

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E**  
**RECURSOS NATURAIS**

**SUZAN BEATRIZ ZAMBON DA CUNHA**

## **Estudos Bioecológicos dos afídeos da alfafa**

São Carlos –SP

2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E**  
**RECURSOS NATURAIS**

## **Estudos bioecológicos dos afídeos da alfafa**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

Aluna: Suzan Beatriz Zambon da Cunha  
Orientação: Prof. Dr. Carlos Roberto Sousa e Silva

São Carlos -SP

2013

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

C972eb

Cunha, Suzan Beatriz Zambon da.  
Estudos bioecológicos dos afídeos da alfafa / Suzan  
Beatriz Zambon da Cunha. -- São Carlos : UFSCar, 2013.  
87 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São  
Carlos, 2013.

1. Afídeos. 2. Predadores. 3. Serologia. 4. Seletividade  
alimentar. 5. Controle biológico. I. Título.

CDD: 595.752 (20ª)



# UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

## Relatório de Defesa de Dissertação Candidata: Suzan Beatriz Zambon da Cunha

Aos 08/02/2013, às 09:00, realizou-se na Universidade Federal de São Carlos, nas formas e termos do Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, a defesa de dissertação de mestrado sob o título: AVALIAÇÃO DE ALGUNS FATORES CLIMÁTICOS, DAS AÇÕES PREDATÓRIAS E DOS CORTES EM ALFAFA NA FLUTUAÇÃO SAZONAL DOS AFÍDEOS-PRAGA DA CULTURA E DE SEUS PREDADORES DETERMINADOS PELA TÉCNICA SEROLÓGICA, NA REGIÃO DE SÃO CARLOS-SP, apresentada pela candidata Suzan Beatriz Zambon da Cunha. Ao final dos trabalhos, a banca examinadora reuniu-se em sessão reservada para o julgamento, tendo os membros chegado ao seguinte resultado:

### Participantes da Banca

Prof. Dr. Carlos Roberto Sousa e Silva  
Profa. Dra. Odete Rocha  
Prof. Dr. Evôneo Berti Filho

Função	Instituição
Presidente	UFSCar
Titular	UFSCar
Titular	ESALQ/USP

Conceito  
*Aprovada*  
*Aprovada*  
*Aprovada*

Resultado Final: *Aprovada*

### Parecer da Comissão Julgadora\*:

*Aprovada com distinção e louvor*

Encerrada a sessão reservada, o presidente informou ao público presente o resultado. Nada mais havendo a tratar, a sessão foi encerrada e, para constar, eu, João Augusto da Silva Affonso, representante do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, lavrei o presente relatório, assinado por mim e pelos membros da banca examinadora.

Prof. Dr. Carlos Roberto Sousa e Silva

Profa. Dra. Odete Rocha

Prof. Dr. Evôneo Berti Filho

Representante do PPG: João Augusto da Silva Affonso

( ) Não houve alteração no título da dissertação (X) Houve. O novo título passa a ser:

*Estudos Bioecológicos de afídeos em alfafa.*

\*Obs: Se o candidato for reprovado por algum dos membros, o preenchimento do parecer é obrigatório.

Para gozar dos direitos do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais, a candidata ainda precisa ter sua dissertação homologada pelo Conselho de Pós-Graduação da UFSCar.

**Dedicatória**

*Aos meus pais, Elza e Jorge,  
ao meu irmão Bruno Vinícius e a  
minha avó Maria Mercedes, por  
estarem sempre presentes.*

*“... e um dia os homens descobrirão que esses discos voadores estavam apenas estudando a vida dos insetos...”.*

Mario Quintana

## **Agradecimentos**

Ao Prof. Carlos Roberto Sousa e Silva pela orientação, oportunidade, apoio e amizade sempre dispensada;

Aos amigos do Laboratório de Entomologia Econômica do DEBE: Keila Coelho Rosa, Wanessa Porto, Luis Gustavo Iemma, Airton Masci e Fabiano Mello pelo auxílio nas coletas, experimentos, sangrias e por todo companheirismo e muitos risos compartilhados;

Aos Profs. Alexandre Kannebley de Oliveira, Ana Lucia Gonzalez Peronti e Odete Rocha pelas sugestões e atenção sempre gentilmente dispensada;

Ao amigo Francisco Gambarra Neto pela amizade e auxílio com as análises de Ressonância Magnética Nuclear;

Ao amigo Flávio Henrique Gois Diniz pela amizade, atenção e pela identificação dos aracnídeos;

Ao amigo Rafael Braga pela confirmação na identificação dos indivíduos da família Coccinellidae;

Ao Dr. Maurício Mello Alencar pelas facilidades concedidas para a realização das coletas na Unidade da Embrapa Pecuária Sudeste;

Aos Drs. Reinaldo de Paula Ferreira e Marcos Gusmão pela atenção dispensada;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos;

Aos meus familiares pelo constante apoio e por terem contribuído diretamente para a realização deste trabalho.

## Sumário

Resumo Geral.....	viii
General Abstract.....	x
Introdução Geral.....	1
Referências bibliográficas.....	3
<b>Capítulo 1: Flutuação sazonal de afídeos e seus predadores em cultura de alfafa em São Carlos-SP.....</b>	<b>5</b>
Resumo.....	6
1 Introdução.....	7
2 Materiais e Métodos.....	8
3 Resultados e Discussão.....	9
3.1 Predadores de afídeos.....	16
4 Conclusão.....	20
5 Referências bibliográficas.....	21
<b>Capítulo 2. Determinação de predadores dos afídeos <i>Acyrtosiphon pisum</i>, <i>Aphis craccivora</i> e <i>Therioaphis trifolii</i> f. <i>maculata</i> (hemiptera, aphidoidea), em alfafa, na região de São Carlos-SP através da técnica serológica.....</b>	<b>25</b>
Resumo.....	26
1 Introdução.....	28
2 Materias e Métodos.....	33
2.1 Área de estudo.....	33
2.2 Preparo dos antígenos e obtenção dos antissoros.....	34

2.3 Análise dos afídeos através de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)....	37
2.4 Reações serológicas.....	38
2.5 Testes de preferência alimentar entre coccinelídeos e afídeos em laboratório.....	40
3 Resultados e discussão.....	41
3.1 Quantificação proteica das amostras de afídeos.....	41
3.2 Obtenção dos antissoros.....	41
3.3 Influência da quantidade, espécie de afídeo e tempo decorrido após ter sido consumido pelo predador, nos resultados das reações serológicas.....	43
3.4 Coletas de campo e reações serológicas heterólogas.....	47
4 Conclusões.....	61
5 Referências Bibliográficas.....	62
Anexos.....	70

