

REGINA CÉLIA ZONTA DE CARVALHO

Bioecologia de *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy)  
(Hemiptera: Aphididae) em *Lagerstroemia indica* L.  
(Lythraceae), em Curitiba, Paraná, e Variabilidade Genética  
Determinada por PCR-RAPD

Tese apresentada à Coordenação do Programa 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.

Curitiba

2004

REGINA CÉLIA ZONTA DE CARVALHO

“Bioecologia de *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy) (Hemiptera: Aphididae) em *Lagerstroemia indica* L. (Lythraceae), em Curitiba, Paraná, e variabilidade genética determinada por PCR-RAPD.”

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de “Doutor em Ciências”, no Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:



Profa. Dra. Sonia Maria Noemberg Lazzari (Orientadora)

UFPR



Prof. Dr. Carlos Frederico Wilcken

UNESP/BOTUCATU SP



Dr. Alfredo Otavio R. de Carvalho

IAPAR/Londrina PR



Dr. Edilson Batista de Oliveira

Embrapa/Floresta Colombo PR



Profa. Dra. Lúcia Massutti de Almeida

UFPR

Curitiba, 30 de abril de 2004.

## AGRADECIMENTOS

À Dra. Sonia Maria Noemberg Lazzari pela segura e dedicada orientação durante a realização deste projeto, pelos ensinamentos e oportunidades concedidas desde que iniciei os estudos com afídeos, pelo constante encorajamento profissional e sua grande amizade.

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Entomologia da Universidade Federal do Paraná, pela oportunidade em dar continuidade à minha formação profissional, e aos professores pelos ensinamentos e amizade.

Ao Instituto Agrônomo do Paraná pelas facilidades concedidas durante a realização das análises moleculares. Especial agradecimento ao Dr. Luiz Gonzaga Esteves Vieira e Dr. Luiz Filipe P. Pereira, do Laboratório de Biotecnologia Vegetal por todo suporte laboratorial para as análises de PCR-RAPD e, pela confiança e convívio durante minha permanência no laboratório. Ao Dr. Alfredo Otávio R. de Carvalho pelo seu apoio e ensinamentos durante os primeiros contatos com protocolos moleculares.

À Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento do Paraná, por conceder a autorização para fazer o curso de Pós-Graduação, e à Coordenação e aos colegas do Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti pelo apoio durante a realização do curso.

À Dra. Clarice Azevedo Freire do Departamento de Estatística da Universidade Federal do Paraná pelo desenvolvimento do modelo estatístico para os dados de ovos (Capítulo II).

À Dra. Lúcia Massutti de Almeida e à Dra. Luciane Marinoni, da Universidade Federal do Paraná, pelas identificações dos Coccinellidae e Syrphidae predadores, respectivamente, e ao Dr. Marcelo Teixeira Tavares da Universidade Federal do Espírito Santo, pela identificação dos Hymenoptera parasitóides.

Ao Dr. Edílson Batista de Oliveira, da Embrapa Florestas, pelos esclarecimentos e suporte durante as análises estatísticas.

À Dra. Elizabete Keiko Takahashi pelas bibliografias concedidas, esclarecimentos e sugestões nos protocolos moleculares.

Ao colega do curso de Pós-Graduação, Marcelo Lopes da Silva, pelo convívio e auxílio nas análises dos dados moleculares.

Às amigas e colegas do curso de Pós-Graduação: Daniela Cristina Calado pelo convívio sempre muito agradável, pelo incentivo e pelas conversas naqueles momentos difíceis durante a nossa primeira incursão na área de biologia molecular, e Josiane Teresinha Cardoso pela amizade e ajuda durante o período de coleta de dados.

Às meninas do laboratório de Biotecnologia Vegetal/Iapar, Sandra, Lúcia, Alessandra, Gisele, Ilara, Iris e aos meninos Hugo e Tiago pela acolhida receptiva e pelo agradável convívio.

Ao Cláudio pelo companheirismo, carinho, suporte logístico e emocional que foram essenciais nesta caminhada.

Aos meus familiares pelo carinho e apoio durante a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

Agradecimentos .....	i
Prefácio .....	vi
CAPÍTULO I - Ciclo de vida e flutuação sazonal de <i>Tinocallis kahawaluokalani</i> (Kirkaldy) (Hemiptera: Aphididae) em <i>Lagerstroemia indica</i> L. (Lythraceae), em Curitiba, PR .....	1
RESUMO .....	2
ABSTRACT .....	3
INTRODUÇÃO .....	4
MATERIAL E MÉTODOS .....	8
Área de Estudo .....	8
Amostragem com Armadilhas .....	9
Amostragem nas Plantas .....	10
Análise Estatística .....	11
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	12
Ciclo de Vida .....	12
Flutuação Sazonal em Armadilhas .....	15
Flutuação Sazonal nas Plantas .....	18
CONCLUSÕES .....	24
LITERATURA CITADA .....	25
CAPÍTULO II - Abundância e distribuição dos ovos de <i>Tinocallis kahawaluokalani</i> Kirkaldy (Hemiptera: Aphididae) em galhos de <i>Lagerstroemia indica</i> L. (Lythraceae), em Curitiba, PR .....	33
RESUMO .....	34
ABSTRACT .....	34
INTRODUÇÃO .....	35
MATERIAL E MÉTODOS .....	37
Amostragem dos Ovos .....	37
Análises Estatísticas e Modelo Estatístico .....	38
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	40

Modelo Estatístico .....	47
CONCLUSÕES .....	53
LITERATURA CITADA .....	53
CAPÍTULO III - Abundância e sazonalidade de inimigos naturais de <i>Tinocallis kahawaluokalani</i> (Kirkaldy) (Hemiptera: Aphididae) em <i>Lagerstroemia indica</i> L. (Lythraceae), em Curitiba, PR .....	56
RESUMO .....	57
ABSTRACT .....	58
INTRODUÇÃO .....	59
MATERIAL E MÉTODOS .....	62
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	63
CONCLUSÕES .....	70
LITERATURA CITADA .....	71
CAPÍTULO IV - Parâmetros biológicos de <i>Tinocallis kahawaluokalani</i> (Kirkaldy) (Hemiptera: Aphididae) em <i>Lagerstroemia indica</i> L. (Lythraceae), em laboratório.....	75
RESUMO .....	76
ABSTRACT .....	77
INTRODUÇÃO .....	78
MATERIAL E MÉTODOS .....	80
Coleta dos Afídeos.....	80
Metodologia de Criação.....	81
Avaliação dos Parâmetros Biológicos .....	82
Análise Estatística .....	83
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	84
CONCLUSÕES .....	91
LITERATURA CITADA .....	92
CAPÍTULO V - Variabilidade genética de <i>Tinocallis kahawaluokalani</i> (Kirkaldy) (Hemiptera: Aphididae) em <i>Lagerstroemia indica</i> L. (Lythraceae), determinada por PCR-RAPD, em algumas regiões do Brasil.....	95
RESUMO .....	96

ABSTRACT .....	97
INTRODUÇÃO .....	98
MATERIAL E MÉTODOS .....	100
Amostras de Afídeos .....	100
Extração e Quantificação do DNA Genômico .....	102
Primers e Amplificação do DNA .....	102
Análise dos Produtos PCR-RAPD .....	103
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	104
CONCLUSÕES .....	119
LITERATURA CITADA .....	119
ANEXO .....	127
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	130

## PREFÁCIO

Os afídeos evoluíram, primariamente, nas regiões temperadas com invernos rigorosos, onde a maioria das espécies se desenvolve holocíclicamente, passando por ciclos de gerações partenogénicas alternadas com uma fase sexual para a produção dos ovos de inverno. Entretanto, muitas espécies de afídeos tornaram-se cosmopolitas e, em regiões de clima tropical e subtropical, tornaram-se pragas de diversas culturas, reproduzindo-se quase que exclusivamente por partenogênese contínua, ou seja, com desenvolvimento anolocíclico.

A maioria das espécies de afídeos introduzidas no Brasil desenvolve-se anolocíclicamente, porém, o registro de formas gâmicas e ambifásicas de algumas espécies é indicativo de que determinadas regiões apresentam condições climáticas e disponibilidade de hospedeiros favoráveis à reprodução sexuada.

A recente detecção de *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy, 1907) (Hemiptera: Aphididae) no Brasil, associada a *Lagerstroemia indica* Linnaeus, 1762 (Lythraceae), que é uma árvore amplamente utilizada na arborização urbana e paisagismo, e a falta de estudos sobre esta espécie de afídeo levaram ao desenvolvimento desta pesquisa, visando investigar seu ciclo de vida e outros aspectos bioecológicos em sua nova região de ocorrência. Assim, com o intuito de contribuir para o conhecimento geral sobre o ciclo de vida e estabelecimento de espécies de afídeos introduzidas nas regiões de clima tropicais e subtropicais, particularmente de *T. kahawaluokalani*, e gerar informações para o manejo ecológico do afídeo em *L. indica*, foi desenvolvida esta pesquisa que é apresentada em cinco capítulos:

No Capítulo I, são investigados o ciclo de vida e a flutuação sazonal de *T. kahawaluokalani*, sobre árvores de *L. indica*, em uma área na cidade de Curitiba, PR, onde a planta é utilizada e devidamente conduzida para fins de urbanização das ruas;

O Capítulo II refere-se à ocorrência dos ovos de *T. kahawaluokalani* sobre *L. indica*, apresentando um modelo para sua distribuição espacial ao longo dos galhos;

No Capítulo III, são apresentados os resultados do levantamento dos inimigos naturais, incluindo parasitóides e predadores, presentes nas árvores de *L. indica*, associados a *T. kahawaluokalani*;

O Capítulo IV refere-se aos estudos de parâmetros biológicos de *T. kahawaluokalani*, sob condições ambientais controladas, incluindo a ocorrência dos diferentes fenótipos do ciclo, dados do desenvolvimento ninfal, reprodução e fecundidade das diferentes formas de fêmeas e de uma forma variante registrada na área de coleta;

No Capítulo V, são apresentados os resultados da análise de PCR-RAPD para determinar a variabilidade genética de amostras de *T. kahawaluokalani* coletadas em algumas regiões, a fim de apreciar a similaridade entre as populações introduzidas no Brasil.

## CAPÍTULO I

Ciclo de vida e flutuação sazonal de *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy)

(Hemiptera: Aphididae) em *Lagerstroemia indica* L. (Lythraceae), em

Curitiba, PR

## RESUMO

O pulgão-da-extremosa, *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy, 1907), foi registrado recentemente no Brasil, desenvolvendo-se holocíclicamente sobre *Lagerstroemia indica* Linnaeus, 1762 (Lythraceae). Os objetivos deste estudo foram determinar o ciclo de vida e flutuação populacional deste afídeo na sua nova região de ocorrência. As populações de *T. kahawaluokalani* foram monitoradas, quinzenalmente, durante dois anos consecutivos, com armadilhas amarelas de água. Árvores com idade de 5-10 anos e 20-30 anos também foram amostradas durante um ciclo fenológico de *L. indica*. Pela coleta das diversas formas, confirmou-se que o desenvolvimento de *T. kahawaluokalani* é holocíclico em Curitiba, PR, composto de várias gerações partenogénicas na primavera e verão e uma geração formada por fêmeas ovíparas e machos reproduzindo-se sexuadamente durante o outono e produzindo ovos de inverno, depositados nos galhos de *L. indica*. Ocorreram dois picos populacionais de *T. kahawaluokalani* no ano, correlacionados com a fenologia da planta e o fotoperíodo. O primeiro pico foi representado exclusivamente por fêmeas aladas partenogénicas e ninfas, no final de novembro e início de dezembro, com fotofase de 13 horas e meia, durante o desenvolvimento vegetativo da planta. O segundo foi representado por sexúparas, fêmeas ovíparas, machos e ninfas, no final de março, nas árvores de 5-10 anos e em meados de abril nas de 20-30 anos, na fase de senescência da planta e fotofase de aproximadamente 11 horas. A infestação nas árvores de 20-30 anos foi significativamente maior do que nas de 5-10 anos; sendo que a posição dos galhos nos pontos cardeais não afetou significativamente a distribuição do afídeo. Essas informações sobre o ciclo de vida e a flutuação sazonal de *T. kahawaluokalani* são fundamentais não somente para o conhecimento da afidofauna, mas também para a

implantação de estratégias de manejo do afídeo nas plantas de *L. indica*, em áreas onde esta é utilizada para o paisagismo.

## ABSTRACT

The crapemyrtle aphid *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy, 1907) was recently recorded in Brazil, going through a holocyclic development on *Lagerstroemia indica* Linnaeus, 1762 (Lythraceae). The objectives of this study were to determine this aphid life cycle and seasonal population variation in its new area. Populations of *T. kahawaluokalani* were monitored with yellow pan traps, every 15 days for two years. Plants of 5-10 year-old and 20-30 years old were also examined during a phenological cycle of *L. indica*. By the collection of the different morphs, it was confirmed that the development of *T. kahawaluokalani* in Curitiba, PR, is holocyclic. It was composed of several parthenogenetic generations in the spring and summer, and a generation of oviparous females and males that reproduced sexually during the autumn, producing winter eggs. The eggs were deposited on branches of *L. indica*. During the phenological cycle of *L. indica* occurred two population peaks of *T. kahawaluokalani*, which were correlated with the plant phenological cycle and photoperiod. The first peak was represented exclusively by winged parthenogenetic females and nymphs and occurred by the end of November and beginning of December, under 13 and a half hour of photophase, during the vegetative development of the plant. Sexuparae, oviparous females, males and nymphs represented the second population peak by the end of March on the 5-10 year-old trees and in middle April on 20-30 year-old trees, when the plants entered in senescence and the photophase was about 11 hours. On the 20-30 years-old

trees the number of aphids was significantly higher than that on 5-10 years-old trees. The cardinal position of branches did not affect significantly aphid distribution. Such information about life cycle and seasonal fluctuation of *T. kahawaluokalani* is fundamental not only for the knowledge of the aphid fauna, but also for population control on *L. indica*, since these plants have economic importance for landscaping.

## INTRODUÇÃO

O gênero *Tinocallis* Matsumura, 1919 (Hemiptera: Aphididae) compreende 21 espécies (Quednau 2001), associadas principalmente com Ulmaceae, sendo esta fauna particularmente rica na Ásia (Blackman & Eastop 1994; Hopkins 1997; Quednau 2001). Poucas espécies, entretanto, estão associadas a outras famílias de plantas, dentre as quais, *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy, 1907) que tem como hospedeiro *Lagerstroemia indica* Linnaeus, 1762 (Lythraceae). No Brasil, esta planta é conhecida como extremosa, escumilha, flor-de-são-sebastião, entre outras designações comuns (Corrêa 1926; Lourteig 1969).

Essa litrácea de folhas caducifólias, nativa da China, Japão e outras regiões do Sudeste da Ásia, é difundida em várias partes do mundo para uso em arborização urbana e paisagismo. Nos Estados Unidos, um programa de melhoramento desenvolvido nos últimos 30 anos (Egolf & Andrick 1978), tem produzido inúmeras cultivares que apresentam atributos desejáveis para o paisagismo, tais como: porte das árvores, coloração das flores, tempo de florescimento, resistência a doenças e aumento do vigor das árvores, entre outros, que tornaram essa espécie ornamental uma das mais utilizadas naquele país, tanto pela sua versatilidade em se desenvolver sob diferentes condições

climáticas e de solos, como pela beleza e coloração das flores durante o verão e as múltiplas cores das folhas durante o outono (Knox 2003).

Embora Quednau (2001) considere que nenhuma espécie do gênero *Tinocallis* seja prejudicial às suas plantas hospedeiras, o afídeo *T. kahawaluokalani* e o fungo *Erysiphe lagerstoemiae* E. West são considerados os principais agentes de depreciação de *L. indica*, nos Estados Unidos (Egolf & Andrick 1978). As colônias de *T. kahawaluokalani*, formadas na face abaxial das folhas, estão associadas à queda prematura de folhas, deformações nos brotos, curvatura da nervura principal e ondulação do limbo foliar, quando o ataque severo ocorre em folhas jovens de *L. indica* (Patti 1984; Leclant & Renoust 1986; La Rossa *et al.* 1997). Populações numerosas também podem causar a morte de árvores de pequeno porte ou em situação de estresse hídrico (Mier-Durante *et al.* 1995); e a seca total da planta em casos de altas infestações ano após ano (Patti 1984). Além dos danos diretos decorrentes da alimentação, esses autores salientam que os danos indiretos decorrentes do desenvolvimento da fumagina (*Capnodium* spp.) favorecido pela produção abundante de *honeydew*, reduz drasticamente a superfície fotossintética da planta.

*Tinocallis kahawaluokalani* foi encontrado colonizando outra litrácea, *Lawsnia alba* Linnaeus, na Índia (Agarwala *et al.* 1989) e romã, *Punica granatum* Linnaeus (Punicaceae) nas Filipinas (V.J. Calilung 1988, *apud* Mizell & Know 1993). Entretanto, essas espécies de plantas são consideradas como hospedeiros esporádicos (Blackman & Eastop 1994), enquanto *L. indica* é o hospedeiro específico desta espécie de afídeo (Patti *et al.* 1984; Blackman & Eastop 1994; Quednau 2001).

*Tinocallis kahawaluokalani* é monoécia e holocíclica em *L. indica*, com várias gerações partenogéticas, formadas exclusivamente por fêmeas aladas partenogéticas vivíparas ocorrendo durante o verão, e uma geração gâmica, formada

por fêmeas ovíparas ápteras e machos alados no outono, com a produção de ovos de inverno (Patti *et al.* 1984; Alverson & Allen 1991, 1992).

*Tinocallis kahawaluokalani* foi descrita nas Ilhas Havaianas (Kirkaldy 1907 *apud* Patti *et al.* 1984), no entanto, é uma espécie amplamente distribuída no Leste e Sudeste da Ásia, de onde é originária assim como seu hospedeiro *L. indica* (Patti *et al.* 1984; Blackman & Eastop 1994; La Rossa *et al.* 1997; Quednau 2001). Atualmente, esta espécie de afídeo é encontrada em várias regiões dos Estados Unidos (Richards 1967; Smith & Parron 1978); Honduras e Venezuela (Smith & Cermeli 1979; Cermeli 1970); Porto Rico (Blackman & Eastop 1994); Itália (Patti 1984, Patti *et al.* 1984); França (Leclant & Renoust 1986); Espanha (Mier-Durante *et al.* 1995); Hungria e Croácia (Ripka *et al.* 1998) e no Congo (Remaudière & Le Ru 1994), onde foi provavelmente introduzida pela difusão de *L. indica* como planta ornamental.

Embora *T. kahawaluokalani* seja conhecida desde 1970, na Venezuela (Cermeli 1970), esta espécie foi encontrada somente em 1994-1995 em La Plata, na Argentina (La Rossa *et al.* 1997). Neste mesmo período, a espécie também foi registrada no Brasil, no Estado do Rio Grande do Sul (Pérez Hidalgo *et al.* 1998), e em seguida, 1997-1998, nos Estados de São Paulo e Rio de Janeiro (Peronti 1999, Peronti & Sousa-Silva 2002). No ano de 1998, árvores de *L. indica* com altas infestações *T. kahawaluokalani* foram constatadas em Curitiba, no Estado do Paraná.

No Brasil, a detecção de *T. kahawaluokalani* é recente, no entanto, algumas indicações sugerem que o seu hospedeiro, *L. indica*, pode ter sido introduzido ainda nos tempos coloniais ou pouco depois (Corrêa 1926), mas provavelmente a sua difusão foi posterior decorrente da sua utilização como planta ornamental. Há registros precisos da introdução de *L. indica* na Europa em 1759 (Curtis 1798) e nos Estados Unidos em 1956 (Creech 1958).

O desenvolvimento das populações de afídeos está condicionado a condições climáticas favoráveis, à disponibilidade e qualidade do alimento e à ausência de inimigos naturais, de tal forma que sua flutuação pode variar consideravelmente de um ano para o outro, mostrando padrões de densidades populacionais diferentes entre regiões geográficas ou mesmo entre populações vizinhas desenvolvendo-se na mesma época (Dixon 1977; Wellings *et al.* 1985; Halles *et al.* 1997).

Diversos estudos mostram que a ação de inimigos naturais reduz a densidade dos afídeos (Raworth *et al.* 1984; Rice & Wilde 1988; Auad *et al.* 1997; Chen & Hopper 1997; Mendes *et al.* 2000; Cividanes 2002; Figueira *et al.* 2003). Entretanto, as condições meteorológicas têm sido consideradas por vários autores (Dixon 1977; Dixon 1987; Pons *et al.* 1993; Rana *et al.* 1993; Debaraj & Singh 1996) como as variáveis mais importantes que atuam direta ou indiretamente sobre as populações. A temperatura, por sua vez, tem sido considerada como um dos principais fatores climáticos regulador da flutuação da densidade populacional dos afídeos, influenciando diretamente na longevidade, nas taxas de desenvolvimento e reprodução e dispersão desses insetos (Dixon 1987; Tang *et al.* 1999; Cividanes 2002). A fenologia do hospedeiro, por sua vez, também afeta as densidades das populações de afídeos, seja em culturas de ciclos relativamente curtos, como batata (Pinto *et al.* 2000) e alfafa (Hales *et al.* 1997), ou em árvores (Bumroogsook & Harris 1992).

Na Carolina do Sul, sobre a cultivar de *L. indica*, *Carolina Beauty*, no ano de 1990, a abundância sazonal de *T. kahawaluokalani* foi bimodal, com o primeiro pico populacional representado por fêmeas aladas partenogênicas, ocorrendo em julho-agosto e, o segundo no começo do outono, representado por sexúparas e formas sexuais (Alverson & Allen 1992). No mesmo período, mas em outra localidade e sobre a cultivar *Byers White*, os picos populacionais ocorreram quatro semanas depois.

Na Flórida, a sazonalidade das populações desta espécie de afídeo foi trimodal, em dois anos consecutivos (Mizell & Schiffhauer 1987). Estes autores, encontraram picos populacionais ocorrendo no começo de julho, meados de agosto e no final de setembro, em 1984, e no final de julho, começo de agosto e meados de outubro, no ano de 1985, em *L. indica* com idade de dois a quatro anos.

Mizell & Know (1993), avaliando semanalmente a suscetibilidade de 37 cultivares de *L. indica* a *T. kahawaluokalani*, no norte da Flórida, no período de junho a outubro de 1990 e 1991, encontraram um pico populacional ocorrendo na última semana de julho e um segundo pico ocorrendo somente no começo de setembro, em ambos os anos.

Como *T. kahawaluokalani* estabeleceu-se recentemente no Brasil, não se tem conhecimento de como ocorre o ciclo de vida desta espécie e da influência dos fatores ambientais sobre a flutuação e densidade populacional, nas condições ambientais do País. Os objetivos deste estudo foram, portanto, descrever o ciclo de *T. kahawaluokalani* e avaliar sua flutuação sazonal, correlacionando-a com a temperatura, precipitação pluviométrica, fotofase e fenologia de *L. indica*, em Curitiba, PR.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Área de Estudo**

A investigação sobre o ciclo de vida e a sazonalidade de *T. kahawaluokalani* foi realizada no Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba, PR (latitude 25°25'04"S, longitude 49°14'30"W e altitude de 945 m s.n.m)

com temperatura média anual da região de 16,5°C e uma precipitação pluviométrica média anual de 1.451,8 mm/ano (Maack 1981).

O Setor de Ciências Agrárias, com área de 165.292,00 m<sup>2</sup>, é arborizado com espécies de diversas famílias, dentre as quais, 115 árvores de *L. indica*, com flores de coloração rosa. Destas, 58 árvores têm 20-30 anos de idade e são podadas periodicamente de dois em dois anos, sendo que a poda que antecedeu à coleta dos dados deste estudo foi realizada em julho de 1999. As outras 57 árvores têm 5-10 anos e nunca tinham sido podadas até a coleta dos dados do presente estudo.

Os dados da sazonalidade de *T. kahawaluokalani* foram correlacionados com a temperatura, precipitação pluviométrica acumulada em cada período de coleta e o fotoperíodo para a região de Curitiba. Os dados climáticos foram obtidos na estação meteorológica de Curitiba, através do Sistema de Meteorologia do Paraná (SIMEPAR). O fotoperíodo diário para a região Curitiba foi obtido através do programa Solar Ephemeris Search Report, ARC Science Simulations, obtido também do SIMEPAR.

### **Amostragem com Armadilhas**

Durante dois anos consecutivos, no período de setembro de 2000 a setembro de 2002, foram realizadas coletas quinzenais com cinco armadilhas amarelas de água, tipo Möericke (Möericke 1951), com modificações. As armadilhas foram confeccionadas com recipientes de alumínio de 35 cm de diâmetro e 8 cm de altura, internamente de cor amarelo-canário e com 2,5 cm da borda superior e toda superfície externa marrom. Na borda superior foram feitos seis orifícios vedados com tela de nylon fina, para evitar o transbordamento de água da armadilha e conseqüente perda dos insetos em caso de chuvas. As armadilhas contendo 3,5 l de água, algumas gotas de detergente para

diminuir a tensão superficial da água e 5 ml de formaldeído para a conservação dos afídeos foram instaladas em suportes a 1,3 m de altura do solo, na área de estudo. Devido à evaporação da água, principalmente nos meses de verão, semanalmente as armadilhas foram inspecionadas e a água foi repostas.

Todos os insetos foram retirados das armadilhas através de peneiramento com tecido de malha fina e acondicionados em frascos plásticos contendo álcool a 70%, identificados de acordo com a data de coleta e armadilha. No laboratório os afídeos foram triados e feita a contagem das fêmeas aladas partenogénicas e machos de *T. kahawaluokalani* capturados.

### **Amostragem nas Plantas**

Durante o período de setembro de 2000 a maio de 2001, foram realizadas coletas na plantas de 20-30 anos de idade, e nas plantas de 5-10 anos. Quinzenalmente, a partir do aparecimento das primeiras brotações de *L. indica*, quatro galhos/planta de cerca de 30 cm, nos quadrantes Norte, Sul, Leste e Oeste foram removidos de 10 plantas/por grupos de árvores (20-30 anos, 5-10 anos), mediante sorteio para cada data de coleta. Desta forma, todas as plantas tiveram a chance de ser amostradas durante o período, evitando também a redução excessiva da massa verde pela retirada dos galhos ao longo do ciclo fenológico da planta. Os galhos foram retirados ao acaso dentro de cada quadrante com uma tesoura de poda com cabo telescópico de 5 m de comprimento, no ápice da qual foi adaptado um cesto plástico revestido com saco plástico transparente para recolher o galho cortado. Os sacos plásticos eram substituídos a cada corte de galho, e identificados de acordo com grupo, planta e a posição (quadrante) do galho na planta. No laboratório, os sacos contendo os galhos eram

acondicionados em sala climatizada, a 15°C, e a avaliação efetuada mediante a contagem, sob estereomicroscópio, de fêmeas partenogênicas aladas, ninfas e as formas gâmicas, fêmeas ovíparas e machos. Foram avaliados também o comprimento (cm) e o número de folhas de cada galho amostrado.

A fenologia da planta foi avaliada, quinzenalmente, em dez plantas de cada grupo de árvores (20-30 anos e 5-10 anos). As árvores foram sorteadas no início de setembro/2000 e, nas mesmas datas de amostragem dos afídeos, foram realizadas avaliações quanto ao início das brotações, desenvolvimento vegetativo, floração, frutificação e queda das folhas.

### **Análise Estatística**

Os dados referentes ao número de afídeos coletados nas armadilhas foram tabulados e apresentados graficamente, sendo correlacionados com a temperatura, precipitação pluviométrica e fotofase; o número de afídeos coletados nos galhos de *L. indica* foram transformados em  $\log(x + 1)$  e submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

As informações obtidas, tanto pela sazonalidade de *T. kahawaluokalani* coletados com armadilhas como nas plantas, foram correlacionadas com alguns aspectos da fenologia da planta e condições climáticas, para descrever o ciclo de vida desta espécie, em Curitiba, PR.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Ciclo de Vida

Constatou-se, pelas coletas efetuadas, que *T. kahawaluokalani* se reproduz holociclicamente em Curitiba, PR. (Figura 1), assim como ocorre em regiões onde esta espécie de afídeo foi introduzida, como Europa (Patti *et al.* 1984; Leclant & Renoust 1986; Mier-Duarte *et al.* 1995), Ásia (Blackman & Eastop 1994) e América do Norte (Alverson & Allen 1991, 1992).

Na Argentina, La Rossa *et al.* (1997) relataram a ocorrência somente de fêmeas aladas partenogênicas e alatóides. No entanto, isso se deve, provavelmente, ao fato dos autores terem inspecionado *L. indica* em novembro de 1994 e fevereiro de 1995, períodos estes de primavera e verão no hemisfério sul, quando são encontradas somente fêmeas aladas partenogênicas.

Em Curitiba, no início da primavera, coincidindo com as primeiras brotações de *L. indica*, as fundatrizes nascem dos ovos de inverno depositados próximos às gemas, rachaduras da casca e bifurcações dos galhos, no outono precedente. A partir das fundatrizes, ocorrem sucessivas gerações partenogênicas constituídas exclusivamente de fêmeas aladas partenogênicas até o aparecimento das sexúparas, no início do outono. As sexúparas são fêmeas partenogênicas aladas que produzem as fêmeas ovíparas, que são as únicas formas ápteras nesta espécie, e os machos que são alados, conforme descrito também por Patti *et al.* (1984) e Agarwala *et al.* (1989). As primeiras fêmeas ovíparas e os machos ocorrem em Curitiba desde o final de março-começo de abril, coincidindo com o início da queda das folhas de *L. indica*, aumentando em número com o decorrer do outono. Os machos copulam com as fêmeas ovíparas durante

todo o outono, na superfície das folhas. Os ovos são depositados nos galhos e passam todo o inverno em quiescência, dando origem às fundatrizes no início da primavera seguinte (Figura 1).

Este é o primeiro registro no Brasil de uma espécie de afídeo holocíclica, em que todas as formas foram encontradas. Ciclo semelhante foi descrito por Patti *et al.* (1984) e Alverson & Allen (1992) para *T. kahawaluokalani* na Itália e na Carolina do Sul, respectivamente, em condições de clima temperado. Alguns autores salientam que nas regiões sem invernos rigorosos, as espécies de afídeos introduzidas tendem a ser anolocíclicas ou androcíclicas (Holman 1974; Blackman 1974; Dixon 1987; Blackman & Eastop 1984, 1994). As poucas citações de formas gâmicas, no Brasil, são restritas ao registro de machos de algumas espécies de afídeos, normalmente coletados em armadilhas (Costa *et al.* 1972; Quednau 1974; Mello 1994; Lazzarotto 1996) ou de formas gâmicas em outras poucas espécies de afídeos, sobre suas espécies de plantas hospedeiras (Menezes 1970; Cabbete 1995).

Há falta de estudos sobre os ciclos de vida dos afídeos no Brasil, mas o registro e a comprovação de holociclia de *T. kahawaluokalani* indica que, em algumas regiões do País, existem condições climáticas favoráveis para o desenvolvimento holocíclico de afídeos no Brasil.

