.1 para as análises do modelo biológico.

Para as categorias na formação dos grupos de cada variável foi utilizada a função de pertinência linear triangular e trapezoidal.

A leitura dos conjuntos fuzzy é apresentada de forma que cada grupo de uma variável apresenta um valor mínimo, um núcleo e um valor máximo; porém, o valor do núcleo pode representar, de acordo com as categorias, os valores mínimos ou máximos, e sempre representa a pertinência $\{\mu(x)\}$ total que um grupo possa atingir.

A seguir são apresentados alguns exemplos de conjuntos fuzzy Baixo (BX), Médio (ME) e Alto (AL), onde as funções de pertinência linear triangular e trapezoidal podem ser lidas da seguinte maneira:

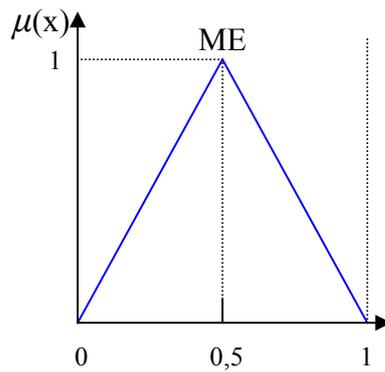
TRIANGULAR



mín = núcleo = 0

máx = 0,5

$$\mathbf{BX}_{(x)} = \{0 \ 0 \ 0,5\}$$

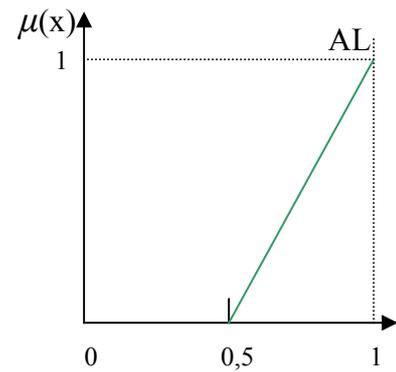


mín = 0

núcleo = 0,5

máx = 1

$$\mathbf{ME}_{(x)} = \{0 \ 0,5 \ 1\}$$

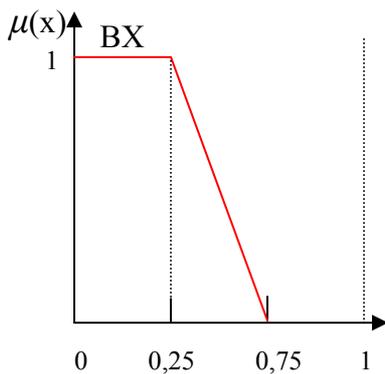


mín = 0,5

máx = núcleo = 1

$$\mathbf{AL}_{(x)} = \{0,5 \ 1 \ 1\}$$

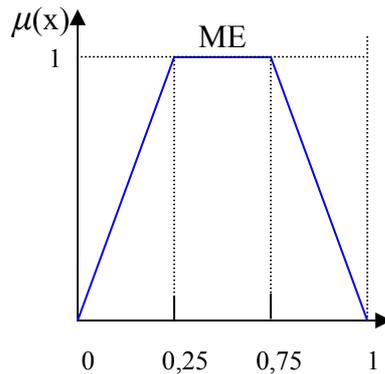
TRAPEZOIDAL



mín = int. núcleo = 0-0,25

máx = 0,75

$$\mathbf{BX}_{(x)} = \{0 \ 0 \ 0,25 \ 0,75\}$$

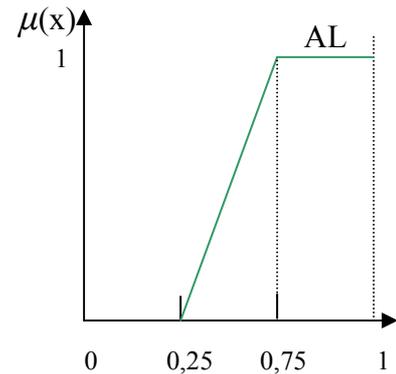


mín = 0

núcleo = int. 0,25-0,75

máx = 1

$$\mathbf{ME}_{(x)} = \{0 \ 0,25 \ 0,75 \ 1\}$$



mín = 0,25

máx = int. núcleo = 0,75-1

$$\mathbf{AL}_{(x)} = \{0,25 \ 0,75 \ 1 \ 1\}$$

O operador fuzzy utilizado para a base de regras foi a intersecção (conectivo lógico **E**) dos conjuntos em que é dada ênfase nos valores mínimos entre os conjuntos fuzzy objetivando o rigor na precisão da informação, sendo, A e B um conjunto fuzzy $A \cap B$ no conjunto universo U com dada função característica:

$$\mu_{A \cap B}(x) = \min[\mu_A(x), \mu_B(x)]$$

Para a construção da base de regras utilizando a intersecção, tem-se:

Se A é alta e B é alta então C é alta

Se A é alta e B é baixa então C é média

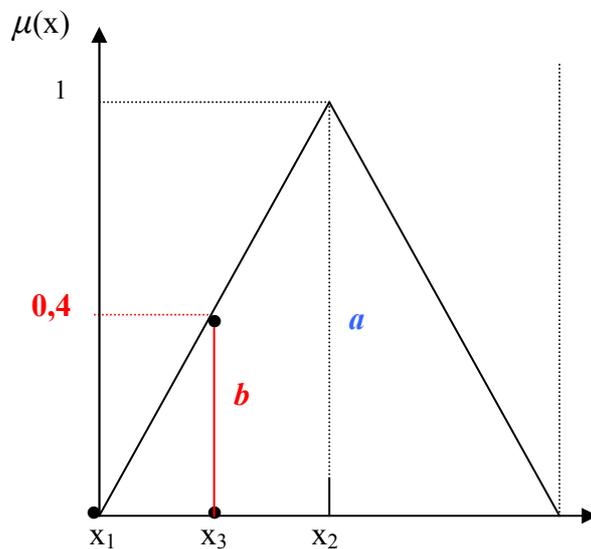
Se A é baixa e B é baixa então C é baixa, sendo

e o conectivo lógico ou operador fuzzy representando a intersecção.

Para a inferência fuzzy o método adotado foi o de Mamdani (Mamdani & Assilian 1975). O método para defuzzificação utilizado foi o Centro de Gravidade, onde, a saída (*output*) é o valor no universo que divide a área sob a curva da função de pertinência em duas partes iguais e, devido à própria natureza deste método, nunca se obtém valores extremos do conjunto universo (Barros & Bassanezi 2006).

O valor defuzzificado permite conhecer a pertinência do conjunto fuzzy interceptado, para tal adotou-se a relação de triângulos na obtenção do valor de pertinência.

Para um dado triângulo, tem-se:



$$\frac{x_2 - x_1}{a} = \frac{x_3 - x_1}{b}, \text{ dado que,}$$

$$x_1 = 2$$

$$x_2 = 3$$

$$a = \mu(x) = 1$$

$$x_3 = \text{valor defuzzificado} = 2,4$$

$$(x_2 - x_1)b = (x_3 - x_1)a$$

$$b = \frac{x_3 - x_1}{x_2 - x_1}$$

$$b = 0,4 = \mu(x_3)$$

Para a modelagem das variáveis e indicadores foi considerada uma espécie hipotética exótica de inseto registrada no Brasil, fitófaga, cujos hospedeiros preferenciais são pertencentes à família Asteraceae e que se reproduz sexuadamente. A partir da

modelagem fuzzy com a espécie hipotética, os dados das duas espécies de *Greenidea* estudadas neste trabalho e a espécie *C. atlantica*, considerada praga estabelecida (dados retirados de Penteado 2007), foram submetidas à análise na modelagem para conhecimento do grau de Adaptabilidade e, também, usadas como espécies experimentais para testar a validade e robustez do modelo de indicadores de adaptabilidade de espécies ao ambiente (IADEA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Construção do Modelo

3.1.1. Categorias para variáveis e indicadores

A partir do entendimento de cada parâmetro ou variável que equacionadas gerassem uma relação de causas e efeitos refletindo adequadamente a realidade do sistema biológico, foram estabelecidos os indicadores de adaptabilidade de espécies ao ambiente (IADEA) (Figura 1). A questão a ser diagnosticada no modelo biológico proposto está relacionada com a adaptação de uma determinada espécie ao ambiente em que foi registrada (exótica) ou de conhecimento prévio (nativa). Para a questão de adaptabilidade de uma espécie nativa, considera-se o sistema como sendo dinâmico em relação aos fatores bióticos e abióticos e as alterações antrópicas, direta ou indiretamente impostas, que refletem na fisiologia, genética e comportamento do organismo. Para as espécies exóticas, a mesma relação de fatores com o sistema está presente, porém com maior intensidade e particularidades adicionais da pressão geográfica.

Futuyma (1997) apresenta o valor adaptativo médio relativo dos indivíduos em uma população que leva em consideração o desempenho reprodutivo, sobrevivência e genótipos oriundos da seleção natural, em que, as adaptações diretas em relação às interações bióticas e abióticas não estão presentes na análise de valor adaptativo. No modelo proposto no presente estudo, além de aspectos do desempenho (*Fitness*) e genéticos, são contempladas as interações bióticas e abióticas que favorecem ou exercem pressão sobre as espécies exóticas. A seguir, o modelo representado na Figura 1 será descrito funcionalmente.

3.1.2. Quais os fatores que favorecem o sucesso adaptativo de uma espécie exótica?

Primeiramente, conforme se observa no modelo biológico da Figura 1, é necessário que uma espécie seja introduzida ou que se tenha o registro de uma espécie fora da sua

região de origem. A partir do momento da sua introdução, a espécie pode ou não se estabelecer e obter o sucesso adaptativo. Porém, entre a introdução e o sucesso adaptativo, vários fatores interagem simultaneamente, os quais foram agrupados em quatro indicadores principais (potencial ecológico, que engloba o desempenho reprodutivo e as interações no sistema, e a diversidade genética), cada um com seus respectivos indicadores intermediários ou suas respectivas variáveis (dados de entrada primários e secundários). Cada parâmetro, seja variável ou indicador, foi categorizado em grupos qualitativos linguisticamente, sendo que se optou pela normalização da maioria das variáveis a partir dos valores originais possibilitando a distribuição dos grupos no intervalo entre 0 e 1. As variáveis Temperatura e Tamanho efetivo da população (N_e) não foram normalizadas.

Segue-se o desenvolvimento do modelo referente ao sistema biológico da adaptação de espécies exóticas, considerando os indicadores primários, Potencial Ecológico, Desempenho *Fitness*, Interações e Diversidade Genética com seus respectivos indicadores intermediários e variáveis.

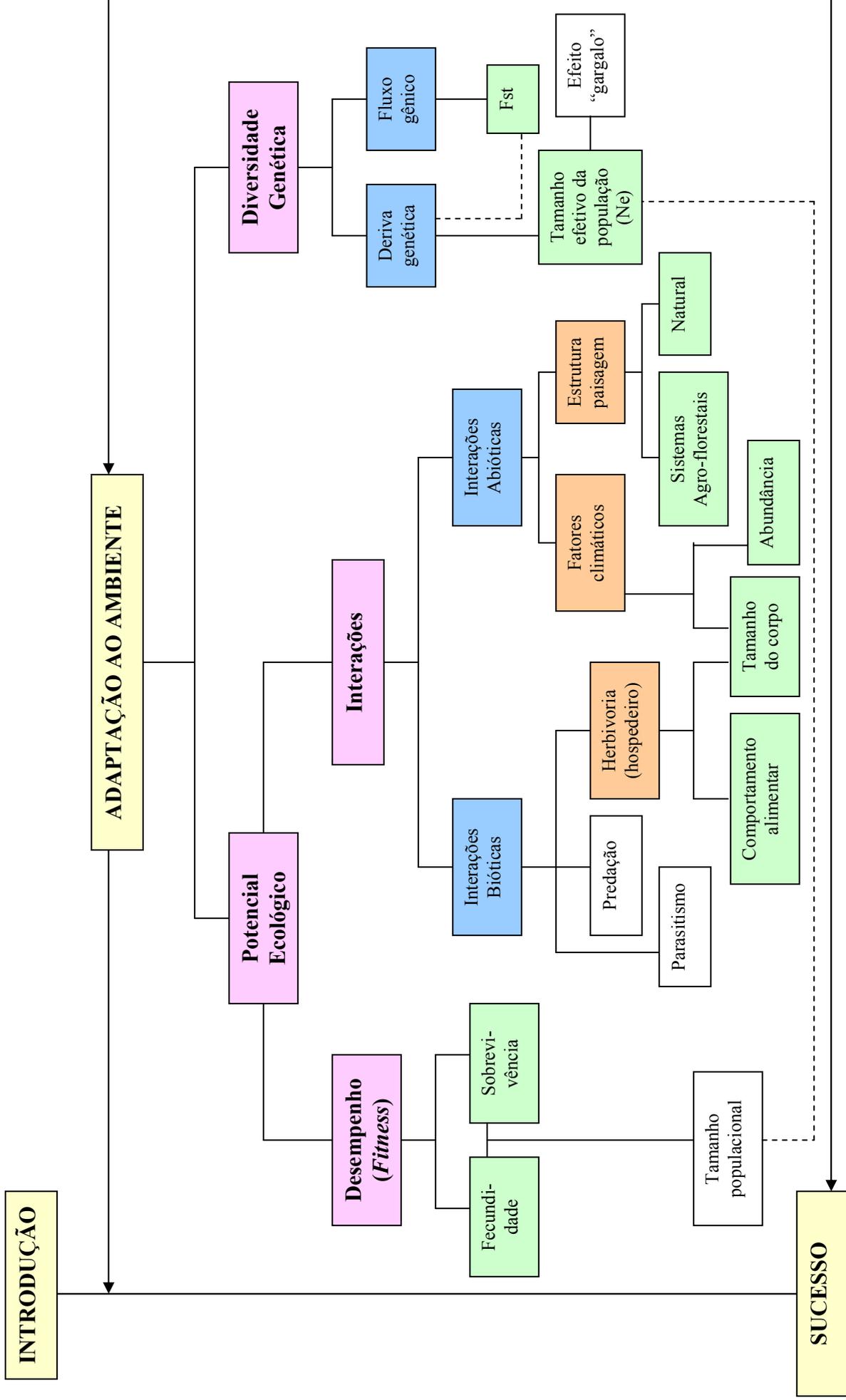


Figura 1. Modelo Biológico com base em Indicadores Quantitativos (Indicadores de adaptabilidade de espécies ao ambiente - IADEA) (Baseado em Sakai *et al.* 2001 e Freeland 2007 - com modificações).

Indicadores principais; Indicadores intermediários; Dados de entrada secundários; Dados de entrada primários; Etapas da introdução de uma espécie exótica ao novo ambiente; Variáveis não modeladas.

3.1.2.1. Indicador “Potencial Ecológico”

No modelo, dentro do Potencial Ecológico de uma espécie estão representados: dois Indicadores, Desempenho Reprodutivo ou *Fitness* e Interações.

No *Fitness* estão representados três parâmetros ou variáveis, dos quais dois foram modelados: Fecundidade e Sobrevivência.

A fecundidade e a sobrevivência foram categorizadas em Baixa (0 0,125 0,3), Baixa Média (0,125 0,3 0,5), Média (0,3 0,5 0,7), Média Alta (0,5 0,7 0,875) e Alta (0,7 0,875 1) (Figura 2). A normalização da fecundidade deu-se a partir de valores da produção de ninfas/dia/fêmea (Chagas Filho *et al.* 2004; Soglia *et al.* 2003) e da sobrevivência, % de vivos/período ninfal (Faria & Sousa 2005). A intersecção da análise da fecundidade e sobrevivência gerou um produto no intervalo fuzzy do desempenho reprodutivo, categorizado dentro do intervalo 0 e 1 em Muito Baixo (0 0,0625 0,1875), Baixo (0,0625 0,1875 0,33), Baixo Médio (0,1875 0,33 0,5), Médio (0,33 0,5 0,66), Médio Alto (0,5 0,66 0,8125), Alto (0,66 0,8125 0,9375) e Muito Alto (0,8125 0,9375 1) (Tabela 1).

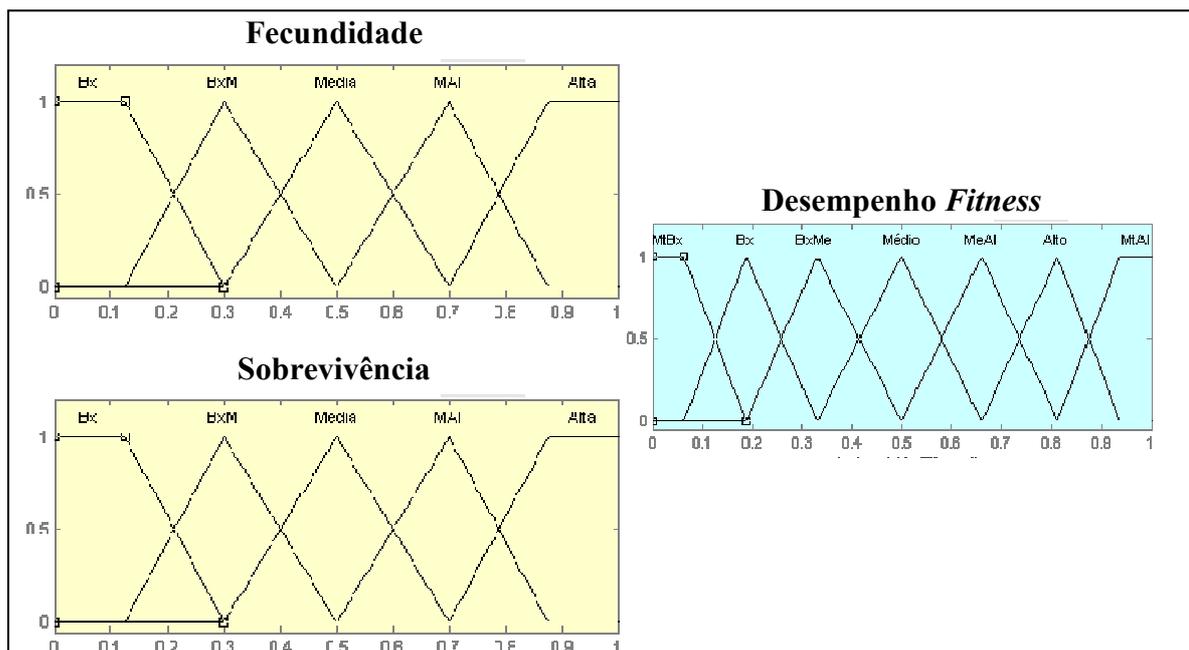


Figura 2. Conjuntos fuzzy das variáveis Fecundidade e Sobrevivência e do Indicador Desempenho *Fitness* para uma espécie hipotética de inseto.