## Resumo Geral

Os afídeos (Hemiptera: Aphidoidea) são insetos considerados praga em várias culturas. *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* e *Therioaphis trifolii* f. *maculata*, ocorrem frequentemente em cultura de alfafa (*Medicago sativa*) no Brasil, causando danos diretos e indiretos às plantas. No presente trabalho buscou-se determinar a flutuação sazonal dos afídeos e seus predadores em cultura de alfafa e suas relações com as variáveis climáticas, mediante análise de correspondência canônica; verificar em laboratório se há seletividade alimentar dos predadores, *Cycloneda sanguinea*, *Harmonia axyridis* e *Hippodamia convergens* pelos afídeos *A. pisum*, *A. craccivora* e *T. trifolii* f. *maculata* e determinar em campo seus predadores na cultura, bem como comparar os diversos predadores, quanto a sua eficiência em predação dos afídeos utilizando-se a técnica serológica. Esta técnica é baseada em reações do tipo antígeno/anticorpo onde os anticorpos são obtidos para a praga que se quer investigar e como antígenos são utilizados os vários consumidores da praga. As coletas de afídeos e seus predadores foram realizadas de agosto de 2011 a julho de 2012, em campos experimentais de alfafa do cultivar Crioula situados na Unidade da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos SP. *Acyrtosiphon pisum* foi o afídeo predominante na cultura no período avaliado. Considerando-se o conjunto das espécies o maior pico populacional foi observado em março de 2012 e o menor em janeiro de 2012. De acordo com a análise de correspondência canônica, nenhuma das variáveis ambientais influenciou significativamente a flutuação sazonal de afídeos. Em relação aos predadores, foram coletados 2.161 exemplares entre insetos e aranhas. Dentre os insetos ocorreram representantes das seguintes famílias: Coccinellidae, Carabidae, Nabidae, Syrphidae, Dolichopodidae, Geocoridae, Reduviidae, Pentatomidae, Chrysopidae e Dermaptera.

Dentre as aranhas, Salticidae, Thomisidae; Lycosidae; Ctenidae; Nephilidae; Araneidae; Sparassidae; Theridiidae; Pholcidae; Trocantheriidae; Lynphidae e Sicariidae. Os coccinelídeos foram os insetos mais abundantes e *Harmonia axyridis* a espécie mais coletada. Observou-se também que a população de coccinelídeos e a de afídeos seguem o padrão típico da relação predador-presa. A presença de inimigos naturais e o manejo dos cortes da alfafa influenciaram a dinâmica populacional dos afídeos. De acordo com os resultados dos testes serológicos, do total de predadores testados, 508 reagiram com algum dos antissoros resultando em 23,5% de resultados positivos. Reações heterólogas positivas foram registradas com predadores armazenados em freezer a -2°C por mais de um ano evidenciando que o congelamento não interferiu nos resultados das reações serológicas. Os sirfídeos e crisopídeos foram os predadores para os quais se obteve a maior porcentagem de reações serológicas positivas. Os testes de preferência alimentar em laboratório apontaram que os coccinelídeos *C. sanguínea*, *H. axyridis* e *H. convergens* tem preferência por *A. craccivora* em relação às outras espécies de afídeos oferecidas.

**Palavras-Chave:** Afídeos; Predadores; Alfafa; Serologia; Preferência alimentar; Controle biológico.

## General Abstract

Aphids (Hemiptera: Aphidoidea) are insects considered as pests in many crops. *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* and *Therioaphis trifolii* f. *maculata*, occur often in alfalfa crops (*Medicago sativa*) in Brazil, causing direct and indirect damage to the plants. In this study designed to determine the seasonal fluctuation of aphids and their predators in alfalfa crop and its relationships with climatic variables by canonical correspondence analysis; to verify if there is in laboratory selectivity predators feeding, *Cycloneda sanguinea*, *Harmonia axyrids* and *Hippodamia convergens* for aphid *A. pisum*, *A. craccivora* and *T. trifolii* f. *maculata* to establish their predators in field culture, as well as to compare the various predators, as their efficiency in preying upon aphids using the serological technique. This technique is based on reactions such as antigen / antibody where the antibodies are obtained for the pest of interest and how antigens are used on many pest consumers. The gathering of aphids and their predators were conducted from August 2011 to July 2012 in experimental fields of alfalfa Crioula located at the Embrapa Unit, São Carlos SP. *Acyrtosiphon pisum* was the predominant aphid in the culture during the study period. Considering all the species, the highest population peak was observed in March/2012 and the lower in January/2012. According to canonical correspondence analysis, none of the environmental variables influenced significantly the seasonal fluctuation of aphids. Regarding the predators, 2.161 specimens were collected including insects and spiders. Among the insects the following families: Coccinellidae, Carabidae, Nabidae, Syrphidae, Dolichopodidae, Geocoridae, Reduviidae, Pentatomidae, Chrysopidae and Dermaptera. Among the spiders, Salticidae, Thomisidae; Lycosidae; Ctenidae; Nephilidae; Araneidae;

Sparassidae; Theridiidae; Pholcidae; Trocantheriidae; Lymphidae and Sicariidae occurred. The coccinellids were the most abundant insects and *Harmonia axyridis* was the most abundant species. It was also observed that the population of aphids and coccinellids follow the typical pattern of predator-prey relationship. The presence of natural enemies and the management of cutting the alfalfa influenced the dynamics of aphid populations. According to the results of the serological tests of all predators tested, 508 reacted with any of the antisera, resulting in 23,5% of positive results. Heterologous positive reactions were recorded with predators stored in a freezer at -2 °C for over a year showing that freezing does not affect the results of serological reactions. Syrphid and chrysopids were the predators with the highest percentage of positive serological reactions. The food preference tests in the laboratory showed that the coccinellids *C. sanguinea*, *H. axyridis* and *H. convergens* have a preference for *A. craccivora* when one compare to other species of aphids offered.

**Keywords:** Aphids; Predators; Alfalfa; Serology; Feeding preference; Biological control.

## ESTUDOS BIOECOLÓGICOS DOS AFÍDEOS DA ALFAFA

### Introdução Geral

A alfafa (*Medicago sativa* L.) é considerada uma das forrageiras mais importantes da atualidade e se destaca por reunir alta produtividade e digestibilidade aliadas ao grande valor nutritivo, sendo indicada para rebanhos de alta produção (OLIVEIRA; LEDO, 2008, RASSINI, 1998). Na região sudeste do Brasil tem ocorrido uma intensificação dos sistemas de produção de leite e a alfafa contribui como recurso alimentar de qualidade para a alimentação do rebanho leiteiro mantido nesses sistemas (BOTREL et al., 2001).