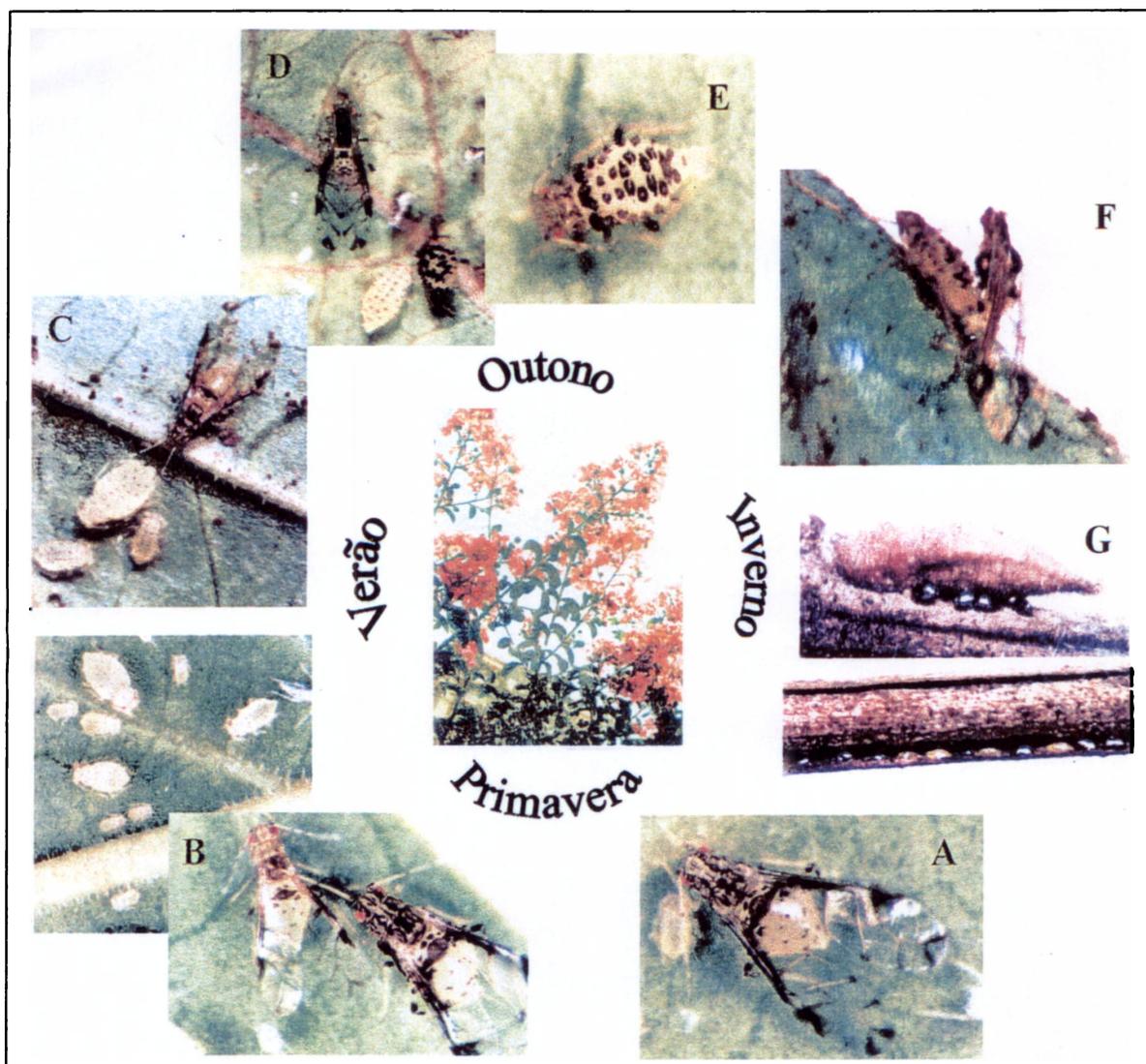


Figura 1. Ciclo de vida de *Tinocallis kahawaluokalani* sobre *Lagerstroemia indica* em Curitiba, PR. (A) Fundatríz - fêmea alada partenogénica vivípara, originária dos ovos de inverno, (B) Fundatrígêneas - várias gerações formadas exclusivamente por fêmeas aladas partenogénicas vivíparas; (C) Sexúpara - fêmea alada partenogénica vivípara com capacidade de produzir as formas sexuais; (D) Macho alado; (E) Ovípara áptera; (F) Cópula; (G) ovos de inverno (fotos da autora).

## Flutuação Sazonal em Armadilhas

Foram coletados 12.060 e 1.234 espécimes de *T. kahawaluokalani*, respectivamente, nos períodos 2000-2001 e 2001-2002 que corresponderam a dois ciclos fenológico de *L. indica*. Do total de *T. kahawaluokalani* coletado, 93,85% e 6,15% no período 2000-2001, 95,3% e 4,7% no período 2001-2002, foram respectivamente, fêmeas aladas partenogênicas e machos. A grande diferença no número total de espécimes coletados, nos dois períodos estudados, pode ser atribuída a uma poda realizada em julho de 2001, nas árvores mais velhas (20-30 anos), uma vez que, os fatores climáticos analisados foram muito semelhantes nos dois períodos (Figura 2). Com a poda, um grande número de ovos depositados nos galhos foi eliminado, com conseqüente redução do número de fundatrizes iniciando a população na primavera seguinte, o que pode ter refletido na densidade populacional dos afídeos, na área de estudo.

Embora o número de afídeos coletado tenha sido extremamente diferente, a flutuação sazonal de *T. kahawaluokalani* foi semelhante, tanto em 2000-2001 como em 2001-2002, apresentando dois picos populacionais (Figura 2), assim como encontrado na Carolina do Norte (Alverson & Allen 1992) e no norte da Flórida (Mizell & Knox 1993). Entretanto, os dados diferem da sazonalidade desta espécie registrada por Mizell & Schiffhauer (1987), em outra localidade da Flórida, onde ocorreram três picos populacionais.

Em Curitiba, o primeiro pico populacional de *T. kahawaluokalani* (Figura 2) ocorreu na última semana de novembro e na primeira semana de dezembro, respectivamente, em 2000-2001 e 2001-2002, e foram representados exclusivamente por fêmeas partenogênicas aladas. A temperatura média dos dias que antecederam os

picos populacionais, nos dois períodos, foi de 20°C, enquanto que as médias das temperaturas máximas e mínimas ficaram em torno de 26°C e 16°C, respectivamente. A precipitação pluviométrica foi em torno de 60 a 70 mm e a fotofase de 13 horas e meia, no período.

O número de afídeos caiu abruptamente até o final de dezembro e manteve-se em níveis muito baixo de meados de janeiro até meados de março, período em que foram registradas as maiores temperaturas, durante o verão, nos dois anos consecutivos. O número de afídeos aumentou a partir de março, atingindo um segundo pico no final de abril em 2000-2001 e em meados de abril em 2001-2002. O segundo pico populacional foi menor que o primeiro, nos dois períodos, sendo representado tanto por fêmeas aladas partenogénicas quanto por machos. Estes resultados assemelham-se aos obtidos por Alverson & Allen (1992), Mizell & Knox (1993) e Mizell & Schiffhauer (1987).

No segundo pico populacional de *T. kahawaluokalani*, as médias das temperaturas máximas, médias e mínimas mantiveram-se próximas às temperaturas observadas durante o primeiro pico, entretanto, a fotofase foi reduzida de 13 horas e meia para 11 horas e meia do primeiro para o segundo.

O pico populacional dos machos coincidiu com o das fêmeas aladas partenogénicas em 2000-2001. Entretanto, no período 2001-2002, ocorreu cerca de 15 dias após o pico populacional das fêmeas.

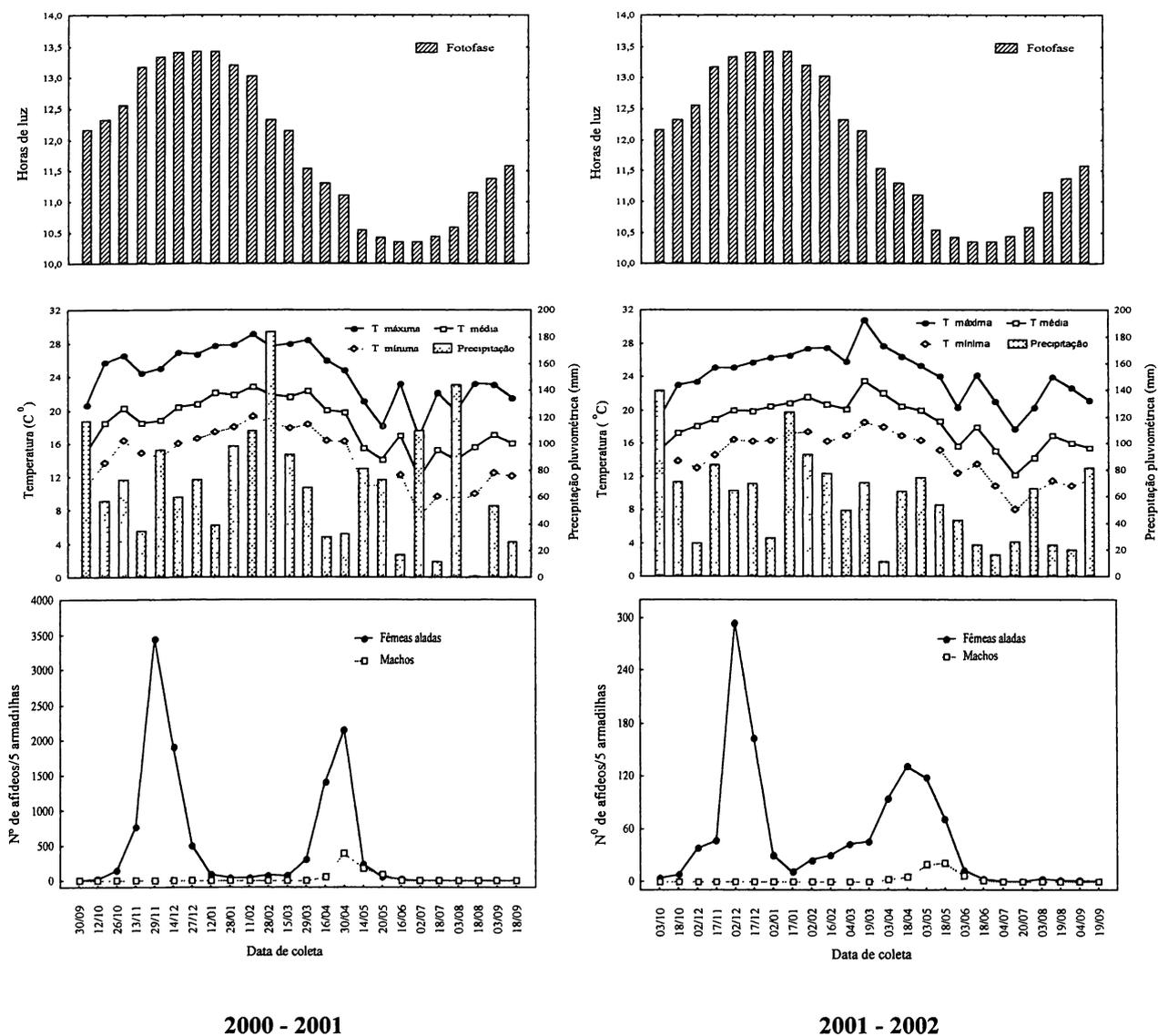


Figura 2. Sazonalidade de *Tinocallis kahawaluokalani* coletados em armadilhas amarelas de água (tipo Möericke), relacionada com a fotofase diária, precipitação pluviométrica, temperaturas máximas, médias e mínimas; no Setor de Ciências Agrárias da UFPR, no período de setembro/2000 a setembro/2002, Curitiba, PR.

## Flutuação Sazonal nas Plantas

Durante um ciclo fenológico de *L. indica*, correspondendo ao período de setembro/2000 a maio/2001, foram coletados 143.092 espécimes de *T. kahawaluokalani*, sendo que 66,41% do total de afídeos foram coletados nas árvores com idade de 20-30 anos e 33,59% nas de 5-10 anos. As ninfas foram a forma mais abundante, representando 88,94% do total de espécimes coletados, enquanto que fêmeas partenogenéticas aladas vivíparas, fêmeas ovíparas e machos representaram, respectivamente, 8,71%, 1,66% e 0,69% da população, sendo que este padrão percentual foi observado nos dois grupos de árvores (Tabela 2, Capítulo III).

Pela análise de variância, constatou-se que a idade da planta e a época de coleta têm efeitos significativos sobre a densidade de *T. kahawaluokalani*, enquanto que as posições cardeais dos galhos na planta não afetaram a distribuição desta espécie de afídeo na planta hospedeira (Tabela 1).

Durante o ciclo fenológico, de setembro/2000 a maio/2001, a flutuação sazonal de *T. kahawaluokalani* foi muito semelhante nos dois grupos de plantas (Figura 3), concordando com os dados de armadilhas, para esse período, conforme indicado na Figura 2. O primeiro pico populacional, representado exclusivamente por ninfas e fêmeas partenogenéticas aladas, ocorreu no começo de dezembro, coincidindo com o final do desenvolvimento vegetativo e início da formação dos botões florais de *L. indica*. As ninfas ocorreram em maior número, representando cerca de 89% do total de afídeos coletados nos galhos, nos dois grupos de árvores. As fêmeas partenogenéticas aladas, por sua vez, ocorreram em menor número, e os picos populacionais, tanto nas árvores com 20-30 anos como nas 5-10 anos, foram praticamente coincidentes com o

pico populacional obtido através da coletas das fêmeas partenogenéticas aladas com as armadilhas (Figuras 2, 3).

A partir de meados de dezembro até meados de março, quando a planta está na fase de floração, correspondendo ao verão, foi o período em que a população de *T. kahawaluokalani* apresentou seu mais baixo nível populacional (Figura 3).

Tabela 1. Análise de variância testando os efeitos da idade, da coleta e da posição do galho de *Lagerstroemia indica*, na distribuição de *Tinocallis kahawaluokalani*; Setor de Ciências Agrárias da UFPR, no período de setembro/2000 a maio/2001, Curitiba, PR.

Fontes de variação	GL	Quadrados Médios (MS)	Valores de F [log (x + 1)]
Idade	1	17,567	49,763*
Coleta	16	22,819	64,642*
Posição do galho	3	0,520	1,473 <sup>ns</sup>
Idade x coleta	16	0,925	2,619*
Idade x posição do galho	3	0,051	0,144 <sup>ns</sup>
Coleta x posição do galho	48	0,104	0,295 <sup>ns</sup>
Idade x coleta x posição do galho	48	0,072	0,204 <sup>ns</sup>
Resíduo	1224	0,353	-

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo

Segundo Strong *et al.* (1984), *apud* Klingauf (1987), o nitrogênio dos tecidos da planta é o componente mais importante no desenvolvimento de organismos fitófagos. Como os afídeos utilizam a seiva do floema que contém altos teores de nitrogênio

comparado com outros tecidos da planta, o desenvolvimento desses insetos apresenta uma alta correlação com a quantidade de nitrogênio. Desta forma, as altas densidades populacionais de afídeos, em árvores, são congruentes com os altos níveis de nitrogênio disponíveis na planta durante a primavera e o outono, enquanto que as baixas densidades populacionais são compatíveis com os baixos níveis de nitrogênio durante o verão (Dixon 1970; Klingauf 1987).

Em meados de março, com o início da senescência das folhas, a população aumentou e atingiu o segundo pico populacional no final de março nas árvores com 5-10 anos e meados de abril nas árvores de 20-30 anos, sendo representado por sexúparas, fêmeas ovíparas, machos e ninfas. Fêmeas ovíparas e machos, entretanto, foram encontrados em maior número no final de abril e meados de maio, cerca de 15 dias e 30 dias após o pico populacional das sexúparas e ninfas, respectivamente, nas árvores de 20-30 anos e nas de 5-10 anos (Figura 3). A dispersão das sexúparas ocorreu cerca de 15 e 30 dias posteriores ao seu pico populacional, respectivamente, nas árvores de 20-30 anos e nas de 5-10 anos, em relação ao segundo pico populacional obtido nas armadilhas, no período 2000-2001.

O pico populacional dos machos foi coincidente com o obtido nas armadilhas, para as árvores de 20-30 anos. No entanto, nas árvores com 5-10 anos, foi cerca de 15 dias após o das árvores com 20-30 anos e aquele obtido com as armadilhas, para o período de 2000-2001.

Árvores com 20-30 anos apresentaram significativamente mais afídeos do que as de 5-10 anos, seja considerando-se o total de afídeos ou isoladamente, ninfas, fêmeas partenogenéticas, ovíparas e os machos (Tabela 2). O número médio de afídeos/galho foi de, respectivamente, 139,74 e 70,69 afídeos, para as árvores com 20-30 anos e 5-10 anos, e 105,22 afídeos, considerando-se a média dos dois grupos de árvores.

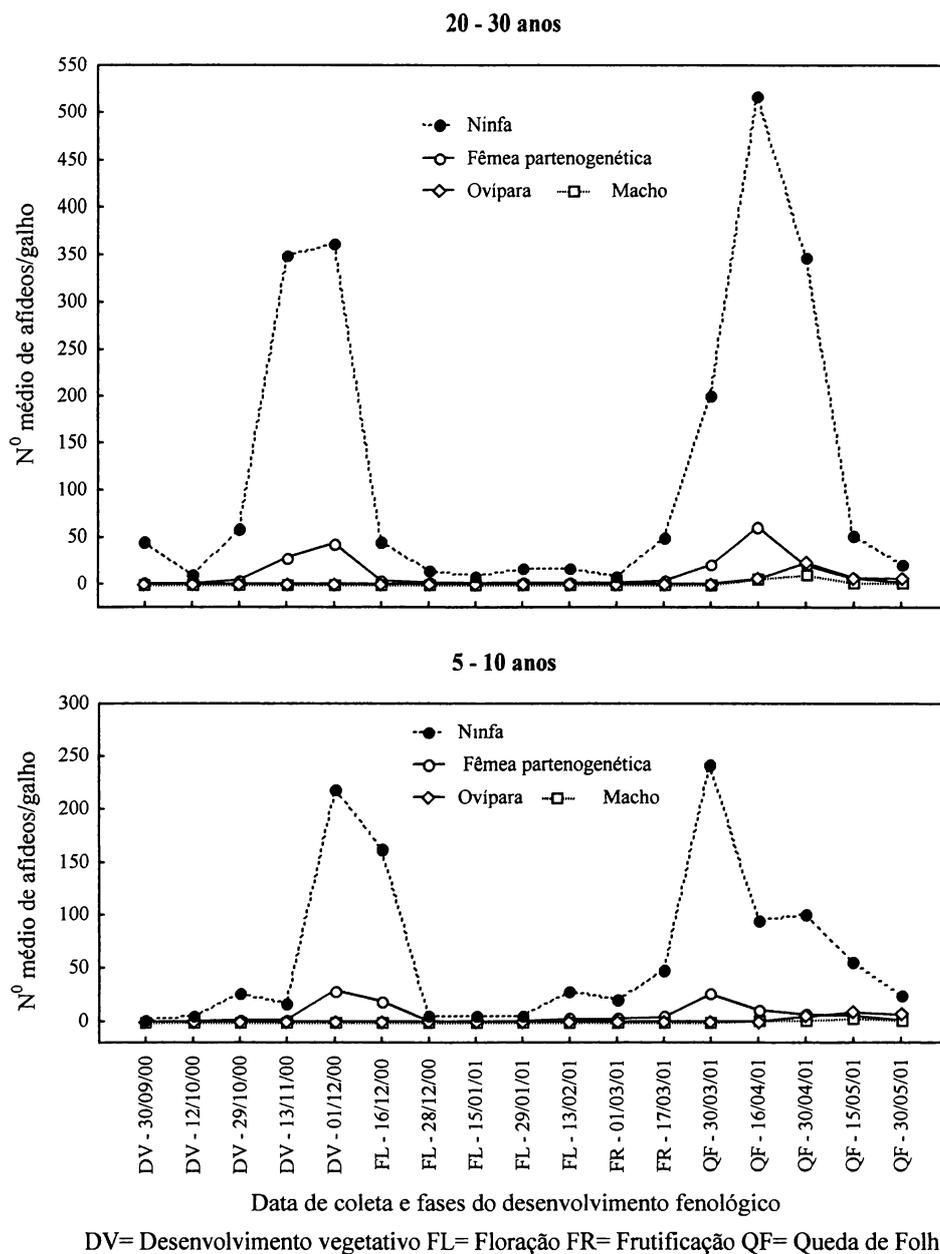


Figura 3. Número médio de ninfas, fêmeas partenogenéticas, ovíparas e machos de *Tinocallis kahawaluokalani*, em galhos de 30 cm de *Lagerstroemia indica*, com idade de 20-30 anos e 5-10 anos, em função das fases fenológicas; no Setor de Ciências Agrárias da UFPR, no período de setembro/2000 a maio/2001, Curitiba, PR.

Tabela 2. Número médio ( $\pm$  Intervalo de Confiança 95%) das formas de *Tinocallis kahawaluokalani* em galhos de 30 cm de *Lagerstroemia indica*, com idade de 20-30 anos e 5-10 anos; Setor de Ciências, Agrárias da UFPR, no período de setembro/2000 a maio/2001, Curitiba, PR.

Formas	Média $\pm$ IC 95% afídeos/galho		
	Árvores 20-30 anos	Árvores 5-10 anos	Todas as árvores
Ninfas	124,67 $\pm$ 27,52 a	62,48 $\pm$ 17,90 b	93,58 $\pm$ 16,49
Aladas	11,64 $\pm$ 2,94 a	6,70 $\pm$ 2,19 b	9,17 $\pm$ 1,84
Ovíparas	2,32 $\pm$ 0,74 a	1,17 $\pm$ 0,39 b	1,75 $\pm$ 0,42
Machos	1,11 $\pm$ 0,39 a	0,34 $\pm$ 0,13 b	0,72 $\pm$ 0,21
Total	139,74 $\pm$ 30,72 a	70,69 $\pm$ 20,01 b	105,22 $\pm$ 18,41

Médias seguidas de letra minúscula na linha não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%; análise efetuada com dados transformados em  $\log(x+1)$ .

Durante as amostragens nas plantas, foram coletados 680 galhos de cada um dos grupos de árvores, 20-30 anos e 5-10 anos, sendo que as médias ( $\pm$  IC 95%) do tamanho dos galhos e número de folhas/galho foram, respectivamente: 29,14 $\pm$ 4,41 cm e 60,55 $\pm$ 19,81 folhas/galho, para as árvores com 20-30 anos e, 29,28 $\pm$ 5,52 cm e 56,63 $\pm$ 19,76 folhas/galho para as árvores com 5-10 anos. Diferenças significativas foram observadas somente com relação ao número de folhas/galho ( $p < 0,05$ ) para as árvores com 20-30 anos que apresentaram em média, mais folhas nos galhos que as de 5-10 anos.

Os maiores números de folhas/galho, nas árvores mais velhas, que são podadas regularmente, indicam que essas árvores apresentam maior disponibilidade de superfície de alimentação. Este fato, aliado a um micro clima possivelmente mais adequado, no

interior da copa das árvores, poderia ser uma das explicações para árvores mais velhas apresentarem mais afídeos do que as árvores mais novas, uma vez, que a folhas de ambos os grupos de árvores são renovadas a cada ciclo fenológico, por se tratar de uma espécie caducifólia.

O maior número de afídeos nas árvores mais velhas pode ser devido à poda regular a que aquelas árvores são submetidas, aumentando o número de brotações novas e alterando a arquitetura da planta, com possíveis alterações do micro clima no interior da copa, favorecendo maiores taxas reprodutivas. Segundo Seitz (1990), a poda severa de árvores provoca a profusão de brotos epicórmicos, os quais são produzidos a partir de gemas dormentes nos galhos ou tronco ou por morfogênese de células do câmbio, e alteram o modelo arquitetônico original da copa da árvore.

Por outro lado, as posições cardeais dos galhos na árvore não apresentaram nenhum efeito significativo na distribuição de *T. kahawaluokalani* sobre *L. indica*, seja analisado como um único fator, em combinação com a idade das árvores e a data de coleta ou a interação desses três fatores (Tabela 1). O número médio de afídeos variou de 117,75 a 155,97 e de 60,36 a 78,04 afídeos nos galhos dos diferentes quadrantes, respectivamente, nas árvores com 20-30 anos e nas de 5-10 anos e, de 96,27 a 113,33 afídeos/galho, considerando-se os dois grupos de árvores (Tabela 3). Também não foram evidenciadas diferenças significativas quando ninfas, fêmeas partenogênicas aladas, sexúparas e machos foram analisados independentemente (resultados não apresentados). Estes resultados indicam que galhos de qualquer posição cardinal da árvore com idade entre 5-30 anos, em qualquer período fenológico da planta poderão ser utilizados em amostragem de *T. kahawaluokalani* em *L. indica*.

Tabela 3. Número médio ( $\pm$  Intervalo de Confiança 95%) de *Tinocallis kahawaluokalani* em galhos de 30 cm, de diferentes quadrantes de *Lagerstroemia indica*, com idade de 20-30 anos e 5-10 anos; Setor de Ciências Agrárias da UFPR, no período de setembro/2000 a maio/2001, Curitiba, PR .

Quadrante	Média $\pm$ IC 95% afideos/galho		
	Árvores 20-30 anos	Árvores 5-10 an±os	Totais dois grupos
Norte	117,75 $\pm$ 46,45 a	74,78 $\pm$ 46,17 a	96,27 $\pm$ 32,78 a
Sul	155,97 $\pm$ 66,74 a	69,57 $\pm$ 34,35 a	112,77 $\pm$ 37,76 a
Leste	136,64 $\pm$ 52,94 a	60,36 $\pm$ 29,27 a	98,50 $\pm$ 30,47 a
Oeste	148,62 $\pm$ 75,69 a	78,04 $\pm$ 47,55 a	113,33 $\pm$ 44,78 a
Total	139,74 $\pm$ 30,72 A	70,69 $\pm$ 20,01 B	105,22 $\pm$ 18,41

Médias seguidas de mesma letra, minúscula nas colunas para os quatro quadrantes e maiúscula na linha para o total dos dois grupos, não diferem significativamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade; análise efetuada com dados transformados em  $\log(x+1)$ .

## CONCLUSÕES

A reprodução de *Tinocallis kahawaluokalani* é holocíclica em Curitiba, PR, composta de várias gerações partenogênicas que ocorrem na primavera e verão, e uma geração formada por fêmeas ovíparas e machos que se reproduzem sexualmente durante o outono, produzindo os ovos de inverno, que são depositados nos galhos de *Lagerstroemia indica*;

Este é o primeiro registro de uma espécie com desenvolvimento holocíclico no Brasil, em que todas as formas foram encontradas e sistematicamente coletadas;

Os dois picos populacionais de *T. kahawaluokalani* apresentam correlação com a fenologia da planta e a fotofase, sendo que o primeiro ocorre no final da primavera,

coincidindo com a fase final do desenvolvimento vegetativo da planta e a fotofase longa; o segundo pico populacional ocorre em meados do outono, quando a planta esta em fase de senescência, e a fotofase é em torno de 11 horas e meia de luz e temperatura em torno de 15°C;

O primeiro pico populacional é representado exclusivamente por fêmeas partenogênicas aladas, enquanto que o segundo é representado por sexúparas, fêmeas ovíparas e machos;

Árvores de 20-30 anos apresentam-se mais infestadas por *T. kahawaluokalani* do que as de 5-10 anos;

A posição cardeal dos galhos de *L. indica* não afeta a distribuição de *T. kahawaluokalani*.

## LITERATURA CITADA

Agarwala, B.K.; S K. Mahapatra & A.K. Ghosh. 1989. Description of sexual morphs of *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy) (Homoptera: Aphididae) from India. *Entomon*, **14**: 273-274.

Alverson, D.R. & R.K. Allen. 1991. Life history of the crapemyrtle aphid. *Proceedings of the Society of Nurserymen's Association. Research Conference*, **36**: 164-167.

Alverson, D. R. & R.K. Allen. 1992. Bionomics of the crapemyrtle aphid (Homoptera: Aphididae). *Journal of Entomological Science*, **27**: 445-457.

Auad, A.M.; V.H.P. Bueno; C.M. Kato & D.C. Gamarra. 1997. Ocorrência e flutuação populacional de predadores e parasitóides de *Brachycaudus (Appelia) schwartzi* (Borner) (Homoptera: Aphididae), em pessegueiro, em Jacuí-MG. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, **26**: 257-263.

Blackman, R.L. 1974. Life-cycle variation in *Myzus persicae* (Sulz.) (Hom., Aphididae) in different parts of world, in relation to genotype and environment. Bulletin of Entomological Research, **63**: 595-607.

Blackman, R. L. & V.F. Eastop. 1984. Aphids on the world's crop - an identification guide. Chichester, Wiley, 466p.

Blackman, R. L. & V.F. Eastop. 1994. Aphids on the world's trees - an identification and information guide. Wallingford, CAB International, 987p.

Bumroogsook, S. & M.K. Harris. 1992. Distribution, conditioning, and interspecific affects of blackmargined aphids on yellow pecan aphids (Homoptera: Aphididae) on pecan. Journal of Economic Entomology, **85**: 187-191.

Cabbete, H.S.R. 1995. Ocorrência de formas gâmicas e ambifásicas de *Schizaphis graminum* (Rondani) (Homoptera: Aphididae) em criação de campo e laboratório em São Paulo, Brasil. Revista Brasileira de Zoologia, **12**: 655-662.

Cermeli, M.L. (1970). Los áfidos (Homoptera: Aphididae) de Venezuela y sus plantas hospederas. Suplemento I. Revista Agronomia Tropical, **20**: 249-256.

Chen, K. & K.R. Hopper 1997. *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae) population dynamics and impact of de natural enemies in the Montpellier region of southern France. Environmental Entomology, **26**: 866-875.

Cividanes, F.J. 2002. Impacto de inimigos naturais e de fatores meteorológicos sobre uma população de *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae) em couve. Neotropical Entomology, **31**: 249-255.

Corrêa, M.P. 1926. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, v.2, p.638.

Costa, C.L.; V.F. Eastop & A.S. Costa. 1972. A list of aphids species (Homoptera: Aphidoidea), collected in São Paulo, Brazil. *Revista Peruana de Entomologia*, **15**: 131-134.

Creech, J.L. 1958. Exploring southern Japan for ornamental plants. *National Horticultural Magazine*, **37**: 75-94.

Curtis, W. 1798. The Botanical Magazine or Flower-Garden Displayed, p.405. In: *Flora Londinensis*, Vol.XII, MDCCXCVIII.

Debaraj, Y. & T.K. Singh. 1996. Aerial population fluctuation of cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (L.) *Annual of Agriculture Research*, **17**: 308-310.

Dixon, A.F. G. 1970. Quality and availability of food for sycamore aphid population. *Symposia of the British Ecological Society*, **10**: 271-287.

Dixon, A.F.G. 1977. Aphid ecology: life cycles, polymorphism, and population regulation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **8**: 329-353.

Dixon, A.F.G. 1987. Seasonal development in aphids, p.315-320. In Minks, A.K. & P. Harrewijn (eds.), *Aphids: their biology, natural enemies and control*. Amsterdam, Elsevier, v.2A, 450p.

Egolf, D.R. & A.O. Andrick. 1978. The *Lagerstroemia* Handbook/ Checklist. American Association of Botanical Gardens and Arboreta, Inc. 72p.

Figueira, L.K.; F. M. Lara; I. Cruz & M. Waquil. 2003. Interação da resistência de plantas e predação por *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) para o manejo de *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae) em sorgo. *Neotropical Entomology*, **23**: 487-492.

Halles, D.F.; J. Tomiuk; K. Wöhrmann & P. Sunnucks. 1997. Evolutionary and genetic aspects of aphid biology: A review. *European Journal of Entomology*, **94**: 1-55.

Holman, J. 1974. Los áfidos de Cuba. Ed. Organismos/Instituto Cubano del Libro, Havana. 340p.

Hopkins, G.W. 1997. A tree aphid (*Tinocallis nevskyi* Remaudière, Quednau & Heie) new to Britain (Hem. - Hom., Aphidoidea). *Entomologist's Monthly Magazine*, **133**: 255-256.

Knox, G.W. 2003. Crape myrtle in Florida. <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/MG/MG26600.pdf>. Acessado em 1 de fevereiro de 2004.

Klingauf, F. A. 1987. Feeding, Adaptation and Excretion, p.225-253. In Minks, A.K. & P. Harrewijn (eds.), *Aphids: their biology, natural enemies and control*. Amsterdam, Elsevier, v.2A, 450p.

La Rossa, F.R.; A.L. Vasicek & A. Noriega. 1997. Presencia de *Sarucallis kahawaluokalani* sobre "crespon" (*Lagerstroemia indica*) en la Argentina (Homoptera: Aphidoidea). *Revista da Sociedade Entomológica Argentina*, **56**: 97-100.

Lazzarotto, M.C. 1996. Análise faunística de afídeos (Homoptera: Aphididae) de acordo com um gradiente altitudinal na Serra do Mar. Paraná. Tese de mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 107p.

Leclant, F. & M. Renoust. 1986. Le puceron du *Lagerstroemia* nouveau ravageur pour notre flore. *Phytoma*, **375**: 49-50.

Lourteig, A. 1969. Litráceas. In: *Flora ilustrada catarinense, I Parte*, p.73-75. P. Raulino Reitz ed., Itajaí, Santa Catarina. 81p.

Maack, R. 1981. Geografia Física do Estado do Paraná. Rio de Janeiro, Editora José Olympio, 450p.

Mello, M.E.R. 1994. Afídeos (Homoptera: Aphididae) e seus inimigos naturais em olerícolas, Piraquara, Paraná. Tese de mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 85p.

Mendes, S.; M.N. Cerviño; V.H.P. Bueno & A. M. Aguad. 2000. Diversidade de pulgões e de seus parasitóides e predadores na cultura da alfafa. Pesquisa Agropecuária Brasileira, **35**: 1305-1310.

Menezes, M. 1970. Reprodução sexuada de *Aphis spiraecola* Patch, 1914 no Estado de São Paulo (Homoptera: Aphididae). O Biológico, **36**: 53-57.

Mier-Durante, M.P.; R. Santiago-Merino; Y. Suay Cano & J.M. Nieto-Nafria. 1995. *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy) (Homoptera: Aphididae) en la Península Ibérica sobre el árbol de Júpiter, *Lagerstroemia indica* (L.). Boletim de Sanidade Vegetal-Plagas, **21**: 349-355.