Tabela 1. Intersecção das variáveis Fecundidade (FC) e Sobrevivência (SB) na obtenção do Indicador Desempenho *Fitness* (DF). Base de regras ($SB \cap FC = DF$).

FC \ SB	B	BM	M	MA	A
B	MB	B	B	B	B
BM	MB	BM	BM	M	M
M	B	BM	M	M	MA
MA	B	M	M	MA	A
A	BM	M	MA	A	MTA

FC e SB (B, baixo; BM, baixo médio; M, médio; MA, médio alto; A, alto)
 DF (MB, muito baixo; B, baixo; BM, baixo médio; M, médio; MA, médio alto; MTA, muito alto)

A Figura 3 mostra o resultado da operação fuzzy de intersecção dos conjuntos referentes às variáveis Fecundidade (FC) e Sobrevivência (SB), obtendo um resultado defuzzificado para o *Fitness* igual a $DF=0,346$, para $FC=0,7$ e $SB=0,2$.

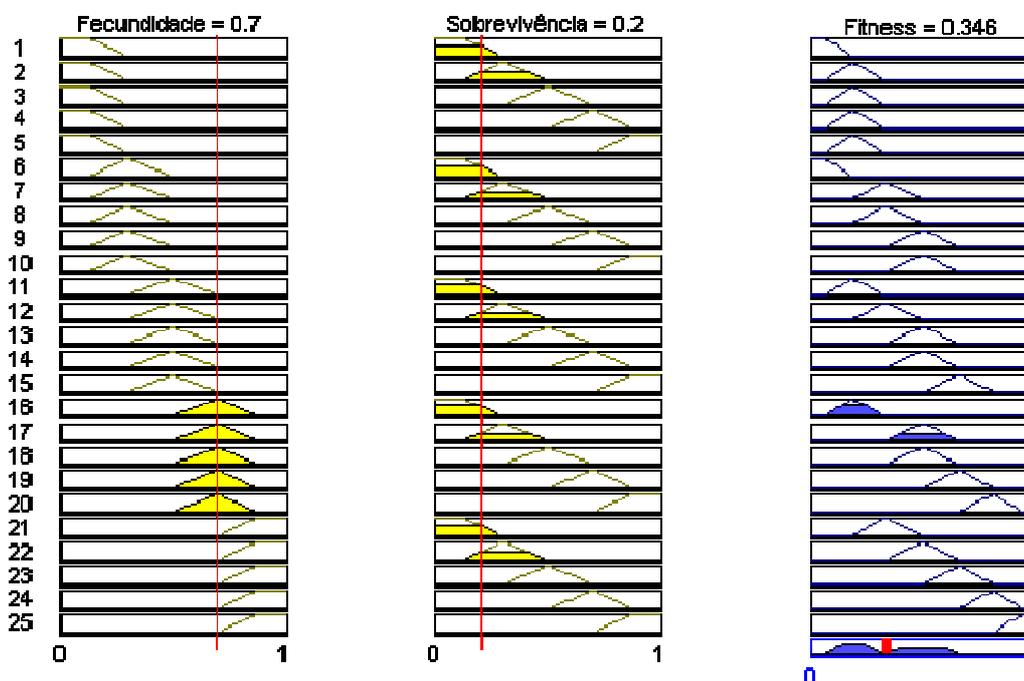


Figura 3. Resultado da intersecção entre FC e SB, e o defuzzificador para o *Fitness* $DF=0,346$. A linha vermelha indica a posição do valor de cada variável no(s) conjunto(s) fuzzy.

As interações, contidas no Potencial Ecológico, que podem influir na adaptação de uma espécie, foram divididas em interações bióticas e abióticas, sendo que as bióticas estão representadas pelo parasitismo, predação e herbivoria e, este último agregando parâmetros do comportamento alimentar e tamanho do corpo. As variáveis não modeladas, no presente estudo, neste indicador intermediário foram o parasitismo e a predação.

O comportamento alimentar foi baseado na alimentação de insetos fitófagos e padronizado a partir do uso da técnica de monitoramento eletrônico (EPG). Três categorias foram estabelecidas: Não Aceite do hospedeiro (0-0,5), somente Provas (0,25-0,75) e Aceite do hospedeiro (0,5-1), considerando que o aceite da planta hospedeira é definido pelo tempo de alimentação no floema de pelo menos 10 minutos ininterruptos (ver capítulo 2) (Tjallingii, 1994).

Os grupos para a variável tamanho do corpo foram representados por cinco categorias: Pequeno (0-0,25), Pequeno Médio (0-0,5), Médio (0,25-0,75), Médio Grande (0,5-1) e Grande (0,75-1).

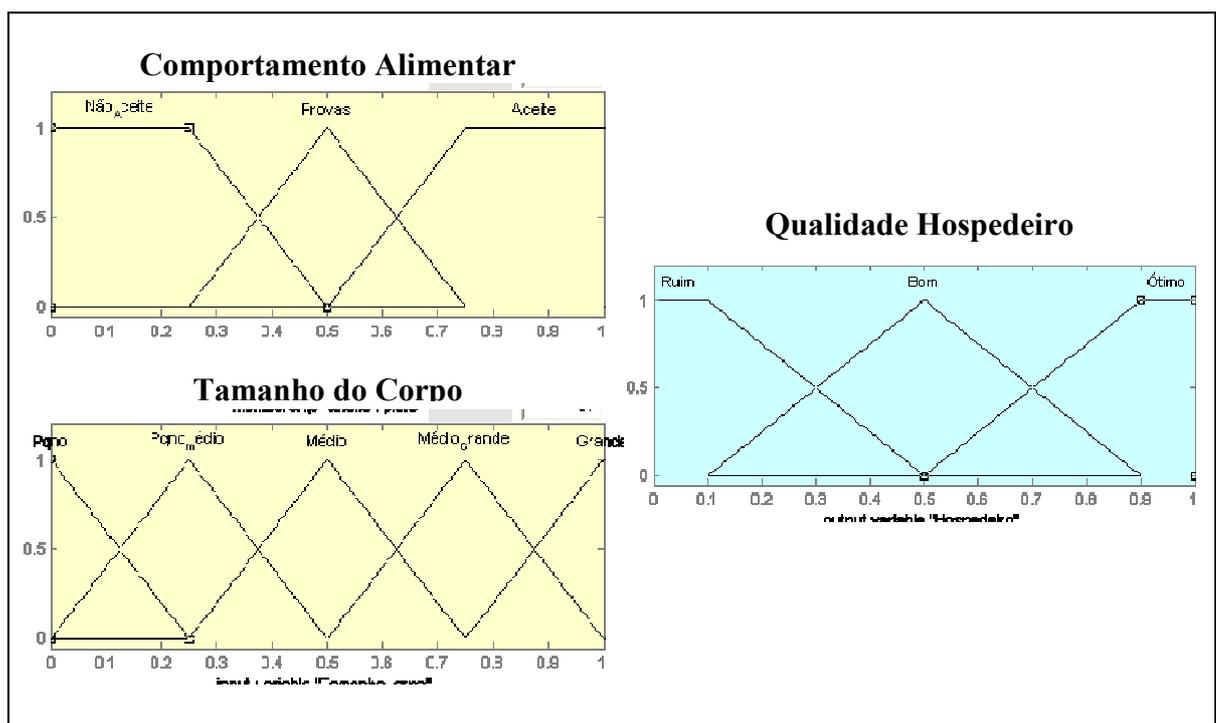


Figura 5. Conjuntos fuzzy das variáveis Comportamento Alimentar e Tamanho do Corpo e Qualidade Hospedeiro.

A combinação comportamento alimentar e tamanho do corpo possibilita encontrar a pertinência em um dos grupos categorizados para a herbivoria, dando ênfase à qualidade

do hospedeiro em: Ruim (0-0,5), Bom (0-0,75) e Ótimo (0,5-1) (Tabela 2). As categorias foram baseadas na premissa de que quanto maior a temperatura menor a qualidade nutricional e, conseqüentemente menor o tamanho dos insetos (Dixon 1987).

Tabela 2. Intersecção das variáveis Tamanho do Corpo (TC), Comportamento Alimentar (CA) na obtenção da variável Qualidade Hospedeiro (QH). Base de regras (TCnCA=QH).

TC \ CA	CA		
	NA	PR	AC
P	RU	RU	BO
PM	RU	RU	BO
M	RU	BO	OT
MG	RU	BO	OT
G	RU	BO	OT

TC (P, pequeno; PM, pequeno médio; M, médio; MG, médio grande; G, grande)
 CA (NA, não aceite; PR, prova; AC, aceite)
 QH (RU, ruim; BO, bom; OT, ótimo)

A Figura 6 mostra o resultado da operação fuzzy de intersecção dos conjuntos referentes às variáveis Comportamento Alimentar (CA) e Tamanho do Corpo (TC), obtendo um resultado defuzzificado igual a QH=0,686, para CA=0,7 e TC=0,9.

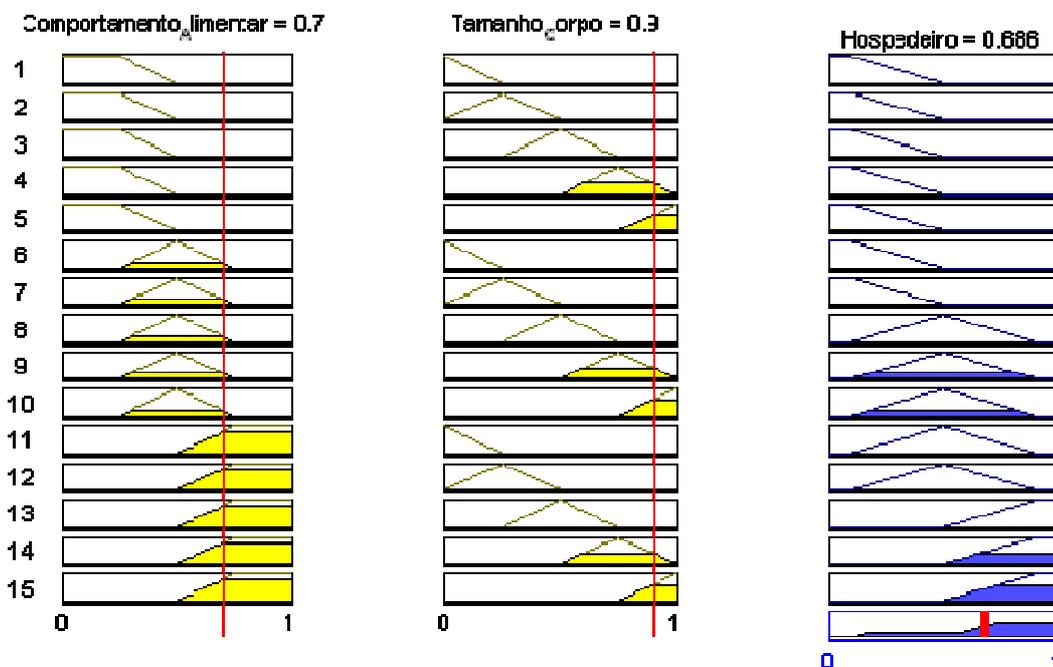


Figura 6. Resultado da intersecção entre CA e TC, e o defuzzificador QH = 0,686. A linha vermelha indica a posição do valor de cada variável no(s) conjunto(s) fuzzy.

A Interação Biótica (IB) foi categorizada em: Não Favorável (0 0 0,25), Pouco Favorável (0 0,25 0,5), Médio Favorável (0,25 0,5 0,75), Favorável (0,5 0,75 1) e Altamente Favorável (0,75 1 1). Esta variável sofreu influência direta da Qualidade do Hospedeiro nesta modelagem. A base de regras para este produto obteve a seguinte combinação:

- Se QH é RU então IB é NF
- Se QH é RU então IB é PF
- Se QH é BO então IB é MF
- Se QH é BO então IB é F
- Se QH é OT então IB é AF

A Figura 7 mostra o resultado da operação fuzzy de intersecção dos conjuntos referentes à variável Qualidade Hospedeiro (QH) e o Indicador Interação Biótica (IB), obtendo um resultado defuzzificado igual a IB=0,653, para QH=0,686.

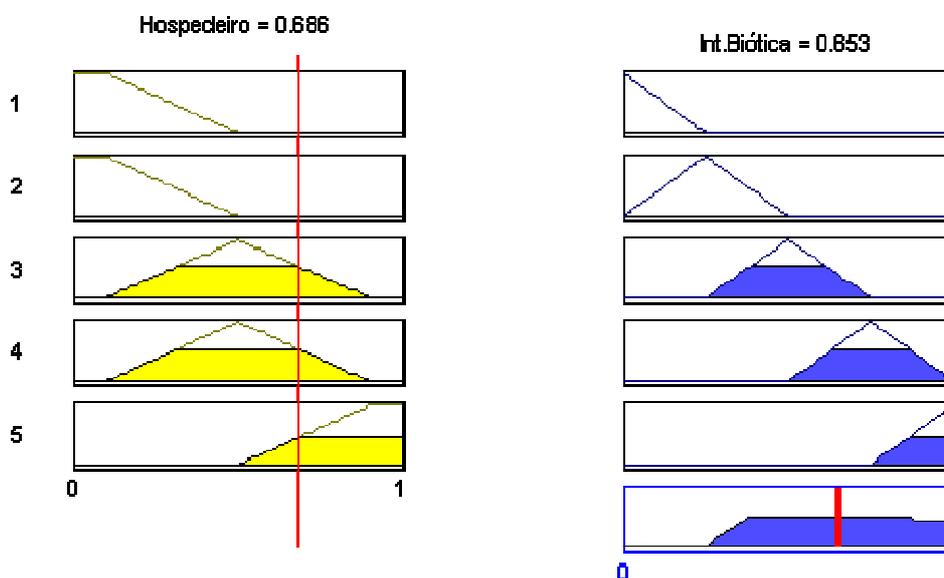


Figura 7. Resultado da combinação de QH resultando no Indicador IB, com defuzzificador de IB=0,653. A linha vermelha indica a posição do valor de cada variável no(s) conjunto(s) fuzzy.

Seguindo o modelo IADEA (Figura 1), para se obter o Indicador Interações, são necessárias as variáveis das Interações Abióticas.

O Tamanho do Corpo foi relacionando com Fatores Climáticos, representado pela temperatura e a categorização e combinação das variáveis baseada em Dixon (1987), como descrito para as relações da variável Qualidade do Hospedeiro. Hoffman & Parson 1997 afirmam que a temperatura é, dentre os fatores abióticos, o que mais influencia na morfologia dos organismos.

A Abundância foi relacionada com a Temperatura segundo os dados de Agarwala & Bhattacharya (1993), em clima tropical e subtropical, as espécies de afídeos em geral sobrevivem e se reproduzem favoravelmente em temperaturas entre 18 e 24°C. Os conjuntos fuzzy para Abundância foram categorizados em: Baixa (B) (0 0 0,25), Baixa Média (BM) (0 0,25 0,5), Média (M) (0,25 0,5 0,75), Média Alta (MA) (0,5 0,75 1) e Alta (A) (0,75 1 1) (Figura 8).

As classes da Temperatura foram categorizadas em Muito Baixa (-5 -5 0 6), Baixa (0 6 12,5), Média Baixa (6 12,5 19), Média (12,5 19 25), Média Alta (19 25 30), Alta (25 30 35) e Muito Alta (30 35 40 40) (Figura 8).