Esta é uma leguminosa forrageira perene, originária do sudoeste de Ásia (Irã, Turquia, Síria, Iraque e Afeganistão) (FERRAGINE, 2003; RASSINI, 1998). Foi introduzida no Brasil há 130 anos, inicialmente no estado do Rio Grande do Sul e, posteriormente, se expandindo para os estados de Santa Catarina, Paraná e São Paulo. Em 1990, começou a ser cultivada em Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso do Sul (PEREIRA, 2008).

A alfafa é um alimento de qualidade para o aumento da produtividade e da competitividade da pecuária brasileira, já que aproximadamente 40% do custo da produção animal provêm dos gastos com alimentação. Apesar da área cultivada ainda ser pequena, a perspectiva para o cultivo da alfafa no Brasil é muito grande, devido às condições propícias de clima e a possibilidade de grande produção (OLIVEIRA; LEDO, 2008).

A cultura é alvo de diversos insetos-praga dentre os quais os afídeos (Hemiptera: Aphidoidea) se destacam. Eles são diminutos, não ultrapassando 5 mm de comprimento. Apresentam tegumento mole, corpo ovalado e coloração extremamente variável. São

insetos polimórficos com gerações que diferem, funcional e morfológicamente, observando-se formas ápteras e aladas (ILHARCO,1992). A forma de alimentação, o alto poder de reprodução e dispersão são características que lhes conferem grande importância econômica (SOUSA-SILVA; ILHARCO, 1995). Grandes populações de afídeos podem se formar em tempo relativamente curto pelo fato destes poderem se reproduzir partenogeneticamente (BORROR; DELONG, 1988).

São conhecidas cerca de 4.400 espécies de afídeos que se distribuem amplamente ao redor do mundo (DIXON, 1998; BLACKMAM; EASTOP, 1994)

Ao longo de seu ciclo biológico podem ocupar diferentes partes das plantas hospedeiras, causando-lhes danos diretos ou indiretos (FABRÍCIO, 2006). Os danos diretos levam ao encurtamento dos internódios das plantas e ao encarquilhamento das folhas, que não se desenvolvem normalmente e acabam prejudicando o crescimento da forrageira, (AFONSO, 2008). Indiretamente um dos principais problemas é a veiculação de vírus aos hospedeiros. Apenas um inseto pode contaminar várias plantas e somente uma espécie de afídeo pode transmitir um ou mais vírus (PITA; ILHARCO, 1998). Os vírus podem ser persistentes fazendo do inseto um vetor permanente, ou não persistente, perdendo-se com as mudas ou com as primeiras picadas na planta (ILHARCO, 1992).

Esta dissertação é composta de 2 capítulos. O capítulo 1 aborda a dinâmica populacional dos afídeos e seus predadores encontrados na cultura da alfafa e dos fatores bióticos e abióticos que a influenciam.

O capítulo 2 reúne informações sobre o controle biológico de afídeos e sobre a técnica serológica na determinação desses predadores em campos de alfafa, além de relatar testes de preferência alimentar realizados em laboratório com coccinelídeos predadores de afídeos.

### **Referências bibliográficas**

- AFONSO, A. P. S. 2008. Insetos pragas da alfafa. *In*: MITTELMANN, A.; LEDO, F.J.S.; GOMES, J.F. **Tecnologias para produção de alfafa no Rio Grande do Sul**. EMBRAPA – Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado, Pelotas RS/ Juiz de Fora MG, p. 18-33.
- BLACKMAM, R.L.; EASTOP, V. F. 1994. **Aphids on the world's crops: an identification guide**. CAB International, 1000p.
- BORROR, J. D.; DELONG, D. M. 1988. **Introdução ao estudo dos insetos**. São Paulo: Edgard Blucher, 653p.
- BOTREL, M. A.; FERREIRA, R.D.; ALVIM, M.J.; XAVIER, D.F. 2001. Cultivares de alfafa em área de influência da Mata Atlântica no Estado de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 36, n.11, p. 1437-1442, Nov.
- DIXON, A. F. G. 1998. **Aphid Ecology**. Second edition. Chapman & hall. 312p.
- FABRÍCIO, T. M. 2006. **Diversidade, variação sazonal e importância econômica dos afídeos (Homoptera: Aphidoidea) na Estação Ecológica de Jataí (Luiz Antônio - SP) e nas áreas agrícolas e de silvicultura do entorno**. Universidade Federal de São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, dissertação de Mestrado, 104p.
- FERRAGINE, M. D.C. 2003. **Determinantes morfofisiológicos de produtividade e persistência de genótipos de alfafa sob pastejo**. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz, Universidade de São Paulo, 130p.
- ILHARCO, F. A. 1992. **Equilíbrio biológico de afídeos**. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, Portugal, 300p.

- OLIVEIRA, P. P. A.; LEDO, F. J. S. 2008. O uso da alfafa para pastejo bovino. *In*: MITTELMANN, A.; LEDO, F. J. S.; GOMES, J.F. **Tecnologias para produção de alfafa no Rio Grande do Sul**. EMBRAPA – Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado, Pelotas RS/ Juiz de Fora MG, 2008, p. 33-56.
- PEREIRA, A. V. 2008. Cultivares de alfafa. *In*: FERREIRA, R. P.; RASSINI, J. B.; RODRIGUES, A. A.; FREITAS, A. F.; CAMARGO, A. C.; MENDONÇA, F. C. **Cultivo e utilização da alfafa nos trópicos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, p. 289-316.
- PITA, M.T.; ILHARCO, F.A. 1998. Biodiversidade em afídeos: prejudicial, útil ou indiferente? Novo conceito. **Agronomia Lusitana**, v.46, n.1, p. 41-46.
- RASSINI, J.B. 1988. **Alfafa ( *Medicago sativa* L.)**: estabelecimento e cultivo no estado de São Paulo. São Carlos: EMBRAPA-CPPSE, p. 22, (Circular técnica 15).
- SOUSA-SILVA, C. R.; ILHARCO, F. A. 1995. **Afídeos do Brasil e suas plantas hospedeiras (lista preliminar)**. Edufscar, 85p.