Mizell, R.F. & G.W. Know. 1993. Susceptibility of crape myrtle, *Lagerstroemia indica* L., to the crapemyrtle aphid (Homoptera: Aphididae) in North Florida. Journal of Entomological Science, **28**: 1-7.

Mizell, R.F. & D.E. Schiffhauer. 1987. Seasonal abundance of the crapemyrtle aphid, *Sarucallis kahawaluokalani*, in relation to the pecan aphids, *Monellia caryella* and *Monelliopsis pecanis* and their common predators. Entomophaga, **32**: 511-520.

Möericke 1951. Eine Farfalle zur Kontrolle des Fluges von Blattläusen, insbesondere der Pfirsichblattlaus, *Myzodes persicae* (Sulz.) Narch.Bl. dt. Pflschutzdienst, **3**: 23-24.

Patti, I. 1984. Un afide nocivo alla *Lagerstroemia* in Italia. Informatore Fitopatologico **12**:12-14.

Patti, I.; R.G. Spampinato & M.G. Tornatore. 1984. Note morfologiche e bio-ecologiche sull'afide della *Lagerstroemia*, *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirk.) (Rhynchota: Aphidoidea). *Phytophaga*, **2**: 87-116.

Pérez Hidalgo, N.; L.M. Bartholdy & J.M. Nieto Nafria. 1998. Two new records for South America and a list of aphids from Rio Grande do Sul State and Brazil, p.407-415. In Nieto Nafria, J.M. & A.F.G. Dixon (eds.), *Aphids in natural and managed ecosystems*. Universidad de León, León (Espanha).

Peronti, A.L.B.G. 1999. Afídeos e coccídeos em plantas ornamentais na região de São Carlos-SP, seus parasitóides, predadores e suas associações com formigas. Tese de mestrado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 82p.

Peronti, A.L.B.G. & Sousa-Silva, C.R. 2002. Aphids (Hemiptera: Aphidoidea) of ornamental plants from São Carlos, São Paulo state, Brazil. *Revista de Biologia Tropical*, **50**: 137-144.

Pinto, R.M.;V.H. Bueno & L.V.C. Santa-Cecília. 2000. Flutuação populacional de afídeos (Hemiptera: Aphididae) associados à cultura da batata, *Solanum tuberosum* L., no plantio de inverno em Alfenas, Sul de Minas Gerais. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, **29**: 649-657.

Pons, X.; J. Comas & R. Albajes. 1993. Overwintering of cereal aphids (Homoptera: Aphididae) on durum wheat in a Mediterranean climate. *Environmental Entomology*, **22**: 381-387.

Quednau, F.W. 1974. Notes on the Lizerini Blanchard with description of new *Lizerius* and *Paoloella* species from South America and Africa (Homoptera: Aphididae). *The Canadian Entomologist*, **106**: 45-72.

Quednau, F.W. 2001. World review of the genus *Tinocallis* (Hemiptera: Aphididae, Calaphidinae) with description of a new species. *The Canadian Entomologist*, **133**: 197-213.

Rana, J.S.; K.S. Khokhar; H. Singh & S. Sucheta. 1993. Influence of abiotic environment on the population dynamics of mustard aphid, *Lipaphis erysimi* (Kalt.). *Crop Research*, **6**: 116-119.

Raworth, K.S.; B.D. Frazer; N. Gilbert & W.G. Wellington. 1984. Population dynamics of the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (Homoptera: Aphididae) at Vancouver, British Columbia. I. Sampling methods and population trends. *The Canadian Entomologist*, **116**: 861-870.

Reumaudière, G. & B. Le Ru. 1994 The aphids of Congo, faunistic and ecological studies (Homoptera: Aphididae). *Parasitica*, **50**: 119-129.

Rice, M.E. & G.E. Wilde. 1988. Experimental evaluation of predators and parasitoids in suppressing greenbugs (Homoptera: Aphididae) in sorghum and wheat. *Environmental Entomology*, **17**: 836-841.

Richards, W.R. 1967. A review of the *Tinocallis* of the world (Homoptera: Aphididae). *Canadian Entomologist*, **99**: 536-553.

Ripka, G.; K. Reider & L. Azalay-Marzso. 1998. New data to the knowledge of the aphid fauna (Homoptera: Aphididae) on ornamental trees and shrubs in Hungary. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, **33**: 153-171.

Seitz, R.A. 1990. Considerações sobre a poda de árvores na arborização urbana, p.87-100. In III Encontro Nacional sobre Arborização Urbana, 14 a 18 de outubro de 1990, Curitiba, Paraná,.

Smith, C.F. & M.M. Cermeli. 1979. An annotated list of Aphididae (Homoptera) of the Caribbean Island and South and Central America. North Carolina, Agricultural Research Service. Technical Bulletin, **259**: 1-131.

Smith, C.F. & C.S. Parron. 1978. An annotated list of Aphididae (Homoptera) of North America. North Carolina, Agricultural Experimental Station. Technical Bulletin, **225**: 398p.

Tang, Y.Q.; S.L. Lapointe, L.G. Brown & W.B. Hunter. 1999. Effects of host plant and temperature on the biology of *Toxoptera citricida* (Homoptera: Aphididae). Environmental Entomology, **28**: 895-900.

Wellings, P.W., R.J. Chambers, A.F.G. Dixon & D.P. Aikman. 1985. Sycamore aphids numbers and populational density. 1. Some patterns. Journal of Animal Ecology. **54**: 411-424.

## CAPÍTULO II

Abundância e distribuição dos ovos de *Tinocallis kahawaluokalani*  
Kirkaldy (Hemiptera: Aphididae) em galhos de *Lagerstroemia indica* L.  
(Lythraceae), em Curitiba, PR

## RESUMO

*Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy, 1907) é uma espécie de afídeo monoécia e holocíclica em *Lagerstroemia indica* Linnaeus, 1762, e todas as formas de seu ciclo de vida, incluindo ovos de inverno, foram encontradas em Curitiba, PR. Com o objetivo de avaliar a abundância e a distribuição dos ovos em *L. indica*, bem como fazer a modelagem para esses parâmetros, quatro galhos por planta, sendo um de cada ponto cardinal, foram amostrados em plantas com 20-30 anos e 5-10 anos de idade, no inverno de 2001. Cada galho de 80 cm de comprimento foi seccionado de 10 em 10 cm no seu eixo principal, a partir do ápice, e o número de ovos por segmento foi contado. Os ovos foram observados do começo ao final de outono, depositados nos galhos, próximos às gemas, em pequenas dobras, em rachaduras da casca e nas bifurcações dos ramos. Árvores com 20-30 anos apresentaram um número maior de ovos (61,14%) do que as com 5-10 anos (38,83%), sendo que o número médio ( $\pm$  IC 95%) de ovos por galho foi de  $70,544 \pm 9,31$  e  $47,39 \pm 12,52$  respectivamente para os dois grupos etários. As posturas concentraram-se, preferencialmente, na parte mediana do galho, de 40 a 60 cm do ápice, nas árvores de 20-30 anos, com 53,62% e a 30 a 60 cm, nas de 5-10 anos, com 58,06% dos ovos, tendência esta confirmada pelas curvas obtidas na modelagem dos dados. Não houve correlação entre a distribuição dos ovos e a posição cardinal dos galhos, assim a amostragem pode ser feita em qualquer galho ao acaso.

## ABSTRACT

All morphs of the life cycle, including winter eggs, of the monoecious and holocyclic aphid *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy, 1907) were found on

*Lagerstroemia indica* Linnaeus, 1762 in Curitiba, Paraná state. In order to evaluate the abundance and distribution of the eggs, as well as modeling these parameters, four branches from the cardinal points of plants with 20-30 and 5-10 years old were cut in eight segments of 10 cm and searched for eggs, in the winter of 2001. The eggs were observed in the beginning of autumn, deposited on small folds, cracks and on bifurcations of the branches. The number of eggs was higher on 20-30 year old plants (61,14%) than on the 5-10 years old (38,83%). The average number ( $\pm$  CI 95%) of eggs was  $70,54 \pm 9,31$  and  $47,39 \pm 12,52$ , respectively, for the 20-30 and 5-10 year-old trees. The eggs were deposited mainly on the middle portion of the branch, from 40 to 60 cm from the apex on the older trees (53,62%) and on 30 to 60 cm on the younger ones (58,06%). These data were confirmed by model curves. There was no correlation between egg distribution and the cardinal positions of the branches, thus sampling can be done randomly on any branch.

## INTRODUÇÃO

Cerca de 90% das espécies de afídeos são monoécias e holocíclicas, enquanto as demais são heteroécias e anolocíclicas, principalmente quando são introduzidas em regiões tropicais e subtropicais (Dixon 1985; Moran 1992; Blackman & Eastop 1994).

O pulgão-da-extremosa, *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy, 1907) (Hemiptera: Aphididae), é uma espécie monoécia e holocíclica em *Lagerstroemia indica* Linnaeus, 1762 (Lythraceae), com várias gerações formadas exclusivamente por fêmeas partenogénicas vivíparas aladas, durante o verão, e uma geração gâmica, com fêmeas ovíparas ápteras e machos alados, durante o outono, que copulam e produzem os

ovos de inverno (Patti 1984; Patti *et al.* 1984; Alverson & Allen 1991, 1992; Blackman & Eastop 1994).

Os ovos de *T. kahawaluokalani* possuem forma ovalada, com o cório liso, inicialmente de coloração amarela clara, passando a amarela alaranjada, marrom alaranjada, até tornar-se negro brilhante (Alverson & Allen 1992, 1991), assim permanecendo durante todo o período de quiescência invernal (Patti *et al.* 1984). A postura é feita nos ramos, próxima às gemas apicais, bifurcações dos ramos e rachaduras da casca (Patti *et al.* 1984; Alverson & Allen 1991, 1992).

Na Carolina do Sul, 35% e 54% dos ovos de *T. kahawaluokalani* foram encontrados, respectivamente, nos 20 e 40 cm apicais dos ramos de *L. indica*, da cultivar *Carolina Beauty*, com cinco anos de idade e 2,5 m de altura (Alverson & Allen 1992). Segundo estes autores, a densidade média é mais alta ( $0,63 \pm 0,14$  ovos  $\text{cm}^2$ ) nos 20 cm apicais dos ramos do que a 81-90 cm de distância do ápice ( $0,21 \pm 0,08$  ovos/ $\text{cm}^2$ ).

A extremosa é uma espécie de árvore utilizada no sistema de arborização urbana e paisagismo da cidade de Curitiba, no Estado do Paraná, e de outras cidades do Brasil. O sistema de manejo normalmente empregado na condução dessa espécie de planta em Curitiba, consiste de podas de condução nos primeiros anos e, posteriormente, podas radicais onde quase toda a copa da árvore é eliminada, sendo normalmente efetuada nos meses de inverno. Embora *L. indica* produza sementes dentro de um fruto elipsóideo-globoso (Lourteig 1969), a produção de mudas é feita tradicionalmente por estacas de ramos ou via estaquia dos perfilhos (Rotta *et al.* 1996), prática que pode favorecer a dispersão de *T. kahawaluokalani*, principalmente dos ovos.

São praticamente inexistentes os estudos sobre a ocorrência de afídeos holocíclicos em regiões tropicais e sub-tropicais e, apesar de haver registros de machos e fêmeas ovíparas de algumas espécies de afídeos no Brasil (Menezes 1970, Costa *et al.*

1972; Quednau 1974; Mello 1994; Lazzarotto 1996; Cabbete 1995), não se tem informações sobre seus ovos. Para *T. kahawaluokalani* foram encontradas todas as formas de desenvolvimento na região de estudo, mas como não se tem qualquer informação sobre sua biologia, esta pesquisa tem por objetivo estudar a distribuição, e a abundância dos ovos de inverno de *T. kahawaluokalani* em galhos de *L. indica*, em Curitiba, PR, modelando os dados para a utilização em monitoramento de ovos desta espécie, em outras regiões.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo sobre a abundância e a distribuição dos ovos de *T. kahawaluokalani* sobre *L. indica* foi realizado no Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba, PR. As características climáticas da região e da arborização do Setor de Ciências Agrárias da UFPR são as mesmas descritas no Capítulo I.

### **Amostragem dos Ovos**

Foram sorteados dois grupos de 10 árvores da área experimental, sendo um deles composto por árvores de 20-30 anos, sujeitas a podas regulares a cada dois anos, e o outro por árvores de 5-10 anos, as quais não haviam sofrido poda até o presente estudo.

No inverno do ano de 2001, quando as árvores estavam totalmente destituídas de folhas, foram cortados, usando uma tesoura de poda com cabo telescópico, quatro galhos/planta ao acaso, com 80 cm de comprimento, sendo um de cada quadrante (Norte, Sul, Leste, Oeste). Os galhos foram devidamente identificados de acordo com o grupo/planta/quadrante, e levados ao laboratório, onde cada um foi seccionado de 10 em 10 cm no seu eixo principal, a partir do ápice. Cada segmento do galho foi devidamente

identificado de acordo com o quadrante de cada planta/grupo, e examinado sob estereomicroscópio para contagem do número de ovos, o número de ramos laterais e o diâmetro na porção média de cada segmento, medido com um paquímetro.

### **Análises Estatísticas e Modelo Estatístico**

Os dados referentes ao número de ovos ( $y$ ) nos galhos foram transformados em  $\log(y + 1)$  e submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Para avaliar melhor e aplicar para outros estudos a informação sobre a distribuição dos ovos de *T. kahawaluokalani* nos galhos de árvores de *L. indica*, foi desenvolvido um modelo estatístico a partir dos dados coletados. Em função das características dos dados (número de ovos ao longo do galho) foi adotada uma abordagem longitudinal, pois os dados encaixam-se na categoria de medida repetitiva que, segundo Littell *et al.* (1996), inclui dados obtidos a partir de múltiplas mensurações sobre a mesma unidade experimental ou indivíduo. Os dados foram modelados conforme a distribuição normal, em escala logarítmica (base  $e$ ).

A notação usada para definir o modelo de regressão longitudinal foi a seguinte:

$g$  índice do grupo: “árvores 20-30 anos” e “árvores 5-10 anos”

$i$  índice da árvore: 1, ... 10

$j$  índice do galho: 1, ... 4

$d$  distância, em centímetros, de cada segmento a partir do ápice do galho, sendo utilizadas as distâncias centrais de cada segmento para o ajuste do modelo: 5, 15, 25, 35, 45, 55, 65 e 75.

Então,  $Y_{ijd}^g$  é a contagem de ovos para a distância  $d$  ao longo do  $j$ -ésimo galho, da  $i$ -ésima árvore, pertencente ao  $g$ -ésimo grupo. Os índices  $i$  e  $j$  não são únicos, mas a combinação dos valores de  $g, i, j$  e  $d$  identificou de maneira única cada observação.

Foram estimados os coeficientes de regressão fixos  $(\beta_0^g, \beta_1^g, \beta_2^g)$  para os dois grupos de árvores, e preditos os coeficientes de regressão aleatórios  $(\alpha_{0,i}^g, \alpha_{1,i}^g, \alpha_{2,i}^g)$  para a  $i$ -ésima árvore do  $g$ -ésimo grupo e os coeficientes de regressão aleatórios  $(\gamma_{0,i,j}^g, \gamma_{1,i,j}^g, \gamma_{2,i,j}^g)$  para a  $j$ -ésima galho, da  $i$ -ésima árvore do  $g$ -ésimo grupo.

Conforme o modelo de regressão longitudinal:

$$\begin{aligned} Y_{ijd}^g &= \beta_0^g + \beta_1^g \cdot d + \beta_2^g \cdot d^2 \\ &+ \alpha_{0,i}^g + \alpha_{1,i}^g \cdot d + \alpha_{2,i}^g \cdot d^2 \\ &+ \gamma_{0,i,j}^g + \gamma_{1,i,j}^g \cdot d + \gamma_{2,i,j}^g \cdot d^2 \\ &+ \varepsilon_{g,i,j,d} \end{aligned}$$

sendo  $(\alpha_{0,i}^g, \alpha_{1,i}^g, \alpha_{2,i}^g) \sim N_3(\sum \alpha)$  e  $(\gamma_{0,i,j}^g, \gamma_{1,i,j}^g, \gamma_{2,i,j}^g) \sim N_3(\sum \gamma)$ , onde  $N_3$  é a distribuição normal multivariada, supondo que os  $\alpha$ 's,  $\gamma$ 's e  $\varepsilon$ 's são independentes. O lado direito é uma curva quadrática, indexada por  $g$ , para a identificação do grupo onde também são incluídos os efeitos aleatórios que representam a natureza da árvore ( $\alpha$ 's) e do galho ( $\gamma$ 's).

Alternativamente, o modelo de regressão anterior pode ser escrito como:

$$\begin{aligned} Y_{ijd}^g &= (\beta_0^g + \alpha_{0,i}^g + \gamma_{0,i,j}^g) \\ &+ (\beta_1^g + \alpha_{1,i}^g + \gamma_{1,i,j}^g) \cdot d \\ &+ (\beta_2^g + \alpha_{2,i}^g + \gamma_{2,i,j}^g) \cdot d^2 \\ &+ \varepsilon_{g,i,j,d} \end{aligned}$$

Desta forma, cada parcela do modelo com coeficientes aleatórios é resultante da soma de três partes: a parte fixa da população (árvores 20-30 anos e 5-10 anos) e a parte aleatória da árvore e do galho.

Através deste modelo também é possível determinar a curva de regressão da distribuição dos ovos de inverno para cada árvore, substituindo-se as estimativas dos  $\beta$ 's e as predições dos  $\alpha$ 's na expressão abaixo:

$$\beta_0^g + \beta_1^g \cdot d + \beta_2^g \cdot d^2 + \alpha_{0,i}^g + \alpha_{1,i}^g \cdot d + \alpha_{2,i}^g \cdot d^2$$

A estimação dos parâmetros ( $\beta$ 's) foi feita pelo método de máxima verossimilhança e as predições dos efeitos aleatórios ( $\alpha$ 's e  $\gamma$ 's), segundo uma abordagem Bayesiana.

A estimação dos coeficientes populacionais e os testes de significância foram realizados seguindo a parametrização empregada pelo programa S-PLUS (Versão 6.0).

Foram consideradas variações do modelo acima descrito, sendo que todas definiam curvas de regressão para o número de ovos ao longo do galho, para cada grupo de árvores (20-30-anos e 5-10 anos) onde, além dos coeficientes fixos, foram testados coeficientes aleatórios polinômios de até terceiro grau para árvores e ramos.

A posição dos galhos nos quadrantes (Norte, Sul, Leste e Oeste) foi investigada após o ajuste do modelo final, com base nos testes dos efeitos dos galhos, representados pelos  $\gamma$ 's, e pelo teste de  $T^2$  de Hotelling e análise de variância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os primeiros anfígônicos (fêmeas ovíparas e machos) foram coletados em 30 de março de 2001 (Figura 3, Capítulo I), correspondendo ao início do outono, quando a

temperatura média era de 20°C e fotofase de 11 horas e meia. Nessa data, *L. indica* encontrava-se em fase final de frutificação e início de senescência, período em que as folhas de *L. indica* iniciam a mudança de coloração, passando de verde para tons de amarelo e posteriormente avermelhado, antes da queda das folhas. Patti *et al.* (1984) afirmam que a fêmea ovípara de *T. kahawaluokalani* inicia a oviposição a partir do quarto dia após atingir o estágio adulto; desta forma, os ovos de inverno são depositados durante todo o outono.

A forma e a coloração dos ovos de *T. kahawaluokalani* encaixam-se perfeitamente na descrição de Patti *et al.* (1984) e Alverson & Allen (1992). A coloração negra brilhante dos ovos é mantida durante todo o período de inverno até a emergência das fundatrizes, que coincide com o desenvolvimento das novas brotações da árvore, na primavera seguinte. Os ovos não fertilizados mantêm-se caracteristicamente de cor amarelada, conforme observado por Patti *et al.* (1984), e além disso, apresentam-se murchos. Os ovos foram localizados próximos às gemas, em pequenas dobras da casca em galhos finos (Figura 1), rugosidades e rachaduras formadas na casca dos galhos mais grossos, assim como nas bifurcações dos galhos, sendo parcialmente protegidos, como mencionado por Patti *et al.* (1984) e Alverson & Allen (1991, 1992). A quantidade de ovos observados nos diferentes locais de oviposição variou grandemente, parecendo estar mais relacionada com a adequação do local de oviposição do que devido a alguma tendência de agrupamento. Entretanto, Alverson & Allen (1991) citaram que, muitas vezes, os ovos são colocados em grupos irregulares de cerca de quatro ovos.

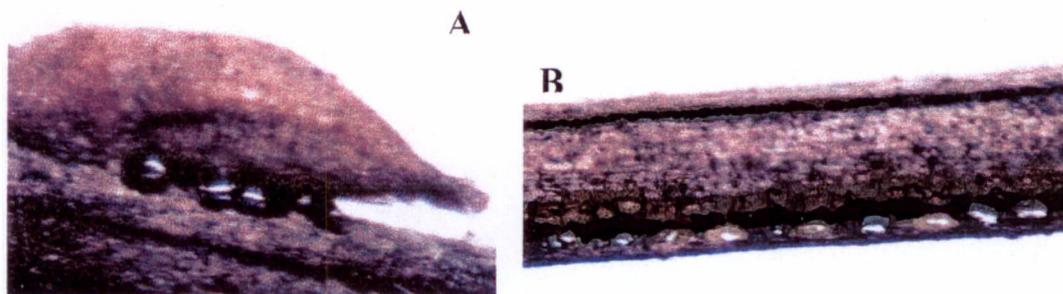


Figura 1. Ovos de inverno de *Tinocallis kahawaluokalani* depositados próximos às gemas (A) e em ranhuras formadas pela casca (B) em galhos de *Lagerstroemia indica*; Setor de Ciências Agrárias da UFPR, Curitiba, PR, julho/2001.

Foram contados 39.018 ovos de *T. kahawaluokalani* nos galhos amostrados de *L. indica*, sendo que 61,14% (23.854 ovos) do total estavam presentes nas árvores de 20-30 anos e 38,86% (15.164 ovos) nas árvores de 5-10 anos. A idade da árvore, o segmento do galho e as interações entre a idade x posição, assim como, a idade x segmento do galho, apresentaram efeitos significativos na distribuição dos ovos de *T. kahawaluokalani*. Porém, não foram observados efeitos significativos quanto à posição do galho, e as interações entre a posição x segmento, e entre a idade x posição x segmento do galho (Tabela 1), quando os ovos de todos os galhos foram analisados.

Árvores com 20-30 anos apresentaram significativamente mais ovos do que as com 5-10 anos, sendo congruente com os resultados observados para a infestação do afídeo, conforme descritos no Capítulo I. O número médio de ovos nos 80 cm apicais de galhos foi de 74,54 e 47,39 ovos para as árvores de 20-30 anos e 5-10 anos, respectivamente, e 60,97 ovos, considerado-se a média dos dois grupos de árvores (Tabela 2).

Tabela 1. Análise de variância testando os efeitos da idade, posição e segmento do galho de *Lagerstroemia indica*, na distribuição dos ovos de *Tinocallis kahawaluokalani*; Setor de Ciências Agrárias da UFPR, Curitiba, PR, julho/2001.

Fontes de variação	GL	Quadrados Médios (MS)	Valores de F [log (y + 1)]
Idade	1	41,215	115,973*
Posição do galho	3	0,561	1,584 <sup>ns</sup>
Segmento do galho	7	5,139	14,462*
Idade x posição do galho	3	3,277	9,227*
Idade x segmento do galho	7	0,801	2,253*
Posição x seção do galho	21	0,087	0,255 <sup>ns</sup>
Idade x posição x segmento do galho	21	0,063	0,184 <sup>ns</sup>
Resíduo	576	0,355	-

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo

As posições cardeais dos galhos na árvore não apresentaram diferenças significativas na distribuição dos ovos quando submetidas à análise de variância (Tabela 1), sendo que o número médio de ovos variou de 45,12 a 70,59 ovos, nos galhos dos diferentes quadrantes, considerando os dois grupos de árvores (Tabela 2). Por outro lado, a interação dos efeitos da idade em combinação com a posição do galho apresenta efeito significativo sobre a distribuição dos ovos (Tabela 1). Apenas galhos do quadrante Norte nas árvores de 20-30 anos apresentaram um número de ovos significativamente menor do que nos galhos dos demais quadrantes que, por sua vez, não apresentaram diferenças significativas entre si.

Tabela 2. Número médio ( $\pm$  Intervalo de Confiança 95%) de ovos de *Tinocallis kahawaluokalani* em galhos dos quadrantes de *Lagerstroemia indica*, com idade de 20-30 anos e 5-10 anos; Setor de Ciências Agrárias da UFPR, Curitiba/PR, julho/2001.

Quadrante	Média $\pm$ IC 95% do n <sup>o</sup> de ovos		
	Árvores 20-30 anos	Árvores 5-10 anos	Total dos dois grupos
Norte	47,26 $\pm$ 13,35 a	42,98 $\pm$ 12,76 a	45,12 $\pm$ 9,21 a
Sul	92,38 $\pm$ 16,80 b	36,15 $\pm$ 17,82 a	64,26 $\pm$ 12,97 a
Leste	78,43 $\pm$ 19,31 b	62,76 $\pm$ 39,36 a	70,59 $\pm$ 21,88 a
Oeste	80,11 $\pm$ 22,66 b	47,66 $\pm$ 21,99 a	63,89 $\pm$ 15,94 a
Total	74,54 $\pm$ 9,31 A	47,39 $\pm$ 12,52 B	60,97 $\pm$ 7,87

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas, para os quatro quadrantes, e maiúscula, na linha, para o total dos dois grupos, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%; análise efetuada com dados transformados em  $\log(y+1)$ .

Diferenças significativas na distribuição dos ovos em galhos de diferentes quadrantes também não foram evidenciadas através do teste  $T^2$  de Hotelling, quando os dois grupos de árvores foram analisados conjuntamente (Tabela 3). Pelos valores de  $T^2$  e de seus respectivos valores de p, não se rejeita a hipótese nula de que a variável, número de ovos, nos diferentes quadrantes tenha média zero, indicando que a distribuição dos ovos de inverno é estatisticamente igual nos quadrantes Norte, Sul, Leste e Oeste.

De modo geral, os resultados indicaram que os ovos de *T. kahawaluokalani* são distribuídos de forma semelhante sobre os galhos de *L. indica* nas quatro posições cardeais dos galhos, conforme se observa na Figura 2. Assim, galhos de qualquer posição na árvore poderão ser utilizados em futuros estudos sobre a distribuição ou infestação de ovos desta espécie de afídeo.

Tabela 3. Valores do Teste  $T^2$  de Hotelling para o número de ovos de *Tinocallis kahawaluokalani* coletados em galhos de *Lagerstroemia indica*, nos quadrantes Norte, Sul, Leste e Oeste; Setor de Ciências Agrárias da UFPR, Curitiba, PR, julho/2001.

Quadrante	$T^2$	Valores de p	Valor de F
Norte	1,59	0,23	3,17
Sul	0,68	0,58	-
Leste	1,78	0,19	-
Oeste	0,91	0,46	-

Por outro lado, a interação entre o segmento do galho e a idade da árvore apresentou efeito significativo na distribuição dos ovos ao longo do galho (Tabela 1). Nas árvores de 20-30 anos a tendência foi de um número menor de ovos nos segmentos de 10 e 20 cm do ápice do galho. Nas árvores de 5-10 anos, a distribuição dos ovos ao longo do galho foi mais homogênea, porém seguindo o mesmo padrão das árvores mais velhas (Figura 3). Considerando os dois grupos de árvores, a tendência foi de um menor número de ovos no ápice dos galhos.

De modo geral, a postura de *T. kahawaluokalani* é feita preferencialmente na parte mediana do galho, correspondendo aos segmentos de 40 a 60 cm do ápice do galho, onde se concentravam 53,62% e 46,99% do total dos ovos, respectivamente, nas árvores de 20-30 anos e 5-10 anos. Alverson & Allen (1992) avaliaram 1000 seções de 10 cm em galhos de 1 m de *L. indica* da cultivar *Carolina Beauty*, com cinco anos, e encontraram 54% dos ovos de *T. kahawaluokalani* nos 40 cm apicais dos ramos. Segundo os autores, a densidade média de ovos foi mais alta nos primeiros 20 cm ( $0,63 \pm 0,14$  ovos/cm<sup>2</sup>) do que a uma distância de 81-90 cm do ápice do galho ( $0,21 \pm 0,08$

ovos/cm<sup>2</sup>), diferindo um pouco do presente estudo em que os ovos concentram-se mais na porção mediana.

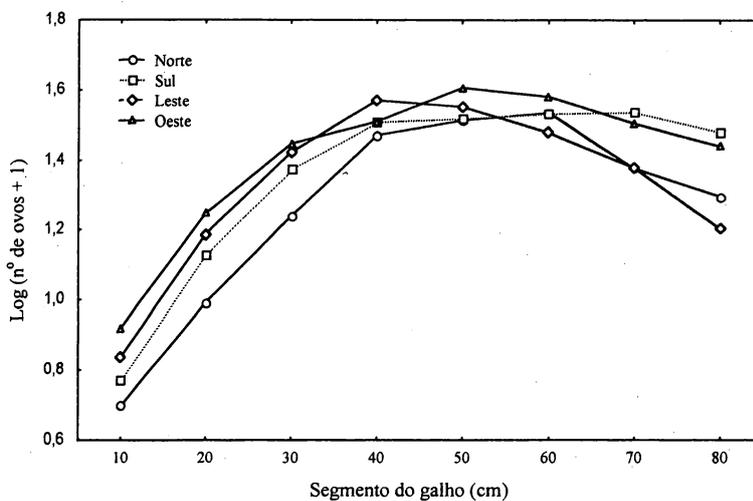


Figura 2. Número médio de ovos de *Tinocallis kahawaluokalani* depositados ao longo dos galhos de *Lagerstroemia indica*, nos quadrantes dos pontos cardeais; Setor de Ciências Agrárias da UFPR, Curitiba, PR, julho/2001.

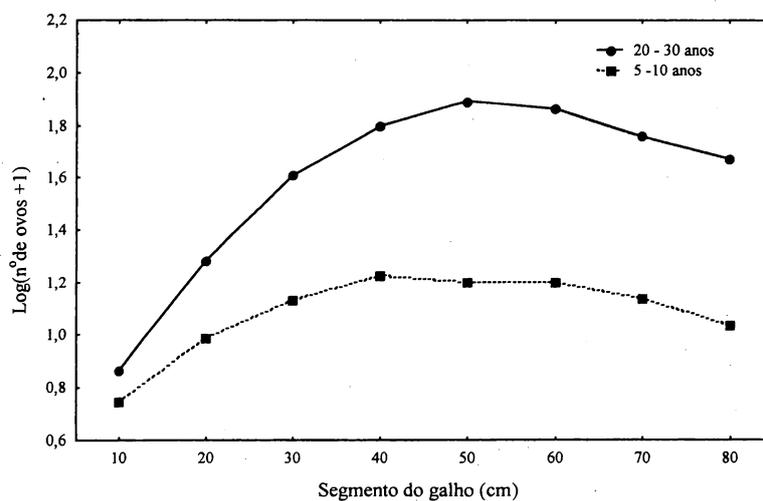


Figura 3. Número médio de ovos *Tinocallis kahawaluokalani* depositados ao longo do galho de *Lagerstroemia indica* com idade de 20-30 anos e 5-10 anos; Setor de Ciências Agrárias da UFPR, Curitiba, PR, julho/2001.

Com base nesses resultados pode-se inferir que galhos de 80 cm apicais de *L. indica* quando utilizados como estacas para a produção de mudas podem conter os ovos de *T. kahawaluokalani* e favorecer a dispersão da espécie para outras regiões.

### **Modelo Estatístico**

Para o desenvolvimento do modelo de regressão longitudinal, foram eliminados os valores discrepantes, constituídos pelos segmentos de galho que continham acima de 400 ovos. Assim, foram eliminados oito de um total de 640 segmentos amostrados, sendo cinco de uma mesma árvore do grupo 5-10 anos, e três segmentos do grupo 20-30 anos, cada um de uma árvore diferente.

Também foram testados modelos que consideram a variável número de ramos laterais presente em cada segmento do galho. No entanto, esta variável não foi utilizada pelo fato de não contribuir significativamente para o ajuste do modelo. Por outro lado, o diâmetro na parte média de cada segmento do galho apresentou correlação positiva alta com a distância de cada segmento a partir do ápice do galho. Desta forma, as duas variáveis (distância do ápice e diâmetro) ficaram confundidas, uma mascarando o efeito da outra. Por esta razão, optou-se pela modelagem da variável distância que forneceu um melhor ajuste do modelo. Como as posições cardeais dos galhos não apresentaram efeitos significativos sobre a distribuição dos ovos ao longo do galho de *L. indica*, em nenhum dos testes realizados, foram omitidas da modelagem.