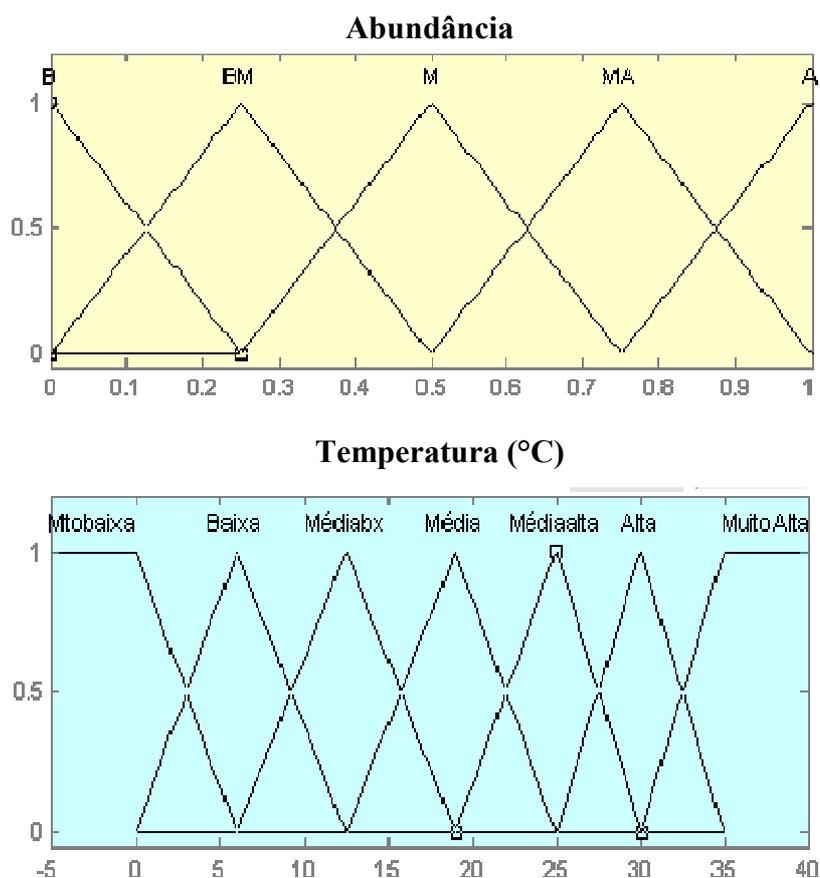


Figura 8. Conjuntos fuzzy das variáveis Abundância e Temperatura.

A intersecção das variáveis Tamanho do Corpo e Abundância foi modelada e apresentada na Tabela 2A.

Tabela 2A. Intersecção das variáveis Tamanho do Corpo (TC) e Abundância (AB) na obtenção da variável Temperatura (T). Base de regras ($TC \cap AB = T$).

TC \ AB	P	PM	M	MG	G
B	MA	MA	A	B	MB
BM	MA	A	MA	BM	B
M	A	A	AM	M	BM
MA	A	AM	M	M	BM
A	AM	AM	M	M	BM

AB (B, baixa; BM, baixa média; M, média; MA, média alta; A, alta)

TC (P, pequeno; PM, pequeno médio; M, médio; MG, médio grande; G, grande)

T (MB, muito baixa, B, baixa; MB, média baixa; M, média; AM, alta média; A, alta; MA, muito alta)

A Figura 9 mostra o resultado da operação fuzzy de intersecção dos conjuntos referentes às variáveis Tamanho do Corpo (TC) e Abundância (AB), obtendo um resultado defuzzificado para Temperatura $T=20,1$, de $TC=0,55$ e $AB=0,21$.

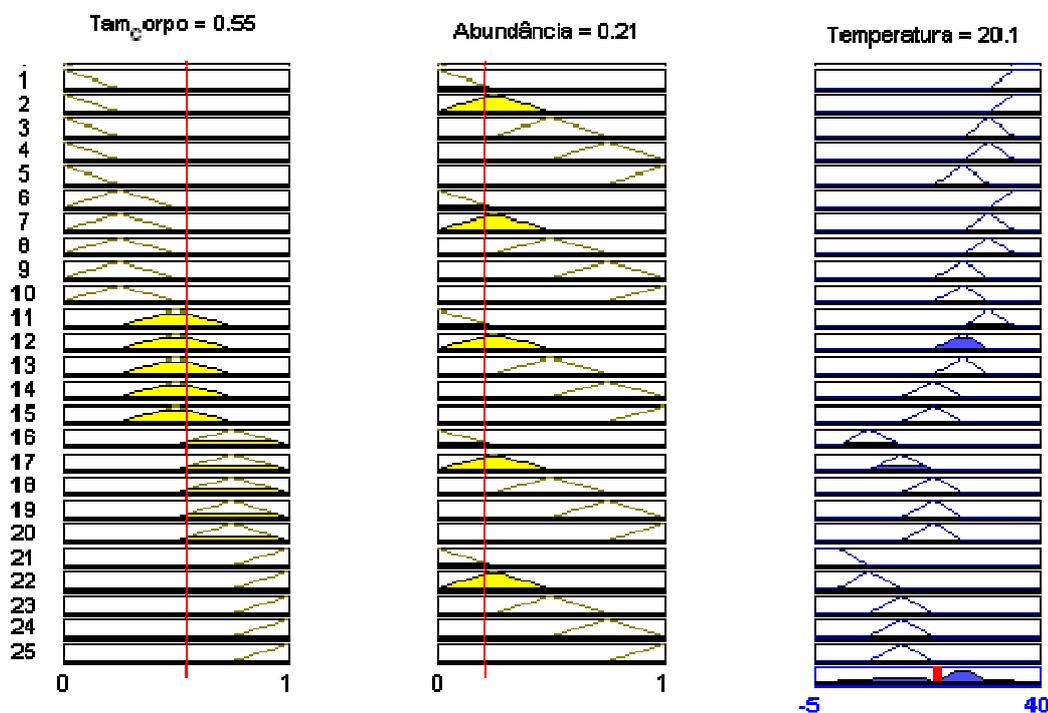


Figura 9. Resultado da combinação do TC e AB resultando em um defuzzificador da Temperatura de $T=20,1$. A linha vermelha indica a posição do valor de cada variável no(s) conjunto(s) fuzzy.

As variáveis dos Sistemas Agro-Florestais (SAF) e Naturais (SN) foram interceptadas para definir a variável Estrutura da Paisagem.

Tanto os SAF e SN foram categorizados assumindo grupos Pequeno (0 0 0,1 0,5), Médio (0,1 0,5 0,9) e Alto (0,5 0,9 1 1) (Figura 10). Os grupos foram representados por uma alta sobreposição, pois a incerteza em relação ao tamanho exato do ambiente e as diferentes interpretações por parte dos observadores tornam os conjuntos altamente fuzzy. Vale ressaltar que em uma paisagem, além dos SAF e SN, muitos são os sistemas representados, como, sistemas aquáticos, em transição, desertificados. Os sistemas aqui modelados são inferidos a partir da relação de um (SAF) com o outro (SN) e não da estrutura geral da paisagem.

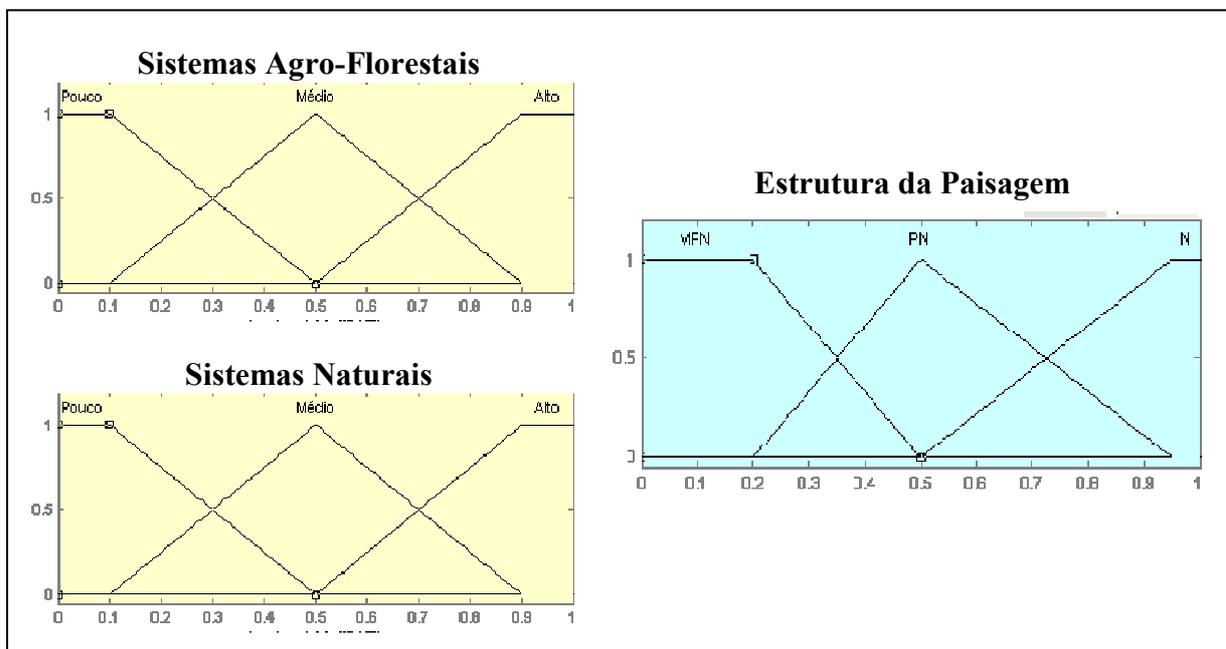


Figura 10. Conjuntos fuzzy das variáveis, Sistemas Agro-Florestais (SAF), Naturais (SN) e Estrutura da Paisagem (EP).

Para a Estrutura da Paisagem foram assumidos os seguintes grupos: Muito Pouco Natural (MPN) (0 0 0,2 0,5), Pouco Natural (PN) (0,2 0,5 0,95) e Natural (N) (0,5 0,95 1 1). Nota-se na Figura 10 que o conjunto fuzzy PN possui um limite máximo maior do que o mínimo e o conjunto N possui um núcleo menor do que o conjunto MPN, estes intervalos foram atribuídos a fim de considerar como ambiente totalmente natural se e somente se $x > 0,95$, assumindo que nas outras possibilidades sempre estarão presentes ambientes não naturais por menor que seja a pertinência $\{\mu(x)\}$. Na Tabela 3 são apresentados os

resultados da intersecção entre as variáveis SAF e SN na obtenção da EP, observando que, quando SAF e SN são, simultaneamente, pequenos ou grandes não existe um produto final, assumindo que não há sobreposição de acordo com as categorias estabelecidas para a Estrutura da Paisagem (EP).

Tabela 3. Intersecção das variáveis, Sistema Agro-Florestal (SAF), sistema Natural (SN) na obtenção da variável Estrutura da Paisagem (EP). Base de regras ($SAF \cap SN = EP$).

SAF \ N	P	M	G
P	-	PN	N
M	MPN	PN	PN
G	MPN	PN	-

SAF (P, pequeno; M, médio; G, grande)
 N (P, pequeno, M, médio; G, grande)
 EP (MPN, muito pouco natural; PN, pouco natural; N, natural)

A Figura 11 mostra o resultado da operação fuzzy de intersecção dos conjuntos referentes às variáveis Sistema Agro-Florestal (SAF) e Sistema Natural (SN), obtendo um resultado defuzzificado igual a $EP=0,721$, para $SAF=0,1$ e $SN=0,8$.

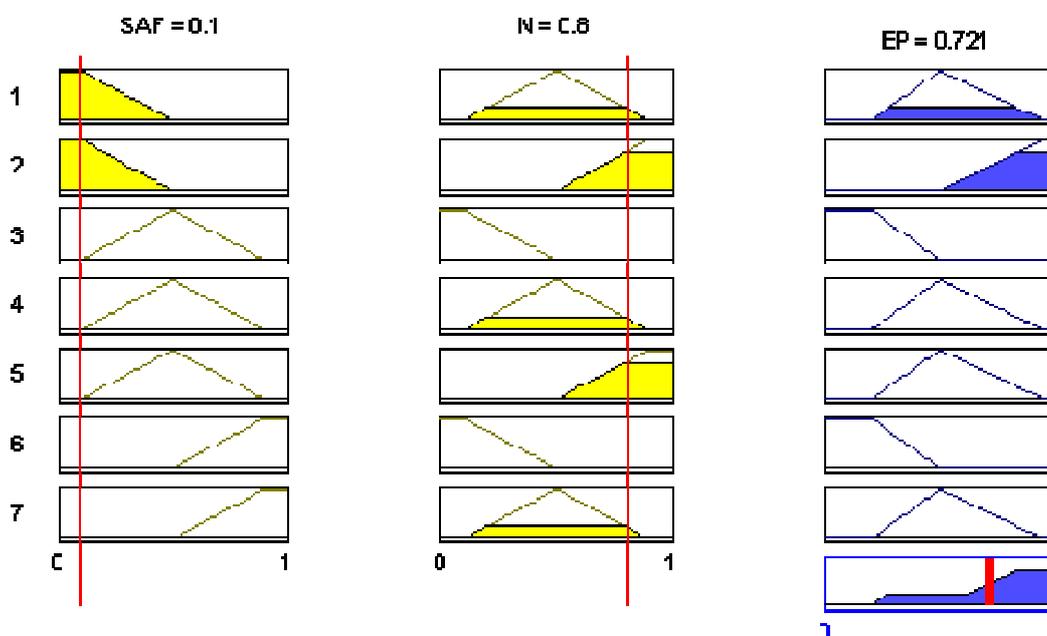


Figura 11. Resultado da intersecção de SAF e SN, e o defuzzificador $EP=0,721$. A linha vermelha indica a posição do valor de cada variável no(s) conjunto(s) fuzzy.

Seguindo a lógica do raciocínio do modelo IADEA (Figura 1). As variáveis, Fatores Abióticos, representada pela Temperatura (T), e a Estrutura da Paisagem (EP), interceptadas darão continuidade ao processo do Sistema de Inferência Fuzzy (SIF) proporcionando valores de pertinência nos grupos da variável Interações Abióticas (IA), os quais foram categorizados da mesma forma que a variável Interações Bióticas (IB), ou seja, Não Favorável (0 0 0,25), Pouco Favorável (0 0,25 0,5), Médio Favorável (0,25 0,5 0,75), Favorável (0,5 0,75 1) e Altamente Favorável (0,75 1 1). A combinação de variáveis para obtenção do produto na variável IA estão representados na Tabela 4.

Tabela 4. Intersecção das variáveis, Temperatura (T) e Estrutura da Paisagem (EP) na obtenção do produto da variável Interação Abiótica (IA). Base de regras ($T \cap EP = IA$).

EP \ T	MB	B	BM	ME	AM	A	MA
MPN	NF	PF	MF	F	AF	AF	PF
PN	NF	PF	PF	MF	F	F	NF
N	NF	NF	NF	PF	PF	MF	NF

EP (MPN, muito pouco natural; PN, pouco natural; N, natural)
T (MB, muito baixa; B, baixa; BM, baixa média; ME, média; AM, alta média; A, alta; MA, muito alta)
IA (NF, não favorável; PF, pouco favorável; MF, médio favorável; F, favorável; AF, altamente favorável)

A Figura 12 mostra o resultado da operação fuzzy de intersecção dos conjuntos referentes às variáveis Temperatura (T) e Estrutura da Paisagem (EP), obtendo um resultado defuzzificado para o Indicador $IA=0,438$, para $T=20,1$ e $EP=0,721$.

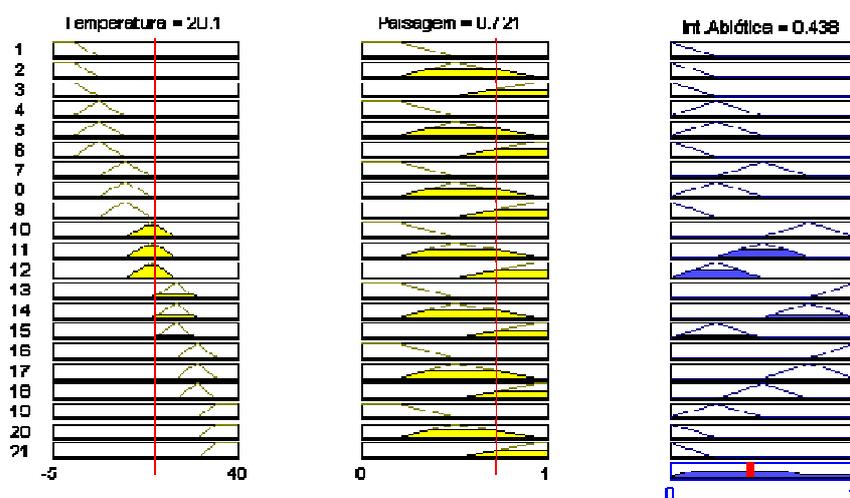


Figura 12. Resultado da intersecção entre T e EP, e o defuzzificador $IA=0,438$. A linha vermelha indica a posição do valor de cada variável no(s) conjunto(s) fuzzy.

Para a obtenção do segundo indicador “Interações”, foram interceptadas as Interações Bióticas e Abióticas obtidas através da combinação das variáveis subjacentes. As categorias estabelecidas para o Indicador Interações são as mesmas utilizadas na formação dos grupos das variáveis bióticas e abióticas, ou seja: Não Favorável (0 0 0,25), Pouco Favorável (0 0,25 0,5), Médio Favorável (0,25 0,5 0,75), Favorável (0,5 0,75 1) e Altamente Favorável (0,75 1 1), obtendo o produto apresentado na Tabela 5.

Tabela 5. Intersecção das variáveis, Interação Biótica (IB) e Interação Abiótica (IA), na obtenção do produto do Indicador Interações (I). Base de regras ($IB \cap IA = I$).

IA \ IB	NF	PF	MF	FV	AF
NF	NF	PF	PF	MF	MF
PF	NF	PF	PF	MF	MF
MF	NF	PF	MF	MF	FV
FV	NF	PF	MF	FV	FV
AF	NF	MF	MF	FV	AF

IA, IB e I (NF, não favorável; PF, pouco favorável; MF, médio favorável; F, favorável; AF, altamente favorável)

A Figura 13 mostra o resultado da operação fuzzy de intersecção dos conjuntos referentes aos indicadores Interação Biótica (IB) e Interação Abiótica (IA), obtendo um resultado defuzzificado para o indicador Interações igual a $I=0,422$, para $IB=0,653$ e $IA=0,422$.