## **CAPÍTULO 1**

### **FLUTUAÇÃO SAZONAL DE AFÍDEOS E SEUS PREDADORES EM CULTURA DE ALFAFA EM SÃO CARLOS-SP**

## Resumo

Estudou-se a ocorrência e a flutuação sazonal dos afídeos e seus predadores em uma cultura de alfafa na região de São Carlos, SP e suas relações com as variáveis climáticas, mediante análise de correspondência canônica. Foram identificados na cultura os afídeos *Acyrtosiphon pisum*, *Therioaphis trifolli* forma *maculata*, *Aphis craccivora* e *Acyrtosiphon kondoi*. Considerando-se o conjunto das espécies o maior pico populacional foi observado em março de 2012 e o menor em janeiro de 2012. *Acyrtosiphon pisum* foi o afídeo predominante na cultura no período avaliado, agosto de 2011 a julho de 2012. De acordo com a análise de correspondência canônica, nenhuma das variáveis ambientais influenciou significativamente a flutuação sazonal de afídeos. Durante as amostragens foram coletados predadores das famílias Coccinellidae, Carabidae, Nabidae, Sirphidae, Dolichopodidae, Geocoridae, Reduviidae, Pentatomidae e Chrysopidae além de indivíduos da ordem Dermaptera e várias famílias de aranhas. Os coccinelídeos foram os mais abundantes e *Harmonia axyridis* a espécie mais coletada. Observou-se também que as populações de coccinelídeos e afídeos seguem o padrão típico da relação predador-presa. Os principais fatores que influenciaram a dinâmica populacional de afídeos foram a presença de inimigos naturais e o manejo dos cortes na cultura.

## 1 Introdução

Anualmente 13% da produção agrícola mundial são perdidas em decorrência do ataque dos insetos-praga (SILVA-FILHO; FALCO, 2000), resultando em prejuízos de milhões de dólares.

Diversos insetos-praga atacam a cultura de alfafa e dentre esses, os afídeos, (Hemiptera: Aphidoidea). Ataques intensos desses insetos às plantas acarretam o encurtamento dos internódios e o encarquilhamento das folhas que passam a não se desenvolver normalmente, prejudicando o crescimento dessa forrageira (AFONSO, 2008).

Os afídeos têm elevado potencial biótico, sendo capazes de atingir elevadas populações em pouco tempo o que faz com que as culturas infestadas com esses insetos sofram perdas na produção que, não raramente, acabam atingindo 100% (ILHARCO, 1992). Além dos danos diretos à planta hospedeira, acarretam também, danos indiretos, devido à transmissão de patógenos.

Seus inimigos naturais desempenham papel importante no controle de suas populações (ILHARCO, 1992). Os adultos e imaturos de espécies pertencentes às famílias Geocoridae, Nabidae, Anthocoridae (Heteroptera), Coccinellidae (Coleoptera), larvas de Chrysopidae (Neuroptera) e Syrphidae (Diptera) são reconhecidos como importantes predadores de afídeos em alfafa (BUENO; SILVA, 2008; MENDES et al. 2000).

Segundo Lázari e Lazzarotto (2005), o estabelecimento e desenvolvimento das populações de afídeos são influenciados pela disponibilidade e qualidade do alimento, ação reduzida de agentes de controle biológico e condições climáticas favoráveis. Os fatores climáticos, aos quais os afídeos estão expostos no ambiente, afetam suas populações podendo reduzi-las ou aumentá-las. A flutuação sazonal dos afídeos também

está relacionada com o hábito alimentar da espécie. Espécies polífagas, capazes de se alimentarem de diversas plantas hospedeiras, podem ser favorecidas ao longo de todo o ano podendo apresentar períodos de maior ou menor incidência, enquanto outras podem ocorrer em apenas uma determinada época.

O controle exercido pelos inimigos naturais, aliado às influências da temperatura, precipitação e umidade do ambiente são fatores que influenciam a dinâmica populacional de afídeos devendo ser considerados atentamente (MENDES et al., 2000).

O presente trabalho objetivou determinar as espécies de afídeos e a flutuação sazonal de suas populações, em cultura de alfafa em São Carlos-SP, buscando-se relacioná-las com a temperatura, precipitação, umidade e ventos; avaliou-se também a diversidade de predadores e a sua relação com as populações dos afídeos e a influência do manejo dos cortes da cultura.

## **2 Material e Métodos**

O trabalho foi desenvolvido na Unidade da Embrapa Pecuária Sudeste – CPPSE situada no município de São Carlos, SP a 21° 57' 33.32" S 47° 50' 33.28" W e altitude de 856 m. (EMBRAPA, 2012). As coletas dos afídeos e seus predadores foram realizadas a cada 10 dias, no período de agosto de 2011 a julho de 2012 perfazendo um total de 36 amostragens em uma área de 3.000 m<sup>2</sup> de alfafa, cultivar Crioula, com espaçamento entre as fileiras de 90 cm. Foram estabelecidos 8 pontos aleatórios para coleta, caminhando-se em zigue-zague pela cultura. Em cada ponto uma planta foi selecionada ao acaso e sua haste foi vigorosamente agitada dentro de uma bandeja. Os insetos desprendidos foram coletados, acondicionados em frascos, e levados ao laboratório de Entomologia Econômica da UFSCar para triagem, identificação taxonômica e contagem numérica de indivíduos sob microscópio estereoscópio.

Os dados de temperatura, precipitação, umidade e ventos foram obtidos no site do Centro Nacional de Pesquisa Pecuária Sudeste da Embrapa, São Carlos-SP (EMBRAPA, 2012). Estas variáveis foram relacionadas com as populações de afídeos mediante análise de correspondência canônica (CCA) feita por meio do aplicativo Canoco (TER BRAAK, 1988).

Os dados da flutuação populacional de predadores foram correlacionados com a flutuação populacional de afídeos em teste de correlação linear.

### **3 Resultados e Discussão**

Foram identificadas quatro espécies de afídeos na cultura de alfafa, *Acyrtosiphon pisum*, *A. kondoi* (Aphididae: Macrosiphini); *Aphis craccivora* (Aphididae: Aphidini) e *Therioaphis trifolii* forma *maculata* (Drepanosiphidae: Phyllaphidini). No período analisado, agosto de 2011 a julho de 2012, foram coletados 15.562 indivíduos.