Na Tabela 4 são apresentados os coeficientes populacionais estimados e os testes de significância para o modelo de regressão longitudinal adotado. O intercepto das curvas dos dois grupos de árvores (valor de  $p$  igual a 0,986) não apresentou diferença significativa, indicando que na extremidade apical do galho a distribuição dos ovos é

muito similar em ambos os grupos de árvores. Por outro lado, todos os outros parâmetros estimados apresentaram diferenças estatísticas significativas, indicando que o padrão da distribuição dos ovos ao longo do galho é diferente em cada grupo de árvores. A estimativa negativa do coeficiente quadrático (-0,000869) indica que as curvas, para ambos os grupos de árvores, são côncavas, embora o padrão da distribuição dos ovos ao longo do galho seja diferente em cada grupo.

Tabela 4. Coeficientes populacionais estimados e os testes de significância para o modelo selecionado, segundo a parametrização do programa S-PLUS (Versão 6.0), para a análise da distribuição dos ovos de *Tinocallis kahawaluokalani* em galhos de *Lagerstroemia indica*, Curitiba, PR, julho/2001.

Efeitos	Valor estimado	Desvio padrão (DP)	GL	Valores de T	Valores de p
Interceptor	1,508797	0,2255456	548	6,68954	< 0,0001
Grupo	0,004024	0,2255456	18	0,01784	0,9860
Distância	0,085283	0,0093704	548	9,10133	< 0,0001
Distância ^2	-0,000869	0,0000798	548	-10,89286	< 0,0001
Grupo: Distância	0,027167	0,0093704	548	2,89925	0,0039
Grupo: Distância ^2	-0,000237	0,0000798	548	-2,96551	0,0032

Assim, as curvas estimadas representam a tendência média para o logaritmo do número de ovos + 1 ao longo do galho em cada grupo de árvores (20-30 anos e 5-10 anos). As equações que descrevem as curvas de distribuição dos ovos ao longo dos 80 cm apicais do galho são:

$$\text{Log}(y + 1)_{\text{grupo 20-30 anos}} = 1,508797 + 0,11245d - 0,001106d^2$$

$$\text{Log}(y + 1)_{\text{grupo 5-10 anos}} = 1,508797 + 0,058116d - 0,000632d^2$$

O padrão geral da distribuição dos ovos ao longo do galho determinado através do modelo de regressão (Figura 4) foi muito semelhante àqueles resultados obtidos através da análise de variância (Figura 3), confirmando que nas árvores com 20-30 anos, o número de ovos é maior que nas árvores com 5-10 anos, e a postura é feita preferencialmente na porção mediana, entre 40-60 cm do ápice do galho, onde se concentram 53,62% dos ovos, enquanto que para as árvores com 5-10 anos evidenciou-se que a maior concentração dos ovos, 58,06%, ocorre entre 30-60 cm do ápice do galho. Estes resultados diferem daqueles obtidos por Alverson & Allen (1992), com maior concentração de ovos nos primeiros 40 cm apicais do galho. Este fato pode ser devido a outras variáveis, como condições climáticas e outros fatores não considerados neste modelo.

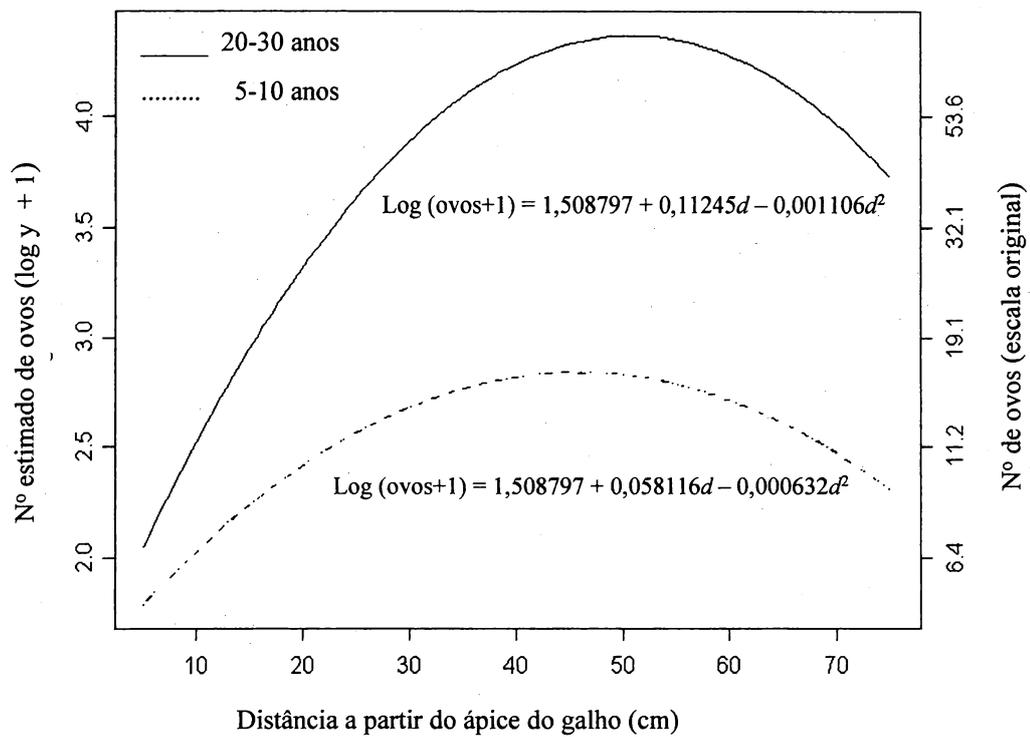


Figura 4. Curvas estimadas representando a tendência média para o logaritmo do número de ovos de *Tinocallis kahawaluokalani* ao longo de 80 cm apicais dos galhos de *Lagerstroemia indica*, com 20-30 anos e 5-10 anos de idade; Setor de Ciências Agrárias da UFPR, Curitiba, PR, julho/2001.

Conforme este modelo, também foi possível determinar a curva de regressão longitudinal para a distribuição dos ovos ao longo do galho para cada árvore estudada (Figura 5). As curvas individuais das árvores estão centradas ao redor da curva determinada para o grupo. Observar-se que algumas curvas situam-se acima e outras abaixo da curva geral do grupo, indicando uma variabilidade no padrão de postura tanto para as árvores de 20-30 anos quanto para as de 5-10 anos.

Os valores das estimativas dos desvios padrões dos coeficientes aleatórios lineares referentes à natureza da árvore ( $\alpha$ ) e do galho ( $\gamma$ ), são muito similares, indicando que a estrutura de variância entre os coeficientes aleatórios das árvores é aproximadamente igual à estrutura de variância entre os coeficientes aleatórios dos galhos ( $0,0345^2$  e  $0,0364^2$ , respectivamente árvores e galhos). Por sua vez, a variância do resíduo, estimada em  $0,477^2$ , representa uma variância residual substancial, que não é atribuída ao grupo (20-30 anos; 5-10 anos), à natureza da árvore ou ao galho. Portanto, existem outros fatores, não estudados, que estão atuando na distribuição dos ovos de *T. kahawaluokalani* ao longo dos galhos de *L. indica*.

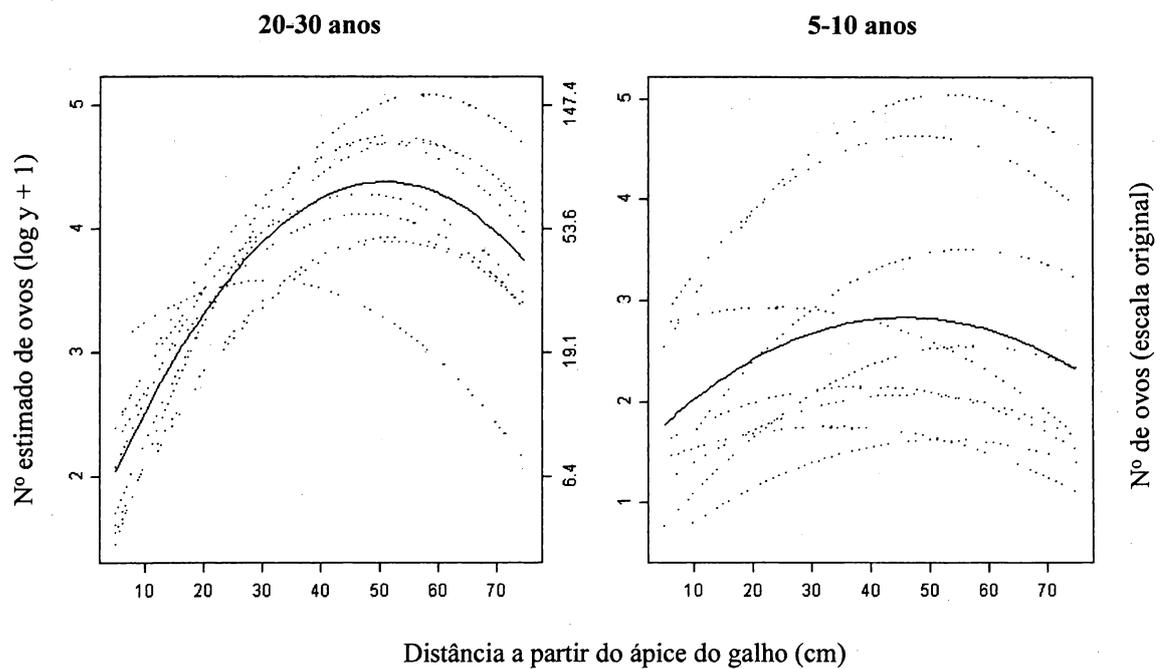


Figura 5. Curvas estimadas representando a tendência média para o logaritmo do número de ovos de *Tinocallis kahawaluokalani* ao longo de 80 cm apicais dos galhos de todas as árvores amostradas de *Lagerstroemia indica*, com 20-30 anos e 5-10 anos de idade; Setor de Ciências Agrárias da UFPR, Curitiba, PR, julho/2001.

## CONCLUSÕES

Árvores de *Lagerstroemia indica* com 20-30 anos apresentam mais ovos de *Tinocallis kahawaluokalani* do que aquelas com 5-10 anos;

A preferência de postura é na porção mediana do galho, entre 40-60 cm do ápice do galho, para árvores com 20-30 anos e entre 30-60 cm, para as árvores de 5-10 anos;

A posição cardinal dos galhos de *L. indica* não influencia na distribuição dos ovos de *T. kahawaluokalani*;

O modelo de regressão longitudinal é um instrumento importante para estabelecer tendências na distribuição dos ovos nas plantas, mas o resíduo da variância indica que outros fatores podem estar influenciando nessa característica.

## LITERATURA CITADA

Alverson, D.R. & R.K. Allen. 1991. Life history of the crapemyrtle aphid. Proceedings Society Nurserymen's Association Res. Conference, **36**: 164-167.

Alverson, D.R. & R.K. Allen. 1992. Bionomics of the crapemyrtle aphid (Homoptera: Aphididae). Journal of Entomological Science, **27**: 445-457.

Blackman, R.L. & V.F. Eastop. 1994. Aphids on the world's tree – An identification and information guide. Wallingford, CBA International, 987p.

Cabbete, H.S.R. 1995. Ocorrência de formas gâmicas e ambifásicas de *Schizaphis graminum* (Rondani) (Homoptera: Aphididae) em criação de campo e laboratório em São Paulo, Brasil. Revista Brasileira de Zoologia, **12**: 655-662.

Costa, C.L.; V.F. Eastop & A.S. Costa. 1972. A list of aphids species (Homoptera: Aphidoidea), collected in São Paulo, Brazil. *Revista Peruana de Entomologia*, **15**: 131-134.

Dixon, A.F. 1985. Structure of aphid populations. *Annual Review of Entomology*, **30**: 155-174.

Lazzarotto, M.C. 1996. Análise faunística de afídeos (Homoptera: Aphididae) de acordo com um gradiente altitudinal na Serra do Mar. Paraná. Tese de mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 107p.

Littell, R.C.; A. G. Milliken; W.W. Stroup & R.D. Wolfinger. 1996. SAS system for mixed models. Cary, 633p.

Lourteig, A. 1969. Litráceas. In: Flora ilustrada catarinense, I Parte, p.73-75. P. Raulino Reitz ed., Itajaí, Santa Catarina. 81p.

Mello, M.E.R. 1994. Afídeos (Homoptera: Aphididae) e seus inimigos naturais em olerícolas, Piraquara, Paraná. Tese de mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 85p.

Menezes, M. 1970. Reprodução sexuada de *Aphis spiraecola* Patch, 1914 no Estado de São Paulo (Homoptera: Aphididae). *O Biológico*, **36**: 53-57.

Moran, N.A. 1992. The evolution of life cycle. *Annual Review of Entomology*, **37**: 321-348.

Patti, I. 1984 Un afide nocivo alla *Lagerstroemia indica* in Italia. *Informatore Fitopatologico*, **12**: 12-14.

Patti, I.; R.G. Spampinato & M.G. Tornatore. 1984. Note morfologiche e bio-ecologiche sull'afide della *Lagerstroemia*, *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirk.) (Rhynchota: Aphidoidea). *Phytophaga*, **2**: 87-116.

Quednau, F.W. 1974. Notes on the Lizerini Blanchard with description of new *Lizerius* and *Paoloella* species from South America and Africa (Homoptera: Aphididae). *The Canadian Entomologist*, **106**: 45-72.

Rotta, E.; F.R. Tavares & V.A. Sousa-Lang. 1996. Produção de mudas por estaquia de *Lagerstroemia indica*. Comunicado Técnico – Embrapa/ Centro Nacional de Pesquisa de Florestas, Nº 11, 3p.

### **CAPÍTULO III**

Abundância e sazonalidade de inimigos naturais de  
*Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy) (Hemiptera: Aphididae) em  
*Lagerstroemia indica* L. (Lythraceae), em Curitiba, PR

## RESUMO

O afídeo-da-extremosa, *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy, 1907), foi recentemente detectado no Brasil, colonizando as folhas e ramos de *Lagerstroemia indica* (Linnaeus, 1762), planta ornamental amplamente utilizada em paisagismo e arborização urbana em diversas cidades brasileiras. Devido à falta de informação sobre o complexo de inimigos naturais associados a esta espécie de afídeo, foram avaliadas quinzenalmente a ocorrência e a flutuação populacional dos predadores e parasitóides, durante o ciclo fenológico de *L. indica* compreendido entre setembro/2000 a maio/2001, na região de Curitiba, PR. Quatro galhos/planta de 30 cm de comprimento foram amostrados em árvores de 20-30 anos e 5-10 anos, avaliando-se o número de afídeos, predadores (larva, pupa e adulto) e múmias de afídeos. Insetos das famílias Coccinellidae (Coleoptera), Syrphidae (Diptera), Chrysopidae e Hemerobiidae (Neuroptera) foram os principais predadores associados a *T. kahawaluokalani* e representaram, respectivamente, 56,53%, 23,98% e 19,49% do total de predadores. As espécies de coccinelídeos coletadas foram: *Olla v-nigrum* Mulsant, 1866, *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus, 1763), *Curinus coeruleus* (Mulsant, 1850), *Harparsus* sp., *Scymnus (Pullus)* sp. e *Stethorus* sp. Os sirfídeos foram: *Allograpta exotica* (Wiedmann, 1830), *Allograpta tectiforma* Fluke, 1942, *Allograpta neotropica* Curran, 1936; *Ocyptamus gastrostactus* (Wiedeman, 1830) e *Ocyptamus* cf. *gastrostactus*. Dentre os neurópteros, foram coletados *Chrysoperla externa* (Hagen 1861) e uma espécie não identificada de hemerobiídeo. Os picos populacionais dos predadores foram coincidentes ou ocorreram imediatamente após os picos populacionais do afídeo, sendo que a maior correlação para a flutuação do afídeo-predador foi para os Coccinellidae ( $r = 0,7385$ ,  $t = 4,2415$ ,  $p = 0,0007$ ), seguidos dos Syrphidae ( $r = 0,6454$ ,  $t = 3,2722$ ,  $p =$

0,0051) e Neuroptera ( $r = 0,5276$ ,  $t = 2,4055$ ,  $p = 0,0295$ ). Este é o primeiro registro de parasitismo de *T. kahawaluokalani* por *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson, 1880) (Hymenoptera: Aphidiinae), fora de casa de vegetação e também o primeiro registro de outro Aphidiinae, *Aphidius colemani* Viereck, 1912 parasitando *T. kahawaluokalani*, no mundo.

## ABSTRACT

The crapemyrtle aphid, *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy, 1907) was detected recently infesting *Lagerstroemia indica* (Linnaeus, 1762), which is an exotic ornamental plant widely used for landscaping in several Brazilian cities. This research was carried out in order to survey the natural enemies associated with *T. kahawaluokalani* in Brazil. Occurrence and seasonal variation of predators and parasitoids were analyzed every 15 days, during the phenological cycle of *L. indica* in Curitiba, in the state of Paraná, from September 2000 to May 2001. The number of aphids, predators (larvae, pupae, adults) and mummies of aphids, were investigated on four branches per plant, each one with 30 cm long, on 20-30 years old plants and 5-10 years old. Species of Coccinellidae (Coleoptera), Syrphidae (Diptera), Chrysopidae and Hemerobiidae (Neuroptera) were the main predators of *T. kahawaluokalani*, representing 56,53%, 23,98% and 19,49% of the predators, respectively. The population peaks of predators were either coincident or occurred immediately after the peak of *T. kahawaluokalani*. The Coccinellidae species collected were: *Olla v-nigrum* Mulsant, 1866, *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus, 1763), *Curinus coeruleus* (Mulsant, 1850), *Harpasus* sp., *Scymnus (Pullus)* sp. and *Stethorus* sp. The Syrphidae were: *Allograpta exotica* (Wiedmann, 1830), *Allograpta tectifforma* Fluke, 1942, *Allograpta neotropica*

Curran, 1936, *Ocyptamus gastrostactus* (Wiedeman, 1830) and *Ocyptamus cf. gastrostactus*. The Neuroptera were: *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) and an unidentified species of Hemerobiidae. The highest correlation between the fluctuation of aphid and predator was observed for Coccinellidae ( $r = 0,7385$ ,  $t = 4,2415$ ,  $p = 0,0007$ ), followed by Syrphidae ( $r = 0,6454$ ,  $t = 3,2722$ ,  $p = 0,0051$ ) and Neuroptera ( $r = 0,5276$ ,  $t = 2,4055$ ,  $p = 0,0295$ ). It is the first record of the parasitoid *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson, 1880) (Hymenoptera: Aphidiinae), associated to *T. kahawaluokalani* outside of a greenhouse, and also of another Aphidiinae, *Aphidius colemani* Viereck, 1912 parasitizing the crapemyrtle aphid in the world.

## INTRODUÇÃO

A importância dos inimigos naturais como agentes antagonistas de populações de afídeos é bem conhecida (Hagen & Van den Bosch 1968; Minks & Harrewijn 1988). Vários aspectos biológicos e de interações com fatores bióticos e abióticos têm sido frequentemente investigados para desenvolver estratégias de controle biológico ou para subsidiar programas de manejo integrado de afídeos, principalmente em culturas de importância econômica (Raworth *et al.* 1984; Auad *et al.* 1997; Chen & Hopper 1997; Ferreira 1999; Mendes *et al.* 2000; Fonseca *et al.* 2000; Sampaio *et al.* 2001; Figueira *et al.* 2003).

O pulgão-da-extremosa, *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy, 1907) (Hemiptera: Aphididae), é considerado o mais importante agente de depreciação de *Lagerstroemia indica* Linnaeus, 1762 (Egolf & Andrick 1978). As numerosas colônias formadas sobre a face abaxial das folhas provocam amarelecimento e queda prematura de folhas, além da abundante produção de *honeydew* que favorece o desenvolvimento

da fumagina que, por sua vez, reduz a área fotossintética da planta (Patti 1984; Patti *et al.* 1984; Leclant & Renoust 1986; La Rossa *et al.* 1997). Ataques severos também podem ocasionar deformações nos brotos, curvatura da nervura principal e ondulação do limbo foliar (La Rossa *et al.* 1997). Quando as populações são numerosas em árvores de pequeno porte ou em situação de estresse hídrico, os danos causados por essa espécie de afídeo podem ser dramáticos e, às vezes, irreversíveis, ocasionando a morte da planta (Patti *et al.* 1984; Mier-Durante *et al.* 1995).

Diversas espécies de insetos predadores estão associadas a *T. kahawaluokalani* em *L. indica*, atuando como antagonistas das populações deste afídeo, nas diferentes regiões onde a espécie foi introduzida. Mizell & Schiffhauer (1987) relataram *Cycloneda sanguinea* Linnaeus, *Cycloneda munda* (Say), *Hippodamia convergens* (Guerin-Meneville), *Olla v-nigrum* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae); *Allograpta abliqua* (Say) e *Mesograpta* sp. (Diptera: Syrphidae); *Chrysopa rufilabris* (Burmeister) (Neuroptera: Chrysopidae); *Micromus posticus* (Walker), *Hemerobius stigma* (Stephens) (Neuroptera, Hemerobiidae); *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae); *Deraeocorius nebulosus* (Uhler) (Hemiptera: Miridae); *Zelus exsanguis* (Stal), *Sinea spinipes* (Herrich-Schaeffer) e *Arilus cristatus* (Linnaeus) (Hemiptera: Reduviidae) associadas a *T. kahawaluokalani*, no norte da Flórida. Leclant & Renoust (1986) observaram *Adalia bipunctata* Linnaeus, *Adalia decempunctata* Linnaeus (Coleoptera: Coccinellidae) e *Episyrphus balteatus* (De Geer) (Diptera: Syrphidae) predando esta espécie de afídeo, na França. Na Itália, Patti (1984) observou a presença de predadores generalistas com prevalência de coccinélídeos da tribo Scyminini, seguido de dípteros da família Syrphidae e neurópteros da família Chrysopidae e, raramente, exemplares de outros grupos de agentes entomófagos. Na Argentina, os

coccinelídeos *C. sanguinea* e *Scymnus* sp. e larvas de Syrphidae foram relatadas predando colônias de *T. kahawaluokalani* (La Rossa *et al.* 1997).

Enquanto a fauna de predadores associados a *T. kahawaluokalani* é relativamente abundante e conhecida nas diversas regiões em que esta espécie de afídeo foi introduzida, o parasitismo, em ambiente natural, nunca foi registrado. O único registro de parasitismo nesta espécie foi feito por Alverson & Allen (1992) para *L. indica* da cultivar *Carolina Beauty* mantida em casa de vegetação, na Carolina do Sul. Esses autores relataram a ocorrência de inúmeras múmias de *T. kahawaluokalani*, nos meses de outono, das quais emergiram o parasitóide *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae: Aphidiini). Observaram também uma fêmea do gênero *Aphelinus* inserindo o ovipositor em espécimes de *T. kahawaluokalani*, em casa de vegetação, no entanto, sem emergência do parasitóide. Sendo esses os únicos registros de parasitismo sobre *T. kahawaluokalani* no mundo.

Monitoramentos para detectar parasitóides de *T. kahawaluokalani* foram conduzidos, sem sucesso, entre 1998-2000, em várias regiões em que esta espécie de afídeo foi introduzida, incluindo no Sudeste da Ásia, o local de origem tanto da planta quanto do afídeo (Mizell *et al.* 2002).

Devido ao recente registro de *T. kahawaluokalani* no Brasil e à falta de informação sobre o complexo de inimigos naturais associados a esta espécie de afídeo na região, foi desenvolvido este estudo com o objetivo de investigar a ocorrência e a flutuação populacional dos predadores e parasitóides do pulgão-da-extremosa, em Curitiba, PR.

## MATERIAL E MÉTODOS

A avaliação da abundância sazonal dos inimigos naturais de *T. kahawaluokalani* foi realizada no Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba, cuja caracterização climática e aspectos da arborização estão descritos no Capítulo I.

Durante um ciclo fenológico de *L. indica*, compreendido entre setembro/2000 a maio/2001, foram realizadas coletas de galhos em dois grupos de árvores, com idade de 20 a 30 anos e de 5 a 10 anos. Quinzenalmente, a partir do aparecimento dos primeiros brotos de *L. indica* até a queda total das folhas, quatro galhos/planta, sendo um de cada quadrante, foram removidos de 10 plantas/grupo de planta das duas idades, mediante sorteio das plantas/data de coleta. Galhos de cerca de 30 cm foram seccionados com uma tesoura de poda com cabo telescópico, em cujo ápice foi adaptado um cesto revestido com saco plástico transparente que recolhia o galho, identificado de acordo com quadrante/planta/grupo da planta, conforme descrito no Capítulo I.

No laboratório, os galhos foram examinados sob estereomicroscópio, e anotado o número de larvas, pupas, adultos de insetos predadores e afídeos parasitados (múmias) presentes por galho/quadrante/planta, nos dois grupos de plantas. Os insetos predadores adultos foram mortos, montados em alfinetes entomológicos e posteriormente identificados. As pupas foram mantidas em frascos plásticos para a obtenção de adultos, enquanto que as larvas foram individualizadas e alimentadas até a pupação e emergência dos adultos.

Como não foram observadas diferenças significativas na distribuição de *T. kahawaluokalani* nos galhos em relação à sua posição cardinal na planta (Capítulo I), foi feita a soma dos inimigos naturais presentes nos quatro galhos por planta/data de coleta.

Os dados foram analisados considerando o número e porcentagem do total de inimigos naturais presentes nos dois grupos de plantas por data de coleta, bem como, sua correlação gráfica com a população do afídeo, com a temperatura e pluviosidade, no período que antecedeu às datas de coleta. Os dados meteorológicos foram fornecidos pelo Sistema de Meteorologia do Paraná (SIMEPAR).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o ciclo fenológico de *L. indica*, no período de setembro/2000 a maio/2001, foram coletados 467 espécimes de insetos predadores (larvas + pupas + adultos), sendo que 61,24% do total estavam presentes nas plantas com idade de 20-30 anos e 38,76% nas de 5-10 anos. Os Coccinellidae representaram 56,53% do total de predadores coletados, enquanto que os Syrphidae e os Neuroptera (Chrysopidae e Hemerobiidae) representaram 23,98% e 19,49%, respectivamente (Tabela 1). Espécies de Coccinellidae e Syrphidae também foram os principais predadores que afetaram a dinâmica populacional de *T. kahawaluokalani*, na Carolina do Sul (Alverson & Allen 1992) e no norte da Flórida (Mizell & Schiffhauer 1987).

Tanto nas plantas de 20-30 anos quanto nas de 5-10 anos, os Coccinellidae foram os predadores mais abundantes, representando 52,10% e 63,54% do total de predadores, respectivamente. Os Syrphidae e Neuroptera ocorreram em porcentagens mais reduzidas, sendo respectivamente 27,97% e 17,68% para plantas com 20-30 anos, 19,93% e 18,78% para 5-10 anos (Tabela 1).

As espécies de Coccinellidae associadas a *T. kahawaluokalani* foram: *Olla v-nigrum* Mulsant, 1866 e *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus, 1763) (Coccinellinae); *Curinus coeruleus* (Mulsant, 1850) e *Harparsus* sp. (Chilocorinae); *Scymnus* (*Pullus*)

sp. e *Stethorus* sp. (Scymninae). Dentre os sirfídeos foram constatadas as espécies *Allograpta exotica* (Wiedmann, 1830); *Allograpta tectiforma* Fluke, 1942; *Allograpta neotropica* Curran, 1936; *Ocyptamus gastrostactus* (Wiedeman, 1830) e *Ocyptamus cf. gastrostactus*. Dentre os neurópteros foram coletados o crisopídeo *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) e uma espécie não identificada de hemerobiídeo.

Tabela 1. Número e porcentagem de predadores de *Tinocallis kahawaluokalani* coletados em *Lagerstroemia indica*, com idades de 20-30 anos e 5-10 anos, no período de setembro/2000 a maio/2001; Setor de Ciências Agrárias da UFPR, Curitiba/PR.

Idade das plantas	Número (%)			
	Coccinellidae	Syrphidae	Chrysopidae e Hemerobiidae	Total de predadores
20 - 30 anos	149 (52,10%)	80 (27,97%)	57 (19,93%)	286 (61,24%)
5 - 10 anos	115 (63,54%)	32 (17,68%)	34 (18,78%)	181 (38,76%)
Total	264 (56,53%)	112 (23,98%)	91 (19,49%)	467 (100%)

O complexo de insetos predadores associados a *T. kahawaluokalani* apresentou correlação positiva com a flutuação populacional do afídeo ( $r = 0,7742$ ,  $t = 4,7367$ ,  $p = 0,0003$ ), sendo que a maior correlação observada foi para os Coccinellidae ( $r = 0,7385$ ,  $t = 4,2415$ ,  $p = 0,0007$ ), seguidos dos Syrphidae ( $r = 0,6454$ ,  $t = 3,2722$ ,  $p = 0,0051$ ) e Neuroptera ( $r = 0,5276$ ,  $t = 2,4055$ ,  $p = 0,0295$ ).

Os picos populacionais dos insetos predadores foram coincidentes ou ocorreram imediatamente após os picos populacionais de *T. kahawaluokalani* (Figura 1). O mesmo padrão de flutuação foi observado para as populações de Coccinellidae, Syrphidae, Chrysopidae e Anthocoridae predadores desta espécie de afídeo, no norte da Flórida (Mizell & Schiffhauer 1987) e na Carolina do Sul (Alverson & Allen 1992).

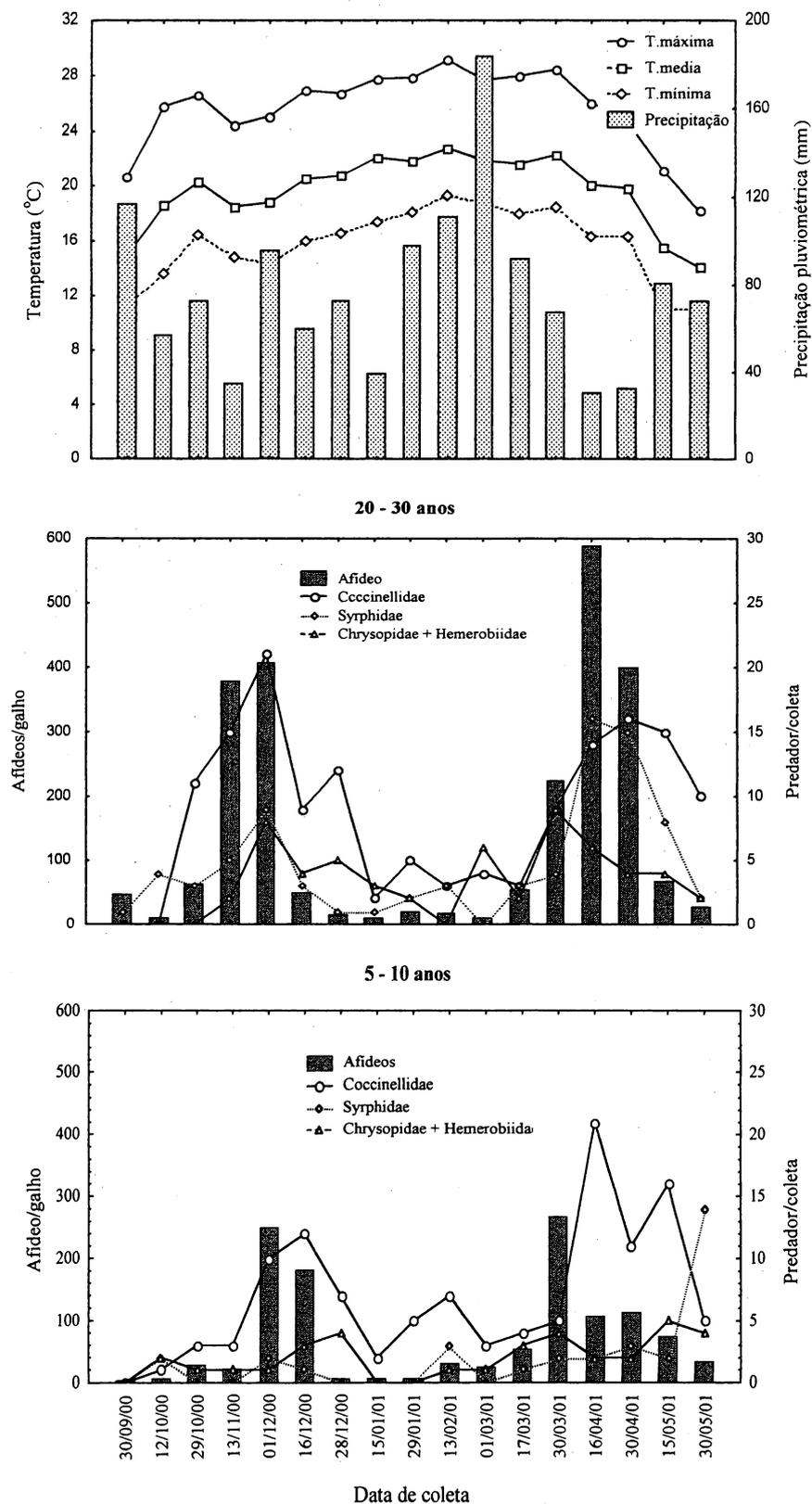


Figura 1. Número de espécimes de Coccinellidae, Syrphidae e Neuroptera (Chrysopidae e Hemerobiidae) coletados em *Lagerstroemia indica*, com idade de 20-30 anos e 5-10 anos, e número médio de *Tinocallis kahawaluokalani* por galho e data de coleta, em função da temperatura e precipitação pluviométrica; Setor de Ciências Agrárias da UFPR, setembro/2000 a maio/2001, Curitiba, PR.