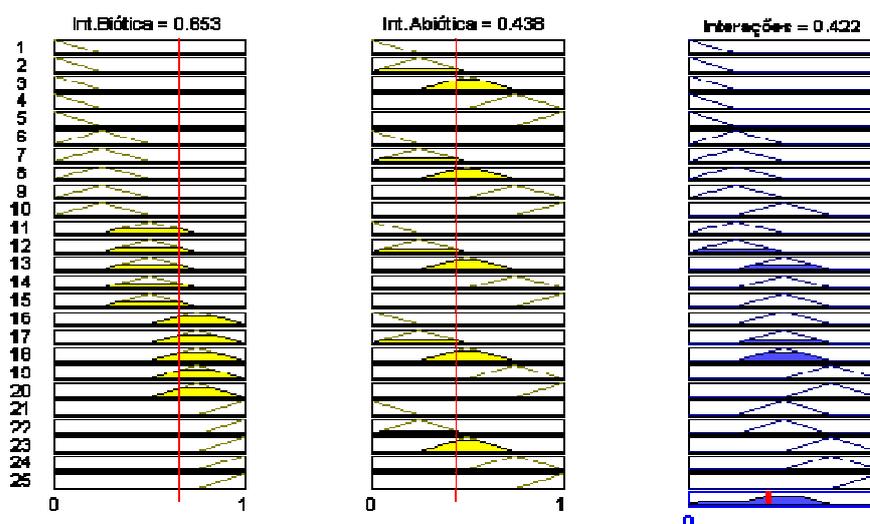


Figura 13. Resultado da intersecção entre IB e IA, e o defuzzificador $I=0,422$. A linha vermelha indica a posição do valor de cada variável no(s) conjunto(s) fuzzy.

3.1.2.2. Indicador “Diversidade Genética”

As variáveis modeladas para este Indicador representam, segundo Freeland (2007) e Cox (2004), as características mais relevantes no estudo da variabilidade genética em populações. A seleção natural tem um papel importantíssimo no entendimento da dinâmica genética das populações, mas como é refletida após um maior número de gerações e, conseqüentemente, maior tempo para se constatar sua influência, optou-se por não modelar no IADEA.

Segundo Willi *et al.* (2006), o número efetivo da população $N_e=500$ pode ser considerado ideal para a maioria das populações naturais, suficiente para manter o nível da herdabilidade em 0,5 o qual expressa o potencial adaptativo de uma espécie na maioria dos casos. Para o estudo da genética de populações, dois parâmetros podem caracterizar o modelo, tamanho da população (N), em que a deriva genética é inversamente proporcional ($1/N$) e o número de migrantes (N_m), ao qual o fluxo gênico é proporcional (Eguiarte *et al.* 2007). O índice de fixação alélica (F_{st}) é o método mais comum para se quantificar a diferenciação genética entre populações, sendo inversamente proporcional ao fluxo gênico, ou seja, quanto menor o F_{st} maior o fluxo gênico entre as populações (Freeland 2007).

Os limites dos conjuntos fuzzy estabelecidos para N_e foram baseados nas informações de Willi *et al.* (2006), no intervalo de 0 a 650, os grupos formados ficaram entre os intervalos: Muito Baixo (MB) (0 0 150 300), Baixo (B) (150 300 450), Médio (M) (300 450 500) e Ideal (I) (450 500 650 650). A Deriva Genética (DG) foi categorizada em Baixa (B) (0 0 0,1 0,5) Média (M) (0,1 0,5 0,9) e Alta (A) (0,5 0,9 1 1).

A relação da base de regras entre N_e e DG foi a seguinte (ver abreviações no texto):

Se N_e é MB então a DG é A

Se N_e é B então a DG é A

Se N_e é M então a DG é M

Se N_e é I então a DG é B

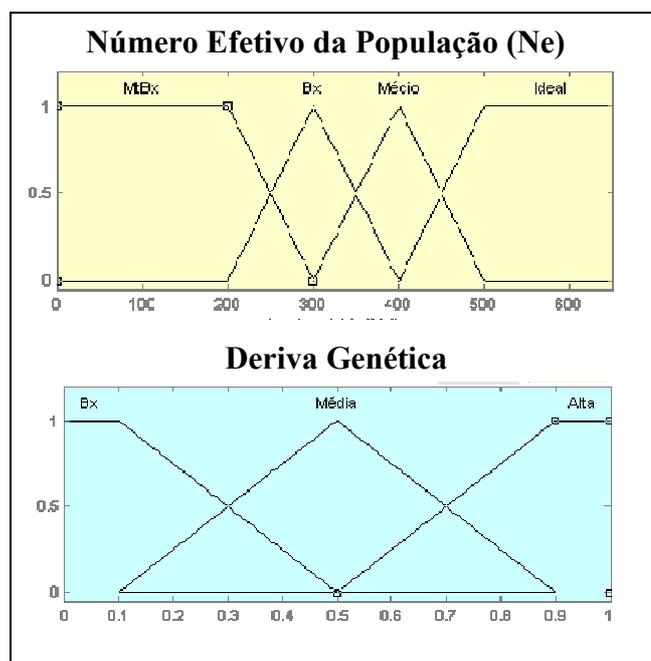


Figura 14. Conjuntos fuzzy da variável de entrada, Número Efetivo da População (Ne) e de saída, Deriva Genética (DG).

A Figura 15 mostra o resultado da operação fuzzy de intersecção dos conjuntos referentes à variável Tamanho efetivo da população (Ne) e Deriva Genética (DG), obtendo um resultado defuzzificado igual a $DG=0,798$, para $Ne=250$.

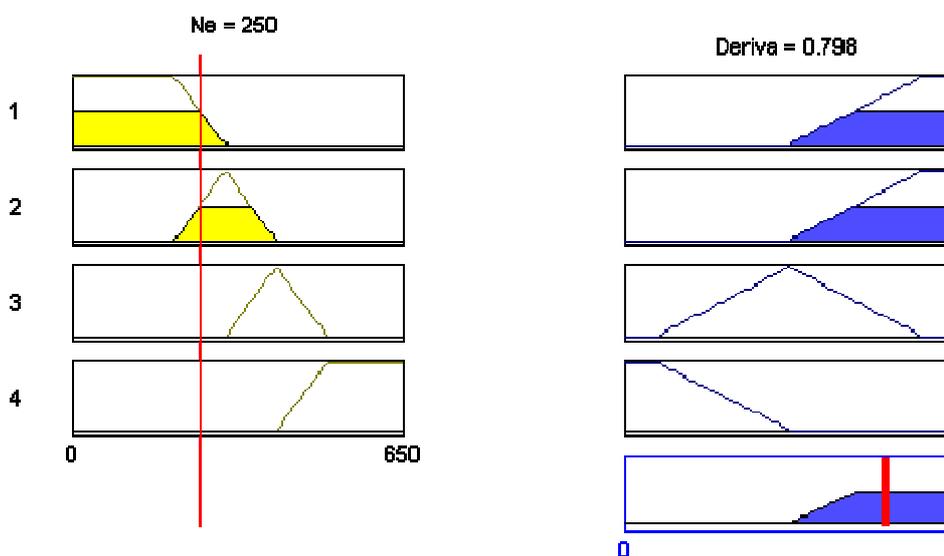


Figura 15. Resultado da combinação do Ne resultando em um valor defuzzificado da **DG=0,798**. A linha vermelha indica a posição do valor de cada variável no(s) conjunto(s) fuzzy.

Apesar de F_{st} estar entre 0 (nenhuma divergência genética) e 1 (indicando fixação para alelos alternativos na subpopulação), teoricamente, o máximo observado é usualmente muito menor do que 1. Wright (1978) sugere a seguinte escala qualitativa para interpretação de F_{st} :

1. 0 a 0,05, considerado como indicador de pequena diferenciação genética;
2. 0,05 a 0,15, moderada diferenciação genética;
3. 0,15 a 0,25, grande diferenciação genética;
4. valores de F_{st} acima de 0,25 indicam altíssima diferenciação genética.

Com base nesta escala determinística (booleana), propôs-se a seguinte categorização para F_{st} levando em consideração conjuntos fuzzy: Pequena (P) (0 0 0,15), Moderada (M) (0 0,15 0,3), Grande (G) (0,15 0,3 0,5) e Altíssima (A) (0,3 0,5 1 1). Apesar da escala proposta por Wright (1978), de 0 a 0,05 ser considerada de pequena diferenciação genética, Hartl (1988) sugere que esta diferenciação não deve ser negligenciável, mesmo quando $F_{st} < 0,05$. Diante desta sugestão, o conjunto fuzzy Pequeno somente terá um pertencimento completo, ou seja, $\mu(x)=1$ quando $x=0$ (Figura 16).

O Fluxo Gênico foi categorizado com os seguintes grupos: Baixo (B) (0 0 0,125 0,5), Médio (M) (0,125 0,5 0,9) e Alto (A) (0,5 0,9 1 1) (Figura 16).

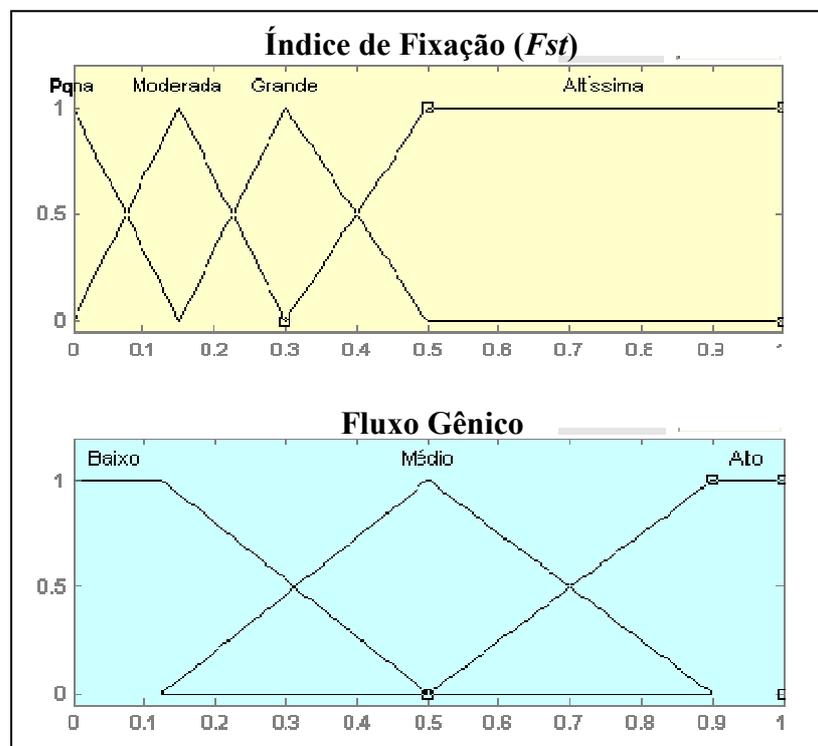


Figura 16. Conjuntos fuzzy da variável de entrada, Índice de Fixação (F_{st}) e de saída, Fluxo Gênico (FG).

A relação da base de regras entre Ne e DG foi a seguinte:

- Se Fst é P então a FG é A
- Se Fst é M então a FG é M
- Se Fst é G então a FG é B
- Se Fst é A então a FG é B

A Figura 17 mostra o resultado da operação fuzzy de intersecção dos conjuntos referentes à variável Índice de Fixação (Fst) e Fluxo gênico (FG), obtendo um resultado defuzzificado igual a $FG=0,197$, para $Fst=0,42$.

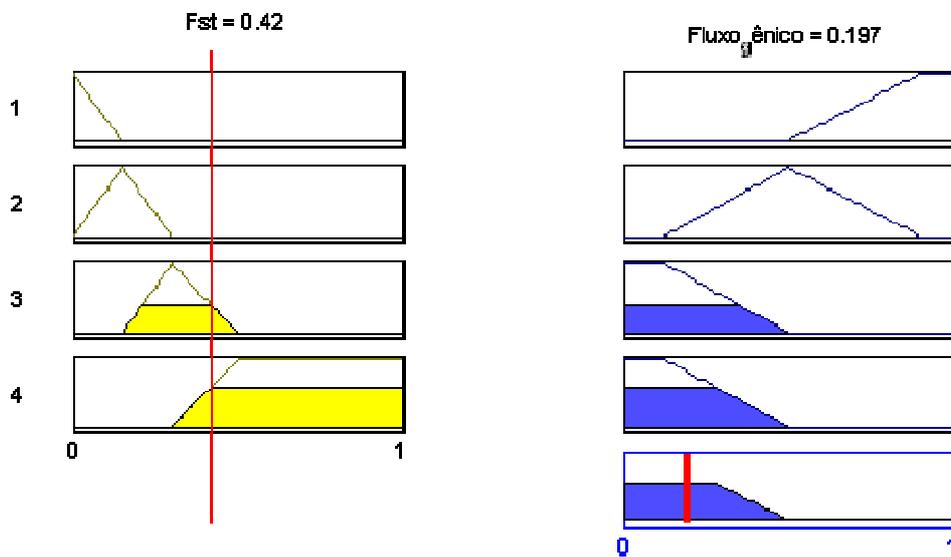


Figura 17. Resultado da combinação de Fst resultando no valor defuzzificado de $FG=0,197$. A linha vermelha indica a posição do valor de cada variável no(s) conjunto(s) fuzzy.

As variáveis Deriva Genética (DG) e Fluxo Gênico (FG) foram submetidas à intersecção para obter como produto da combinação a pertinência em um dos conjuntos fuzzy do Indicador Diversidade Genética (HG) (Tabela 6). Os grupos estabelecidos para HG foram: Homogênea (0 0 0,175 0,3), Pouco Homogênea (0,175 0,3 0,45), Intermediária (0,3 0,45 0,6), Pouco Heterogênea (0,45 0,6 0,75) e Heterogênea (0,6 0,75 1 1) (Figura 18).

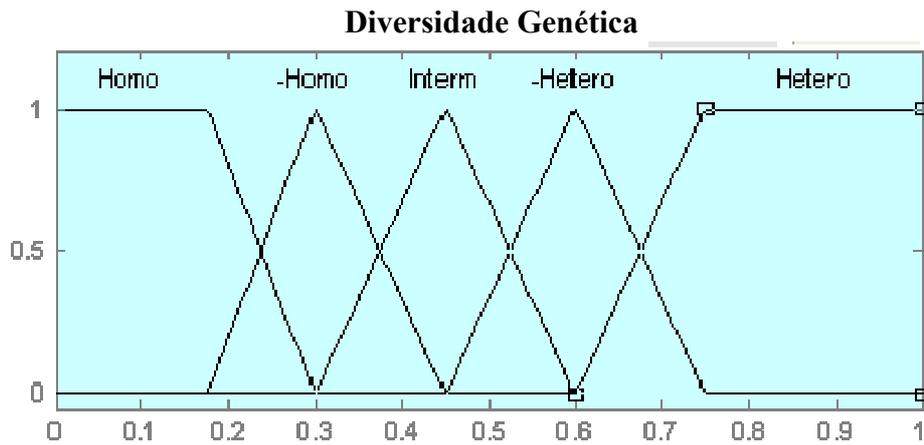


Figura 18. Conjuntos fuzzy do Indicador Diversidade Genética (HG).

Tabela 6. Intersecção das variáveis Deriva Genética (DG) e Fluxo Gênico (FG), na obtenção do produto do Indicador Diversidade Genética (HG). Base de regras ($DG \cap FG = HG$).

DG \ FG	B	M	A
B	IT	PHO	HO
M	IT	IT	PHO
A	HE	PHE	IT

FG e DG (B, baixo; M, médio; A, alto)

HG (HO, homogênea; PHO, pouco homogênea; IT, intermediária; PHE, pouco heterogênea; HE, heterogênea)

A Figura 19 mostra o resultado da operação fuzzy de intersecção dos conjuntos referentes às variáveis Deriva Genética (DG) e Fluxo Gênico (FG), obtendo um resultado defuzzificado para o indicador Diversidade Genética igual a $HG=0,202$, para $DG=0,798$ e $FG=0,197$.

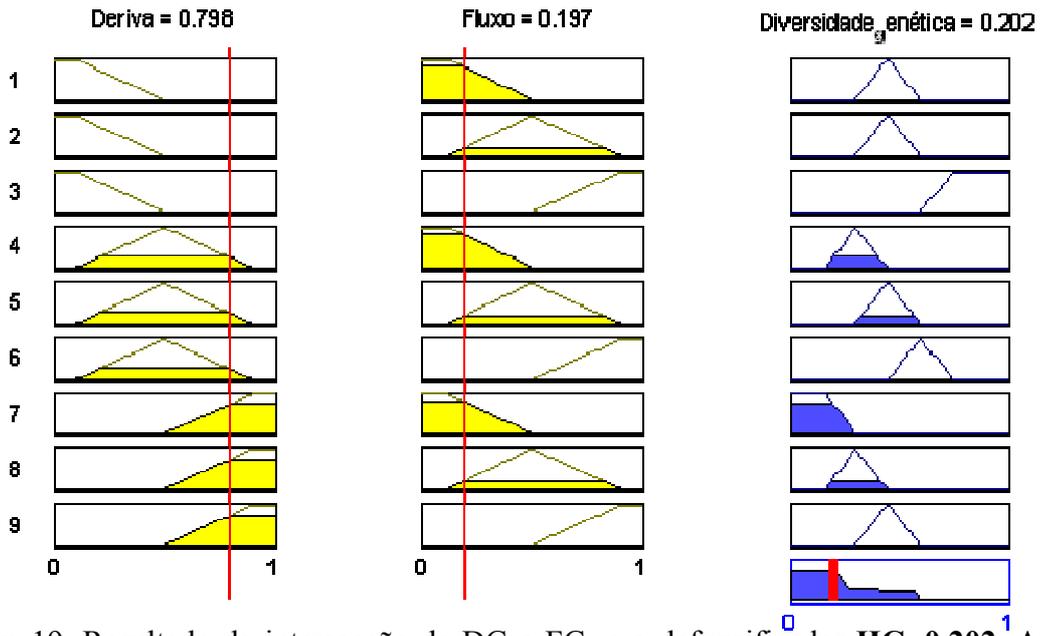


Figura 19. Resultado da intersecção de DG e FG, e o defuzzificador **HG=0,202**. A linha vermelha indica a posição do valor de cada variável no(s) conjunto(s) fuzzy.