As espécies encontradas neste estudo já haviam sido relatadas em plantações de alfafa no Brasil (OLIVEIRA et al., 1986; KALVELAGE, 1990; LÁZZARI et al., 1996; SOUSA-SILVA et al., 1998; BUENO; SILVA, 2008). De acordo com Sousa-Silva et al. (1998) *A. pisum*, *T. trifolii* e *A. craccivora* são vetores do vírus do mosaico da alfafa, um dos principais vírus da cultura. Também, *T. trifolii* é vetor do “*clover (red) vein mosaic*” e *A. craccivora* é vetor do vírus das enações.

*T. trifolii* representou 30,48% do total de afídeos coletados, considerando-se todas as espécies. O seu maior pico populacional ocorreu em março de 2012 totalizando 1587 indivíduos. A temperatura média no período foi de 22,2°C, a precipitação mensal de 42,2 mm e umidade relativa de 78,5%. O menor número de indivíduos, 18, ocorreu em janeiro de 2012 a 20,9°C, precipitação mensal de 360,4mm e umidade relativa de 85,3% (Fig.1). Silva et al. (2007), em cultura de alfafa em São Carlos-SP, observaram o maior

pico populacional da espécie no mês de outubro, a 20,6°C e precipitação de 46,6mm, constituindo cerca de 50% de todos os indivíduos amostrados. Em Lavras, MG, Carvalho et al. (1996) observaram que *T. trifolli* também foi a espécie mais abundante (56,38%) do total de indivíduos coletados e Mendes et al. (2000) registraram a ocorrência desta espécie nesta mesma localidade em novembro, atribuindo o fato à influência de elevadas temperaturas.

De acordo com Berberet et al. (1983) o clima quente e seco são condições que favorecem o aumento da população de *T. trifolli*, sendo a temperatura em torno de 30°C a mais favorável para a sua reprodução. Messenger (1964) relatou as temperaturas, entre 26 - 29°C, como as mais adequadas para o desenvolvimento de *T. trifolli*, sempre aliada à baixa umidade.

*A. craccivora* correspondeu a 16,51% do total de afídeos coletados, tendo atingido o maior pico populacional observado em fevereiro de 2012, com um total de 1361 indivíduos. A temperatura média no período foi de 23,2°C, a precipitação de 152,8 mm e umidade relativa de 77,4%. Em setembro de 2011 nenhum indivíduo da espécie foi coletado. A temperatura média no período foi de 20,6°C, a precipitação de 4,4mm e a umidade relativa de 55,3% (Fig.1). Silva et al. (2007) em São Carlos, SP, verificaram um pico populacional deste afídeo em fevereiro e outro em dezembro. Em Lavras, MG, Mendes et al. (2000) relataram que o pico populacional da espécie ocorreu no mês de abril com a temperatura acima de 20°C. Berberet et al. (2009) observaram que a temperatura ideal para o desenvolvimento de *A. craccivora* em alfafa situa-se na faixa entre 18 e 24°C.

*A. pisum* foi a espécie de maior abundância entre os afídeos representando 37,28% do total coletado durante todo o período de estudo. O maior pico populacional da espécie, com 2148 indivíduos, ocorreu em março de 2012. A temperatura média no

período foi de 22,2°C, a precipitação de 42,2mm e umidade relativa de 78,5%. O menor número de indivíduos, 29, foi registrado em julho de 2012, com a temperatura média a 16,7°C, precipitação de 34,6mm e umidade de 76,3% (Fig.1). Mendes et al. (2000) observaram altas populações de *A. pisum* em Lavras, MG no final de fevereiro, sob 23°C de temperatura e precipitação de 12mm.

Morgan et al. (2001) estudaram os efeitos da temperatura sobre *A. pisum* em cultivares de ervilha e relataram que o desenvolvimento ótimo da espécie foi a 23,1°C. Segundo os autores, temperaturas mais altas utilizadas no estudo (26,7°C) provocaram efeitos deletérios nos afídeos, prolongando o tempo de desenvolvimento dos estágios ninfais quando comparados com os resultados obtidos a 23,1°C. Lamb (1992) observou que a sobrevivência de *A. pisum* foi de 90% quando submetido a temperaturas de 5-20°C e caiu para 80% a 25-27,5°C. Observou maior ganho de peso para os afídeos em torno de 12°C e que em temperaturas mais elevadas o ganho de peso diminuiu. O autor concluiu que o desenvolvimento da espécie é ótimo em temperaturas mais baixas.

Para *A. kondoi* o maior pico populacional, com um total de 921 indivíduos foi observado no início de março de 2012, com a temperatura média de 22,2°C, precipitação de 42,2mm e umidade relativa de 78,5%. O menor número de indivíduos, 14, foi observado em outubro de 2011. A temperatura média no período foi de 24°C, a precipitação de 0,2mm e umidade de 57,2% (Fig.1) *A. kondoi* foi a espécie de menor abundância representando 15,17% dos afídeos coletados. Em São Carlos-SP, Silva et al.(2007) observaram o pico populacional dessa espécie em abril sendo a temperatura média de 23,3°C e precipitação de 106,2mm. Em Lavras, MG Mendes et al. (2000) citam que *A. kondoi* foi mais abundante que as demais espécies representando 35,3% do total de afídeos com pico populacional em junho.

O limite inferior e superior de temperatura para o desenvolvimento de *A. kondoi* foi

experimentalmente determinado por Summers et al. (1984) em estufa correspondendo a 3,4 e 27,1°C respectivamente. Segundo este mesmo autor, a 29,4°C *A. kondoi* atingiu a fase adulta, mas não se reproduziu, evidenciando que temperaturas mais amenas são requeridas para o completo desenvolvimento e desempenho reprodutivo da espécie, como observado para *A. pisum*.

Na área estudada, as flutuações sazonais de *A. kondoi* e *A. pisum* foram muito semelhantes, com picos populacionais no mesmo período, diferenciando-se pelo número de afídeos amostrados (Fig.1), fato observado também por Mendes et al. (2000) e Carvalho et al. (1996) ambos em MG, e por Silva et al. (2007) em SP. Estes autores observaram que a população de *A. kondoi* foi maior que a de *A. pisum*, diferentemente do observado neste trabalho, cuja população de *A. pisum* foi o dobro da população de *A. kondoi*.

Picos populacionais de ambas as espécies foram registradas por Mendes et al. (2000) em junho. Neste trabalho, não foi observada a ocorrência de qualquer afídeo nesse mês e também de nenhum de seus inimigos naturais, provavelmente devido às ações de controle fitossanitário da cultura. O produto utilizado foi o inseticida Karate - Zeon 50 CS (Lambdacialotrina) o qual foi aplicado 400 mL/ha ao final do mês de maio.