Para as plantas com 20-30 anos, os picos populacionais dos predadores ocorreram no início de dezembro e coincidiram com o primeiro pico populacional de *T. kahawaluokalani*, quando temperatura média estava em torno de 19°C, a pluviosidade acumulada no período que antecedeu ao período de coleta foi de cerca de 100 mm e fotofase acima de 13 horas de luz. A partir de meados de dezembro até meados de março foi observada uma queda tanto da população dos afídeos quanto da dos predadores, quando as temperaturas máximas e a precipitação atingiram os valores mais altos. No final de março, com temperatura média em torno de 20°C e fotofase de 11 horas e meia, a população de *T. kahawaluokalani* começou a aumentar atingindo o segundo pico em meados de abril, quando também ocorreu o aumento da população de predadores. No caso dos neurópteros, o pico populacional do período foi no final de março, seguido do pico dos sirfídeos e dos coccinelídeos, em meados e final de abril, os quais coincidiram com os mais altos níveis populacionais dos afídeos no período em questão, mostrando que essas ordens de predadores apresentam uma tendência de ser dependentes da densidade de sua presa (Figura 1).

Para as plantas com 5-10 anos, de modo geral, a flutuação populacional dos predadores foi semelhante à observada para as plantas com 20-30 anos. No entanto, pode-se constatar que, em relação ao primeiro pico populacional de *T. kahawaluokalani*, ocorrido em dezembro, os picos populacionais dos coccinelídeos e dos neurópteros ocorreram cerca de 15 e 30 dias após, respectivamente, os picos populacionais desses predadores para as plantas mais velhas. Já, o segundo pico populacional do afídeo foi antecipado em 15 dias, em relação das plantas com 20-30 anos, e os neurópteros e os coccinelídeos apresentaram dois picos, sendo o primeiro no final de março para os neurópteros e meados de abril para os coccinelídeos, e o segundo em meados de maio para os dois de predadores. Os sirfídeos por sua vez, ocorreram em níveis populacionais

sempre mais baixos que os coccinelídeos e os neurópteros, durante todo o ciclo da planta. Entretanto, no final de maio, coincidindo com o final do ciclo fenológico de *L. indica*, ocorreu um pico populacional deste predador (Figura 1), representado quase que exclusivamente por pupas.

Nenhuma múmia de *T. kahawaluokalani* foi coletada nas plantas durante o período de setembro/2000 a maio/2001, quando foram registrados 143.092 espécimes de *T. kahawaluokalani*, sendo 88,94% representado por ninfas, 8,71% por fêmeas aladas partenogênicas, 1,66% por fêmeas ovíparas e 0,69% por machos (Tabela 2).

Tabela 2. Número e porcentagem das diferentes formas de *Tinocallis kahawaluokalani* coletados em *Lagerstroemia indica*, com idades de 20-30 anos e 5-10 anos, no período de setembro/2000 a maio/200; Setor de Ciências Agrárias da UFPR, Curitiba/PR

Idade das plantas	Número (%)				Total afídeos
	Ninfas	Fêmeas partenogênicas	Ovíparas	Machos	
20 – 30 anos	84.779 (89,22%)	7.914 (8,33%)	1.579 (1,66%)	753 (0,79%)	95.025 (66,41%)
5 – 10 anos	42.488 (88,39%)	4.555 (9,48%)	795 (1,65%)	229 (0,48%)	48.067 (33,59%)
Total	127.267 (88,94%)	12.469 (8,71%)	2.374 (1,66%)	982 (0,69%)	143.092 -

Entretanto, no ano 2000, sete múmias de *T. kahawaluokalani* foram coletadas em mudas de *L. indica* com idade de 1-2 anos, que eram inspecionadas periodicamente, mantidas na área adjacente à do estudo. Duas espécies de parasitóides emergiram das múmias coletadas: *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson 1880) e *Aphidius colemani* Viereck

1912 (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae: Aphidiini). Os parasitóides *L. testaceipes* emergiram de fêmeas aladas partenogênicas mumificadas coletadas em junho, outubro e novembro/2000, enquanto *A. colemani* emergiu de uma ninfa alatóide e de uma fêmea ovípara, mumificadas, coletadas no mês de junho/2000 (Tabela 3).

Tabela 3. Parasitóides emergidos e datas de coleta das múmias de *Tinocallis kahawaluokalani* sobre mudas de *Lagerstroemia indica*, com idade de 1-2 anos; Setor de Ciências Agrárias da UFPR, Curitiba/PR.

Data de coleta	Nº de múmias	Forma do afideo parasitada	Parasitóide
12/junho/2000	1	Alatóide	<i>Aphidius colemani</i>
18/junho/2000	1	Fêmea partenogênica	<i>Lysiphlebus testaceipes</i>
19/junho/2000	1	Ovípara	<i>Aphidius colemani</i>
27/outubro/2000	1	Fêmea partenogênica	<i>Lysiphlebus testaceipes</i>
30/outubro/2000	1	Fêmea partenogênica	<i>Lysiphlebus testaceipes</i>
5/novembro/2000	2	Fêmea partenogênica	<i>Lysiphlebus testaceipes</i>

Segundo Mizell *et al.* (2002), é incomum a ausência de parasitismo em espécies de afídeos que têm como local de alimentação as folhas, como é o caso de *T. kahawaluokalani*. Setenta gêneros de afídeos, compreendendo mais de 200 espécies, 400 associações afideo-parasitóide e centenas de combinações tritróficas, parasitóide-afideo-planta, ocorrem na América do Norte (Pike *et al.* 2000). Segundo esses autores, *L. testaceipes* parasita mais de 110 espécies de afídeos de 33 gêneros diferentes, enquanto que *A. colemani* é registrado parasitando oito espécies de seis gêneros diferentes de afídeos, naquela região.

No Brasil, os parasitóides *L. testaceipes* e *A. colemani* também são freqüentemente encontrados parasitando diversas espécies de afídeos (Tavares 1991; Ferreira 1999; Peronti 1999; Mendes *et al.* 2000; Imenes *et al.* 2002).

A imunidade ao ataque de parasitóides é conhecida na família Aphididae (Hagen & Van den Bosch 1968; Carver & Sullivan 1988; Tardieux & Rabasse 1988). Segundo Mizell *et al.* (2002), a falta de associação de parasitóides com *T. kahawaluokalani* pode ser devida à capacidade do afídeo de encapsular ovos ou larvas dos parasitóides, como uma resposta fisiológica frente a um organismo estranho ou devido a mecanismos de defesa química decorrente de compostos químicos secundários presentes na seiva de *L. indica*. Espécies do gênero *Lagerstroemia*, incluindo *L. indica*, assim como outras espécies da família Lythraceae, contêm alcalóides nas folhas, ramos e sementes. Seis alcalóides foram isolados de sementes de *L. indica*, sendo que vestígios desses compostos também foram detectados nos ramos e folhas. Três desses alcalóides, lagerstroemina, lagerina e dihidroverticillatina são específicos de *L. indica* (Ferris *et al.* 1971), e poderiam ser utilizados por *T. kahawaluokalani* como defesa química contra os parasitóides (Mizell *et al.* 2002). Defesa química utilizando compostos secundários é relatada para outras espécies de afídeos (Jones & Klocke 1987; Malcolm 1990). Entretanto, *L. testaceipes* parasita com sucesso *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe, o qual se alimenta em *Nerium oleander* Linnaeus (Apocynaceae), que também contém alcalóides (Starý *et al.* 1988).

O único registro de parasitismo em *T. kahawaluokalani* (Alverson & Allen 1992), foi considerado como uma associação oportunista e incomum por Mizell *et al.* (2002). Embora Alverson & Allen (1992) não mencionem a idade das plantas de *L. indica* mantidas em casa de vegetação sobre as quais foram coletados espécimes de *T. kahawaluokalani* parasitados por *L. testaceipes*, possivelmente aquelas plantas eram

muito jovens, tais como as mudas nas quais as mummies de *T. kahawaluokalani* foram detectadas no presente estudo.

Se os alcalóides produzidos por *L. indica* são utilizados como defesa química por *T. kahawaluokalani*, conforme hipótese de Mizell *et al.* (2002), plantas jovens poderiam não produzir quantidades suficientes desses compostos secundários, para serem efetivos como defesa química. Este fato poderia explicar a ocorrência de parasitismo de *T. kahawaluokalani* em plantas muito jovens (1-2 anos) detectada no presente estudo.

Enquanto o complexo de insetos predadores associados a *T. kahawaluokalani* é bem estabelecido, a interação afideo-parasitóide e a interação tritrófica, planta-afideo-parasitóide, não são esclarecidas e precisam ser mais estudadas nesta espécie de afideo para, eventualmente, ser usada em programas de controle biológico.

## CONCLUSÕES

Espécies das famílias Coccinellidae, Syrphidae, Chrysopidae e Hemerobiidae são os principais predadores associados a *Tinocallis kahawaluokalani*, em Curitiba. PR;

O coccinelídeo do gênero *Harpasus* é registrado pela primeira vez associado a *T. kahawaluokalani* e provavelmente trata-se de uma espécie nova;

Os picos populacionais dos predadores coincidem ou ocorrem imediatamente após os picos populacionais de *T. kahawaluokalani*, e pode ser correlacionada diretamente com a flutuação populacional do afideo;

Este é o primeiro registro do parasitismo de *Lysiphlebus testaceipes* sobre *T. kahawaluokalani*, em ambiente natural e o primeiro de *Aphidius colemani* parasitando *T. kahawaluokalani* no mundo.

**LITERATURA CITADA**

Alverson, D.R. & R.K. Allen. 1992. Bionomics of the crapemyrtle aphid (Homoptera: Aphididae). *Journal of Entomological Science*, **27**: 445-457.

Auad, A.M.; V.H.P. Bueno; C.M. Kato & D.C. Gamarra. 1997. Ocorrência e flutuação populacional de predadores e parasitóides de *Brachycaudus (Appelia) schwartzi* (Borner) (Homoptera: Aphididae), em pessegueiro, em Jacuí-MG. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, **26**: 257-263.

Carver, M. & D.J. Sullivan. 1988. Encapsulative defense reactions of aphids (Hemiptera: Aphididae) to insect parasitoids (Hymenoptera: Aphididae) and Aphelinidae (Minireview). p.299-303. In E. Niemczyk & A.F.G. Dixon (eds.), *Ecology and effectiveness of aphidophaga*. SPB Academic Publication. The Hague. 346pp.

Chen, K. & K.R. Hopper 1997. *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae) population dynamics and impact of de natural enemies in the Montpellier region of southern France. *Environmental Entomology*, **26**: 866-875.

Egolf, D.R. & A.O. Andrick. 1978. *The Lagerstroemia Handbook/ Checklist*. American Association Botanical Gardens and Arboreta, Inc. 72p.

Ferris, J.P.; R.C. Briner & C.B. Boyce. 1971. Lythraceae. IX. The isolation and structure elucidation of the alkaloids of *Lagerstroemia indica* L. *Journal American of the Chemical Society*, **93**: 2958-2961.

Figueira, L.K.; F. M. Lara; I. Cruz & M. Waquil. 2003. Interação da resistência de plantas e predação por *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) para o manejo de *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae) em sorgo. *Neotropical Entomology*, **23**: 487-492.

Ferreira, R.G. 1999. As plantas infestantes em culturas de goiabeira (*Psidium guajava* L.) e pessegueiro (*Prunus persicae* (L.) Batsch.), como criadouros de afídeos,

inventariação dos seus inimigos naturais e estudo da afidofauna. Tese de doutorado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 93p.

Fonseca, R.A.; C.F. Carvalho & B. Souza. 2000. Resposta funcional de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) alimentada com *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, **29**: 309-317.

Hagen, K.S. & R. Van den Bosch. 1968. Impact of pathogens, parasites and predators on aphids. Annual Review of Entomology, **13**: 365-384.

Imenes, S.D.L.; E.C. Bergmann; A.L.B.G. Peronti; S. Ide & J.E.R. Martins. 2002. Aphids (Hemiptera: Aphididae) and their parasitoids (Hymenoptera) on *Ixora* spp. (Rubiaceae) in the States of Bahia and São Paulo, Brazil – formal records of interactions. Arquivos do Instituto Biológico, **69**: 55-64.

Jones, K.C. & J.A. Klocke. 1987. Aphid feeding deterrency of ellagitannins, their phenolic hydrolysis products and related phenolic derivatives. Entomologia Experimentalis et Applicata, **44**: 229-234.

La Rossa, F.R.; A.L. Vasicek & A. Noriega. 1997. Presencia de *Sarucallis kahawaluokalani* sobre “crespon” (*Lagerstroemia indica*) en la Argentina (Homoptera: Aphidoidea). Revista da Sociedade Entomológica Argentina, **56**: 97-100.

Leclant, F. & M. Renoust. 1986. Le puceron du *Lagerstroemia* nouveau ravageur pour notre flore. Phytoma, **375**: 49-50.

Malcolm, S. 1990. Chemical defense in chewing and sucking insect herbivores: plant-derived cardenolides in the monarch butterfly and oleander aphid. Chemoecology, **1**: 12-21.

Mendes, S.; M.N. Cerviño; V.H.P. Bueno & A.M. Auad. 2000. Diversidade de pulgões e de seus parasitóides e predadores na cultura da alfafa. Pesquisa Agropecuária Brasileira, **35**: 1305-1310.

Mier-Durante, M.P.; R. Santiago-Merino; Y. Suay Cano & J.M. Nieto-Nafría. 1995. *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy) (Homoptera: Aphididae) en la Península Ibérica sobre el árbol de Júpiter, *Lagerstroemia indica* (L.). Boletim de Sanidade Vegetal-Plagas, **21**: 349-355.

Minks, A.K. & P. Harrewijn. 1988. Aphids: their biology, natural enemies and control. World Crop Pest, v.2B, 364p.

Mizell, R.F. & D.E. Schiffhauer. 1987. Seasonal abundance of the crapemyrtle aphid, *Sarucallis kahawaluokalani*, in relation to the pecan aphids, *Monellia caryella* and *Monelliopsis pecanis* and their common predators. Entomophaga, **32**: 511-520.

Mizell, R.F.; F.D. Bennett & D. K. Reed. 2002. Unsuccessful search for parasites of the crapemyrtle aphid, *Tinocallis kahawaluokalani* (Homoptera: Aphididae). Florida Entomologist, **85**: 521-523.

Patti, I. 1984. Un afide nocivo alla *Lagerstroemia* in Italia. Informatore Fitopatologico **12**: 12-14.

Patti, I.; R.G. Spampinato & M.G. Tornatore. 1984. Note morfologiche e bio-ecologiche sull'afide della *Lagerstroemia*, *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirk.) (Rhynchota: Aphidoidea). Phytophaga, **2**: 87-116.

Peronti, A.L.B.G. 1999. Afídeos e coccídeos em plantas ornamentais na região de São Carlos-SP, seus parasitóides, predadores e suas associações com formigas. Tese de mestrado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 82p.

Pike, K.S.; P. Starý; T. Miller; G. Graf; D. Allison; L. Boydston & R. Miller. 2000. Aphid parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphididae) of northwest USA. *Proceedings of Entomological of the Society of Washington*, **102**: 688-740.

Raworth, K.S.; B.D. Frazer; N. Gilbert & W.G. Wellington. 1984. Population dynamics of the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (Homoptera: Aphididae) at Vancouver, British Columbia. I. Sampling methods and population trends. *The Canadian Entomologist*, **116**: 861-870.

Sampaio, M.V.; V.H.P. Bueno & R. Pérez-Maluf. 2001. Parasitismo de *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphididae) em diferentes densidades de *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). *Neotropical Entomology*, **30**: 81-87.

Starý, P.; J.P. Lyon & F. Leclant. 1988. Biocontrol of aphids by the introduced *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Aphididae) in Mediterranean France. *Journal of Applied Entomology*. **105**: 74-87.

Tardieux, I. & J.M. Rabasse. 1988. Some aspects of host immunity and physiological suitability in aphids attacked by *Aphidius colemani*. p.311-315. In E. Niemczyk & A.F.G. Dixon (eds.), *Ecology and effectiveness of aphidophaga*. SPB Academic Publication. The Hague. 346pp.

Tavares, M.T. 1991. Estudo das interações planta-afídeo-parasitóide em ambientes naturais e antrópicos. Tese de mestrado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 65p.

## CAPÍTULO IV

Parâmetros biológicos de *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy)  
(Hemiptera: Aphididae) em *Lagerstroemia indica* L. (Lythraceae),  
em laboratório

## RESUMO

O afídeo-da-extremosa, *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy, 1907) (Hemiptera: Aphididae), exibe ao longo de seu desenvolvimento holocíclico múltiplos fenótipos ou formas, com funções diferentes na população para garantir a adaptação e sobrevivência em sua planta hospedeira, *Lagerstroemia indica* Linnaeus, 1762 (Lythraceae) sob diferentes condições ambientais ao longo do ano. Neste estudo, foram avaliados o desenvolvimento pós-embrionário, a fecundidade e a longevidade das fundatrizes, fundatrígêneas, sexúparas e de uma forma variante, registrada em Curitiba, PR. Ninfas foram criadas individualizadas em placas de Petri, contendo agar 1% + folha de *L. indica*, a 25°C e fotofase de 12 horas, sendo os parâmetros biológicos avaliados diariamente. A espécie passou por quatro instares ninfais. O período ninfal foi significativamente mais curto para a forma variante (5,89±0,40 dias) do que para as fundatrígêneas e sexúparas (6,57±0,82 e 6,58±0,52 dias, respectivamente), que não diferiram significativamente entre si. A sobrevivência das fundatrizes foi significativamente mais longa (19,68±3,88 dias) do que das fundatrígêneas, das sexúparas e da forma variante, que sobreviveram, respectivamente, 16,53±4,72, 13,00±4,29 e 14,58±3,42, sem diferenças significativas entre si. O período de pré-larviposição foi menor que um dia, para todas as formas. As fundatrizes foram significativamente mais fecundas (119,83±17,32 descendentes/fêmea) do que as fundatrígêneas (88,97±22,16), as sexúparas (74,33±25,08) e a forma variante (50,47±18,70). Entretanto, a fecundidade média diária das fundatrizes (6,23±1,02 descendentes/fêmea) não diferiu significativamente das sexúparas (5,78±1,06), que por sua vez, foi significativamente igual a das fundatrígêneas (5,53±1,21

descendentes/fêmea). A forma variante foi a menos fecunda ( $3,53 \pm 1,18$  descendentes/fêmea/dia), mas o período de sobrevivência dos adultos não diferiu significativamente das fundatrigenias e das sexúparas. A produção da progênie foi maior no início da idade adulta e decresceu com o avanço da idade reprodutiva, com o pico no quarto dia para as fêmeas fundatrigenias, sexúparas e variante, e no terceiro e quinto dia para as fundatrizes. Como foram acompanhadas apenas duas gerações em laboratório, não foram obtidas fêmeas ovíparas, apenas machos na segunda geração.

## ABSTRACT

The crapemyrtle aphid, *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkclady, 1907) (Hemiptera: Aphididae), undergoes a holocycle producing different morphs or phenotypes. These morphs have different functions in the population in order to guarantee their adaptation and survival on the host plant *Lagerstroemia indica* Linnaeus, 1762 (Lythraceae), under different environmental conditions along the year. In this study, it was evaluated the post-embryonic development, fecundity and longevity of the fundatrices, fundatrigeniae, sexuparae and of the variant form found in Curitiba, PR. Nymphs were reared individually in Petri dishes with agar 1% + leaf of *L. indica*, under 25°C and 12 h photophase. These biological parameters were evaluated daily. The species went through four nymphal instars. The nymphal period was significantly shorter for the variant form ( $5,89 \pm 0,40$  days) than for the fundatrigeniae and sexuparae ( $6,57 \pm 0,82$  and  $6,58 \pm 0,52$  days, respectively), which did not differ significantly. The survival of the fundatrices was significantly longer ( $19,68 \pm 3,88$  days) than of the fundatrigeniae, sexuparae and variant form, which survived, respectively,  $16,53 \pm 4,72$ ,

13,00±4,29 and 14,58±3,42 days, without significant differences. All morphs produce offspring after one day of adult age. The fundatrices were significantly more fertile (119,83±17,32 offspring/female) than the fundatrigeniae (88,97±22,16), sexuparae (74,33±25,08) and the variant form (50,47±18,70). However, the average daily fecundity of the fundatrices (6,23±1,02 offspring/female) differed significantly of the sexuparae (5,78±1,06), and the last were significantly equal to the fundatrigeniae (5,53±1,21). The variant form had lower fertility (3,53±1,18), but the period of the adults survival did not differ significantly of fundatrigeniae and sexuparae. The production of progeny was higher in the beginning of the adult age and decreased among the reproductive age, with the production peak on the fourth day for fundatrigeniae, sexuparae and variant form; for the fundatrices it was on the third and fifth day. Since only two generations were studied oviparous females were not obtained in laboratory, only males in the second generation.

## **INTRODUÇÃO**

Dentro de uma linhagem partenogenética de afídeos, as fêmeas podem exibir muitos fenótipos que diferem em vários atributos morfológicos, fisiológicos, reprodutivos, tempo de desenvolvimento e longevidade, e habilidade em utilizar hospedeiros alternativos e preferenciais (Hille Ris Lambers 1966; Heie 1987). Assim, cada fenótipo apresenta um conjunto particular de características que são selecionados com diferentes intensidades, em diferentes condições ambientais, como tolerância a limitações nutricionais e estresse de temperatura, habilidade na localização do

hospedeiro, potencial de fecundidade e a habilidade de vôo, possibilitando a adaptação e sobrevivência da espécie (Moran 1992; Hales *et al.* 1997).

O pulgão-da-extremosa, *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy, 1907) (Hemiptera, Aphididae), é uma espécie monoécia em *Lagerstroemia indica* Linnaeus, 1762 (Lythraceae), planta originária da região asiática, mas que foi difundida em várias partes do mundo como espécie ornamental, e sobre a qual esta espécie de afídeo vive e se reproduz de forma holocíclica (Patti 1984; Patti *et al.* 1984; Leclant & Renoust 1986; Alverson & Allen 1992; Blackman & Eastop 1994; Mier-Duarte 1995).

São registrados cinco fenótipos ou formas de *T. kahawaluokalani*: a) as fundatrizes são fêmeas aladas partenogênicas vivíparas originárias dos ovos de inverno; b) as fundatrígêneas são as fêmeas aladas partenogênicas vivíparas que ocorrem nas gerações subseqüentes à da fundatriz e apresentam coloração similar a estas, porém, as fundatrizes têm o corpo maior e apresentam uma relação menor entre o VI e o III artículo antenal e entre o processo terminal e a base do VI artículo antenal do que as fundatrígêneas (Patti *et al.* 1984); c) as sexúparas são idênticas às fundatrígêneas, mas com o atributo de produzir as formas sexuais (Patti *et al.* 1984; Blackman & Eastop 1994); d) as fêmeas ovíparas são as únicas formas ápteras nesta espécie de afídeo; e) os machos são alados e apresentam expressão fenotípica similar à das fundatrígêneas, porém aqueles são de tamanho menor e apresentam a cabeça e os escleritos dorsais do tórax mais densamente esclerotinizados; os dois tubérculos espinhais do segundo segmento abdominal e a área esclerotinizada na base dos tubérculos espinhais são menores do que nas fundatrígêneas (Patti *et al.* 1984; Agarwala *et al.* 1989).

Alverson & Allen (1992) estudaram o efeito de três temperaturas e de duas cultivares de *L. indica*, *Carolina Beauty* e *Natchez*, no tempo de desenvolvimento pós-embrionário, na capacidade reprodutiva e na longevidade do adulto nas progênes de *T.*

*kahawaluokalani* coletadas no final de março, na Carolina do Sul; período que corresponde ao início da primavera no hemisfério norte. Esses autores observaram que os parâmetros biológicos analisados foram dependentes da temperatura, sendo que, o tempo de desenvolvimento, a fecundidade e a longevidade do adulto foram reduzidos com o aumento da temperatura de 18°C, 26°C e 32°C, em ambas as cultivares.

Como não há qualquer estudo da biologia de *T. kahawaluokalani* no Brasil, esta pesquisa teve como objetivos avaliar, em laboratório, o desenvolvimento pós-embrionário, a fecundidade e a longevidade das fundatrizes, fundatrigêneas, sexúparas, e de uma forma com quetotaxia no dorso do abdome diferente daquela caracteristicamente apresentada pela espécie.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Coleta dos afídeos**

As fundatrizes foram coletadas durante inspeções periódicas de diversas plantas desde o início das brotações, em setembro de 2001, no Setor de Ciências Agrárias da UFPR. As primeiras ninfas de fundatrizes detectadas no campo foram coletadas e individualizadas em placas de Petri contendo agar + folhas de *L. indica*, conforme descrito a seguir, e mantidas em câmara climatizada a 25°C e fotofase de 12 horas. A partir do momento em que as fundatrizes atingiram a fase adulta os parâmetros biológicos foram avaliados.

No verão de 2001 (dezembro) e no outono de 2002 (maio) ninfas de terceiro ou quarto ínstaes foram coletadas a campo e individualizadas, em placa com uma folha do

hospedeiro em agar, até atingirem a fase adulta. Os descendentes da primeira geração foram então individualizados nas placas e acompanhados para avaliação dos parâmetros biológicos.

Em março de 2001, durante o período de amostragem dos afídeos nas plantas (Capítulo I) foi encontrada uma ninfa de segundo ínstar que apresentava a disposição dos pêlos no dorso do abdome (quetotaxia dorso-abdominal) diferente daquela característica desta espécie, sendo então, denominada “forma variante”. O espécime foi mantido em laboratório e, a partir da sua progênie, estabeleceu-se uma criação que foi mantida por várias gerações a 25°C e fotofase de 12 horas. Descendentes da oitava e nona gerações foram utilizados para a avaliação dos parâmetros biológicos, conforme descrito para as demais formas.

### **Metodologia de Criação**

A criação de *T. kahawaluokalani* em laboratório foi realizada de acordo com o método proposto por Reilly & Tedders (1990), com modificações, conforme se segue. Os afídeos foram criados em placas de Petri de 5 cm de diâmetro, esterilizada por autoclavagem e posteriormente secas a 150°C em estufa. Posteriormente, as placas recebiam uma camada de 3 a 4 mm de agar (DIFCO™) a 1%, o qual era distribuído sob fluxo laminar para evitar contaminação. Após a polimerização do agar sob luz ultravioleta por cerca de 30 minutos, as placas de Petri eram fechadas e armazenadas em geladeira para utilização posterior. Folhas de *L. indica*, coletadas diretamente das árvores a campo, eram lavadas com uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5% durante 15 minutos, posteriormente em água corrente por 10 minutos e em seguida em água

destilada por três minutos. Depois de secas, a face adaxial da folha era colocada em contato com o agar na placa de Petri, que sob pequena pressão de contato ficavam aderidas. O afídeo era então transferido com pincel para a folha. Uma tira de papel filtro de 2 cm de largura e cerca de 10 cm de comprimento foi então colocado sobre cada placa, no mesmo sentido da folha, mas com as pontas para fora da placa, que em seguida eram fechadas. A placa era então invertida de tal forma que, o fundo ficava para cima e a tampa em contato com a superfície (Figura 1). A aderência da face adaxial da folhas no agar e a inversão da placa de Petri simularam a posição que esta espécie de afídeo se alimenta na planta, na natureza. O papel filtro era trocado diariamente e foi utilizado para retirar o excesso de umidade no interior da placa, produzida tanto pelo agar como pelo inseto.

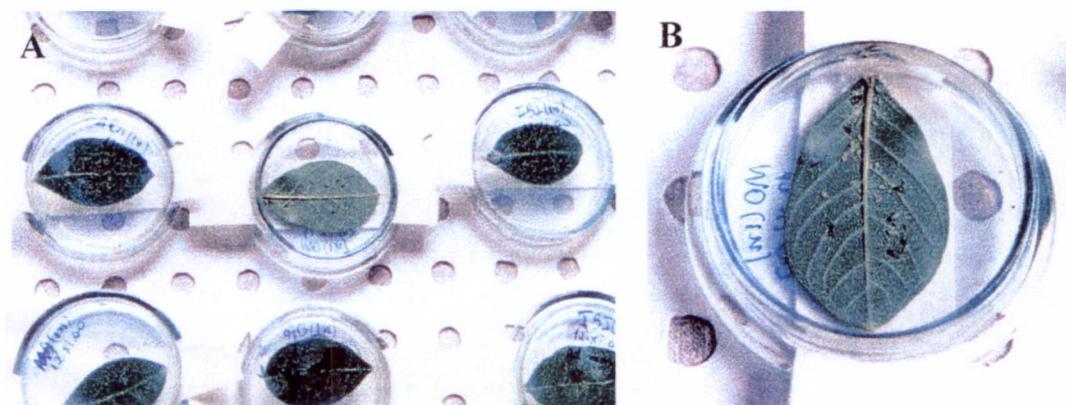


Figura 1. Placas de Petri com agar + folha de *Lagerstroemia indica* para a criação de *Tinocallis kahawaluokalani*; (A) vista geral. (B) afídeos sobre a folha .

### **Avaliação dos Parâmetros Biológicos**

As fundatrizes individualizadas foram analisadas diariamente durante o estágio adulto, sendo que os descendentes produzidos a cada 24 horas eram contados, sob

estereomicroscópio, e eliminados, sendo as fêmeas transferidas para uma nova placa a cada cinco dias.

Ninfas da primeira geração, produzidas no quarto dia de vida adulta das fundatrigêneas e sexúparas, foram individualizadas nas placas com agar. Diariamente, foram inspecionadas sob estereomicroscópio, anotando-se as ninfas que efetuaram a muda, indicada pela presença da exúvia. A partir do momento que as ninfas atingiram o estágio adulto, o número de descendentes produzidos a cada 24 horas foi contado. No caso das fundatrigêneas e forma variante, os descendentes foram eliminados a cada 24 horas, enquanto que para as sexúparas, o desenvolvimento da progênie foi acompanhado para avaliar a proporção de formas sexuais produzidas. Para isso, a fêmea sexúpara adulta foi transferida para uma nova placa com folha a cada cinco dias, procedimento este também adotado para as fundatrigêneas. O desenvolvimento da progênie foi então acompanhado diariamente até o seu desenvolvimento completo, quando os adultos foram contados, caracterizados de acordo com o fenótipo e fixados em álcool a 70%.

Para a forma variante foram utilizadas ninfas da oitava e nona geração da linhagem clonal mantida em laboratório. Os procedimentos na condução experimental e nas avaliações foram os mesmos adotados para as fundatrigêneas.

### **Análise Estatística**

Os parâmetros biológicos, longevidade do adulto, período de larviposição, fecundidade média diária e a total de todos os fenótipos analisados, e a duração do período ninfal e de cada ínstar para os fenótipos, forma variante, fundatrigêneas e

sexúparas, foram tabulados e/ou representados graficamente, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante as coletas de *T. kahawaluokalani*, em Curitiba, PR, no ano de 2001, foi constatada a presença de uma ninfa de segundo ínstar, que apresentava a disposição dos pêlos no dorso do abdome (quetotaxia dorso-abdominal), diferente das características normais da espécie. As ninfas, assim como todas os outros fenótipos de *T. kahawaluokalani*, apresentam os pêlos espinhais do III, V e VI segmentos abdominais afastados da linha mediana (Patti *et al.* 1984; Agarwala *et al.* 1989; Quednau 2001), enquanto que na forma variante somente os pêlos espinhais do VI segmento são afastados (Figura 2). Verificou-se que a expressão deste caráter, quetotaxia dorso-abdominal, manteve-se nas progênes seguintes produzidas em laboratório, sendo observado inclusive em ovíparas e machos desta forma.