O Indicador Potencial Ecológico foi dividido em cinco grupos, tendo como categorias: Baixo (0 0 0,125 0,3125), Baixo Médio (0,125 0,3125 0,5), Médio (0,3125 0,5 0,6875), Médio Alto (0,5 0,6875 0,875), Alto (0,6875 0,875 1 1) (Figura 20).

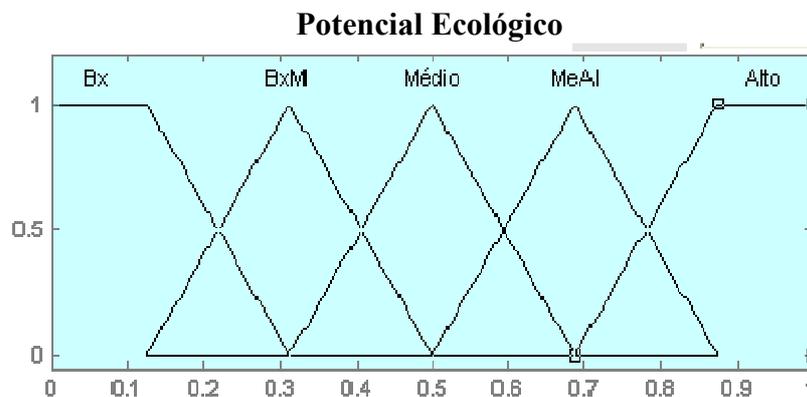


Figura 20. Conjuntos fuzzy do Indicador Potencial Ecológico (PE).

A intersecção dos Indicadores Desempenho *Fitness* e Interações resultou no produto apresentado na Tabela 7.

Tabela 7. Intersecção dos Indicadores Desempenho *Fitness* (DF) e Interações (I), na obtenção do produto do Indicador Potencial Ecológico (PE). Base de regras ($DF \cap I = PE$).

I \ DF	MB	B	BM	M	AM	A	MA
NF	B	B	B	B	BM	BM	M
PF	B	B	B	BM	BM	M	M
MF	B	B	BM	M	M	MA	MA
F	B	BM	BM	M	MA	MA	A
AF	BM	BM	M	MA	MA	A	A

I (NF, não favorável; PF, pouco favorável; MF, médio favorável; F, favorável; AF, altamente favorável)
 DF (MB, muito baixo; B, baixo; BM, baixo médio; M, médio; AM, alto médio; A, alto; MA, muito alto)
 PE (B, baixo; BM, baixo médio; M, médio; MA, médio alto; A, alto)

A Figura 21 mostra o resultado da operação fuzzy de intersecção dos conjuntos referentes aos indicadores Desempenho Reprodutivo (DF) e Interações (I), obtendo um resultado defuzzificado para o indicador Potencial Ecológico igual a $PE=0,263$, para $DF=0,346$ e $I=0,422$.

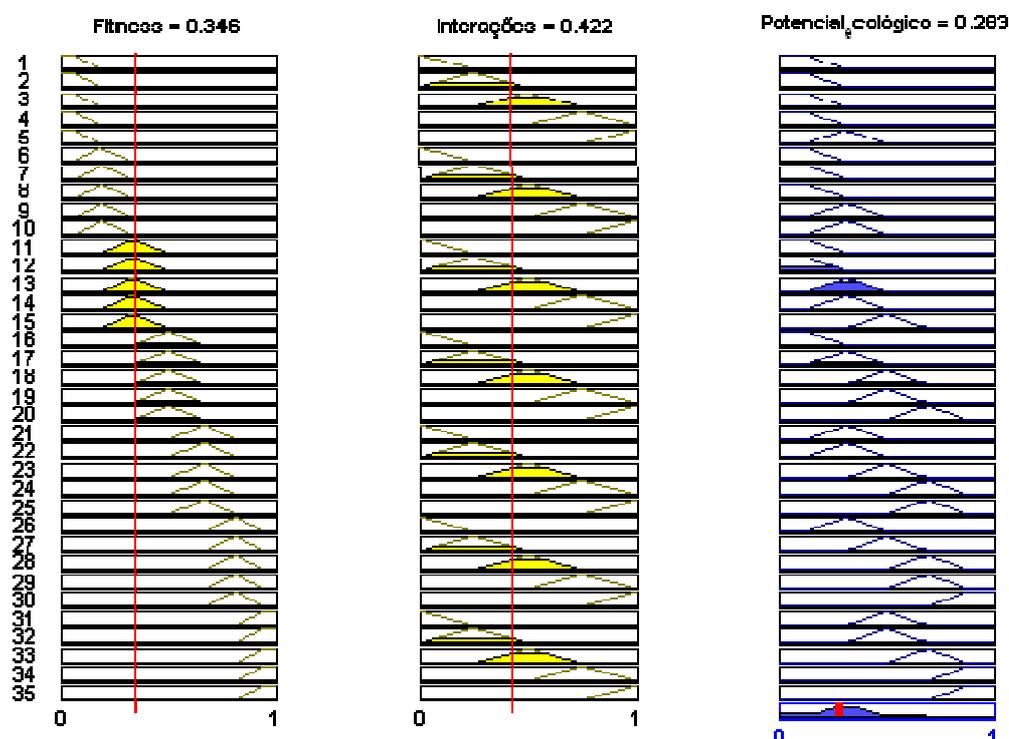


Figura 21. Resultado da intersecção entre Desempenho Reprodutivo (DF) e Interações (I) e o defuzzificador $PE=0,283$. A linha vermelha indica a posição do valor de cada variável no(s) conjunto(s) fuzzy.

De acordo com o modelo biológico IADEA proposto (Figura 1), a partir da intersecção dos dois últimos Indicadores Potencial Ecológico (PE) e Diversidade Genética (HG) é possível obter o nível de adaptação de uma espécie.

O Indicador Adaptabilidade foi representado por três grupos: Sem Índícios de Adaptação (0 0 0,1 0,5), Em Adaptação (0,1 0,5 0,9) e Adaptada (0,5 0,9 1 1).

O produto da intersecção dos dois último indicadores resultou no produto demonstrado na Tabela 8.

Tabela 8. Intersecção dos Indicadores, Diversidade Genética (HG) e Potencial Ecológico (PE), na obtenção do produto do Indicador Adaptabilidade (AD). Base de regras ($HG \cap PE = AD$).

PE \ HG	HO	PHO	IT	PHE	HE
B	SIA	SIA	SIA	SIA	SIA
BM	SIA	SIA	EA	EA	EA
M	SIA	EA	EA	EA	EA
MA	EA	EA	EA	EA	EA
A	EA	EA	EA	A	A

PE (B, baixo; BM, baixo médio; M, médio; MA, médio alto; A, alto)

HG (HO, homogênea; PHO, pouco homogênea; IT, intermediária; PHE, pouco heterogênea; HE, heterogênea)

AD (SAI, sem indícios de adaptação; EA, em adaptação; A, adaptada)

A Figura 22 mostra o resultado da operação fuzzy de intersecção dos conjuntos referentes aos indicadores Diversidade Genética (HG) e Potencial Ecológico (PE), obtendo um resultado defuzzificado par a Adaptabilidade igual a $AD=0,181$, para $HG=0,202$ e $PE=0,263$.

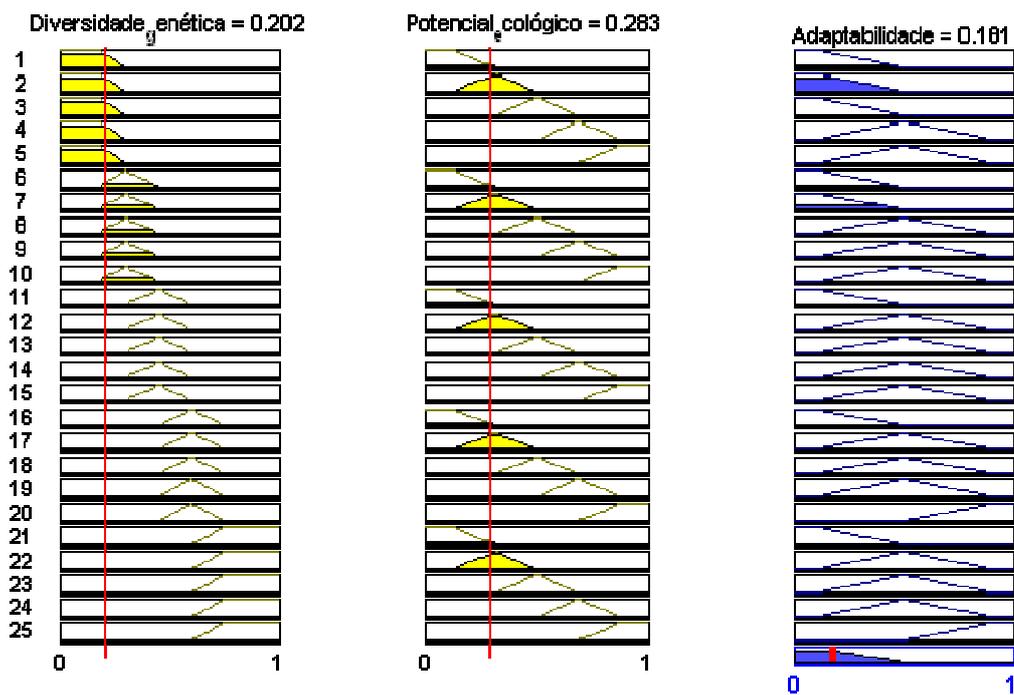


Figura 22. Resultado da intersecção entre Diversidade Genética (HG) e Potencial Ecológico (PE) e o defuzzificador **AD=0,181**. A linha vermelha indica a posição do valor de cada variável no(s) conjunto(s) fuzzy.

Com as variáveis e indicadores modelados através do sistema de inferência fuzzy, foram encontrados os resultados nebulosos e, a partir da defuzzificação, os resultados numéricos.

Os valores de pertinência $\{\mu(x)\}$ de todas as saídas das variáveis ou indicadores para Adaptabilidade de $AD=0,181$, estão apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9. Variáveis e Indicadores *output* com o fuzzificador (F) e valores de pertinência $\{\mu(x)\}$ com seus respectivos conjuntos fuzzy interceptados.

Variável output	F	1° conjunto $\mu(x)$ / fuzzy	2° conjunto $\mu(x)$ / fuzzy
DF – <i>Fitness</i>	0,346	0,9059 Médio Baixo	0,0941 Médio
QH – Qualidade Hospedeiro	0,686	0,5300 Bom	0,4700 Ótimo
IB – Interação Biótica	0,653	0,6120 Favorável	0,3880 Médio Favorável
EP – Estrutura da Paisagem	0,721	0,5089 Pouco Natural	0,4911 Natural
T – Temperatura	20,1	0,8167 Média	0,1833 Média Alta
IA - Interação Abiótica	0,438	0,7520 Médio Favorável	0,2480 Pouco Favorável
I – Interações	0,422	0,6880 Médio Favorável	0,3120 Pouco Favorável
DG – Deriva Genética	0,798	0,6250 Alta	0,3750 Média
FG – Fluxo Gênico	0,197	0,6667 Baixo	0,3333 Médio
HG - Diversidade Genética	0,202	0,7840 Homogênea	0,2160 Pouco Homogênea
PE – Potencial Ecológico	0,283	0,8427 Baixo Médio	0,7573 Baixo
AD - Adaptabilidade	0,181	0,7975 Sem Indícios de Adaptação	0,2025 Em Adaptação

Pode-se verificar na Figura 23 a dispersão das variáveis e dos indicadores (parâmetros da adaptabilidade no modelo biológico AIDEA) em relação ao defuzzificador (eixo x) e o grau de pertinência (eixo y) para a Adaptabilidade da espécie hipotética, a qual foi considerada Sem Indícios de Adaptação com valor de pertinência de 0,7975 com valor defuzzificado de 0,181.

Os parâmetros Estrutura da paisagem (EP), Qualidade do Hospedeiro (QH), Interações Bióticas (IB) e Deriva Genética (DG) apresentaram um valor defuzzificado mais alto, indicando que para uma espécie ser considerada pertencente ao conjunto dos organismos sem indícios de adaptação, poderá apresentar altos valores dentro destas variáveis. O valor de pertinência destas variáveis foi menor que 0,65, ou seja, têm um pertencimento médio em seus conjuntos e podem ser facilmente encontradas em grupos adjacentes, considerando que o sistema biológico é extremamente dinâmico. No momento da tomada de decisão em relação ao status a ser adotado para a espécie em questão, deve-se ponderar e considerar todas as variáveis possíveis já que o valor de pertencimento não foi muito alto.

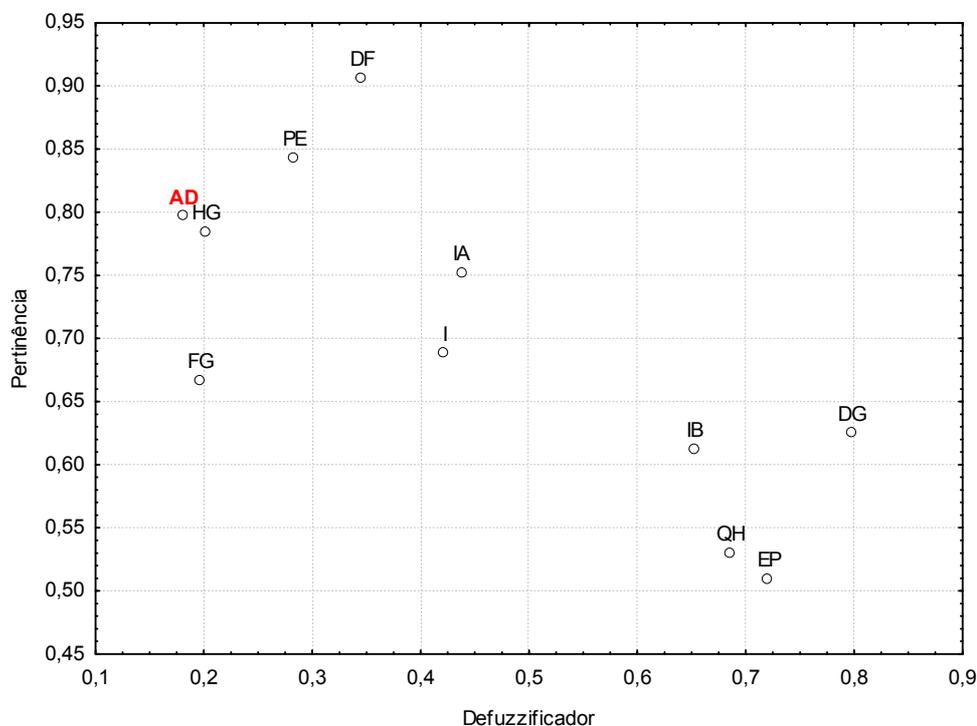


Figura 23. Dispersão dos parâmetros utilizados no modelo IADEA em relação ao fuzzificador e a pertinência de cada variável para valor da Adaptabilidade (AD) de 0,181 para uma espécie exótica hipotética. (DF, desempenho *Fitness*; DG, deriva genética; EP, estrutura da paisagem; FG, fluxo gênico; HG, diversidade genética; I, interações; IA, interações abióticas; IB, interações bióticas; PE, potencial ecológico; QH, qualidade do hospedeiro).

Os parâmetros: Fluxo Gênico (FG), Interações (I), Interações Abióticas (IA), Diversidade Genética (HG), Potencial Ecológico (PE) e Desempenho Reprodutivo *Fitness* (DF) apresentaram defuzzificador abaixo de 0,48, indicando que as espécies que estão Sem

Indícios de Adaptação, pertencem aos grupos modelados com escalas menores. A pertinência para estas variáveis foi acima de 0,65 indicando forte pertencimento aos grupos a que a espécie em questão se classificou. Considerando que a Lógica Fuzzy auxilia na tomada de decisão frente a incertezas e grande quantidade de variáveis, pode-se sugerir que estas variáveis definem melhor o status da espécie em questão, sendo que o grupo de variáveis que apresentou menor pertencimento pode apresentar maior incerteza na tomada de decisão.

3.2. Estudo de casos – Aplicação da Lógica Fuzzy

Três espécies exóticas de afideos (Aphididae): *Greenidea ficicola* e *Greenidea psidii* (Greenideinae) e *Cinara atlantica* (Lachninae) foram analisadas com o intuito de visualizar o grau de adaptabilidade das mesmas no sistema biológico IADEA (indicadores de adaptabilidade de espécies ao ambiente) da Figura 1, como também verificar a validade e robustez do modelo proposto. Os dados das duas primeiras espécies foram obtidos nesta pesquisa; enquanto que os da última foram retirados do trabalho de Penteado (2005) sobre o controle biológico clássico da espécie.

Os dados disponíveis para estas espécies não totalizam as variáveis do modelo. Ajustes na arquitetura ou complementações teóricas de algumas variáveis foram necessárias a fim de se obter o indicador final Adaptabilidade, e, quando efetuadas, foram referenciadas.