No mês seguinte, em julho de 2012, observou-se reinfestação da cultura, primeiramente por *A. craccivora* e posteriormente por *A. pisum* seguido de *A. kondoi*. De junho de 2012 até o final das amostragens em julho de 2012 nenhum exemplar de *T. trifolli* foi coletado.

Considerando-se o total de afídeos, em 2012, a menor quantidade coletada, 349, foi em janeiro, quando as plantas de alfafa encontravam-se senescentes. Nesse período a temperatura média foi de 20,9°C, precipitação mensal de 360,4mm e umidade relativa do ar de 85,3%.

Dois picos populacionais foram observados, o maior, no mês de março, com 4665 indivíduos coletados. Neste mês a temperatura média foi de 22,2°C, precipitação de 42,2mm e umidade relativa de 78,5%. Um segundo pico de 2236 afídeos ocorreu em maio, com a temperatura média em 17,7°C, precipitação de 106,2mm e umidade relativa de 80,3%.

Embora trabalhos em laboratório tenham mostrado influências significativas das variáveis climáticas na flutuação populacional de diversas espécies de afídeos, no presente trabalho, em condições de campo, nenhuma das variáveis ambientais estudadas influenciou significativamente a flutuação sazonal dos afídeos, de acordo com os resultados observados no diagrama de ordenação da CCA. Pinto et al. (2000), em estudo relacionando à flutuação sazonal de *Myzus persicae* e *Macrosiphum euphorbiae*, na cultura da batata, com a temperatura, umidade relativa do ar e precipitação, argumentaram que a ausência de precipitação pode ter contribuído para a ocorrência dos maiores picos populacionais de afídeos e que esta variável é um fator que pode limitar o crescimento populacional das espécies, afetando até as suas atividades de vôo, sendo, portanto, o tempo seco o mais favorável para as espécies. No entanto, os testes estatísticos aplicados não mostraram influência significativa dessa variável sobre as populações estudadas, similarmente ao observado também para temperatura e umidade. No presente trabalho observa-se também uma tendência à diminuição do número de afídeos coletados, como consequência de elevadas precipitações (Fig. 1A)

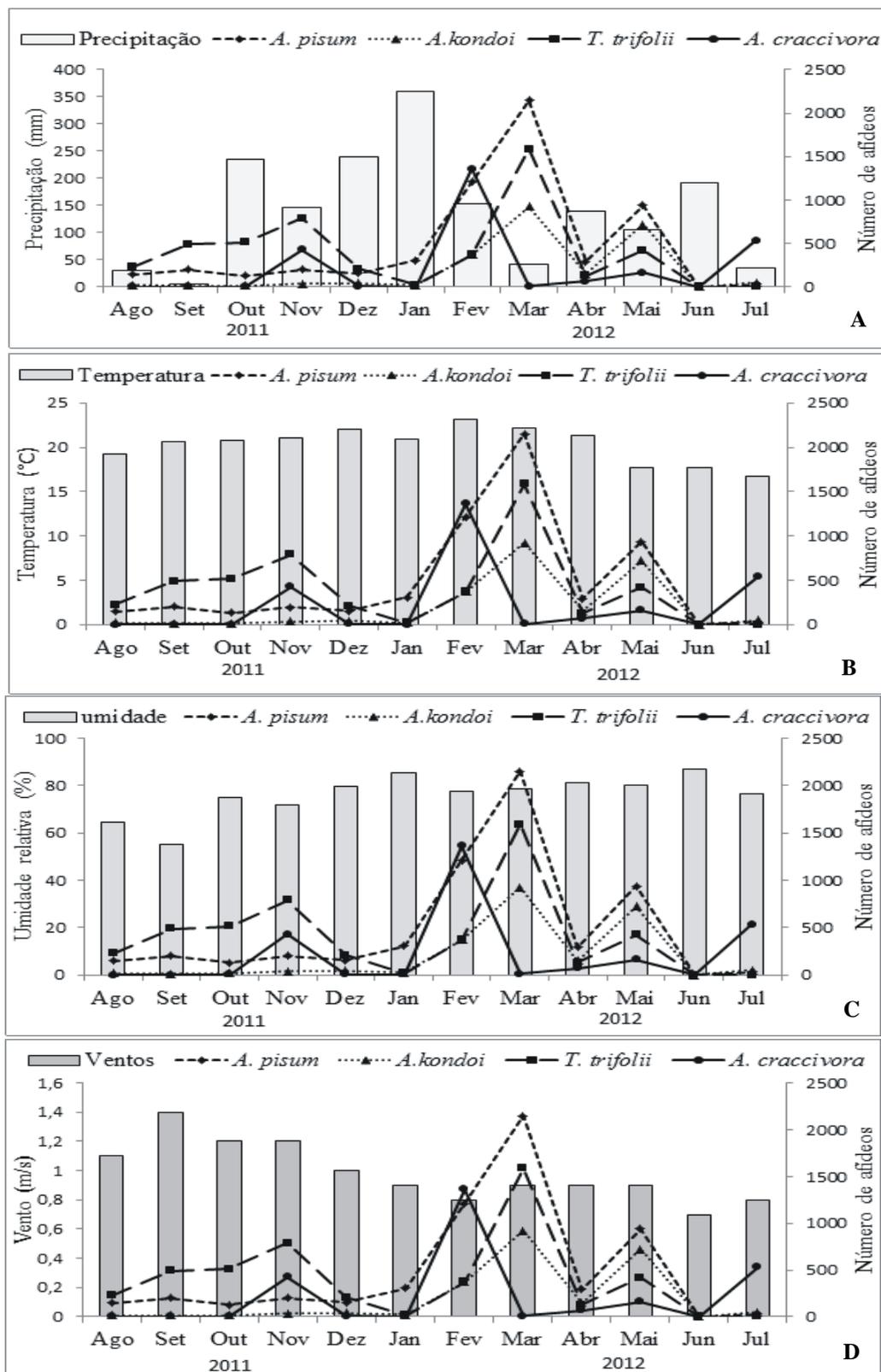
O maior pico populacional de afídeos, somando-se todas as espécies ocorreu na temperatura de 22°C (Fig. 1B). Em relação a umidade observou-se que maior pico populacional de afídeos, 4665 indivíduos, a umidade relativa registrada foi em torno de 80% (Fig.1C). O maior pico populacional das espécies de afídeos em conjunto ocorreu sob condições de menor velocidade do vento (Fig. 1D). Para Dixon (1985), o vento

acaba desalojando os afídeos das folhas, fazendo com que muitos destes se separem da população, tornando-se mais suscetíveis ao ataque de inimigos naturais. Ainda para o mesmo autor, em condições de ventos fortes, o espaço disponível para os afídeos nas folhas pode ser reduzido a uma pequena fração do total da área foliar, o que pode prejudicá-los.