Os resultados dos parâmetros biológicos analisados para cada um dos fenótipos são apresentados na Tabela 1. Confirmou-se que o desenvolvimento de *T. kahawaluokalani* ocorre geralmente em quatro instares, assim como observado por Alverson & Allen (1992) para esta espécie e, como ocorre para a maioria dos afídeos (Dixon 1987; Blackman 1987).

Durante a criação de *T. kahawaluokalani* em laboratório, observou-se que alguns espécimes fogem ao padrão de quatro instares ninfais. Uma fundatrígênea e um espécime da forma variante, coletado em Curitiba, apresentaram cinco instares. Três espécimes da forma variante atingiram a fase adulta em apenas três instares, no entanto,

todas as sexúparas, atingiram a fase adulta com o desenvolvimento de quatro instares ninfais.

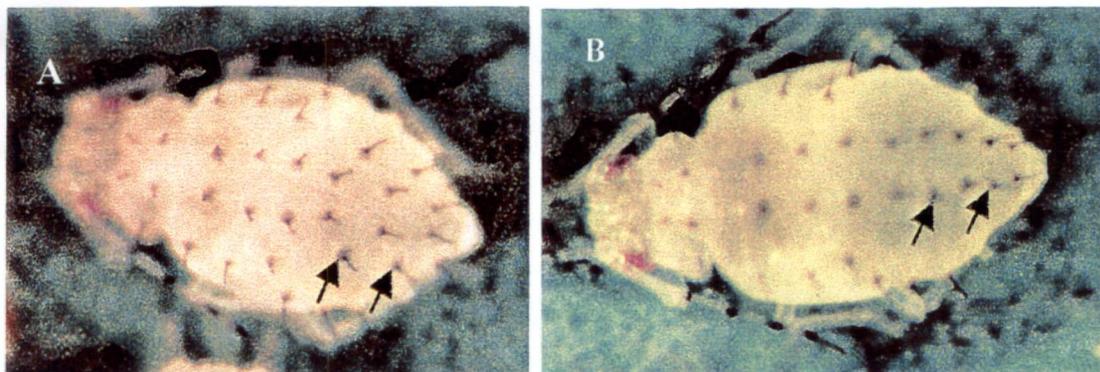


Figura 2. Ninfã de quarto ínstar de *Tinocallis kahawaluokalani*. (A) quetotaxia dorso-abdominal normal; (B) quetotaxia dorso-abdominal variante de fenótipo registrado em Curitiba, PR.

De maneira geral, o tempo médio de desenvolvimento de cada ínstar foi variável entre as fundatrígêneas, sexúparas e a forma variante (Tabela 1). A forma variante despendeu menos tempo no desenvolvimento do primeiro, segundo e terceiro ínstares, mas diferenças significativas foram observadas somente em relação as fundatrígêneas, que levaram mais tempo para o desenvolvimento desses ínstares. As sexúparas, por sua vez, não apresentaram diferenças em relação às fundatrígêneas e à forma variante. Por outro lado, o tempo médio de duração do quarto ínstar foi semelhante e não diferiu significativamente nos três fenótipos, sendo respectivamente de 1,90, 1,92 e 1,76 dias para as fundatrígêneas, sexúparas e a forma variante.

Tabela 1. Parâmetros biológicos dos fenótipos de *Tinocallis kahawaluokalani* criados em placas de Petri com agar e folha de *Lagerstroemia indica*, em laboratório, a 25°C e fotofase de 12 horas; Curitiba, PR.

Parâmetros biológicos	X ± S			
	Fundatrizes (n = 28)	Fundatrígêneas (n = 30)	Sexúparas (n = 12)	Forma Variante (n = 36)
I ínstar (dias)	-	1,90 ± 0,48 A a	1,75 ± 0,45 A ab	1,44 ± 0,61 A b
II ínstar (dias)	-	1,50 ± 0,63 B a	1,33 ± 0,49 B ab	1,19 ± 0,40 B b
III ínstar (dias)	-	1,30 ± 0,47 B a	1,58 ± 0,52 ABC ab	1,58 ± 0,55 AC b
IV ínstar (dias)	-	1,90 ± 0,31 A a	1,92 ± 0,29 AC a	1,76 ± 0,44 C a **
V ínstar (dias)	-	1,00 *	-	2,00 *
Nº de ínstars	-	4 a 5	4	3 a 5
Período ninfal (dias)	-	6,57 ± 0,82 a	6,58 ± 0,52 a	5,89 ± 0,40 b
Período de larviposição (dias)	18,46 ± 3,32 A a	15,13 ± 3,35 A b	12,08 ± 3,99 A c	13,64 ± 3,14 A bc
Longevidade do adulto (dias)	19,68 ± 3,88 A a	16,53 ± 4,72 A b	13,00 ± 4,29 A c	14,58 ± 3,42 A bc
Fecundidade (nº desc.)	119,83 ± 17,32 a	88,97 ± 22,16 b	74,33 ± 25,08 b	50,47 ± 18,70 c
Fec. média diária (nº desc.)	6,23 ± 1,02 a	5,53 ± 1,21 b	5,78 ± 1,06 ab	3,53 ± 1,18 c

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna entre os ínstars e para o período de larviposição e longevidade do adulto, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;

Fundatrizes: ínstar e período ninfal não avaliados, ninfas de campo com idades desconhecidas;

\* Um espécime com cinco ínstars;

\*\* n = 33, três espécimes com três ínstars.

Alverson & Allen (1992), avaliando o desenvolvimento ninfal de *T. kahawaluokalani* submetido às temperaturas de 18°C, 26°C e 32°C, fotofase de 14 horas e duas cultivares de *L. indica*, encontraram diferenças significativas somente no tempo de desenvolvimento do quarto ínstar, que foi mais longo nas temperaturas e variedades analisadas. Neste estudo, entretanto, a forma variante, as fundatrígêneas e as sexúparas tenderam a despendar mais tempo para o desenvolvimento do primeiro e do quarto instares, embora, diferenças tenham sido significativas somente para as fundatrígêneas.

A duração do período ninfal dos fenótipos de *T. kahawaluokalani* foi de cerca de seis dias a 25°C e fotofase de 12 horas, duração esta semelhante à obtida por Alverson & Allen (1992) na temperatura de 26°C e fotofase de 14 horas de luz. O fenótipo variante foi o que apresentou o menor tempo de desenvolvimento ninfal (5,89 dias), sendo significativas as diferenças em relação ao período ninfal apresentado pelas fundatrígêneas de verão (6,57 dias) e pelas sexúparas (6,58 dias), as quais não diferiram significativamente.

O período médio de larviposição e a longevidade dos adultos foram significativamente mais longos para as fundatrizes, respectivamente, 18,46 e 19,68 dias, do que para os demais fenótipos analisados, que foram, respectivamente, 13,64 e 14,58 dias para a forma variante, 15,13 e 16,53 dias para as fundatrígêneas e 12,08 e 13 dias para as sexúparas, que não diferiram significativamente entre si.

O período de larviposição e a longevidade dos adultos de cada um dos fenótipos foram muito próximos e não apresentaram diferenças significativas (Tabela 1). Isso indica que as fêmeas iniciam a larviposição logo após atingirem o estágio adulto, sendo portanto, o período de pré-larviposição mais curto que um dia.

As fundatrizes, além de apresentarem a maior longevidade do adulto, também apresentaram uma maior fecundidade, produzindo em média 119,83 descendentes por

fêmea, sendo significativamente maior do que a fecundidade média apresentada pelos demais fenótipos, que produziram 88,97, 74,33 e 50,47 descendentes por fêmea, respectivamente, para as fundatrígêneas de verão, sexúparas e a forma variante. Alverson & Allen (1992) encontraram longevidade de 16,47 dias e fecundidade média de 76,57 descendentes por fêmea, coletada a campo, em março no hemisfério norte, e mantidas a 26°C e fotofase de 14 horas de luz.

As fecundidades médias apresentadas pelas sexúparas e fundatrígêneas não diferiram significativamente entre si, mas foram significativamente maiores do que a fecundidade apresentada pela forma variante, que apresentou a menor fecundidade, embora sua longevidade média tenha sido similar à apresentada pelas sexúparas e fundatrígêneas.

Segundo Hille Ris Lambers (1966), as fundatrizes dos afídeos apresentam tamanho maior e o abdome mais volumoso devido ao maior número de ovários e, conseqüentemente, maior produção de embriões do que as fêmeas das gerações subseqüentes. Esses atributos conferem às fundatrizes, alta fecundidade, garantindo que um número maior de diferentes genótipos possam ter a chance de iniciar a colonização na primavera (Miyazaki 1987; Moran 1992).

A maior produção de descendentes ocorreu no início da idade adulta, decrescendo com o decorrer do tempo, tanto para as fundatrizes quanto para as fundatrígêneas, sexúparas e a forma variante (Figura 4). O pico de produção da progênie ocorreu no quarto dia de vida adulta tanto para as fundatrígêneas e sexúparas normais quanto para a forma variante, com uma média ( $\pm$  IC 95%) de  $11,23 \pm 6,54$ ;  $9,5 \pm 0,82$  e  $6,89 \pm 1,04$  descendentes, respectivamente. Estes resultados são congruentes com os observados por Alverson & Allen (1992) que detectaram o pico de produção de

descendentes durante a primeira semana de vida adulta, para fundatrígêneas mantidas a 26°C e fotofase de 14 horas de luz.

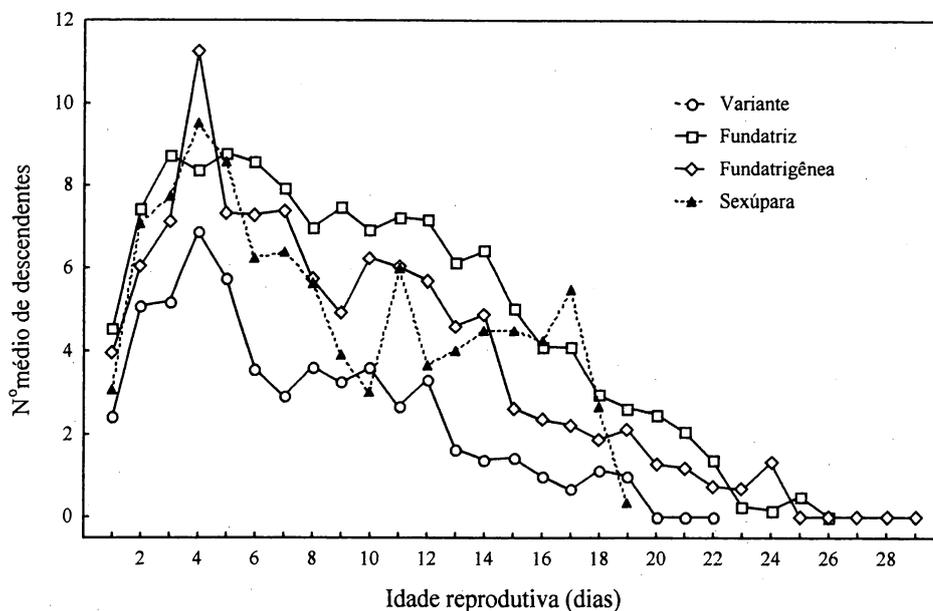


Figura 4. Fecundidade média diária dos diferentes fenótipos de *Tinocallis kahawaluokalani* criados sobre *Lagerstroemia indica*, em laboratório, a 25°C e fotofase de 12 horas.

As fundatrizes, por sua vez, apresentaram o pico de produção de descendentes no terceiro e quinto dias, quando foram produzidos, respectivamente,  $8,75 \pm 0,91$  e  $8,79 \pm 1,12$  descendentes, com tendência a produzir um número médio maior de descendentes/dia, com o avanço da idade das fêmeas do que os outros fenótipos. A fecundidade média diária foi de 6,32 descendentes/dia para as fundatrizes, sendo significativamente maior do que a apresentada pelas fundatrígêneas (5,53) e pela forma variante (3,53), mas não diferindo significativamente das sexúparas, que apresentaram uma fecundidade média diária de 5,78 indivíduos (Tabela 1).

Dos 15 descendentes da primeira geração das sexúparas coletadas no campo, que foram utilizados para a obtenção dos parâmetros biológicos, dois espécimes originaram machos e um originou uma fêmea ovípara. As duas formas sexuais completaram o desenvolvimento ninfal passando por quatro instares, com duração do período ninfal de 7 dias. Os machos apresentaram longevidade de 6 dias, enquanto que a fêmea ovípara morreu no quarto dia de vida adulta. Alverson & Allen (1992), avaliando a longevidade de machos e fêmeas ovíparas, da nona geração a partir de sexúparas de campo, encontraram longevidade de 1 a 19 dias, com uma longevidade média de 7 dias para os machos e de 4 a 14 dias, com uma média de 8 dias, para as fêmeas ovíparas.

No presente estudo, a produção de formas sexuais foi avaliada somente na segunda geração a partir de sexúparas oriundas do campo. Seis das doze sexúparas criadas produziram formas sexuais, que foram representadas exclusivamente por machos, produzidos normalmente no final da idade reprodutiva da sexúpara. A fecundidade média das sexúparas foi de 74,33 descendentes/fêmea, com uma taxa de sobrevivência de 89,46%. Foram produzidos um total de 16 machos e 782 fêmeas, que corresponderam, respectivamente, a 2% e 98% dos sobreviventes. Fêmeas ovíparas não foram produzidas durante a segunda geração.

A ausência de fêmeas ovíparas na segunda geração produzida pelas sexúparas justifica-se pelas constatações de Alverson & Allen (1992), que também não obtiveram nenhuma forma sexual na segunda geração de sexúparas mantidas a 26°C e fotofase de 10 horas de luz; no entanto, 40% dos descendentes da terceira e quarta geração foram ovíparas e, diferentemente do encontrado neste estudo, os machos somente foram produzidos a partir da quinta geração. Na nona geração, aqueles autores encontraram que as sexúparas produzem em média 12,2, 9,7 e 3,5 sexúparas, ovíparas e machos, respectivamente.

Como o número de gerações acompanhadas nesta pesquisa não permitiu verificar a proporção de machos e fêmeas ovíparas produzidas pelas sexúparas, sugere-se que sejam avaliadas mais gerações e, que a fotofase seja reduzida de 12 para 10 horas e a temperatura para aproximadamente 15°C, a fim de se induzir a produção das formas gâmicas.

## CONCLUSÕES

O desenvolvimento de *Tinocallis kahawaluokalani* se dá, normalmente, em quatro instares, ocorrendo diversas formas ou fenótipos ao longo do ciclo, com características morfológicas e biológicas diferenciadas para desempenhar diferentes funções na população. Além das formas funcionais, podem ocorrer outras formas variantes, como a detectada em Curitiba, PR, com quetotaxia dorso-abdominal diferenciada e também na biologia;

O tempo de desenvolvimento do primeiro, segundo e terceiro instares são variáveis nas fundatrígêneas, sexúparas e na forma variante, mas o quarto instar é igual nas três formas;

A forma variante completa o desenvolvimento ninfal em menos tempo do que as fundatrígêneas e as sexúparas, que por sua vez, têm o mesmo tempo de desenvolvimento ninfal;

Fundatrizes, fundatrígêneas, sexúparas e a forma variante apresentam um período de pré-larviposição mais curto que um dia;

A fecundidade e a longevidade das fundatrizes são maiores do que das fundatrígêneas e sexúparas, enquanto que a forma variante é menos fecunda que essas, mas o tempo de sobrevivência dos adultos é igual;

A produção da progênie é maior no início da idade adulta, e decresce com o avanço da idade reprodutiva, sendo que a maior produção de descendente é no quarto dia para as fundatrígêneas, sexúparas e para a forma variante, e no terceiro e quinto dia para as fundatrizes;

A porcentagem de machos é baixa e não são produzidas fêmeas ovíparas até a segunda geração, nas condições do experimento.

### LITERATURA CITADA

Agarwala, B.K.; S.K. Mahapatra & A.K. Ghosh. 1989. Description of sexual morphs of *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy) (Homoptera:Aphididae) from India. *Entomon*, **14**: 273-274.

Alverson, D.R. & R.K. Allen. 1992. Bionomics of the crapemyrtle aphid (Homoptera: Aphididae). *Journal of Entomological Science*, **27**: 445-457.

Blackman, R.L. 1987. Reproduction, cytogenetics and development, p.163-191. In Minks, A.K. & P. Harrewijn (eds.), *Aphids, their biology, natural enemies and control*. Amsterdam: Elsevier. v.2A, 450p.

Blackman, R.L. & V.F. Eastop. 1994. *Aphids on the world's tree - An identification and information guide*. Wallingford, CBA International, 987p.

Dixon, A.F.G. 1987. Parthenogenetic reproduction and the rate of increase in aphids, p. 269-287. In Minks, A.K. & P. Harrewijn (eds.), *Aphids, their biology, natural enemies and control*. Amsterdam: Elsevier. v.2A, 450p.

Halles, D.F.; J. Tomiuk; K. Wöhrmann & P. Sunnucks. 1997. Evolutionary and genetic aspects of aphid biology: A review. *European Journal of Entomology*, **94**: 1-55.

- Heie, O.E. 1987. Paleontology and phylogeny, p.367-391. In Minks, A.K. & P. Harrewijn (eds.), *Aphids, their biology, natural enemies and control*. Amsterdam: Elsevier. v.2A, 450p.
- Hille Ris Lambers, D. 1966. Polymorphism in Aphididae. *Annual Review Entomology*, **11**: 47-78.
- Leclant, F. & M. Renoust. 1986. Le puceron du *Lagerstroemia* nouveau ravageur pour notre flore. *Phytoma*, **375**: 49-50.
- Miyazaki, M. 1987. Forms and morphs of aphids, p.27-47. In Minks, A.K. & P. Harrewijn (eds.), *Aphids, their biology, natural enemies and control*. Amsterdam: Elsevier. v.2A, 450p.
- Mier-Durante, M.P.; R. Santiago-Merino; Y. Suay Cano & J.M. Nieto-Nafría. 1995. *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy) (Homoptera: Aphididae) en la Península Ibérica sobre el árbol de Júpiter, *Lagerstroemia indica* (L.). *Boletim de Sanidade Vegetal-Plagas*, **21**: 349-355.
- Moran, N.A. 1992. The evolution of aphid life cycles. *Annual Review of Entomology*, **37**: 321-348.
- Patti, I. 1984 Un afide nocivo alla *Lagerstroemia indica* in Italia. *Informatore Fitopatologico*, **12**:12-14.
- Patti, I.; R.G. Spampinato & M.G. Tornatore. 1984. Note morfologiche e bio-ecologiche sull'afide della *Lagerstroemia*, *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirk.) (Rhynchota: Aphidoidea). *Phytophaga*, **2**: 87-116.
- Quednau, F.W. 2001. World review of the genus *Tinocallis* (Hemiptera: Aphididae, Calaphidinae) with description of a new species. *The Canadian Entomologist*, **133**: 197-213.

Reilly, C.C. & W.L. Tedders. 1990. A detached-leaf method to study pecan aphid behavior and biology. *Journal of Entomology Science*, **25**: 85-88.

## CAPÍTULO V

Variabilidade genética de *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy)  
(Hemiptera: Aphididae) em *Lagerstroemia indica* L. (Lythraceae),  
determinada por PCR-RAPD, em algumas regiões do Brasil

## RESUMO

A variabilidade genética das populações de afídeos pode indicar a capacidade da espécie de responder e adaptar-se às novas condições ambientais. O objetivo deste estudo foi avaliar a variabilidade genética do pulgão-da-extremosa, *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy, 1907) que ocorre em árvores de *Lagerstroemia indica* Linnaeus, 1762 (Lythraceae) em várias regiões do Brasil. Amostras de *T. kahawaluokalani* procedentes de 14 localidades foram analisadas pela técnica de PCR-RAPD. Trinta primers foram testados; três (OPA-03, OPA-07, OPB-10) produziram loci polimórficos, sendo que de um total de 28 loci amplificados, 14,29% foram polimórficos e 85,71% monomórficos. A análise de agrupamento (UPGMA), utilizando o coeficiente de similaridade de Jaccard, indicou alta similaridade entre os 106 espécimes analisados, e não mostrou nenhum padrão de agrupamento de acordo com os locais de coleta ou a coloração das flores. A análise da variabilidade genética, determinada através da distância e identidade de Nei 1972, revelou que as amostras das populações são homogêneas, com distância e identidade genética variando, respectivamente, de zero a 0,0487 e 1,000 a 0,9525, com média de 0,0120 e 0,9880, para as 14 localidades. As maiores distâncias genéticas foram entre Florianópolis e Morretes (0,0487) e entre Curitiba e Florianópolis (0,0372). Através da análise de variância molecular (AMOVA), constatou-se que 24,93% ( $p < 0,001$ ) da variabilidade genética foram entre as populações, e 75,07% ( $p < 0,001$ ) dentro das populações. De acordo com a combinação única entre loci monomórficos e polimórficos produzidos por PCR-RAPD, oito genótipos foram identificados, sendo que o genótipo tipo I representou 77,35% dos afídeos analisados, presente em todas as localidades estudadas, exceto Florianópolis; o tipo II ocorreu em Apucarana, Curitiba, Florianópolis e Cruz

Alta, e representou 11,32% do total de espécimes analisados, enquanto que os genótipos tipos III, IV, V, VI, VII e VIII foram mais raros e ocorreram somente em Curitiba e Morretes, representando entre 2,83% a 0,95% do total das amostras analisadas. As altas similaridades e a baixas distâncias indicam que um, ou um número muito limitado de eventos fundadores, com linhagens muito homogêneas de *T. kahawaluokalani*, podem ter sido introduzidas no Brasil e terem sido distribuídas juntamente com sua planta hospedeira.

## ABSTRACT

The genetic variability of population of aphids, can indicate the capability of the species to respond and to adapt to the new environmental conditions. The objective of this study was to evaluate the genetic variability of *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy, 1907) associate to *Lagerstroemia indica* Linnaeus, 1762 from some areas of Brazil. Samples of *T. kahawaluokalani* from 14 localities were analyzed using the PCR-RAPD technique. Thirty primers were tested, but only three of them (OPA-03, OPA-07, OPB-10) produced polymorphic loci. From 28 amplified loci, 14,29% were polymorphics and 85,71% monomorphics. The high similarity among the 106 analyzed specimens using the coefficient of similarity of Jaccard using UPGMA analysis did not indicate any grouping pattern for localities or flower color. The genetic variability analysis based on Nei's distance and identity, revealed that the population samples are homogeneous. The distance and genetic identity varied, respectively, from zero to 0,0487 and from 1,000 to 0,9525, and the average of the 14 localities was 0,0120 and 0,9880. The largest genetic distances were between Florianópolis and Morretes (0,0487), and Curitiba and Florianópolis (0,0372). Analyses of molecular variance

(AMOVA) showed that 24,93% ( $p < 0,001$ ) of the genetic variability was between populations and, 75,07% ( $p < 0,001$ ) within population. Eight genotypes were identified using PCR-RAPD considering monomorphic and polymorphic loci. The genotype I represented 77,35% of the analyzed aphids which were present in all localities, except Florianópolis. The genotype II occurred in Apucarana, Curitiba, Florianópolis and Cruz Alta, and represented 11,32% of the total analyzed specimens, while the genotypes III, IV, V, VI, VII and VIII were rarer, occurring only in Curitiba and Morretes, representing 2,83% to 0,95% of the samples. The high similarities and low genetic distances indicate that one or a very limited number of founder events, with very homogeneous lineages of *T. kahawaluokalani*, occurred in Brazil and were distributed on several areas of the country.

## INTRODUÇÃO

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, diferenças genéticas em uma espécie introduzida podem ser decorrentes de variações genômicas da população fundadora, ou ainda, do número de eventos fundadores e da pressão de seleção (Blackman 1985; Williams *et al.* 1994).

Com o desenvolvimento da técnica de reação em cadeia da polimerase - PCR (Mullis & Fallona 1987) surgiram novos marcadores moleculares que permitem detectar mais facilmente, variações de DNA entre indivíduos geneticamente relacionados. Dentre os vários marcadores, o DNA polimórfico amplificado ao acaso - RAPD

[Random Amplified Polymorphic DNA] (Williams *et al.* 1990; Welsh & McClelland 1990), permite a amplificação de numerosos fragmentos de DNA, delimitados por um primer de dez bases de seqüência arbitrária que hibridizam em seqüências complementares distribuídas ao acaso no DNA. Desta forma, ocorrem variações nos sítios de hibridização produzidas por mutações ou rearranjos (inserções ou deleções) de bases entre os sítios.

A técnica PCR-RAPD tem sido utilizada com êxito em vários estudos ecológicos e taxonômicos de diversas ordens de insetos, conforme revisão de Harry *et al.* (1998), sobre o uso deste marcador molecular em entomologia aplicada e evolutiva. Em afídeos, particularmente, a técnica tem sido empregada em estudos voltados à identificação e caracterização de espécies, diferenciação de clones e biótipos, e também na análise da variabilidade genética inter e intraespecífica populacional e clonal (Black *et al.* 1992; Cenis *et al.* 1993; Puterka *et al.* 1993; De Barro *et al.* 1995; Nicol *et al.* 1997a, 1997b, 1998; Sunnucks *et al.* 1997; Shufran *et al.* 1997; Lushai *et al.* 1997; Aikhionbare *et al.* 1998; Margaritopoulos *et al.* 1998; Bournoville *et al.* 2000; Downie *et al.* 2001; Figueroa *et al.* 1999, 2002).

O pulgão-da-extremosa, *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy, 1907) (Hemiptera: Aphididae), é originário do leste e sudeste da Ásia (Patti *et al.* 1984; Blackman & Eastop 1994; Hopkins 1997; Quednau 2001), mas foi introduzido em várias partes do mundo pela disseminação de seu hospedeiro *Lagerstroemia indica* Linnaeus, 1762, uma litrácea de folhas caducifólias amplamente utilizada em arborização urbana e paisagismo (Richards 1967; Smith & Parron 1978; Smith & Cermeli 1979; Patti *et al.* 1984; Leclant & Renoust 1986; Blackman & Eastop 1994; Remaudière & Le Ru 1994; Mier-Durante *et al.* 1995; La Rossa *et al.* 1997; Ripka *et al.* 1998).

Há indícios de que *T. kahawaluokalani* foi introduzida recentemente no Brasil (Pérez Hidalgo 1998; Peronti *et al.* 2002) e a variabilidade genética de uma espécie durante os primeiros anos de sua introdução pode indicar a capacidade da mesma de responder e adaptar-se às novas condições ambientais e de causar danos. Além disso, o conhecimento da variabilidade genética é um importante subsídio que determina o sucesso de programas de controle de uma espécie (Blackman 1985).

O objetivo deste estudo é, portanto, avaliar a variabilidade genética de amostras de populações de *T. kahawaluokalani* coletadas em plantas de *L. indica* procedentes de diversas regiões do Brasil, utilizando a técnica RAPD-PCR.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Amostras dos Afídeos**

As amostras das populações de *T. kahawaluokalani* foram coletadas principalmente em municípios da região Sul do Brasil, em diferentes períodos de 2001, 2002 e 2003. As datas de coleta, os municípios e as coordenadas geográficas estão relacionadas na Tabela 1 e Anexo I.

As amostras analisadas foram obtidas por duas vias: a) mediante o estabelecimento de linhagens clonais e b) por amostragens dos afídeos diretamente em plantas no campo. Para o estabelecimento das linhagens clonais, galhos de *L. indica* com colônias de *T. kahawaluokalani* foram retirados aleatoriamente de uma ou mais planta/localidade, acondicionados em sacos plásticos e transferidos para o laboratório. As linhagens clonais foram estabelecidas a partir de uma ninfa de terceiro ou quarto instar por amostra/localidade, em placas de Petri de 5 cm de diâmetro de acordo com

metodologia proposta por Reilly & Tedders (1990), com as modificações descritas no Capítulo IV. As progênies de segunda e/ou terceira geração foram transferidas para tubos criogênicos contendo etanol a 95%, e armazenados a -20°C até o momento das análises. Para as amostras provenientes do campo, 50 ou mais afídeos foram coletados em diferentes ramos de uma ou de mais de uma planta se as distâncias entre elas eram pequenas. Os afídeos foram coletados com pincel, transferidos para frascos devidamente identificados, e preservados da mesma forma que as linhagens clonais.

Tabela 1. Dados sobre as localidades onde foram coletadas as amostras das populações de *Tinocallis kahawaluokalani* utilizadas nas análises de PCR-RAPD, para a detecção de variabilidade genética.

Localidade (UF)	Cód.	Latitude	Longitude	Data de coleta (Mês/Ano)	Nº de amostras
Maceió (AL)	MA	04°24'29"	37°47'05"	Jan./2002	5
Cuiabá (MT)	CU	15°35'46"	56°05'48"	Abr./2002	5
Oswaldo Cruz (SP)	OC	21°47'48"	50°52'43"	Mar/2003	3
Rolândia (PR)	RO	23°18'35"	51°22'09"	Set./2002 ; Mar./2003	4
Londrina (PR)	LO	23°18'37"	51°09'46"	Abr., Mar/2003	18
Arapongas (PR)	AR	23°25'10"	51°25'28"	Abr./2003	6
Apucarana (PR)	AP	23°33'03"	51°27'39"	Abr./2003	7
Medianeira (PR)	ME	25°17'43"	54°05'38"	Abr./2003	8
Curitiba (PR)	CT	25°25'40"	49°16'23"	Nov./2002; Jan., Mar., Abr./2003	19
Morretes (PR)	MO	25°28'37"	48°50'04"	Jan./2002, 2003	8
Rio Negrinho (PR)	RN	26°06'21"	49°47'51"	Mai./2001	2
Itajaí (SC)	IT	26°54'28"	48°39'43"	Fev./2002	6
Florianópolis (SC)	FL	27°35'48"	48°32'57"	Jan./2002	3
Cruz Alta (RS)	CZ	28°38'19"	53°36'23"	Abr./2003	11

## **Extração e Quantificação do DNA Genômico**

Para a extração do DNA genômico utilizou-se o protocolo proposto por Cheung *et al.* (1993), com as modificações de Carvalho & Vieira (2000, 2001). Uma fêmea alada partenogenética de *T. kahawaluokalani* de cada amostra/localidade foi seca em temperatura ambiente e triturada em homogeneizador elétrico (Glas-Col, Modelo 099C) a 300-350 rpm, com pistilo de polipropileno autoclavado, em tubo de microcentrífuga de 1,5 ml, contendo 200 µl de tampão de extração [200 mM Tris-HCl (pH 8,0), 2 M NaCl e 70 mM EDTA]. Em seguida, foram adicionados 50 µl de sarcosyl 5%, novamente homogeneizado e incubado a 65°C por 45 minutos. As amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm durante 15 minutos e a fase aquosa (sobrenadante), foi transferida para novos tubos de microcentrífuga de 1,5 µl. A precipitação do DNA foi efetuada pela adição de 110 µl de 10 mM de acetato de amônia e 250 µl de isopropanol gelados, e manutenção a 4°C “overnight” para favorecer a precipitação do DNA. O precipitado foi recuperado através de centrifugação a 10.000 rpm durante 15 minutos. O sobrenadante foi descartado e o “pellet” de DNA lavado duas vezes com etanol a 70%, seco à temperatura ambiente e ressuspendido em 50 µl de tampão TE [10 mM Tris e 1 mM EDTA (pH 8,0)], contendo 10 µg/µl de RNase e armazenado a -20°C. A quantificação do DNA de cada amostra foi efetuada por espectrofotometria (Modelo Genesys 8, Marca Spectronic Unicam), com absorvância de 260-280 nm.

## **Primers e Amplificação do DNA**

Para as análises de RAPD foram utilizados 30 primers (Operon Technologies®) selecionados ao acaso, correspondendo às séries A (OPA-01 a OPA-20), B (OPB-04,

OPB-06, OPB-10, OPB-12, OPB-13, OPB-15, OPB-17, OPB-18, OPB-20) e C (OPC-20).

As reações de amplificação do DNA por PCR-RAPD foram conduzidas em termociclador modelo PTC-100™ (MJ Research, Inc.), em um volume de 25 µl contendo: 20 mM Tris-HCl (pH 9,0); 50 mM KCl; 3,0 mM MgCl<sub>2</sub>; 25 µM de cada dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP); 5 pmoles de primer; 15 a 25 ng de DNA molde; 1 U de Taq polimerase (Invitrogen™) e H<sub>2</sub>O q.s.p.. As amplificações foram realizadas utilizando-se o seguinte programa de amplificação: desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos, 41 ciclos de desnaturação a 94°C por 1 minuto, anelamento a 35°C por 1 minuto, extensão a 72°C por 2 minutos, seguido de uma extensão final a 72°C por 4 minutos e manutenção em refrigeração a 4°C.

Os produtos das amplificações foram submetidos à eletroforese (100 V por 3 horas) em gel de agarose 1,5%, utilizando o tampão de corrida 0,5 X TBE (Tris-borato-EDTA). Um marcador de peso molecular 100 pb (Ladder 100 pb - Invitrogen™) foi utilizado em cada corrida como padrão de peso molecular co-migrante. Posteriormente, os géis foram corados com brometo de etídio a 0,5 µg/ml, fotografados e analisados sobre luz UV, utilizando o sistema Kodak Digital Science 1D™.