3.2.1. *Greenidea ficicola*

As variáveis disponíveis para *G. ficicola* estão contempladas nos Indicadores Interações e Diversidade Genética, sendo que o Indicador Desempenho (que se refere ao desempenho reprodutivo obtido a partir da avaliação de parâmetros biológicos do inseto) não foi possível obter, em razão da alta taxa de mortalidade dos indivíduos antes mesmo de atingir o estágio adulto, utilizando diferentes metodologias.

O Comportamento Alimentar foi obtido do valor médio do tempo de permanência no floema (Capítulo 2), sendo representado por 16,93% do total do registro (24 h).

Para a modelagem da variável Tamanho do Corpo, foi utilizada a medida do comprimento do corpo, pois, entre as medidas relacionadas ao tamanho do corpo, foram medidos comprimento do corpo (CC), largura do corpo (LC) e relação CC/LC (Capítulo 2), sendo que na ACP, a explicação de cada agrupamento entre as populações se deu pelo valor acima de 70% para o parâmetro comprimento do corpo.

Para a obtenção do intervalo da variável Tamanho do Corpo foram consideradas a menor e a maior medidas do comprimento do corpo (CC) obtidas de todas as populações de *G. ficicola* analisadas, ou seja, $1,62 < CC < 2,18$ (ver Capítulo 3). O dado de entrada na variável Tamanho do Corpo foi resultante da média do comprimento do corpo (1,87) entre todos os indivíduos das cinco populações de *G. ficicola* do Paraná. Foram consideradas as populações do Paraná, a fim de padronizar com os dados disponíveis somente para indivíduos de Curitiba, PR. Considerando os limites fuzzy entre os grupos, atribuíram-se o valor mínimo de 1,50 e máximo de 2,30, sendo que 1,9 é equivalente a 0,5 na escala de 0 a 1 e, conseqüentemente, 1,87 é equivalente a 0,49, utilizado como dado de entrada para Tamanho do Corpo.

De acordo com as observações e coletas realizadas no capítulo de morfometria (Capítulo 3), onde *G. ficicola* foi encontrada tanto em árvores isoladas quanto em bosques de *F. benjamina*, as variáveis Sistema Agro-Florestal (SAF) e Sistema Natural (SN) foram consideradas nos grupos Médio (0,4) e Pequeno (0,2), respectivamente.

A abundância foi selecionada do estudo de flutuação de *G. ficicola* realizado em *F. benjamina*, em que se optou por definir o dado de entrada a maior média da quantidade de indivíduos durante o período de coleta entre 2006 e 2007. O total de indivíduos coletados foi de 3360, sendo que em outubro/2006 foi registrada a maior quantidade de indivíduos (705; média=0,21) (ver Capítulo 1).

O Índice de Fixação (Fst) (Capítulo 4) no Paraná foi de 0,0726, obtendo-se diretamente o Fluxo Gênico. A partir do valor do FG e considerando que este é inversamente proporcional à Deriva Genética. O valor do tamanho efetivo da população (Ne), responsável pela determinação do valor da Deriva no modelo proposto, não foi obtido para *G. ficicola*, uma vez que o cálculo de Ne considera a proporção de machos e fêmeas na população, mas os indivíduos de *G. ficicola* eram todos fêmeas partenogenéticas. No entanto, através do resultado do número de migrantes (Nm) obtido para as populações de *G. ficicola* foi possível estimar a Deriva no processo da modelagem. Segundo Hartl (1988), enquanto o Nm aumenta, a divergência genética entre as populações diminui, pois, a migração é uma força potente contra a divergência genética resultante da deriva entre as populações. O log de Nm decresce, aproximadamente, como uma função linear da média da frequência de alelos privativos nas amostras de subpopulações (alelos privativos – são aqueles encontrados em apenas uma população). De acordo com este entendimento, o Nm foi considerado inversamente proporcional à Deriva Genética, ou seja, na modelagem da base na inferência fuzzy, quando Nm é baixo a Deriva Genética é alta. O

valor de entrada foi referente ao Nm das subpopulações do Paraná ($Nm=3.193$), sendo que o mínimo encontrado entre as populações de *G. ficicola* foi 0,2871 e o máximo 5,3679 (ver Capítulo 4), estes valores foram considerados para definir os intervalos entre os grupos fuzzy para Nm com os seguintes intervalos, Muito Baixo (MB) (0 0 0,1 1), Baixo (B) (0,1 1 1,5), Médio (M) (1 1,5 2) e Alto (A) (1,5 2 6 6). A base de regras segue abaixo:

Se Nm é MB então a DG é A

Se Nm é B então a DG é A

Se Nm é M então a DG é M

Se Nm é A então a DG é B

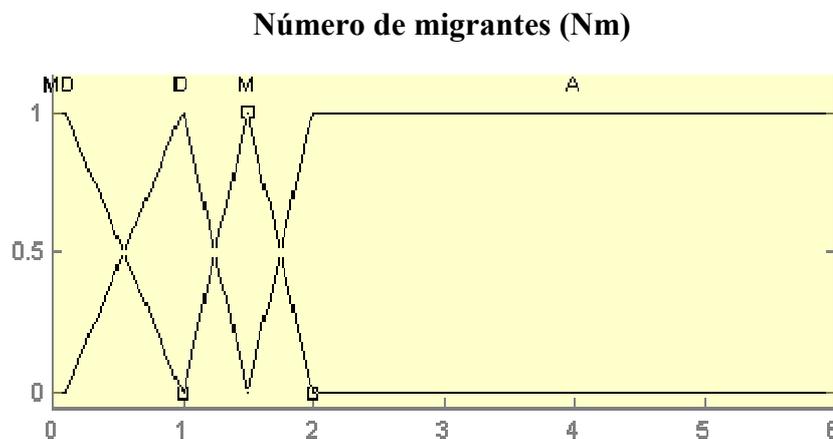


Figura 24. Conjuntos fuzzy da variável Número de migrantes (Nm) modelada para os dados de *G. ficicola* e *G. psidii* (dados a seguir).

Os valores de pertinência $\{\mu(x)\}$ de todas as saídas das variáveis ou indicadores para Adaptabilidade de $AD=0,5$ são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Variáveis e Indicadores *output* com o fuzzificador (F) e valores de pertinência $\{\mu(x)\}$ com seus respectivos conjuntos fuzzy interceptados para *G. ficiola*.

Variável output	F	1º conjunto $\mu(x)$ / fuzzy	2º conjunto $\mu(x)$ / fuzzy
QH – Qualidade do Hospedeiro	0,171	0,8225 Ruim	0,1775 Bom
IB – Interação Biótica	0,205	0,82 Pouco Favorável	0,18 Não Favorável
EP – Estrutura da Paisagem	0,326	0,58 Muito Pouco Natural	0,42 Pouco Natural
T – Temperatura	26	0,8 Média Alta	0,2 Alta
IA - Interação Abiótica	0,794	0,824 Favorável	0,176 Altamente Favorável
I – Interações	0,299	0,804 Pouco Favorável	0,196 Médio Favorável
DG – Deriva Genética	0,169	0,8275 Baixa	0,1725 Média
FG – Fluxo Gênico	0,831	0,8275 Alto	0,1725 Médio
HG - Diversidade Genética	0,775	1 Heterogênea	- -
AD - Adaptabilidade	0,5	1 Em Adaptação	- -

Na Figura 25, observa-se que as variáveis Fluxo Gênico, Interações Abióticas e Diversidade Genéticas apresentaram maior valor defuzzificado, ou seja, pertencem a grupos categorizados como “grandes” e as demais variáveis apresentaram defuzzificador abaixo de 0,40 pertencentes a grupos com categorização menores. Somente Estrutura da Paisagem não apresentou pertencimento maior do que 0,8, o alto grau de pertencimento pode sugerir que estas variáveis foram classificadas com grau alto de certeza para tomada de decisão em relação ao status da espécie nas classificações obtidas.

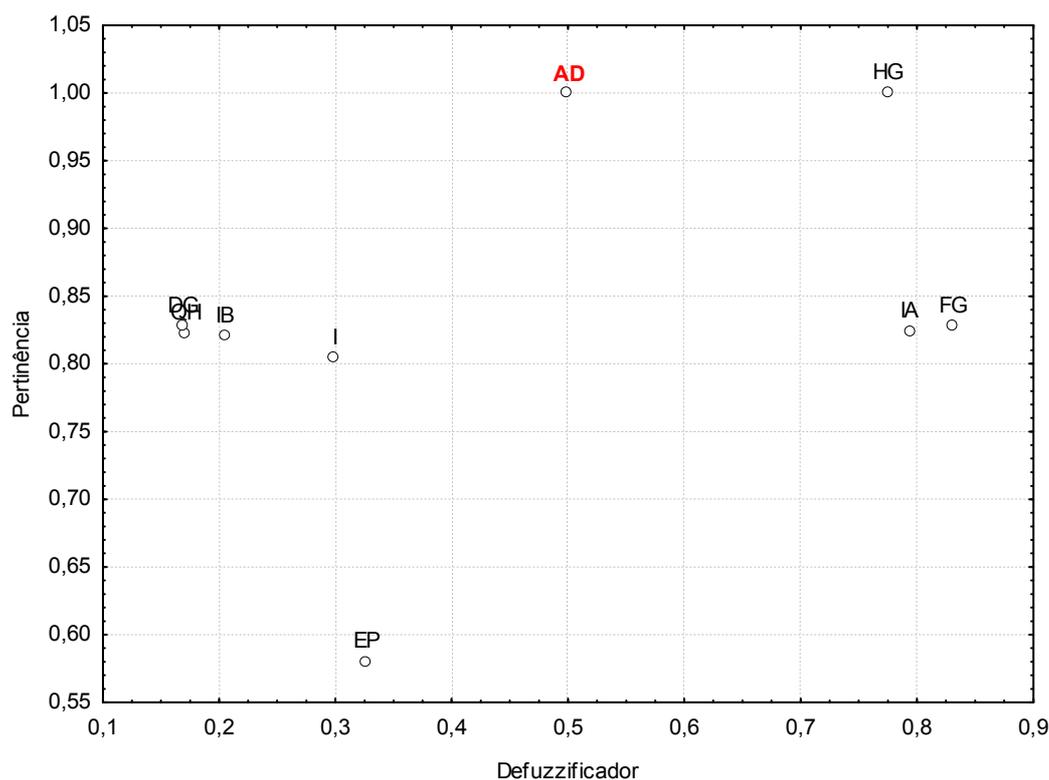


Figura 25. Dispersão dos parâmetros utilizados no modelo IADEA em relação ao fuzzificador e a pertinência de cada variável para Adaptabilidade de 0,5 para *G. ficiola*. (AD, adaptabilidade; DG, deriva genética; EP, estrutura da paisagem; FG, fluxo gênico; HG, diversidade genética; I, interações; IA, interações abióticas; IB, interações bióticas; QH, qualidade do hospedeiro)

3.2.2. *Greenidea psidii*

As variáveis disponíveis para *G. psidii* estão contempladas nos Indicadores Interações e Diversidade Genética, sendo que o Indicador Desempenho não foi possível obter, em razão da alta taxa de mortalidade dos indivíduos antes mesmo de chegarem ao estágio adulto, como ocorreu para *G. ficiola*.

O Comportamento Alimentar foi obtido do valor médio do tempo de permanência no floema (ver Capítulo 2), sendo representado por 1,11% do total do registro (24 h).

Para a modelagem da variável Tamanho do Corpo foi utilizada a medida do comprimento do corpo, pois, entre as medidas relacionadas ao tamanho do corpo foram medidos os comprimento do corpo (CC), largura do corpo (LC) e relação CC/LC (Capítulo

3), sendo que na ACP, a explicação de cada agrupamento entre as populações se deu pelo valor acima de 70% para o parâmetro comprimento do corpo.

Para a obtenção do intervalo da variável Tamanho do Corpo foi considerada a menor e a maior medida do comprimento do corpo (CC) obtida de todas as populações de *G. psidii* analisadas, ou seja, $1,46 < CC < 2,25$ (ver Capítulo 3). O dado de entrada na variável Tamanho do Corpo foi resultante da média do comprimento do corpo (1,93) entre os indivíduos das duas populações de *G. psidii* do Paraná. Foram consideradas as populações do Paraná, a fim de padronizar com os dados disponíveis somente para indivíduos de Curitiba, PR. Considerando os limites fuzzy entre os grupos, atribuiu-se o valor mínimo de 1,40 e máximo de 2,30, sendo que 1,85 é equivalente a 0,5 na escala de 0 a 1 e, conseqüentemente, 1,93 é equivalente a 0,61, utilizado como dado de entrada para Tamanho do Corpo.

De acordo com as observações e coletas realizadas no capítulo de morfometria (Capítulo 3), *G. psidii* foi encontrada tanto em árvores isoladas quanto em pomares de *P. guajava*, sendo as variáveis Sistema Agro-Florestal (SAF) e Sistema Natural (SN) consideradas nos grupos Médio (0,4) e Pequeno (0,2), respectivamente.

O número de *G. psidii* registrado em *P. guajava* foi obtido em relação ao número de árvores em que o afídeo foi encontrado durante os anos de 2006-2007. Com base nesta relação, o dado de entrada na variável Abundância foi de 32%, em escala de 0 a 1, 0,32. (ver Capítulo 1).

O Índice de Fixação (Fst) no Paraná foi de 0,2841 (Capítulo 4), obtendo-se diretamente o Fluxo Gênico. A partir do valor do FG e considerando que este é inversamente proporcional à Deriva Genética. O valor do tamanho efetivo da população (N_e), responsável pela determinação do valor da Deriva no modelo proposto, não foi obtido para *G. psidii*, uma vez que o cálculo de N_e considera a proporção de machos e fêmeas na população, mas os indivíduos de *G. psidii* eram todos fêmeas partenogenéticas. No entanto, através do resultado do número de migrantes (N_m) obtido para as populações de *G. psidii* foi possível estimar a Deriva no processo da modelagem. Segundo Hartl (1998), enquanto o N_m aumenta, a divergência genética entre as populações diminui, pois, a migração é uma força potente contra a divergência genética resultante da deriva entre as populações. O log de N_m decresce, aproximadamente, como uma função linear da média da frequência de alelos privativos nas amostras de subpopulações (alelos privativos – são aqueles encontrados em apenas uma população). De acordo com este entendimento, o N_m foi considerado inversamente proporcional à Deriva Genética, ou seja, na modelagem da

fuzzy, quando Nm é baixo Deriva Genética é alta. O valor de entrada foi referente ao Nm das subpopulações do Paraná (Nm=0,63), sendo que o mínimo encontrado entre as populações de *G. psidii* foi 0,0592 e o máximo 1,5093, os grupos fuzzy para Nm e a base de regras foram categorizados e combinados de igual maneira para *G. ficicola*.

Os valores de pertinência $\{\mu(x)\}$ de todas as saídas das variáveis ou indicadores para Adaptabilidade de AD=0,365 são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11. Variáveis e Indicadores *output* com o fuzzificador (F) e valores de pertinência $\{\mu(x)\}$ com seus respectivos conjuntos fuzzy interceptados para *G. psidii*.

Variável output	F	1º conjunto $\mu(x)$ / fuzzy	2º conjunto $\mu(x)$ / fuzzy
QH – Qualidade do Hospedeiro	0,197	0,7575 Ruim	0,2425 Bom
IB – Interação Biótica	0,357	0,5272 Pouco Favorável	0,428 Médio Favorável
EP – Estrutura da Paisagem	0,326	0,58 Muito Pouco Natural	0,42 Pouco Natural
T – Temperatura	18,6	0,938 Média	0,061 Baixa Média
IA - Interação Abiótica	0,617	0,532 Médio Favorável	0,468 Favorável
I – Interações	0,364	0,544 Pouco Favorável	0,456 Médio Favorável
DG – Deriva Genética	0,805	0,7625 Alta	0,2375 Média
FG – Fluxo Gênico	0,239	0,696 Baixo	0,304 Médio
HG - Diversidade Genética	0,217	0,664 Homogênea	0,336 Pouco Homogênea
AD - Adaptabilidade	0,365	0,6625 Em Adaptação	0,3375 Sem indícios de Adapt.

Na Figura 26 observa-se que as variáveis Interações Abióticas e Deriva Genética apresentaram maior valor defuzzificado, ou seja, pertencem a grupos categorizados como “grandes” e as demais variáveis apresentaram defuzzificador abaixo de 0,40 pertencentes a grupos com categorização menores.