Lázzari e Lazzarotto (2005) também não conseguiram estabelecer uma correlação entre a ocorrência dos afídeos com precipitação e temperatura embora afirmem que estes fatores podem afetar a sua dinâmica populacional.

Rakhshani et al. (2009) em estudo realizado no Irã, salientaram que nenhuma relação significativa foi observada entre a abundância de afídeos, a precipitação e a umidade. No entanto relatam que a temperatura pode ser um fator importante, pois observaram em laboratório que temperaturas acima de 25°C, ou abaixo de 12°C causaram a redução dos afídeos de maneira geral.

Carvalho et al. (1997) estudaram a influência dos cortes da alfafa na dinâmica populacional das espécies de afídeos em Lavras, MG e observaram que cada corte reduziu a densidade populacional das espécies e que a gradativa elevação nos níveis populacionais foi condicionada ao rebrote das plantas e aos fatores climáticos. Na alfafa apenas uma semana após os cortes, já ocorre o aparecimento dos brotos e os afídeos começam a recolonizar a cultura. Estes autores, em trabalho anterior (1996) relataram que a influência dos cortes na dinâmica populacional dos afídeos depende de como este é feito. Citam o corte realizado em faixas, onde permanecem ainda plantas de vários ciclos de crescimento na cultura e o corte total que acaba deixando o solo livre de vegetação, como observado no presente trabalho.



**Figura 1.** Correlação entre as densidades populacionais dos afídeos *Therioaphis trifolii*, *Aphis craccivora*, *Acyrthosiphon pisum* e *Acyrthosiphon kondoi* em cultura de alfafa na região de São Carlos-SP, no período de agosto de 2011 a julho de 2012, e as variáveis climáticas: A) precipitação; B) temperatura; C) umidade relativa; D) ventos.

De acordo com Bosch et al. (1967) o corte total é eficaz, pois reduz o alimento para os afídeos e cria condições climáticas desfavoráveis aos insetos como um todo devido a incidência direta da radiação solar no campo. Harper et al. (1990) observaram que *A. pisum* tem capacidade de recuperação muito rápida quando são efetuados cortes totais na cultura, mais do que em outros tipos de corte. Nesses casos, as populações de *A. pisum* recuperam-se em duas semanas e continuam a aumentar, fato também observado no presente trabalho. Segundo Carvalho et al. (1996) *A. pisum* pode atingir níveis populacionais muito mais altos após os cortes do que os observados antes dos cortes.

Na cultura analisada, foram coletados 157 indivíduos de *A. pisum* uma semana antes do corte da alfafa, realizado em fevereiro; duas semanas após o corte foram coletados 472 indivíduos, e 1152 indivíduos foram coletados cinco semanas após o corte. Posteriormente a população decresceu novamente. Antes do segundo corte, realizado em abril, foram coletados 51 exemplares de *A. pisum*. O número de indivíduos coletados aumentou gradativamente atingindo 568 indivíduos três semanas após o corte.

### **3.1 Predadores de afídeos**

Durante todo o período amostral foram coletados 2.161 predadores de afídeos na cultura da alfafa e, dentre estes, observou-se maior ocorrência de Coccinelídeos, os quais representaram 68,24%, do total coletado. Aracnídeos (12,3%), Nabídeos (7,21%), Pentatomídeos (3,51%), Geocorídeos (2,54%), Sirfídeos (2,54%), Carabídeos (1,11%), Crisopídeos (0,92%), Reduviídeos (0,78%), Dermápteros (0,60%) e Dolichopodídeos (0,09%) representaram conjuntamente 31,76 %.

Aracnídeos das famílias Salticidae, Thomisidae, Theridiidae, Lycosidae, Ctenidae, Sparassidae, Trochanteridae, Pholcidae, Nephilidae, Lynphiidae, Araneidae e Sicariidae foram coletados na cultura, sendo as famílias Salticidae e Thomisidae ocorrentes em

maior número que as demais.

Dentre os coccinelídeos, *Harmonia axyridis* foi a espécie mais abundante (53,27%), seguida de *Hippodamia convergens* (29,13%) e *Cycloneda sanguinea* (15,17%). *Eriopsis connexa* e *Coleomegilla maculata* juntas representaram 2,41% do total.

*H. axyridis*, segundo Almeida e Silva (2002), é uma espécie exótica, originária da Ásia que foi constatada pela primeira vez no Brasil no Paraná em 2002 alimentando-se de afídeos. Este coccinelídeo é muito utilizado em controle biológico de hemípteros, principalmente afídeos em diversas culturas. De acordo com os autores esta é a principal espécie utilizada em programas de controle biológico na Ásia. No Japão, a espécie constitui um dos principais predadores de afídeos em culturas de alfafa. (RAKSHANI et al., 2009). Esta espécie, por apresentar tamanho maior, mais voracidade e diversidade de dieta e apresentar maior resistência à fungos e à ação de inseticidas do que outros coccinelídeos, pode estar relacionada ao deslocamento de espécies nativas, ocasionando a redução de suas populações, principalmente de *C. sanguinea* (MICHAUD, 2002).

Na Argentina, *E. connexa* e *H. convergens* são citadas como bons controladores de afídeos em culturas de alfafa. (ARAGON, 1990 citado por SOUSA-SILVA et al., 1998).