### **Análise dos Produtos PCR-RAPD**

Os fragmentos distintos e com reprodutibilidade em dois ou mais géis foram considerados para as análises. As amostras foram genotipadas quanto à presença (codificação 1) e ausência (codificação 0) de cada fragmento, os quais foram consideradas como caráter independente (cada banda foi considerada como um alelo de um loco). O tamanho dos fragmentos foi estimado em pares de bases, utilizando o

programa do sistema Kodak Digital Science 1D™. A partir da matriz determinou-se a porcentagem de polimorfismo total e a gerada para cada primer. A análise de similaridade genética foi realizada através do programa NTSYSpc 2.0 (Rohlf 1994), utilizando o coeficiente de similaridade de Jaccard, que não considera as ausências conjuntas de fragmentos em favor da similaridade. A análise de agrupamento foi realizada utilizando-se o algoritmo UPGMA (Unweighted Pair-Group Method, Arithmetic Average), descrito por Sneath & Sokal (1973). O grau de confiabilidade com que o dendograma representa a matriz de similaridade foi aferido através do coeficiente de correlação cofenética (Sokal & Rohlf 1962), sendo que a significância desta correlação matricial foi testada pelo teste de Mantel (1967).

As frequências alélicas foram estimadas, segundo Lynch & Milligan (1994), e a identidade e distância genética de Nei (Nei 1972) foi determinada para cada localidade. A análise de agrupamento foi realizada utilizando-se o algoritmo UPGMA, sendo que a implementação desta análise foi feita através do programa TFGPA 1.3 (Miller 1997). A análise de variância molecular (AMOVA - WINAMOVA) (Excoffier *et al.* 1992) foi utilizada para analisar a partição da variância total entre e dentro das populações de *T. kahawaluokalani*, sendo os dados preparados através do programa AMOVA-PREP (Miller 1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 30 primers testados, três (OPA-03, OPA-07, OPB-10) produziram loci polimórficos para 106 amostras de *T. kahawaluokalani* analisadas. Dois primers (OPA-08 e OPA-06) não apresentaram amplificação de produto, nas condições utilizadas neste estudo, e os demais produziram amplificações de fragmentos de DNA monomórficos,

que variaram de 400-2000 pb. Padrões dos fragmentos monomórficos são apresentados nas Figuras 1 e 2.

Vinte e oito loci foram amplificados com os primers OPA-03, OPA-07 e OPB-10, sendo 24 monomórficos (85,71%) e somente quatro loci polimórficos (14,29%) (Tabela 2). Os tamanhos dos fragmentos polimórficos foram estimados em 1570 pb para OPA-03, 680 e 700 pb para OPA-07 e 380 pb para o primer OPB-10. Padrões de amplificação desses fragmentos são apresentados na Figura 3, para amostras de Curitiba (PR) e na Figura 4, para amostras de Medianeira (PR) e Cruz Alta (RS).

Tabela 2. Seqüências dos primers utilizados nas análises de variabilidade genética de *Tinocallis kahawaluokalani*, com os números de loci amplificados e polimórficos, através de PCR-RAPD.

Primer	Seqüência (5'→'3)	Nº de fragmentos amplificados	Nº de fragmentos polimórficos	% de polimorfismo
OPA-03	AGTCAGCCAC	8	1	12,50
OPA-07	GAAACGGGTG	8	2	25,00
OPB-10	CTGCTGGGAC	12	1	8,33
Total		28	4	14,29

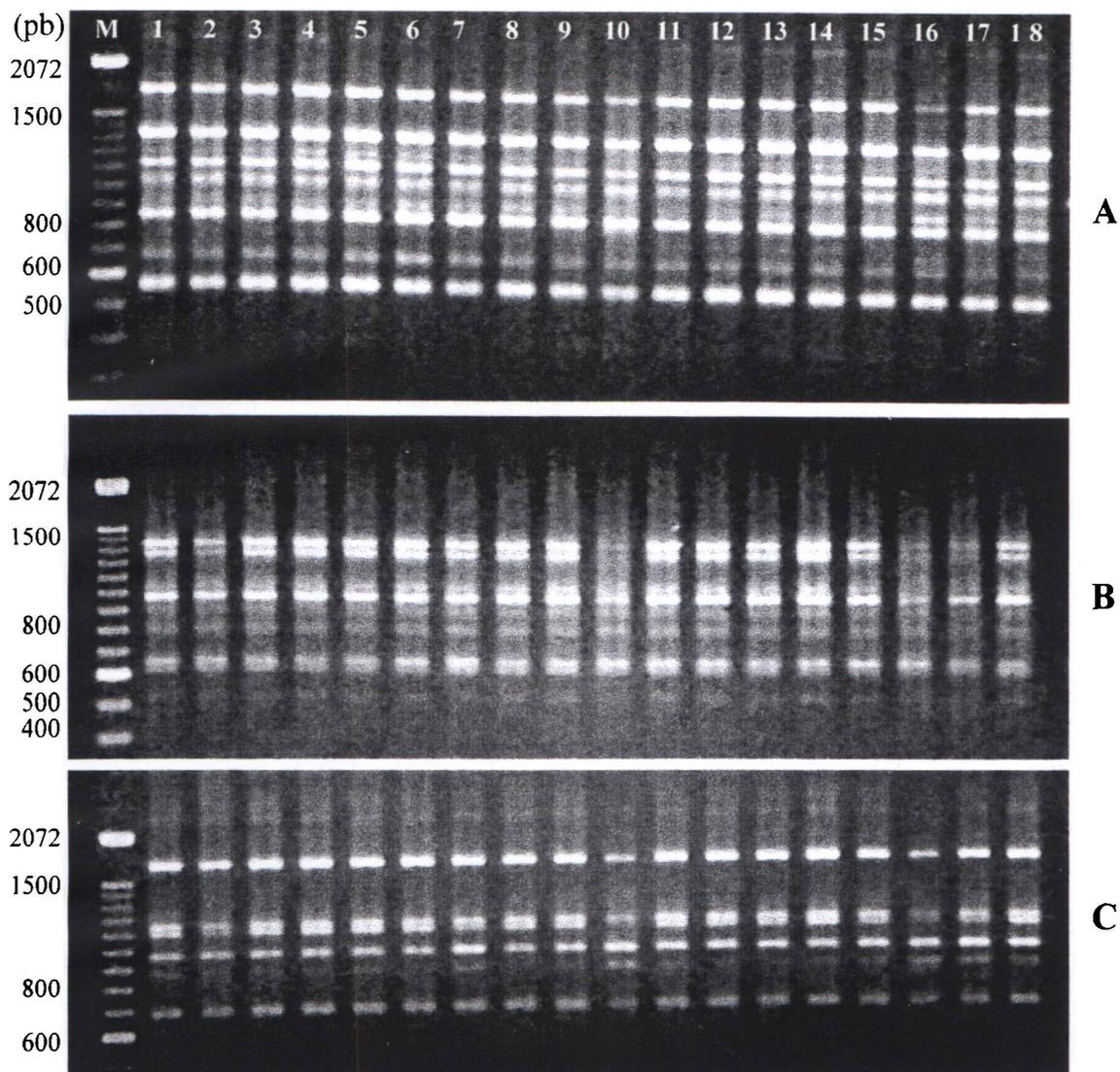


Figura 1. Padrão de fragmentos amplificados por PCR-RAPD de amostras da população de *Tinocallis kahawaluokalani*, coletadas em *Lagerstroemia indica*, Londrina, PR. [1-18], mostrando apenas os loci monomórficos, obtidos com os primers OPB-18 [A], OPA-03 [B] e OPA-07 [C] (Operon Thechnologies); M = Marcador de peso molecular (Ladder 100 pb – Invitrogen™).

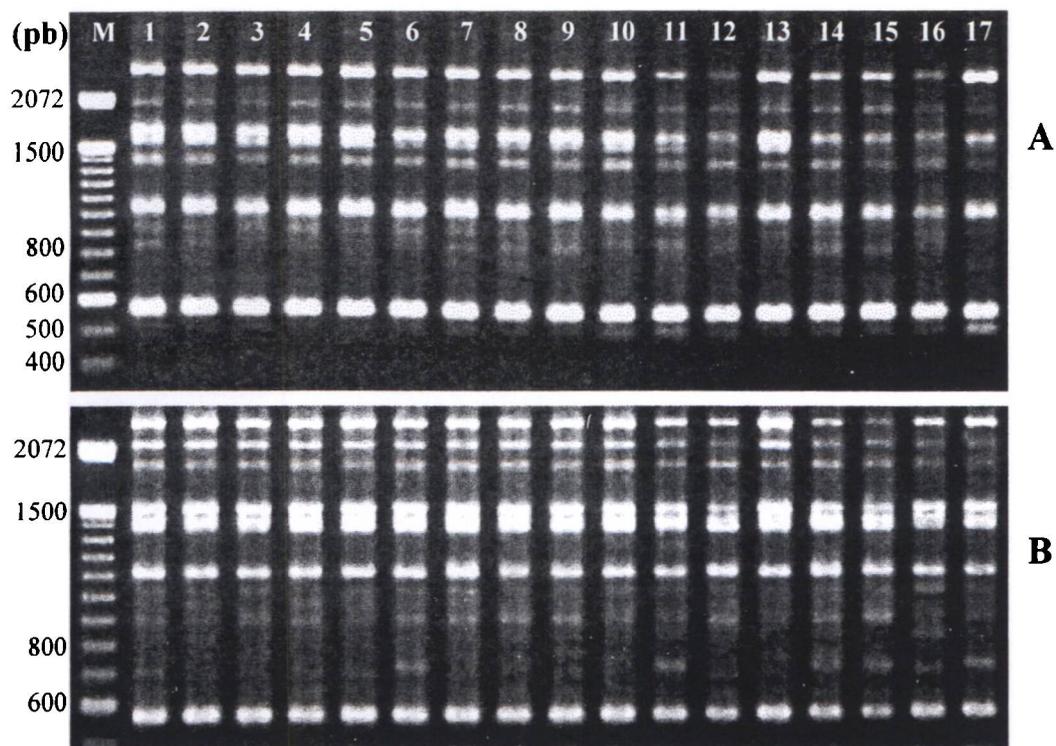


Figura 2. Padrão de fragmentos amplificados por PCR-RAPD [1-17] de amostras das populações de *Tinocallis kahawaluokalani*, coletadas em *Lagerstroemia indica*, Londrina, PR., obtidos com o primer OPA-14 [A] e em Curitiba, PR., com o primer OPA-16 [B] (Operon Thechnologies), mostrando apenas loci monomórficos; M = Marcador de peso molecular (Ladder 100 pb – Invitrogen™).

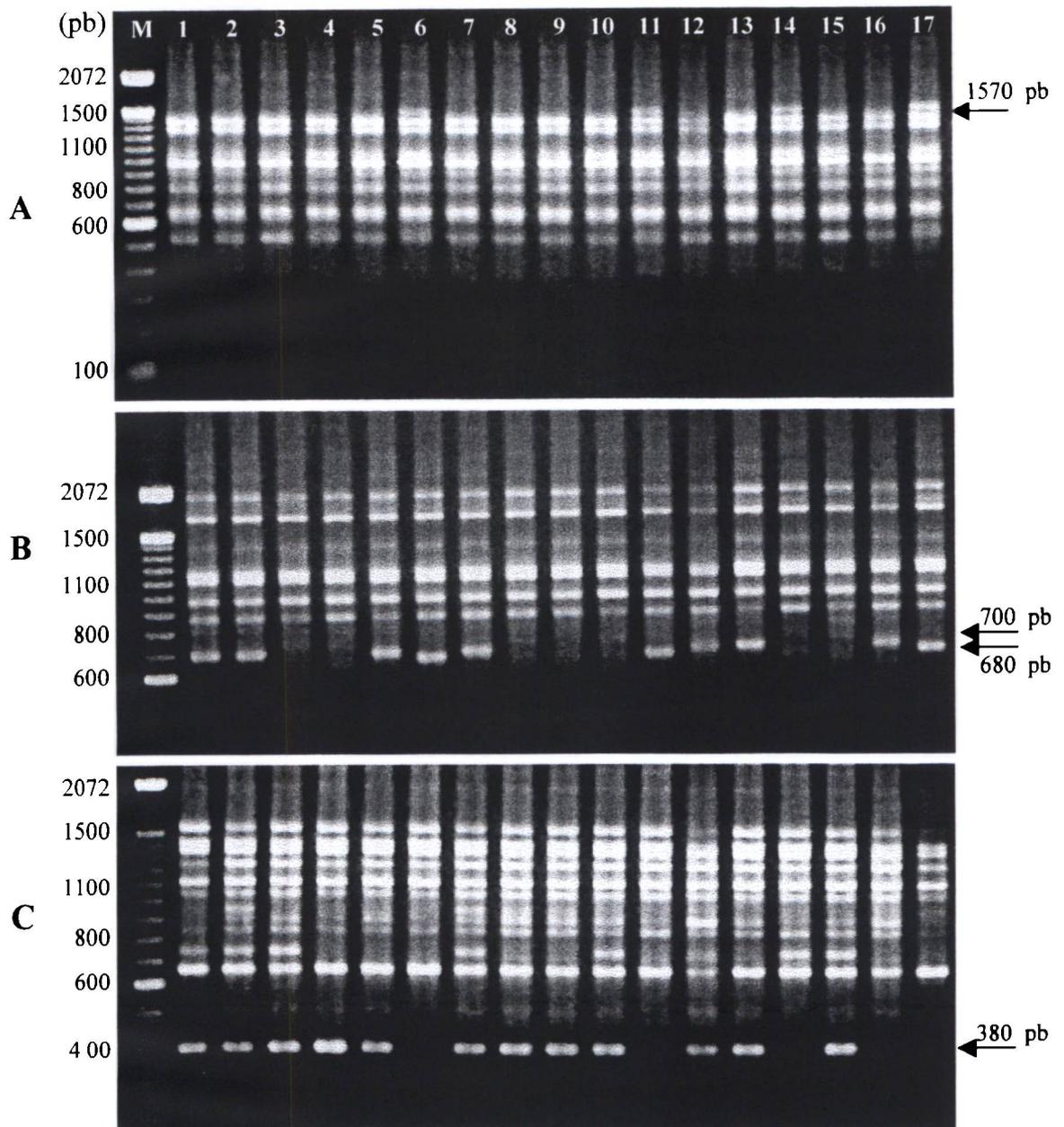


Figura 3. Padrão de fragmentos amplificados por PCR-RAPD de amostras da população de *Tinocallis kahawaluokalani* [1–17], coletadas em *Lagerstroemia indica*, Curitiba, PR., mostrando os loci polimórficos obtidos com os primers OPA-03 [A], OPA-07 [B] e OPB-10 [C] (Operon Technologies); M = Marcador de peso molecular (Ladder 100pb – Invitrogen™).

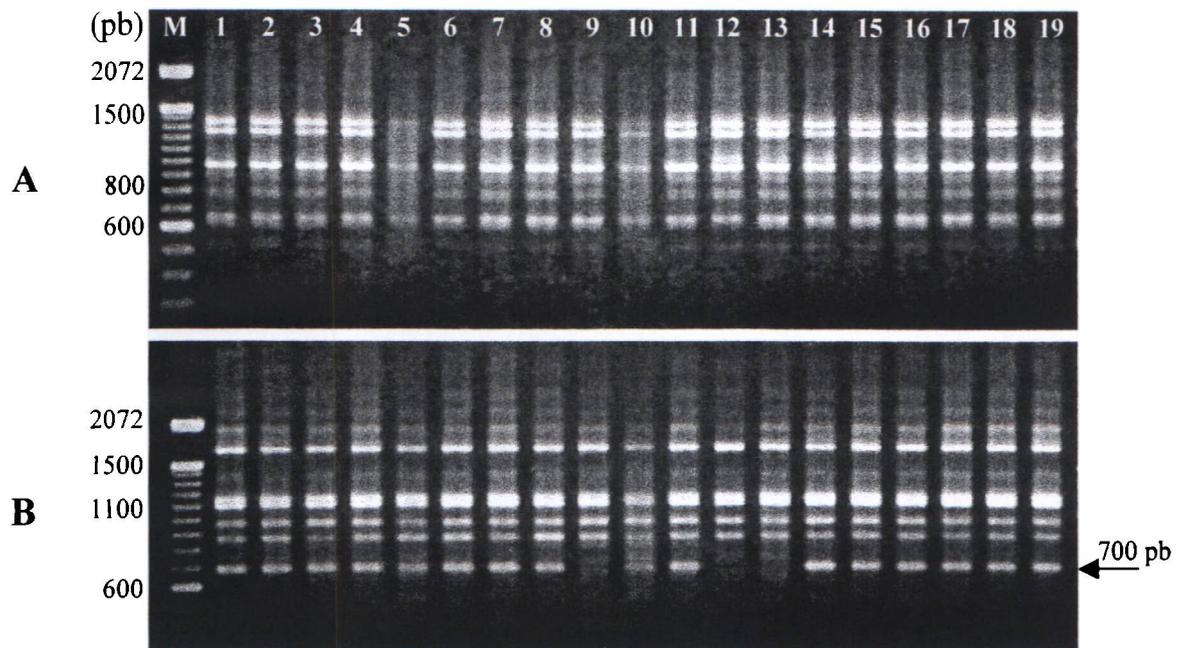


Figura 4. Padrão de fragmentos amplificados por PCR-RAPD de amostras da população de *Tinocallis kahawaluokalani*, coletadas em *Lagerstroemia indica*, Medianeira, PR. [1-8] e Cruz Alta, RS. [9-19], mostrando loci monomórficos obtidos com o primer OPA-03 [A] e polimórficos OPA-07 [B] (Operon Thechnologies); M = Marcador de peso molecular (Ladder 100 pb – Invitrogen™).

A análise de agrupamento para todas as amostras das populações estudadas, determinadas pelo algoritmo UPGMA, utilizando o coeficiente de Jaccard, indica alta similaridade entre as 106 amostras de *T. kahawaluokalani* analisadas (Figura 5). Foi constatada a formação de dois grupos, contudo, não foi evidenciado nenhum padrão de agrupamento de acordo com a localidade ou a cultivar de *L. indica* de onde foram coletadas as amostras dos afídeos. No contexto deste estudo, as cultivares de *L. indica* foram identificadas somente com base na coloração das flores, conforme consta do Anexo I.

Observa-se, na Figura 5, que o primeiro grupo, formado por 99 amostras, apresentou dois subgrupos com similaridade de 0,950. O primeiro subgrupo com 84 amostras contém representantes de todas as localidades exceto de Florianópolis (FL). As amostras de Florianópolis agruparam-se com as de Curitiba (CT), Apucarana (AP) e Cruz Alta (CZ), formando o segundo subgrupo, com 15 amostras. Apesar da formação dos dois subgrupos, a similaridade dentro de cada um foi igual (0,960). O segundo grupo, por sua vez, foi formado por cinco amostras de Curitiba e duas de Morretes (MO) e apresentou similaridade de 0,880, com o primeiro grupo. Dentro do segundo grupo, foram formados dois subgrupos com similaridade muito próxima à do primeiro grupo (0,945), que igualmente não mostrou qualquer padrão de agrupamento de acordo com a procedência ou a coloração das flores. O coeficiente de correlação cofenética foi de 0,965, indicando uma boa representação da matriz de similaridade por parte do dendrograma, segundo os critérios de Sneath & Sokal (1973).

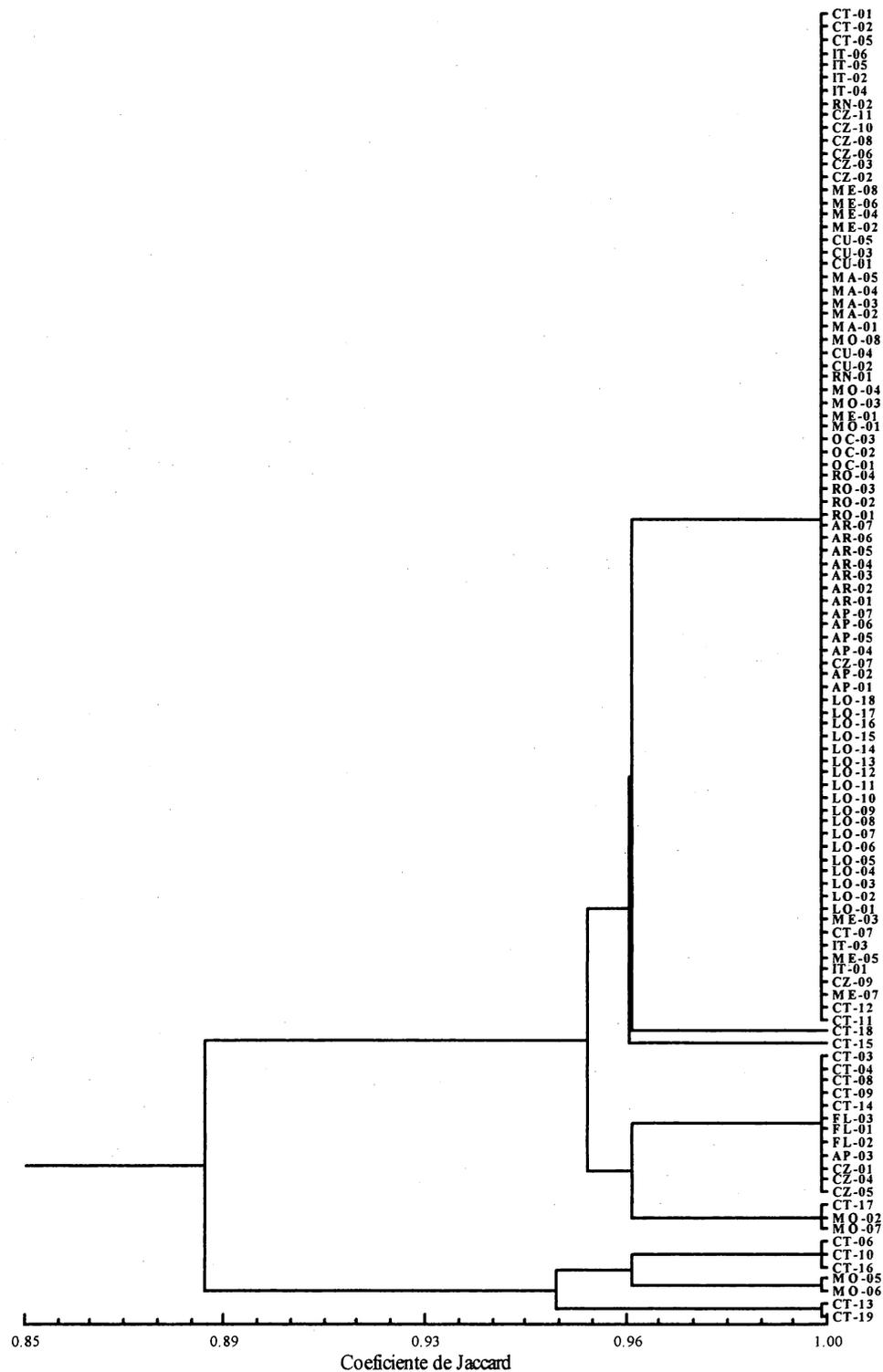


Figura 5. Dendrograma de similaridade genética determinado pelo coeficiente de Jaccard, utilizando o algoritmo UPGMA, com base em dados de PCR-RAPD, para 106 amostras de *Tinocallis kahawaluokalani* coletadas em diferentes cidades brasileiras. Código das amostras conforme Tabela 1 e Anexo 1.

A análise de variabilidade determinada através da distância e da identidade genética de Nei, utilizando a correção das frequências alélicas, segundo Lynch & Milligan (1994), também revelou que as amostras das populações de *T. kahawaluokalani* são homogêneas (Tabela 3). A identidade e a distância genética variaram de 1,0000 a 0,9525 e de zero a 0,0487, respectivamente. A média da identidade e da distância genética foram, respectivamente, 0,9880 e 0,012, considerando-se as amostras das 14 localidades. As menores identidades genéticas e conseqüentes maiores distâncias foram 0,9525 e 0,0487 entre Florianópolis (FL) e Morretes (MO) e 0,9635 e 0,0372 entre Florianópolis (FL) e Curitiba (CT).

Embora uma pequena distância genética tenha sido constatada entre as amostras das 14 populações estudadas, a análise de agrupamento com base na distância genética de Nei, separou as populações em três agrupamentos (Figura 6), onde Florianópolis, Curitiba e Morretes, foram às localidades que apresentaram as maiores distâncias genéticas.

As altas similaridades e as baixas distâncias genéticas encontradas nas amostras das populações de *T. kahawaluokalani* indicam que, provavelmente, um ou um número muito limitado de eventos fundadores, com linhagens muito homogêneas ocorreram na introdução da espécie, no Brasil. O fato pode ser fundamentado nos estudos de Blackman (1985), que menciona que uma nova população de afídeos pode, teoricamente, iniciar-se a partir de um único genótipo fundador, corroborado por evidências de que isso pode ter acontecido com várias espécies de afídeos introduzidas em outros países, e provavelmente incluindo o caso de *T. kahawaluokalani* no Brasil.

Tabela 3. Identidade (acima da diagonal) e distância genética (abaixo da diagonal) de Nei (Nei 1972) para as amostras das populações de *Tinocallis kahawaluokalani* de 14 localidades brasileiras, determinada por PCR-RAPD. Código das localidades de acordo com a Tabela 1.

Amostras	CT	LO	AP	AR	RO	OC	MO	MA	CU	ME	CZ	RN	FL	IT
CT	*****	0,9749	0,9764	0,9749	0,9749	0,9749	0,9964	0,9749	0,9749	0,9749	0,9776	0,9749	0,9635	0,9749
LO	0,0254	*****	0,9998	1,0000	1,0000	1,0000	0,9684	1,0000	1,0000	1,0000	0,9993	1,0000	0,9643	1,0000
AP	0,0239	0,0002	*****	0,9998	0,9998	0,9998	0,9696	0,9998	0,9998	0,9998	0,9998	0,9998	0,9691	0,9998
AR	0,0254	0,0000	0,0002	*****	1,0000	1,0000	0,9684	1,0000	1,0000	1,0000	0,9993	1,0000	0,9643	1,0000
RO	0,0254	0,0000	0,0002	0,0000	*****	1,0000	0,9684	1,0000	1,0000	1,0000	0,9993	1,0000	0,9643	1,0000
OC	0,0254	0,0000	0,0002	0,0000	0,0000	*****	0,9684	1,0000	1,0000	1,0000	0,9993	1,0000	0,9643	1,0000
MO	0,0036	0,0321	0,0309	0,0321	0,0321	0,0321	*****	0,9684	0,9684	0,9684	0,9704	0,9684	0,9525	0,9684
MA	0,0254	0,0000	0,0002	0,0000	0,0000	0,0000	0,0321	*****	1,0000	1,0000	0,9993	1,0000	0,9643	1,0000
CU	0,0254	0,0000	0,0002	0,0000	0,0000	0,0000	0,0321	0,0000	*****	1,0000	0,9993	1,0000	0,9643	1,0000
ME	0,0254	0,0000	0,0002	0,0000	0,0000	0,0000	0,0321	0,0000	0,0000	*****	0,9993	1,0000	0,9643	1,0000
CZ	0,0227	0,0007	0,0002	0,0007	0,0007	0,0007	0,0300	0,0007	0,0007	0,0007	*****	0,9993	0,9737	0,9993
RN	0,0254	0,0000	0,0002	0,0000	0,0000	0,0000	0,0321	0,0000	0,0000	0,0000	0,0007	*****	0,9643	1,0000
FL	0,0372	0,0364	0,0314	0,0364	0,0364	0,0364	0,0487	0,0364	0,0364	0,0364	0,0267	0,0364	*****	0,9643
IT	0,0254	0,0000	0,0002	0,0000	0,0000	0,0000	0,0321	0,0000	0,0000	0,0000	0,0007	0,0000	0,0364	*****

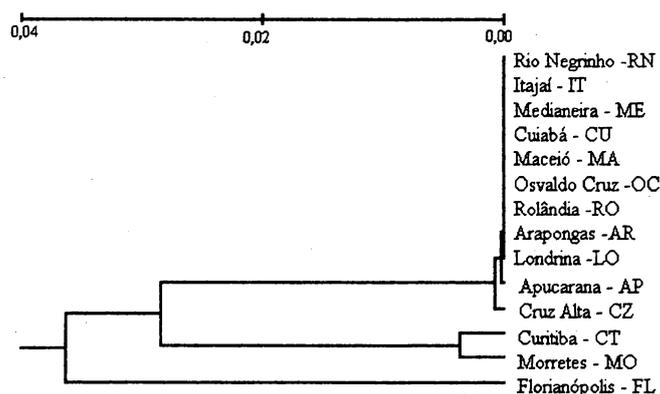


Figura 6. Dendrograma com base na distância genética de Nei (1972) entre as amostras das populações de *Tinocallis kahawaluokalani* de diferentes localidades, definido pelo critério de agrupamento UPGMA. Códigos das localidades de acordo com a Tabela 1.

Na Nova Zelândia, o afídeo *Elatobium abietinum* (Walker, 1849), que tem como hospedeiro *Picea* spp. (Pinaceae), não apresentou nenhuma variação no padrão dos fragmentos produzidos por PCR-RAPD, mesmo após 80 anos de sua introdução. A falta de variabilidade genética em *E. abietinum*, naquela região, é atribuída a um evento fundador único, à falta de reprodução sexuada, uma vez que formas sexuais não foram encontradas, e ao contínuo isolamento da espécie na região (Nicol *et al.* 1998).

Nos Estados Unidos, o pulgão-russo-do-trigo, *Diuraphis noxia* (Kurdjumov, 1913), foi introduzido em 1986 (Stoetzel 1987) e também apresenta baixa variabilidade genética, com base em produtos de PCR-RAPD (Shufrán *et al.* 1997). Segundo esses autores, a baixa variação genética da espécie se deve a uma única introdução e à reprodução anolocíclica naquela região.

Por outro lado, a variabilidade genética de populações de afídeos introduzidos pode ser alta dependendo do número de linhagens e eventos fundadores, da

disponibilidade de hospedeiro, do fluxo gênico e do tipo de reprodução da espécie ou linhagem. No Reino Unido, em contraste com a Nova Zelândia, *E. abientinum* apresenta maior variabilidade genética decorrente de contínuas imigrações da Europa continental, da maior disponibilidade de hospedeiro e da ocorrência de reprodução sexual do afídeo, além do longo tempo decorrido desde a primeira introdução naquela região (Nicol *et al.* 1998).

O afídeo *Metopolophium dirhodum* (Walker, 1849) foi introduzido na Nova Zelândia há somente cerca de 22 anos e apresenta alta variabilidade genética comparada com populações da Escócia, de onde esta espécie é nativa (Nicol *et al.* 1997a, 1997b). Segundo esses autores, as múltiplas introduções e a maior disponibilidade de hospedeiro que incluem várias gramíneas cultivadas e nativas, são as causas da alta variabilidade genética deste na Nova Zelândia, embora a espécie se reproduza por anolociclia, naquela região.

Estudos sobre a diversidade genética de afídeos têm demonstrado que espécies ou linhagens holocíclicas apresentam maior variabilidade genética do que aquelas que são anolocíclicas (Puterka *et al.* 1993; Shufran & Wilde 1994; Shufran *et al.* 1997).

Os resultados da partição da variabilidade genética, através da AMOVA, com base nos dados de quatro loci polimórficos evidenciaram que 24,93% ( $p < 0,001$ ) da variabilidade genética foram entre populações e, 75,07% ( $p < 0,001$ ) dentro das populações de *T. kahawaluokalani*.

Através da combinação única entre os loci monomórficos e os polimórficos amplificados através dos primers OPA-03, OPA-07 e OPB-10 foi possível caracterizar oito genótipos distintos nas 106 amostras de *T. kahawaluokalani* analisadas (Tabela 4). Constatou-se que sete genótipos foram encontrados em Curitiba, três em Morretes, dois em Apucarana e em Cruz Alta, enquanto que um único genótipo foi detectado nas

demais localidades. O genótipo identificado como tipo I foi o mais comum, ocorrendo em 77,35% do total de afídeos analisados e foi encontrado em todas as localidades, exceto em Florianópolis, sugerindo uma segunda colonização nesta localidade. O genótipo tipo II foi o segundo mais comum, ocorrendo em 11,32% do total de exemplares, estando presente em Apucarana, Curitiba, Florianópolis e Cruz Alta. Por sua vez, os genótipos identificados como tipos III, IV, V, VI, VII e VIII foram mais raros, ocorrendo somente em Curitiba e Morretes, representando entre 2,83% a 0,95% do total das amostras analisadas.