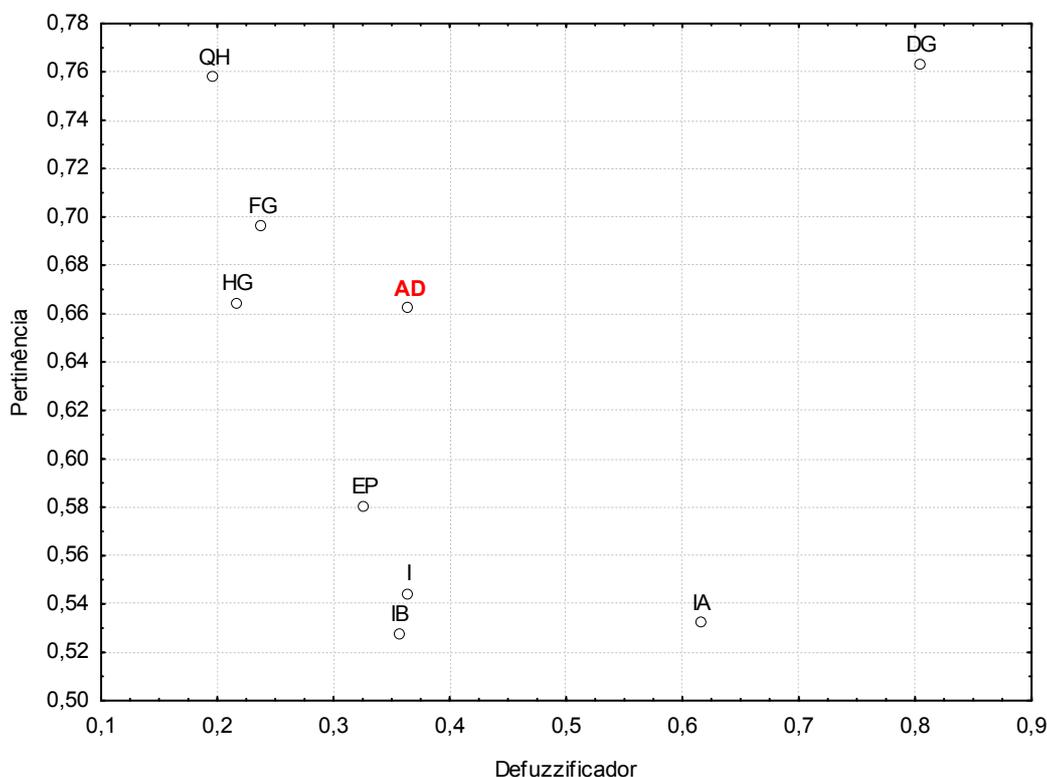


Figura 26. Dispersão dos parâmetros utilizados no modelo IADEA em relação ao fuzzificador e a pertinência de cada variável para Adaptabilidade de 0,365 para *G. psidii*. (AD, adaptabilidade; DG, deriva genética; EP, estrutura da paisagem; FG, fluxo gênico; HG, diversidade genética; I, interações; IA, interações abióticas; IB, interações bióticas; QH, qualidade do hospedeiro).

O grau de Adaptabilidade para as duas espécies de *Greenidea*, 0,5 para *G. ficicola* e 0,365 para *G. psidii*, foram classificadas no conjunto fuzzy Em Adaptação, porém *G. ficicola* com pertinência total (1) e *G. psidii* dividindo a pertinência com o grupo Sem indícios de Adaptação com 0,33 de pertencimento. Esses resultados corroboram com os resultados encontrados nos capítulos anteriores, principalmente em relação ao comportamento alimentar (Capítulo 2) e à diversidade genética (Capítulo 4). Sendo que para *G. psidii* foi registrado um tempo bem menor de permanência no floema em relação ao total de registro em 24 h do que para *G. ficicola*. Além disso, a heteroziguidade foi

menor, expressando maior variabilidade genética interespecífica e, portanto, maior potencial ao estabelecimento local e maior índice de fixação (F_{st}), em que o número de migrantes (N_m) foi menor, refletindo um menor fluxo gênico.

De acordo com Cox (2004), as espécies exóticas podem ser introduzidas em novas áreas onde possuem baixo potencial de adaptação, nos quais fracassam no estabelecimento, mas com o tempo, por mais que a dispersão das populações seja lenta, pode resultar no sucesso adaptativo da espécie. Os dados das variáveis do Indicador Desempenho *Fitness* são de extrema importância para a verificação do status de uma espécie. Visto que *G. ficicola* e *G. psidii* não possuem esses dados disponíveis na literatura e não foi possível obtê-los neste trabalho, para uma classificação mais robusta do seu status sugere-se a obtenção destas variáveis, em estudos futuros, para aplicação no modelo IADEA.

3.2.3. *Cinara atlantica*

A seguir são apresentados resultados da aplicação do modelo IADEA para o pulgão-gigante-do-pinus, *C. atlantica*, que foi introduzido no Brasil na década de 1990 e encontra-se amplamente distribuído causando danos consideráveis no setor florestal, nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. Sendo que, para minimizar os danos causados por esses pulgões, iniciou-se em 2001 pela Embrapa Florestas juntamente com outras instituições nacionais e estrangeiras, o programa de controle biológico com a introdução do parasitóide *Xenostigmus bifasciatus* Ashmed 1891 (Hymenoptera: Braconidae) (Penteado *et al.* 2004).

As variáveis para *C. atlantica* obtidas por Penteado (2007) estão contempladas nos Indicadores Desempenho *Fitness* e Interações, em que as variáveis foram com ajustes proporcionais aos valores, possibilitando a adequação e padronização para alimentação dos dados no IADEA. O Indicador Diversidade Genética não está disponibilizado na referência anterior, sendo, assim, excluído da modelagem. A obtenção da Adaptabilidade foi a intersecção direta dos Indicadores Desempenho *Fitness* e Interações.

Para o Indicador Desempenho *Fitness*, o valor mínimo da fecundidade de *C. atlantica* foi de 10,4 encontrado por Penteado (2007) e o máximo de 46,7 registrado por Camargo *et al.* (2005). O dado de entrada foi referente à fecundidade das fêmeas de linhagens do Paraná (25,4), ajustado para escala entre 0 e 1, com o valor de 0,68. A sobrevivência máxima foi registrada com 100% e mínima com 41,6%. O dado de entrada foi referente a linhagens do PR com 100% (1 na escala entre 0 e 1).

A análise do comportamento alimentar de *C. atlantica* obteve um valor entre $4,7 < CA < 88,2$ e o dado de entrada foi a média obtida de 20 indivíduos com 52,3, sendo 0,61 na escala entre 0 e 1.

O Tamanho do Corpo, tendo o Comprimento do Corpo como referência, obteve intervalos entre $1,7 < CC < 2,86$, como dado de entrada foi considerado a média das medidas de indivíduos do PR de 2,47 e ajustado na escala entre 0 e 1 obteve o valor de 0,72.

A Abundância de *C. atlantica* em *Pinus* sp. foi representada pela quantidade de plantas com a presença dos afídeos. A porcentagem mínima registrada foi de 7,7% e a máxima de 99%. Segundo Penteado (2007), um nível moderado da abundância foi de 22,3, sendo considerado como dado de entrada, ficando com 0,24 na escala entre 0 e 1.

A Estrutura da Paisagem foi baseada no ambiente em que foram realizados os estudos ou a procedência dos afídeos, os quais foram obtidos a partir de plantios comerciais de *Pinus* sp., ou seja, uma área com grande influência de manejo florestal, utilizando como dado de entrada $SAF = 0,9$ e $SN = 0,15$.

O ajuste feito no modelo em relação à obtenção direta da Adaptabilidade através da intersecção entre *Fitness* e Interações é apresentado na Figura 27 e a intersecção entre os indicadores principais na obtenção da Adaptabilidade está representado na Tabela 12.

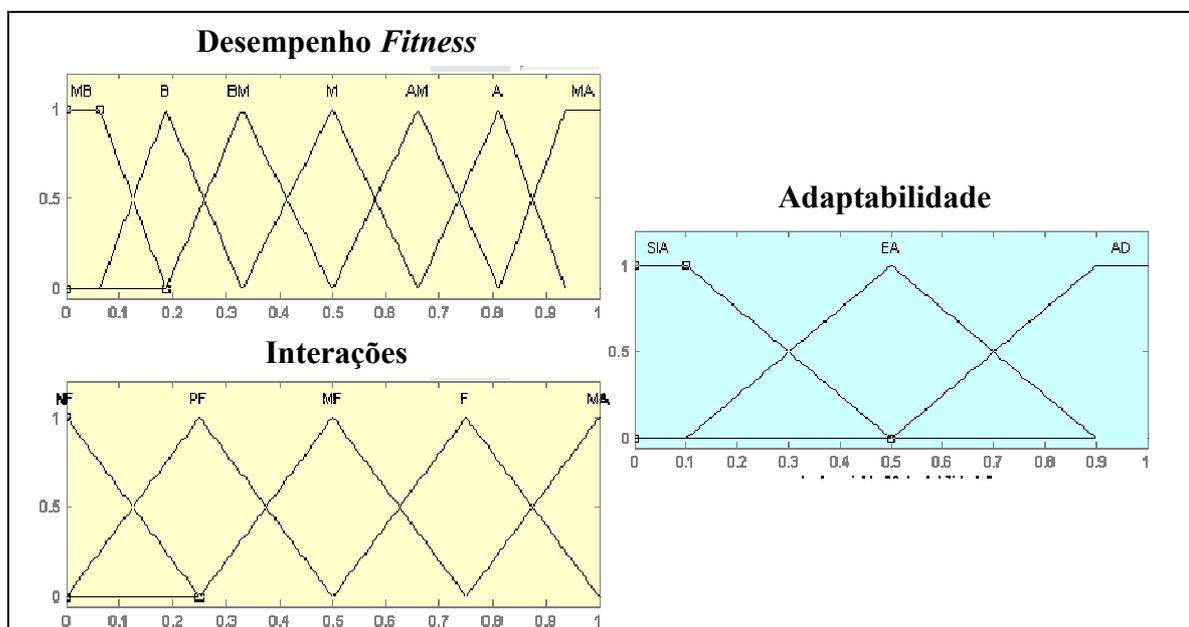


Figura 27. Conjuntos fuzzy dos indicadores, Desempenho *Fitness* (DF), Interações (I) e Adaptabilidade (AD).

Tabela 12. Intersecção dos Indicadores, Desempenho *Fitness* (DF) e Interações (I), na obtenção do produto do Indicador Adaptabilidade (AD). Base de regras ($DF \cap I = AD$).

DF \ I	MB	B	BM	M	AM	A	MA
NF	SIA	SIA	SIA	SIA	SIA	EA	EA
PF	SIA	SIA	SIA	SIA	EA	EA	EA
MF	SIA	SIA	EA	EA	EA	AD	AD
F	EA	EA	EA	EA	EA	AD	AD
AF	EA	EA	EA	EA	EA	AD	AD

I (NF, não favorável; PF, pouco favorável; MF, médio favorável; F, favorável; AF, altamente favorável)
 DF (MB, muito baixo; B, baixo; BM, baixo médio; M, médio; AM, alto médio; A, alto; MA, muito alto)
 AD (SAI, sem indícios de adaptação; EA, em adaptação; AD, adaptada)

O valor defuzzificado com as respectivas pertinências aos conjuntos está apresentado na Tabela 11.

Tabela 11. Variáveis e Indicadores *output* com o fuzzificador (F) e valores de pertinência $\{\mu(x)\}$ com seus respectivos conjuntos fuzzy interceptados para *C. atlantica* (1° conjunto, maior pertencimento; 2° conjunto, menor pertencimento).

Variável output	F	1° conjunto $\mu(x)$ / fuzzy	2° conjunto $\mu(x)$ / fuzzy
DF – <i>Fitness</i>	0,781	0,7934 Alto	0,2065 Médio alto
QH – Qualidade Hospedeiro	0,584	0,79 Bom	0,21 Ótimo
IB – Interação Biótica	0,631	0,524 Médio Favorável	0,476 Favorável
EP – Estrutura da Paisagem	0,263	0,79 Muito Pouco Natural	0,21 Pouco Natural
T – Temperatura	14,6	0,6769 Média Baixa	0,3230 Média
IA - Interação Abiótica	0,524	0,904 Médio Favorável	0,096 Favorável
I – Interações	0,54	0,84 Médio Favorável	0,16 Médio Favorável
AD - Adaptabilidade	0,709	0,5225 Adaptada	0,4775 Em Adaptação

Observa-se na Figura 28, para Adaptabilidade de 0,709, a qual se classificou no grupo de espécies adaptada com $\mu(x)=0,5225$, a maioria das variáveis apresentaram defuzzificador acima de 0,5, sendo que a Estrutura da Paisagem obteve um defuzzificador baixo, pois para o status de espécie praga para *C. atlantica*, um ambiente bastante homogêneo favorece seu desenvolvimento pela disponibilidade abundante de alimento e, para os afídeos particularmente, pela facilidade em encontrar o hospedeiro.

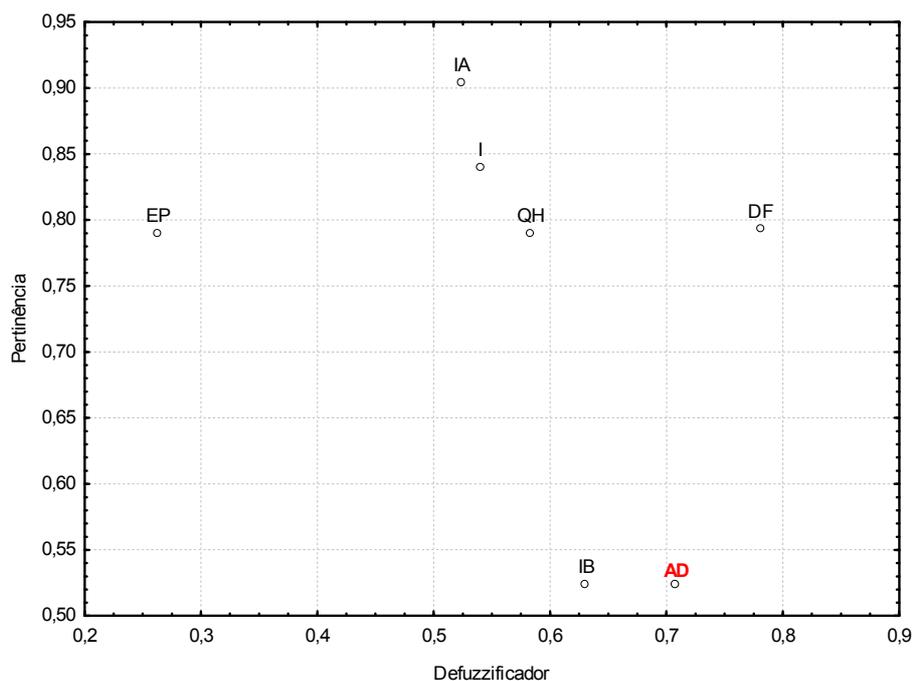


Figura 28. Dispersão dos parâmetros utilizados no modelo IADEA em relação ao defuzzificador e a pertinência de cada variável para Adaptabilidade de 0,709 para *C. atlantica*. (AD, adaptabilidade; DF, Desempenho *Fitness*; EP, estrutura da paisagem; I, interações; IA, interações abióticas; IB, interações bióticas; QH, qualidade do hospedeiro).

O alto grau de Adaptabilidade de *C. atlantica* era esperado, devido a relatos na literatura de se tratar de uma espécie praga com níveis altos de infestação causando danos ao sistema florestal de cultivo de *Pinus*. Portanto, o grau de pertencimento ao conjunto Adaptada, obteve um valor mediano (0,5225), levando a um grau de incerteza na tomada de decisão, devendo ser investido na obtenção das variáveis do Indicador Diversidade Genética possibilitando agregar valores que possam contribuir com um conhecimento mais completo do status desta espécie.

3.3. Estrutura do Modelo de Inferência Fuzzy

O modelo de Indicadores de Adaptabilidade de Espécies ao Ambiente (IADEA) foi construído com o intuito de fornecer subsídios lógicos para a interpretação do sistema dinâmico que agrega vários fatores simultaneamente e auxiliar na tomada de decisão em relação ao status de espécies exóticas. No entanto, o modelo possui limitações concernentes à sua estrutura, podendo necessitar de ajustes de acordo com as particularidades das espécies a serem investigadas. No entanto, esta maleabilidade do modelo é uma das características da Lógica Fuzzy, em que o fato desta estar mais condizente com a realidade, leva a níveis de adequações mais repetitivos comparados com análises determinísticas. Sendo assim, acredita-se que as repetidas adequações no universo das variações presentes em sistemas biológicos favorecerão o ajuste do modelo para uma gama maior de situações minimizando os ajustes a cada situação.

Considerando o modelo IADEA proposto, cabe ressaltar que alguns dados de entrada, como o Tamanho Efetivo da População (N_e) e o Índice de Fixação (F_{st}), não necessitam estar presentes na arquitetura do modelo, pois são proporcionais à Deriva Genética e ao Fluxo Gênico, respectivamente. Porém, optou-se em agregá-los ao modelo por serem categorizados de acordo com a literatura, obtendo intervalos já pré-definidos facilitando a interpretação das classes propostas para a Deriva e Fluxo gênicos.

Adriaenssens *et al.* (2006) compararam modelos fuzzy com outras técnicas de análise multivariada, sendo que os modelos fuzzy apresentaram-se vantajosos por serem simples (as relações entre a entrada e saída das variáveis podem ser explicadas com regras lingüísticas) e robusto (o desempenho não depende do “aprendizado” das novas variáveis de entrada e as regras podem ser facilmente adicionadas).

Assim sendo, o modelo IADEA foi considerado simples, no qual foram possíveis entradas totalmente lingüísticas de acordo com o conhecimento dos pesquisadores e apoio da literatura pertinente. O modelo foi considerado robusto, pois, tomando como exemplos as variáveis Fluxo Gênico e Deriva Genética, estas tiveram posições opostas nos gráficos da distribuição dos indicadores para os graus de adaptabilidade encontrados. Estas duas variáveis são inversamente proporcionais e quanto maior o fluxo gênico, maior a diversidade genética e menor a deriva, conseqüentemente maior a chance da espécie se adaptar ao novo ambiente. O fato da espécie *C. atlantica* ter obtido maior pertinência no grupo de espécie adaptada também contribuiu com a robustez do modelo, já que é de conhecimento que esta espécie de afídeo possui o status de praga em cultivos de *Pinus* sp.

4. CONCLUSÕES

- O Sistema de Inferência Fuzzy permite a modelagem de indicadores para inferência de adaptabilidade de espécies exóticas em um modelo biológico realista;
- A modelagem Fuzzy demonstra que as espécies de afideos *G. ficicola* e *G. psidii* estão em adaptação na região sul do Brasil, e que *G. ficicola* apresenta um grau de adaptabilidade maior que *G. psidii*;
- *C. atlantica* está adaptada aos cultivos de *Pinus* no sul do Brasil;
- O modelo de indicadores de adaptabilidade de espécies ao ambiente IADEA é válido e robusto para inferência da adaptabilidade de *G. ficicola*, *G. psidii* e *C. atlantica*.

O modelo biológico proposto e aplicado para inferir sobre o grau de adaptação das espécies *G. ficicola* e *G. psidii*, baseado em indicadores de adaptabilidade de espécies ao ambiente (IADEA), modelado pela Lógica Fuzzy, possibilitou testar a hipótese extremamente complexa deste estudo, refletindo, com realismo, o status adaptativo destas espécies exóticas no Brasil. A Lógica Fuzzy provou ser uma ferramenta robusta para interpretar, separadamente ou simultaneamente, os dados ecológicos, morfométricos, comportamentais e moleculares, usados como indicadores ou variáveis dentro do modelo biológico da adaptabilidade.

Finalmente, o estudo também alerta para a necessidade de se desenvolver mais estudos e de se proceder à coleta de dados e informações para alimentar e realimentar modelos que possibilitam maior entendimento dos sistemas biológicos. Enfatizamos, ainda, a necessidade do conhecimento teórico e prático especializado dos pesquisadores responsáveis por delinear e alimentar os modelos com informações e interpretações precisas, para que o sistema expresse a realidade do evento ou processo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adriaenssens V, Goethalsa P L M, De Pauw N (2006) Fuzzy knowledge-based models for prediction of *Asellus* and *Gammarus* in watercourses in Flanders (Belgium). *Ecol Model* 195: 3–10.
- Agarwala B K, Bhattacharya S (1993) Survival and reproductive strategy in the black citrus aphid *Toxoptera aurantii* in the tropics. In Kindlmann P, Dixon A F G (eds.). *Critical Issues in aphid biology*. Czech Republic, University of South Bohemia, p.9-16.
- Angelini R (1999) Ecossistemas e Modelagem ecológica. In Pompêo M L M (ed). *Perspectivas da Limnologia no Brasil*. 1 ed. São Luís (MA): Gráfica e Editora União 1:1-19.
- Barros L C, Bassanezi R C (2006) *Tópicos de Lógica Fuzzy e Biomatemática.. – Textos didáticos, v.5*. Campinas, Coleção IMECC, 344 p.
- Biondi E, Feoli E, Zuccarello V (2004) Modeling environmental responses of plant associations: a review of some critical concepts in vegetation study. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 23(2): 149-156.
- Bock W, Salski A (1998) A fuzzy knowledge-based model of population dynamics of the Yellow-necked mouse (*Apodemus flavicollis*) in a beech forest. *Ecol Model* 108:155–161.
- Buhusi C V (2000) The across-fiber pattern theory and fuzzy logic: A matter of taste. *Physiology & Behavior* 69: 97–106.
- Chen D G, Hare S R (2006) Neural network and fuzzy logic models for pacific halibut recruitment analysis. *Ecological Modelling* 195: 11–19.
- Cox G W (2004) *Alien species and evolution: The evolutionary ecology of exotic plants, animals, microbes and interacting native species*. Washington, Island Press, 377 p.

- Dieckmann U, O'Hara B, Weisser W (1999) The evolutionary ecology of dispersal. *Trends Ecol Evol* 14: 88-90.
- Dixon A F G (1987) The way of life of aphids: host specificity, speciation and distribution
In Minks A K, Harrewijn P. *Aphids their biology, natural enemies and control*.
Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Science Publishers B.V., 450 p.
- Dlugosch K M, Parker I M (2008) Founding events in species invasions: genetic variation,
adaptive evolution, and the role of multiple introductions. *Mol Ecol* 17: 431–449.
- Freeland J R (2007) *Molecular Ecology*. England, John Wiley & Sons, Ltd, 388 p.
- Futuyma D J (1997) *Biologia Evolutiva*. 2^a ed. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de
Genética/CNPq, 646 p.
- Gouzoules H, Gouzoules S, Tomaszycski M (1998) Agonistic screams and the classification
of dominance relationships: are monkeys fuzzy logicians? *Anim Behav* 55: 51–60.
- Hájek P (1999) Ten questions and one problem on fuzzy logic. *Ann Pur Appl Logic* 96:
157-165.
- Hall A V (1997) A generalized taxon concept. *Bot J Linn Soc* 125: 169–180.
- Hartl D L (1998) *A primer of population genetics*. Sinauer Associates, 305 p.
- Hoffman A A, Parsons P A (1997) *Extreme environmental change and evolution*. 2^a ed.
London, Cambridge University Press, 259 p
- Kangas A S, Kangas J (2004) Probability, possibility and evidence: approaches to consider
risk and uncertainty in forestry decision analysis. *Forest Policy and Economics* 6: 169–
188.
- Karr C L (1996) Adaptive process control using biological paradigms. *Journal of Network
and Computer Applications* 19: 21–44.

- Ioannidou I A, Paraskevopoulos S, Tzionas P (2006) An interactive computer graphics interface for the introduction of fuzzy inference in environmental education. *Interacting with computers* 18: 683–708.
- Lazzarotto D R (2005) Avaliação da qualidade de base cartográfica por meio de indicadores e sistema de inferência fuzzy. Tese Doutorado, Curitiba, UFPR, 231p.
- Lazzarotto D R, Sluter C R, Dalmolin Q (2005) Avaliação quantitativa da generalização cartográfica. *Bol Ciênc Geod* 11(1): 23-43.
- Libelli S M, Cianchi P (1996) Fuzzy Ecological Models. In Pedrycz W, Zimmermann H-J (eds) *Fuzzy Modelling: Paradigms and Practice*. International Series in Intelligent Technologies. 1 ed. Norwell, Massachusetts: Kluwer Academic Publishers, p. 231-263.
- Mackay D S, Robinson V B (2000) A multiple criteria decision support system for testing integrated environmental models. *Fuzzy Sets and Systems* 113: 53-67.
- Mackinson S (2000) An adaptive fuzzy expert system for predicting structure, dynamics and distribution of herring shoals. *Ecol Model* 126: 155–178.
- Maia N B, Martos H L, Barrella W (2001) Indicadores ambientais: conceitos e aplicações. São Paulo, Universidad Pontificia de Comillas de Madrid, 285 p.
- Mammino L (2004) Mentioning fuzzy logic in theoretical chemistry courses: motivations and extent. *J Mol Struct (Theochem)* 709: 231–238.
- Mamdani E H, Assilian S (1975) “An Experiment in Linguistic Synthesis with a Fuzzy Logic Controller”. *International Journal of Man-Machine Studies* 7(1): 1–13.
- Micera S, Sabatini A M, Dario P, Rossi B (1999) A hybrid approach to EMG pattern analysis for classification of arm movements using statistical and fuzzy techniques. *Med Eng Phy* 21: 303–311.

- Novák V (2006) “What is Fuzzy Logic?”. *Fuzzy Sets and Systems* 157: 595–596.
- Ocampo-Duque W, Ferré-Huguet N, Domingo J L, Schuhmacher M (2006) Assessing water quality in rivers with fuzzy inference systems: A case study. *Environ Int* 32: 733–742.
- Ortega N R S (2001) Aplicação da Teoria de Conjuntos Fuzzy a Problemas da Biomedicina. Tese de Doutorado. FAPESP. São Paulo. 138 p.
- Pappas J L (2006) Biological taxonomic problem solving using fuzzy decision-making analytical tools. *Fuzzy Sets and Systems* 157: 1687 – 1703.
- Peixoto M S, Barros L C, Bassanezi R C (2005) Controle Fuzzy de Biocida na Morte Súbita dos Citros. *Biomatemática* 15: 67-76.
- Penteado S R C, Iede E T, Reis-Filho W (2004) Os pulgões-gigantes-do-pinus, *Cinara pinivora* e *Cinara atlantica*, no Brasil. Circular Técnica 87, Embrapa Florestas, Colombo 10 p.
- Penteado S R C (2007) Parâmetros biológicos, tabelas de vida e comportamento alimentar de *Cinara atlantica* (Wilson) (Hemiptera, Aphididae) em laboratório e sua flutuação populacional e danos em progênies de *Pinus taeda* L. (Pinaceae), em campo. Tese de Doutorado, Curitiba, UFPR, 223 p.
- Placer J, Slobodchikoff C N (2000) A fuzzy-neural system for identification of species-specific alarm calls of Gunnison’s prairie dogs, *Behavioural Processes*. 52: 1–9.
- Prentis P J, Wilson J R U, Dormontt E E, Richardson D M, Lowe A J (2008) Adaptive evolution in invasive species. *Trends in Plant Science*, 13(6): 288-294.
- Rabbinge S A W, Dixon A F G (1988) Population development models. In Minks A K, Harrewijn P *World Crop Pests: Aphids their biology, natural enemies and control*, vol.B, Elsevier, The Netherlands, p 21-31.

- Ramsey D, Veltman C (2005) Predicting the effects of perturbations on ecological communities: what can qualitative models offer? *Journal of Animal Ecology* 74: 905–916.
- Ressom H, Natarajan P, Varghesea R S, Musavi M T (2005) Applications of fuzzy logic in genomics. *Fuzzy Sets and Systems* 152: 125–138.
- Ricciardi A (2007) Are modern biological invasions an unprecedented form of global change? *Conserv. Biol.* 21: 329–336.
- Robertson M P, Villet M H, Palmer A R (2004) A fuzzy classification technique for predicting species distributions: applications using invasive alien plants and indigenous insects. *Diversity & Distributions* 10: 461-474.
- Rojas I, Ortega J, Pelayo F J, Prieto A (1999) Statistical analysis of the main parameters in the fuzzy inference process. *Fuzzy Sets and Systems* 102: 157-173.
- Salski A, Fränzle O, Kandzia B P (1996) Introduction. *Ecological Modelling* 85: 1-2.
- Sakai A K, Allendorf F W, Holt J S, Lodge D M, Molofsky J, With K A, Baughman S, Cabin R J, Cohen J E, Ellstrand N C, McCauley D E, O’Neil P, Parker I M, Thompson J N, Weller S G (2001) The population biology of invasive species. *Ann Rev Ecol Syst* 32: 305-332.
- Sandri S, Correa C (1999) Lógica Nebulosa. V Escola de Redes Neurais. c073-c090 p.
- Schaefer J A, Wilson C C (2002) The fuzzy structure of populations. *Can J Zool* 80(12): 2235-2241.
- Segers H (2001) Zoogeography of the Southeast Asian Rotifera. *Hydrobiologia*, 446/447(1): 233-246.
- Skov F, Svenning J C (2004) Potential impact of climatic change on the distribution of forest herbs in Europe. *Ecography* 27(3): 366-380.

- Starfield A, Bleloch M (1986) Building models for conservation and wildlife management. Macmillan Publishing Company. N. Y and Collier Macmillan Publishers. London. 186p.
- Tepavcevic A, Vujic A (1996) On an application of fuzzy relations in biogeography. Information Sciences 89: 71-93.
- Tjallingii WF (1994) Sieve element acceptance by aphids. Eur J Entomol 91: 47–52.
- Trzesniak P (1998) Indicadores quantitativos: reflexões que antecedem seu estabelecimento. Ci. Inf 27(2): 159-164.
- Wan-Xiong W, Yi-Min L, Zi-Zhen L, Fengxiang Y (2003) A fuzzy description on some ecological concept. Ecological Modelling 169: 361-366.
- Wang W X, Li Z Z, Li Y M, Yang F (2004) Fuzzy expression related to biotic community. Ecological Modeling 179: 367–372.
- Wilson J R U, Dormontt E E, Prentis P J, Lowe A J, Richardson D M (2008) Something in the way you move: dispersal pathways affect invasion success. Trends in Ecology and Evolution 24(3): 136-144.
- Wright S (1978) Evolution and genetics of populations. Chicago: University of Chicago Press, 1978. 511 p.
- Wu H, Li B L, Stoker R, Li Y (1996) A semi-add grazing ecosystem simulation model with probabilistic and fuzzy parameters. Ecological Modeling 90: 147-160.
- Zadeh L A (1964) Fuzzy Sets. Information and control 8: 338-353.
- Zadeh L A (1978) Fuzzy sets as a basis for a theory of possibility. Fuzzy Sets and Systems, 1(1): 3-28.

Zadeh L A (1988) Fuzzy Logic. Computer: 83-93. University of California, Berkeley.

Zadeh L A (2008) Is there a need for fuzzy logic? Information Sciences 178: 2751-2779.

ANEXOS

Anexo 1. Localidades de coleta de amostras de populações de *G. ficicola* em *F. benjamina* utilizadas na análise genética pela técnica AFLP.

Amostra	DF/País	Cidade	Latitude	Longitude	Altitude (msnm)
4	MG	Uberlândia	18°55'07"S	48°16'38"O	863
5	SC	Seara	27°09.138	52°18.552	530
6	SC	Piratuba	27°25.164S	51°46.504O	405
10	SC	SMD'Oeste	26°43.910S	53°31.110O	660
11	SC	Chapecó	27°06.327S	52°36.149O	713
18	SC	Ibicaré	27°05.400S	51°21.912O	559
20	SC	Palmitos	27°04.205S	53°09.655O	409
37	SC	Luis Alves	26°43'09,08''S	48°56'35,59''O	119
3	PR	Ivaiporã	24°14.395"S	51°42.341"O	690
17	PR	Sta Cecília do Pavão	23°31,037'S	50°47,131'O	650
25	PR	Assaí	23°22.286S	50°50.758O	590
26	PR	Palmital	24°52.888S	52°13.041O	848
27	PR	Bom Sucesso	23°42.803S	51°45.915O	573
28	PR	Cambé	23°16.821S	51°16.333O	645
29	PR	Jandaia do Sul	23°37.650S	51°40.263O	600
30	PR	Irati	25°28.073S	50°38.251O	845
71	PR	Curitiba	25°26'50,64S	49°13'57,71''O	921
39	EUA	San Diego	32°43'10,73''N	117°09'51,57''O	49
70	África do Sul	Porto Elizabeth	33°57'29"S	25°36'00"L	7

(msnm) – metros sobre o nível do mar

Anexo 2. Localidades de coleta de amostras de populações de *G. psidii* em *P. guajava* utilizadas na análise genética pela técnica AFLP.

Amostra	DF/País	Cidade	Latitude	Longitude	Altitude (msnm)
7	SC	Piratuba	27°25.164S	51°46.504O	405
19	SC	Chapecó	27°06.327S	52°36.149O	713
21	SC	Canoinhas	26°10S	50°23O	839
22	SC	Videria	27°00'30"S	51°09'06"O	750
38	SC	S.Fco do Sul	26°14'41,29''S	48°38'20,95''O	4
48	SC	Bombinhas	27°08'11,35''S	48°30'53,95''O	21
50	SC	Florianópolis	27°35'51,24''S	48°32'57,39''O	8
31	PR	Irati	25°28.073S	50°38.251°O	845
32	PR	Sta Cecília do Pavão	23°31.037S	50°47.131O	650
36	PR	Colombo	25°17'36,20''S	49°13'23,62''O	1033
41	PR	Jataizinho	23°15.535S	50°58.844O	370
47	PR	Gaivotas	25°49'03"S	48°32'34"O	5
52	PR	Morretes	25°28'34,90''S	48°50'08,86''O	11
54	PR	Curitiba	25°26'50,64S	49°13'57,71''O	921
44	CR	Coronado	9°98'5327''N	-83°82'5897''O	844
46	CR	Villa Neily	8°64'353''N	-82°96'358''O	24
53	CR	Alajuela	10°00'5360''N	-84°26'6131''O	1436
34	MG	Patos de Minas	18°34'44"S	46°31'04"O	815
56	RS	Iraí	27°11'19,48''S	53°15'06,15''O	246

(msnm) – metros sobre o nível do mar

Anexo 3. Parâmetros do termociclador* para amplificação pré-seletiva (PCR-AFLP) utilizada com amostras de DNA genômico de *G. ficicola* e *G. psidii*.

Ciclos	Temperatura (°C)	Tempo
1	72	1 min
20	94	20 seg
	56	30 seg
	72	2 min
1	60	30 min
Hold (armazenar)	4	Até utilizar

*manter o termociclador com lid=105 °C

Anexo 4. Parâmetros do termociclador* para amplificação seletiva (PCR-AFLP) utilizada com amostras de DNA genômico de *G. ficicola* e *G. psidii*.

Ciclos	Temperatura (°C)	Tempo
1	94	2 min
1	94	20 seg
	66	30 seg
	72	2 min
1	94	20 seg
	65	30 seg
	72	2 min
1	94	20 seg
	64	30 seg
	72	2 min
1	94	20 seg
	63	30 seg
	72	2 min
1	94	20 seg
	62	30 seg
	72	2 min
1	94	20 seg
	61	30 seg
	72	2 min
1	94	20 seg
	60	30 seg
	72	2 min
1	94	20 seg
	59	30 seg
	72	2 min
1	94	20 seg
	58	30 seg
	72	2 min
1	94	20 seg
	57	30 seg
	72	2 min
20	94	20 seg
	56	30 seg
	72	2 min
1	60	30 min
Hold (armazenar)	4	Até utilizar

*manter o termociclador com lid=105 °C