Tabela 4. Número e tipos de genótipos em amostras das populações de *Tinocallis kahawaluokalani* coletadas nas diferentes localidades, determinados por PCR-RAPD.

Localidade (UF)	Cód.	Nº de amostras analisadas	Tipos de genótipos
Maceió (AL)	MA	5	I
Cuiabá (MT)	CU	5	I
Oswaldo Cruz (SP)	OC	3	I
Rolândia (PR)	RO	4	I
Londrina (PR)	LO	18	I
Arapongas (PR)	AR	6	I
Apucarana (PR)	AP	7	I; II
Medianeira (PR)	ME	8	I
Curitiba (PR)	CT	19	I; II; III; IV; V; VII; VIII
Morretes (PR)	MO	8	I; III; VI
Rio Negrinho (PR)	RN	2	I
Itajaí (SC)	IT	6	I
Florianópolis (SC)	FL	3	II
Cruz Alta (RS)	CZ	11	I; II

A ocorrência do genótipo tipo I em todas as localidades, exceto em Florianópolis (Tabela 4) indica que o fenótipo é o mais bem adaptado às diferentes condições climáticas, condições nutricionais das plantas e inimigos naturais, ou, ainda, que os outros genótipos não foram introduzidos nas demais regiões. Segundo Blackman (1985), genótipos menos adaptados formam pequenos clones que teriam menores chances de sobreviver e poderiam ser eliminados ou permanecer na população em taxas muito baixas. Este fato pode explicar a baixa ocorrência dos genótipos III, IV, V, VI, VII e VIII nas latitudes maiores avaliadas neste estudo. Embora o número de indivíduos analisados tenha sido pequeno em algumas localidades, Londrina e Curitiba tiveram um mesmo número de amostras, porém, em Londrina somente o genótipo I foi encontrado.

Parte da variabilidade pode ter sido gerada pela reprodução sexuada, uma vez que *T. kahawaluokalani* é holocíclico em Curitiba, e este é o mecanismo primário de recombinação gênica responsável pela variabilidade genética dos afídeos (Blackman 1985).

Algumas amostras de outras localidades, das quais foram estabelecidas linhagens clonais (Anexo I), também produziram formas gâmicas em laboratório, indicando que a espécie é holocíclica também naquelas localidades, assim como em todas as regiões em que a espécie foi introduzida (Patti *et al.* 1984, Alverson & Allen 1991, 1992, Blackman & Eastop 1994).

Além da variabilidade gerada através do ciclo sexual, outros mecanismos genéticos poderiam estar atuando e gerando variabilidade genética durante a fase assexual. Algum desses mecanismos poderia justificar o caso da forma variante, coletada em março de 2001 em Curitiba, a qual apresenta a quetotaxia dorso-abdominal diferente do padrão característico da espécie. Essa forma foi mantida em laboratório a 25°C e fotofase de 12 horas por várias gerações partenogênicas e manteve suas

características peculiares. A disposição diferencial dos pêlos no dorso do abdome foi mantida também nas formas sexuais, machos alados e fêmeas ovíparas ápteras obtidas em laboratório. Descendentes dessa linhagem apresentaram menor fecundidade quando comparados com a linhagem normal, conforme apresentado no Capítulo IV.

A análise de RAPD não definiu nenhum marcador que diferenciasse os indivíduos dessa forma variante. Segundo Lushai & Loxdale (2002), variação genética pode ser gerada por vários mecanismos como mutações de ponto, erros de replicação, inserções e deleções de segmentos do DNA, em linhagens partenogênicas. Segundo esses autores, essas mudanças genéticas estão sujeitas à seleção natural, e não se pode garantir que elas não persistam no ambiente, de forma horizontal, particularmente nas linhagens com partenogênese contínua, ou verticalmente, nas linhagens partenogênicas cíclicas, nas quais a existência de uma geração sexual poderia facilitar grandemente a manutenção dessas mudanças.

Outro fator que deve ser levado em consideração é o fato de que, além da dispersão através do vôo, *T. kahawaluokalani* também pode ser disseminada através dos ovos que são depositados nos galhos, uma vez que a propagação de *L. indica* é feita por estaquia (Rotta *et al.* 1996), justificando sua ampla distribuição em pouco tempo nas diversas regiões brasileiras.

O fato de Curitiba apresentar sete dos oito genótipos identificados pode ter alguma relação com a entrada e a circulação de uma maior quantidade de mudas ou de material de propagação, pois a cidade é reconhecida por apresentar elevado índice de área verde por habitante. Desde meados da década de 1970, foram implementadas diversas ações governamentais no planejamento urbano de Curitiba, culminando com a criação de parques, bosques e arborização de ruas, sendo que a partir desse período foram plantadas, em média, 60.000 árvores por ano (Oliveira 2001), destacando-se *L.*

*indica*, que representa 24% das árvores utilizadas na arborização das ruas (Milano 1984). Entretanto, não se tem registro da origem das mudas de *L. indica* utilizada na arborização das ruas da cidade, o que poderia esclarecer a dispersão de *T. kahawaluokalani*.

## CONCLUSÕES

As amostras das populações de *Tinocallis kahawaluokalani* apresentam baixa variabilidade genética indicando que as populações são homogêneas, nas regiões estudadas;

A variabilidade genética de *T. kahawaluokalani* é mais acentuada dentro das populações do que entre as populações;

Curitiba é a localidade que apresenta o maior número de genótipos de *T. kahawaluokalani*;

As populações de *T. kahawaluokalani* de Curitiba e Morretes, no Paraná, e Florianópolis, em Santa Catarina, apresentam as maiores distâncias genéticas em relação às populações de Rio Negrinho, Medianeira, Londrina, Araçongas, Apucarana, Rolândia, no Paraná; Osvaldo Cruz, em São Paulo; Itajaí, em Santa Catarina; Cruz Alta, no Rio Grande do Sul; Cuiabá, no Mato Grosso e Maceió em Alagoas.

## LITERATURA CITADA

Aikhionbare, F.O.; K.P. Prues & Z.B. Mayo. 1998. Greenbug (Homoptera: Aphididae) biotypes characterized using random amplified polymorphic DNA. Genetic Analysis: Biomolecular Engineering, **14**: 105-108.

Alverson, D.R. & R.K. Allen. 1991. Life history of the crapemyrtle aphid. Proc. Soc. Nurserymen's Assoc. Res. Conference, **36**: 164-167.

Alverson, D. R. & R.K. Allen. 1992. Bionomics of the crapemyrtle aphid (Homoptera: Aphididae). Journal of Entomological Science, **27**: 445-457.

Black, W.C.; Duteau, N.M.; Puterka, G.J., Nechols, J.R. & Pettorini, J.M. 1992. Use of the random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction (RAPD-PCR) to detect DNA polymorphisms in aphids (Homoptera: Aphididae). Bulletin of Entomological Research, **82**: 151-159.

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.

Blackman, R. L. & V.F. Eastop. 1994. Aphids on the world's trees - an identification and information guide. Wallingford, CAB International, 987p.

Bournoville, R., Simon, J.C., Badenhausser, I., Girousse, C., Guilloux, T. & André, S. 2000. Clones of pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae) distinguished using genetic markers, differ in their damaging effect on a resistant alfalfa cultivar. Bulletin of Entomological Research, **90**: 33-39.

Carvalho, O.R.A & L.G.E. Vieira. 2000. Comparison of preservation methods of *Atta* spp. (Hymenoptera: Formicidae) for RAPD analysis. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, **29**: 489-496.

Carvalho, A.O.R & L.G.E. Vieira. 2001. Determinação das condições ótimas para análises de RAPD em *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae). Neotropical Entomology, **30**: 593-600.

Cenis, J.L., Perez, P. & A Fereres. 1993. A. Identification of aphids (Homoptera: Aphididae) species and clones by random amplified polymorphic DNA. *Annals of the Entomological Society of America*, **86**: 545-550.

Cheung, W.Y., N. Hubert & B.S. Landry. 1993. A simple and rapid DNA microextraction for plant, insect suitable for RAPD and other analyses. *PCR Methods and Applications*, **3**: 69-70.

De Barro, P.J.; T.M. Sherratt; C.P. Brookes; O. David & N. Maclean. 1995. Spatial and temporal genetic variation in British field populations of the grain aphid *Sitobion avenae* (F.) (Hemiptera: Aphididae) studied using RAPD-PC. *Proceedings of the Royal Society of London (B)*, **262**: 321-327.

Downie, D.A.; J.R. Fisher & J. Granett. 2001. Grapes, galls, and geography: The distribution of nuclear and mitochondrial DNA variation across host-plant species and regions in a specialist herbivore. *Evolution*, **55**: 1345-1362.

Excoffier, L.; P.E. Smouse & J.M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics Society of America*, **131**:479-491.

Figuroa, C.C.; J.C. Simon; J.F. Gallie & H.M. Niemeyer. 1999. Molecular markers to differentiate two morphologically close species of the genus *Sitobion*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **92**: 217-225.

Figuroa, C.C.; R. Loayza-Muro & H.M. Niemeyer. 2002. Temporal variation of RAPD-PCR phenotype composition of the grain aphid *Sitobion avenae* (Hemiptera: Aphididae) on wheat: the role of hydroxamic acids. *Bulletin Entomological Research*, **92**: 25-33.

Harry, M.; S. Robin & D. Lachaise. 1998. Use of polymorphic genetic markers (RAPDs) in evolutionary and applied entomology. *Annales de la Société Entomologique de France*, **34**: 9-32.

Hopkins, G.W. 1997. A tree aphid (*Tinocallis nevskyi* Remaudière, Quednau & Heie) new to Britain (Hem. - Hom., Aphidoidea). *Entomologist's Monthly Magazine*, **133**: 255-256.

La Rossa, F.R.; A.L. Vasicek & A. Noriega. 1997. Presencia de *Sarucallis kahawaluokalani* sobre "crespon" (*Lagerstroemia indica*) en la Argentina (Homoptera: Aphidoidea). *Revista da Sociedade Entomológica Argentina*, **56**: 97-100.

Leclant, F. & M. Renoust. 1986. Le puceron du *Lagerstroemia* nouveau ravageur pour notre flore. *Phytoma*, **375**: 49-50.

Lushai, G.; H.D. Loxdale; C.P. Brookes; N. Von Mende; R. Harrington & J. Hardie. 1997. Genotypic variation among different phenotypes within aphid clones. *Proceedings of Royal Society of London*, **264**: 725-730.

Lushai, G. & H.D. Loxdale. 2002. The Biological improbability of a clone. *Genetical Research*, **79**: 1-9.

Lynch, M. & B.G. Milligan. 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology*, **3**: 91-99.

Mantel, N.A. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, **27**: 209-220.

Margaritopoulos, J.T.; Z. Mamuris & J.A. Tsitsipis. 1998 Attempted discrimination of *Myzus persicae* and *Myzus nicotianae* (Homoptera: Aphididae) by random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction technique. *Entomological Society of America*, **91**: 602-607.

Mayr, E. 1977. *Populações, espécies e evolução*. Ed. Nacional, Ed. da Universidade de São Paulo, 483p.

Mier-Durante, M.P.; R. Santiago-Merino; Y. Suay Cano & J.M. Nieto-Nafría. 1995. *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy) (Homoptera: Aphididae) en la Península Ibérica sobre el árbol de Júpiter, *Lagerstroemia indica* (L.). Boletim de Sanidade Vegetal - Plagas, **21**: 349-355.

Milano, M.S. 1984. Avaliação e análise da arborização das ruas de Curitiba. Tese de mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 130p.

Miller, M.P. 1997. Tools for population genetic analyses (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Software distribuído pelo autor.

Miller, M.P. 1998. AMOVA-PREP. Versão 1.01. Em: [mpm@nauvaux.ucc.nau.edu](mailto:mpm@nauvaux.ucc.nau.edu)

Mullis, K. & F. Fallona. 1987. Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase catalysed chain reaction. Methods of Enzymology, **55**: 335-350.

Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. American Naturalist, **106**: 283-292.

Nicol, D.; K.F. Armstrong; S.P. Wratten; P.J. Walsh; C.M. Cameron; C. Lahmann & C. Framton. 1997a. Genetic diversity of two introduced aphid species in New Zealand. In: Proceedings Of The New Zealand Plant Protection Conference, 50<sup>th</sup>, 1997, Lincoln: 1997. p.322-326.

Nicol, D.; K.F. Armstrong; S.D. Wratten; C.M. Cameron; C. Frampton & B. Fenton. 1997b. Genetic variation in an introduced aphid pest (*Metopolophium dirhodum*) in New Zealand and relation to individuals from Europe. Molecular Ecology, **6**: 255-265.

Nicol, D.; K.F. Armstrong; S.D. Wratten; P.J. Walsh; N.A. Straw; C.M. Cameron; C. Lahmann & C.M. Framton. 1998. Genetic diversity of an introduced pest, the green

spruce aphid *Elatobium abietinum* (Hemiptera: Aphididae) in New Zealand and the United Kingdom. *Bulletin of Entomological Research*, **88**: 537-543.

Oliveira, M. 2001. A trajetória do discurso ambiental em Curitiba (1960-2000). *Revista de Sociologia e Política*, **16**: 97-106.

Patti, I.; R.G. Spampinato & M.G. Tornatore. 1984. Note morfologiche e bio-ecologiche sull'afide della *Lagerstroemia*, *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirk.) (Rhynchota: Aphidoidea). *Phytophaga*, **2**: 87-116.

Pérez Hidalgo, N.; C.E. Bartholdy & J.M. Nieto Nafria. 1998. Two new records for South America and a list of aphids from Rio Grande do Sul State and Brazil, p. 407-415. In Nieto Nafria, J.M. & A.F.G. Dixon (eds.), *Aphids in natural and managed ecosystems*. Universidade de León. León (Espanha)

Peronti, A.L.B.G. & Sousa-Silva, C.R. 2002. Aphids (Hemiptera: Aphidoidea) of ornamental plants from São Carlos, São Paulo state, Brazil. *Revista de Biologia Tropical*, **50**: 137-144.

Puterka, G.J., Black, W.C., Steiner, W.M. & Burton, R.L. 1993. Genetic variation and phylogenetic relationships among worldwide collections of the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Mordvilko), inferred from allozyme and RAPD-PCR markers. *Heredity*, **70**: 604-618.

Quednau, F.W. 2001. World review of the genus *Tinocallis* (Hemiptera: Aphididae, Callaphidinae) with description of a new species. *The Canadian Entomologist*, **133**: 197-213.

Reilly, C.C. & W.L. Tedders. 1990. A detached-leaf method to study pecan aphid behavior and biology. *Journal of Entomology Science*, **25**: 85-88.

Reumaudière, G. & B. Le Ru. 1994 The aphids of Congo, faunistic and ecological studies (Homoptera: Aphididae). *Parasitica*, **50**: 119-129.

Richards, W.R. 1967. A review of the *Tinocallis* of the world (Homoptera: Aphididae). *The Canadian Entomologist*, **99**: 536-553.

Ripka, G.; K. Reider & L. Azalay-Marzso. 1998. New data to the knowledge of the aphid fauna (Homoptera: Aphididae) on ornamental trees and shrubs in Hungria. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, **33**: 153-171.

Rohlf, F.J. 1994. NTSYS-pc V. 2.0. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Applied Biostatistics INC. Setauket, New York, 254p.

Rotta, E.; F.R. Tavares & V.A. Sousa-Lang. 1996. Produção de mudas por estaquia de *Lagerstroemia indica*. Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Florestas. Comunicado Técnico. N°11, p.1-3.

Shufran, K.A & G.E. Wilde 1994. Clonal diversity in overwintering populations of *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae). *Bulletin of Entomological Research*, **84**: 105-114.

Shufran, K.A.; J.D. Burd & J.A. Webster. 1997. Biotypic status of Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) populations in the United States. *Journal of Economic Entomology*, **90**: 1684-1689.

Smith, C.F. & M.M. Cermeli. 1979. An annotated list of Aphididae (Homoptera) of the Caribbean Island and South and Central America. North Carolina. Agricultural Research Service Technical Bulletin, **259**: 1-131.

Smith, C.F. & C.S. Parron. 1978. An annotated list of Aphididae (Homoptera) of North America. North Carolina, Agricultural Experimental Station. Technical Bulletin, **225**: 398p.

Sneath, P.H.A. & R.R. Sokal. 1973. Numerical taxonomy. Freeman, San Francisco. 573p.

Sokal, R.R. & F.J. Rohlf. 1962. The comparison of dendrograms by objective methods. *Taxon*, **11**: 33.

Sunnucks, P.; F. Driver; W.V. Brown; M. Carver; D.F. Hales & W.M. Milne. 1997. Biological and genetic characterization of morphological similar *Therioaphis trifolii* (Hemiptera: Aphididae) with different host utilization. *Bulletin of Entomological Research*, **87**: 425-436.

Stoetzel, M.B. 1987. Information on and identification of *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae) and other aphid species colonizing of wheat and barley in the United States. *Journal Economic Entomology*, **80**: 696-704.

Welsh, J. & M. Mclelland. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research*, **18**: 7213-7218.

Williams, J.G.K.; A.R. Kubelik; K.J. Livak; J.A. Rafalski & S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, **18**: 6531-6535.

Williams, C.L.; S.L. Goldson; D.B. Baird & D.W. Bullock. 1994. Geographical origin of an introduced insect pest, *Listronotus bonariensis* (Kuschel), determined by RAPD analysis. *Heredity*, **72**: 412-419.

Anexo I. Localidade, data de coleta, coloração das flores da flores de *Lagerstroemia indica*, e número de amostras das populações de *Tinocallis kahawaluokalani* utilizadas nas análises de PCR-RAPD.

Localidade/ UF	Bairro (B.); Rua (R.); Avenida (Av.)	Cor da Flor	Data de Coleta	Código	Amostras clonadas (*) ou de campo (**)
Maceió/AL	? Praia Cabo Verde	Rosa	Janeiro/2002	MA-1	*
Maceió/AL	? Praia Cabo Verde	Rosa	Janeiro/2002	MA-2	*
Maceió/AL	? Praia Cabo Verde	Rosa	Janeiro/2002	MA-3	*
Maceió/AL	? Praia Cabo Verde	Rosa	Janeiro/2002	MA-4	*
Maceió/AL	? Praia Cabo Verde	Rosa	Janeiro/2002	MA-5	*
Cuiabá/MT	?	Rosa	Abril/2002	CU-1	*
Cuiabá/MT	?	Rosa	Abril/2002	CU-2	*
Cuiabá/MT	?	Rosa	Abril/2002	CU-3	*
Cuiabá/MT	?	Rosa	Abril/2002	CU-4	*
Cuiabá/MT	?	Rosa escuro	Abril/2002	CU-5	*
Oswaldo Cruz/SP	Av. Brasil	Rosa	Março/2003	OC-1	*
Oswaldo Cruz/SP	Av. Brasil	Rosa	Março/2003	OC-2	*
Oswaldo Cruz/SP	R. ? paralela Brasil	Branca	Março/2003	OC-3	*
Rolândia/PR	Pç. ?Rodoviária	Rosa	Setembro/2002	RO-1	*
Rolândia/PR	Pç. ?Rodoviária	Rosa	Março/2003	RO-2	*
Rolândia/PR	Av. ? Correio	Rosa	Março/2003	RO-3	*
Rolândia/PR	Av. A. Bernardes	Branca	Março/2003	RO-4	*
Londrina/PR	R. Goiás	Rosa	Abril/2003	LO-1	*
Londrina/PR	R. Goiás	Rosa	Abril/2003	LO-2	*
Londrina/PR	R. Goiás	Rosa	Abril/2003	LO-3	*
Londrina/PR	R. Goiás	Rosa	Abril/2003	LO-4	*
Londrina/PR	R. Goiás	Rosa	Abril/2003	LO-5	*
Londrina/PR	R. Goiás	Rosa	Abril/2003	LO-6	*
Londrina/PR	Av. Higianópolis	Rosa escuro	Abril/2003	LO-7	*
Londrina/PR	Av. Higianópolis	Rosa escuro	Abril/2003	LO-8	*
Londrina/PR	Av. Higianópolis	Rosa escuro	Abril/2003	LO-9	*
Londrina/PR	R. Pará	Rosa	Abril/2003	LO-10	*
Londrina/PR	R. Pará	Rosa	Abril/2003	LO-11	*
Londrina/PR	R. Pará	Rosa	Abril/2003	LO-12	*
Londrina/PR	R. Maringá	Rosa	Abril/2003	LO-13	*
Londrina/PR	R. Maringá	Branca	Abril/2003	LO-14	*
Londrina/PR	B. Jd. Bandeirantes	Rosa	Março/2003	LO-15	*

Continua Anexo I ...

Continuação Anexo I ...

Localidade/ UF	Bairro (B.); Rua (R.); Avenida (Av.)	Cor da Flor	Data de Coleta	Código	Amostras clonadas (*) ou de campo (**)
Londrina/PR	B. Jd. Bandeirantes	Rosa	Março/2003	LO-16	*
Londrina/PR	B. Jd. Bandeirantes	Rosa escuro	Março/2003	LO-17	*
Londrina/PR	B. Jd. Bandeirantes	Rosa escuro	Março/2003	LO-18	*
Arapongas/PR	R. ? entrada	Branca	Abril/2003	AR-1	*
Arapongas/PR	R. ? entrada	Branca	Abril/2003	AR-2	*
Arapongas/PR	R. ? entrada	Branca	Abril/2003	AR-3	*
Arapongas/PR	R. ? entrada	Rosa	Abril/2003	AR-4	*
Arapongas/PR	R. ? entrada	Rosa	Abril/2003	AR-5	*
Arapongas/PR	R. ? entrada	Rosa	Abril/2003	AR-6	*
Arapongas/PR	R. ? entrada	Rosa	Abril/2003	AR-7	*
Apucarana/PR	P. Biblioteca	Rosa	Abril/2003	AP-1	*
Apucarana/PR	P. Biblioteca	Rosa escuro	Abril/2003	AP-2	*
Apucarana/PR	R. ? entrada	Rosa	Abril/2003	AP-3	*
Apucarana/PR	R. ? entrada	Rosa	Abril/2003	AP-4	*
Apucarana/PR	R. ? entrada	Rosa	Abril/2003	AP-5	*
Apucarana/PR	R. ? entrada	Rosa	Abril/2003	AP-6	*
Apucarana/PR	R. ? entrada	Rosa	Abril/2003	AP-7	*
Medianeira/PR	Av. Brasil	Rosa	Abril/2003	ME-1	**
Medianeira/PR	Av. Brasília	Rosa	Abril/2003	ME-2	**
Medianeira/PR	R. Argentina	Rosa	Abril/2003	ME-3	**
Medianeira/PR	Av. R. Gde. do Sul	Rosa	Abril/2003	ME-4	**
Medianeira/PR	Av. Brasília	Rosa	Abril/2003	ME-5	**
Medianeira/PR	Av. Brasil	Rosa	Abril/2003	ME-6	**
Medianeira/PR	R. Argentina	Rosa	Abril/2003	ME-7	**
Medianeira/PR	Pç. Ângelo Parold	Rosa	Abril/2003	ME-8	**
Curitiba/PR	B. Juvevê	Branca	Novembro/2002	CT-1	*
Curitiba/PR	B. Juvevê	Branca	Novembro/2002	CT-2	*
Curitiba/PR	B. Mecês	Rosa escuro	Janeiro/2003	CT-3	*
Curitiba/PR	B. Mercês	Rosa escuro	Janeiro/2003	CT-4	*
Curitiba/PR	B. Mercedes	Rosa	Janeiro/2003	CT-5	*
Curitiba/PR	B. Juvevê	Rosa	Novembro/2002	CT-6	*
Curitiba/PR	B. Juvevê	Rosa	Novembro/2002	CT-7	*
Curitiba/PR	B. Juvevê (cca)	Rosa	Março/ 2001	CT-8	*
Curitiba/PR	B. Tingui	Rosa escuro	Abril/2003	CT-9	**
Curitiba/PR	B. Hugo Langue	Rosa	Abril/2003	CT-10	**
Curitiba/PR	R. Mateus Leme	Rosa	Abril/2003	CT-11	**
Curitiba/PR	B. J. das Américas	Rosa	Março/2003	CT-12	*
Curitiba/PR	B. Água Verde (b)	Rosa	Abril/2003	CT-13	**

Continua Anexo I ...

Continuação Anexo I ...

Localidade/ UF	Bairro (B.); Rua (R.); Avenida (Av.)	Cor da Flor	Data de Coleta	Código	Amostras clonadas (*) ou de campo (**)
Curitiba/PR	B. Sta Felicidade	Rosa	Abril/2003	CT-14	**
Curitiba/PR	B. Sta Felicidade	Rosa escuro	Abril/2003	CT-15	**
Curitiba/PR	B. Juvevê	Rosa	?	CT-16	
Curitiba/PR	B. Gabirota	Rosa	Março/2003	CT-17	*
Curitiba/PR	B. Gabirota	Rosa	Março/2003	CT-18	*
Curitiba/PR	B. Gabirota	Rosa escuro	Março/2003	CT-19	*
Morretes/PR	?	Rosa	Janeiro/2002	MO-1	*
Morretes/PR	?	Rosa	Janeiro/2002	MO-2	*
Morretes/PR	?	Rosa	Janeiro/2003	MO-3	*
Morretes/PR	?	Branca	Janeiro/2003	MO-4	*
Morretes/PR	?	Branca	Janeiro/2003	MO-5	*
Morretes/PR	?	Rosa escuro	Janeiro/2003	MO-6	*
Morretes/PR	?	Rosa	Janeiro/2002	MO-7	*
Morretes/PR	?	Rosa	Janeiro/2002	MO-8	*
Rio Negrinho/PR	?	Rosa	Maio/2001	RN-1	*
Rio Negrinho/PR	?	Rosa	Maio/2001	RN-2	*
Itajaí/SC	?	Rosa	Fevereiro/2002	IT-1	*
Itajaí/SC	?	Rosa	Fevereiro/2002	IT-2	*
Itajaí/SC	?	Rosa	Fevereiro/2002	IT-3	*
Itajaí/SC	?	Rosa	Fevereiro/2002	IT-4	*
Itajaí/SC	?	Rosa	Fevereiro/2002	IT-5	*
Itajaí/SC	?	Branca	Fevereiro/2002	IT-6	*
Florianópolis/SC	P. Jurerê	Rosa	Janeiro/2002	FL-1	*
Florianópolis/SC	P. Jurerê	Rosa escuro	Janeiro/2002	FL-2	*
Florianópolis/SC	P. Jurerê	Rosa escuro	Janeiro/2002	FL-3	*
Cruz Alta/RS	R. Dr. Wauthier	Rosa	Abril/2003	CZ-1	**
Cruz Alta/RS	R. Dr. Noronha	Rosa	Abril/2003	CZ-2	**
Cruz Alta/RS	R. Dr. Noronha	Rosa	Abril/2003	CZ-3	**
Cruz Alta/RS	R. Pinh. Machado	Rosa	Abril/2003	CZ-4	**
Cruz Alta/RS	R. Proc. Gomes	Rosa	Abril/2003	CZ-5	**
Cruz Alta/RS	R. Proc. Gomes	Rosa	Abril/2003	CZ-6	**
Cruz Alta/RS	R. Borges do Canto	Rosa	Abril/2003	CZ-7	**
Cruz Alta/RS	Pç. M N. S. Fátima	Rosa	Abril/2003	CZ-8	**
Cruz Alta/RS	C. UNICRUZ	Rosa	Abril/2003	CZ-9	**
Cruz Alta/RS	R. Saturn. de Brito	Rosa	Abril/2003	CZ-10	**
Cruz Alta/RS	R. Noronha	Rosa	Abril/2003	CZ-11	**

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aumento das atividades econômicas entre países e continentes tem potencializado o risco de introdução acidental e a dispersão de insetos e/ou pragas originalmente restritas às suas regiões de origem. Espécies que antes se dispersariam a pequenas distâncias por processos naturais, podem ser transportadas inadvertidamente entre países ou regiões geográficas devido às rápidas ligações de transporte e o aumento do comércio nos mais diferentes setores produtivos.

O afídeo-da-extremosa, *Tinocallis kahawaluokalani* (Kirkaldy, 1907), foi recentemente detectado no Brasil, mas encontra-se amplamente distribuído no País, sendo encontrado em várias cidades do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Alagoas, Mato Grosso e, provavelmente, em cidades de outros estados brasileiros onde sua planta hospedeira, *Lagerstroemia indica* Linnaeus, 1762 (Lythraceae), é utilizada em arborização urbana e paisagismo.

A rápida dispersão da espécie se deve à grande disponibilidade da planta hospedeira, à dispersão pelo vôo, pois todas as fêmeas partenogênicas são aladas e, além disso, existe ainda, o potencial de dispersão da espécie através dos ovos em materiais de propagação.

O uso de armadilhas amarelas de água e a avaliação das plantas são ferramentas úteis para o monitoramento das populações, pois permitem estimar a flutuação populacional do afídeo e de seus inimigos naturais, como realizado nesta pesquisa. O acompanhamento sistemático com essas técnicas permitiu a obtenção do primeiro registro, no Brasil, de uma espécie holocíclica, com todas as formas e gerações de um afídeo de ciclo completo.

A literatura afirma que as espécies holocíclicas originárias do hemisfério norte

tendem a se tornar anolocíclicas em regiões tropicais e subtropicais. Contudo, é possível que a não detecção de formas sexuadas e de ovos de algumas espécies de afídeos seja devida à falta de um monitoramento mais acurado.

Constatou-se que, ao longo do ciclo anual, *T. kahawaluokalani* passa por várias gerações partenogénicas, na primavera e verão, e uma geração formada por fêmeas ovíparas e machos que se reproduzem sexuadamente durante o outono, produzindo os ovos de inverno, que são depositados nos galhos de *L. indica*, dos quais eclodem as fundatrizes só na primavera seguinte.

O monitoramento sistemático permitiu determinar, também, que os picos populacionais de *T. kahawaluokalani* apresentam correlação com a fenologia da planta e a fotofase, com um pico no final da primavera, coincidindo com a fase final do desenvolvimento vegetativo da planta e fotofase longa. O segundo pico ocorre em meados do outono, quando a planta está em fase de senescência e a fotofase é curta, sendo este o período em que ocorrem as formas gâmicas.

Como resultado do estudo, verificou-se, ainda, que árvores mais velhas podadas regularmente apresentam-se mais infestadas do que árvores mais jovens sem poda, provavelmente devido à copa das primeiras apresentar uma arquitetura com mais ramificações, proporcionando maior proteção para as colônias do afídeo. Observou-se ainda que a posição cardinal dos galhos de *L. indica* não afeta a distribuição de *T. kahawaluokalani*. Assim, para fins de amostragem, pode-se analisar qualquer galho ao acaso, sem necessidade de se dividir a planta por quadrantes.

O modelo de regressão usado neste estudo é um instrumento importante para estabelecer tendências na distribuição dos ovos nas plantas, e indicou que as posturas concentram-se na porção mediana dos galhos, de forma que quando estes são usados na produção de mudas por estaquia, podem ser os veículos para a dispersão deste afídeo.

O estudo dos parâmetros biológicos de *T. kahawaluokalani* é muito importante para caracterizar cada forma do ciclo a fim de fornecer subsídios para outros estudos comparativos entre populações de diferentes localidades, sob diferentes condições de criação e para poder apreciar o polimorfismo desta espécie holocíclica, além de gerar informações fundamentais para a adoção de medidas de controle.

Diversos grupos de insetos predadores atuam como antagonistas das populações de *T. kahawaluokalani*, conforme observado neste levantamento em Curitiba. Apesar de ter sido registrada uma nova associação afídeo-parasitóide na região de Curitiba, as relações planta-afídeo-parasitóide ainda são obscuras para as espécies em questão, carecendo de mais estudos para fins de controle biológico.

A baixa diversidade genética entre as amostras das populações de *T. kahawaluokalani* constatada neste estudo, indica que um restrito *pool* de genes foi estabelecido nas regiões estudadas. Como consequência, certas estratégias de controle podem ser efetivas por um período de tempo maior quando populações são altamente homogêneas do que em populações que são geneticamente heterogêneas.

A análise de amostras de *T. kahawaluokalani* de outras localidades brasileiras e de outros países pela técnica de PCR-RAPD poderão contribuir para esclarecer a procedência do genótipo ou genótipos introduzidos no Brasil.

Infestações extensas de *T. kahawaluokalani* depreciam o valor de *L. indica* como planta ornamental, de maneira que medidas de manejo integrado podem ser necessárias em muitas localidades. As informações geradas neste estudo, além de representarem uma valiosa contribuição para o conhecimento da afidofauna brasileira, são muito importantes para fundamentar programas de manejo de *T. kahawaluokalani* a fim de manter o valor tão estimado de *L. indica* para o paisagismo e arborização de ruas e jardins.