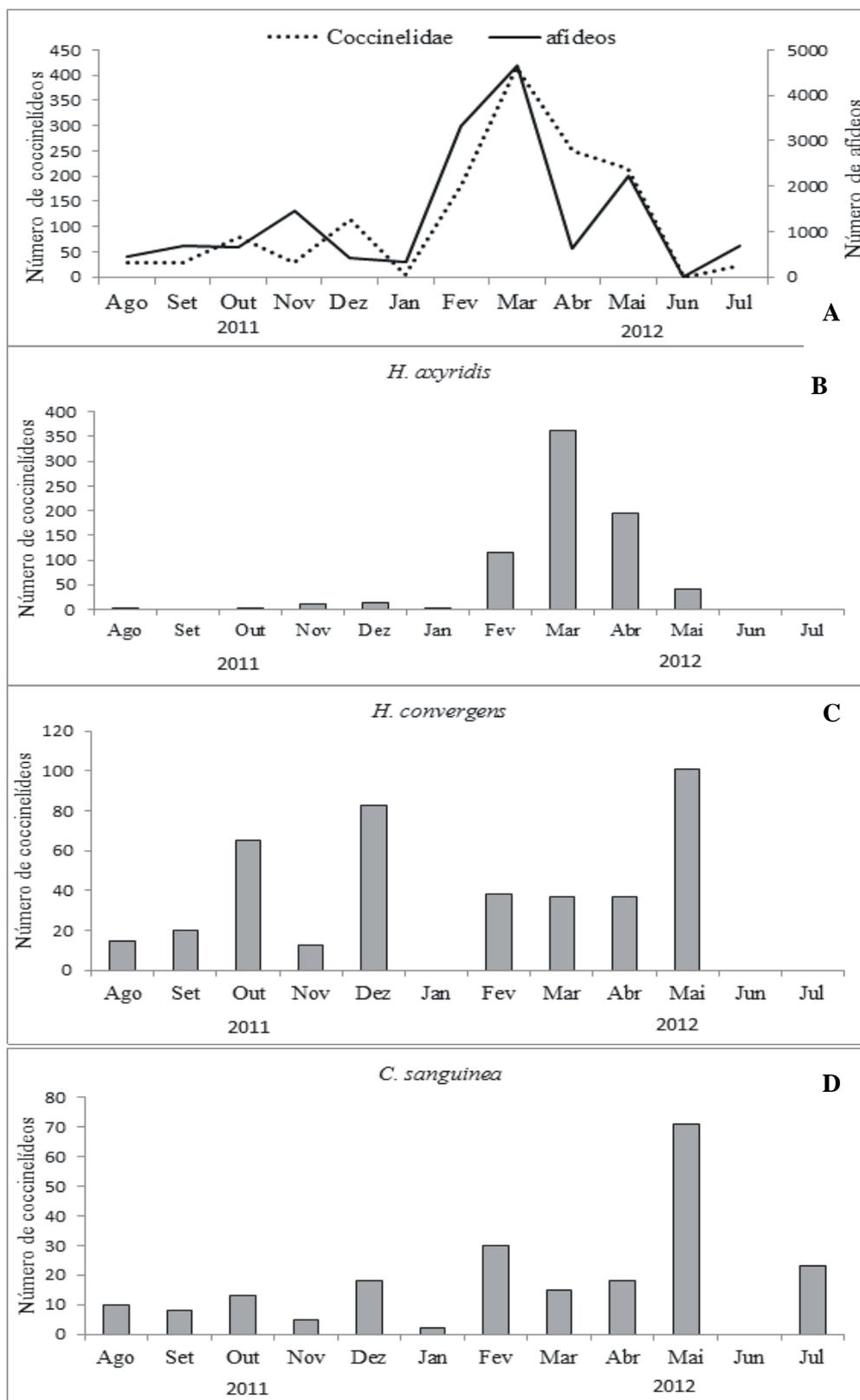
Mendes et al. (2000) observaram grande ocorrência de coccinelídeos nos campos de alfafa em Lavras, MG, sendo *C. sanguinea* coletada em maior número (49,6%) do que *E. connexa* (26,0%) e *H. convergens* (5,7%), além da presença de outras espécies tais como *Scymnus argentinicus*, *S. loweii*, e *Hyperaspis festiva*.

No presente trabalho, o pico populacional para *H. axyridis* foi observado em março de 2012 totalizando 362 indivíduos coletados a 22,2°C, precipitação de 42,4mm e umidade relativa de 78,5% (Fig. 2B). *H. convergens* e *C. sanguinea* foram as espécies mais constantes na cultura durante o período de coleta, ambas apresentando o maior

pico populacional em maio de 2012 com 101 e 71 indivíduos coletados, respectivamente sob condições de temperatura a 17,7°C, precipitação de 106,2 mm e umidade relativa de 80,3% (Fig.2C e D).

Neste estudo observou-se que o pico populacional de coccinelídeos ocorreu logo após o pico populacional de afídeos (Fig.2A), mostrando o padrão típico da relação predador-presa entre as populações ( $r=0,6756$ ,  $t=3,0390$ ,  $p=0,0112$ ) fato anteriormente já constatado também por Mendes et al.(2000).

Rakhshani et al. (2009) citam que após os cortes na alfafa, o número de inimigos naturais diminui drasticamente, favorecendo uma rápida recolonização da cultura pela praga, fato também observado neste trabalho onde os predadores de maneira geral começaram a aumentar, quatro semanas após os cortes em fevereiro e três semanas após os cortes em maio quando havia grande oferta de alimento. Essa condição aliada ao número reduzido de predadores favoreceu o desenvolvimento populacional dos afídeos, reduzindo-se, posteriormente, pela senescência da cultura e pelo aumento do número de predadores.



**Figura 2.** Dados da flutuação populacional de: A) afídeos e coccinélidos. B) *Harmonia axyridis*, C) *Hippodamia convergens* e D) *Cycloneda sanguinea* na cultura de alfafa em São Carlos-SP no período de agosto de 2011 a julho de 2012.

#### 4 Conclusões

- Na cultura de alfafa em São Carlos, SP, no período de agosto de 2011 a julho de 2012 o afídeo predominante foi *Acyrtosiphon pisum* e o predador predominante foi o coccinelídeo *Harmonia axyridis*.
- De acordo com a análise de correspondência canônica, em condições de campo, nenhuma das variáveis ambientais influenciou significativamente a flutuação populacional de afídeos.
- Os cortes da alfafa no início do mês de fevereiro e em meados do mês de abril propiciaram o aparecimento de brotos e folhas novas nas plantas e isso favoreceu o aumento populacional dos afídeos.
- As populações de coccinelídeos e de afídeos seguem o padrão típico da relação predador-presa.
- A presença de inimigos naturais e o manejo de cortes da cultura foram os fatores que mais influenciaram a dinâmica populacional dos afídeos.

## 5 Referências bibliográficas

- AFONSO, A. P. S. 2008. Insetos pragas da alfafa. *In*: MITTELMANN, A.; LEDO, F. J. S.; GOMES, J.F. **Tecnologias para produção de alfafa no Rio Grande do Sul**. Juiz de Fora: EMBRAPA – Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado, p.18-33.
- ALMEIDA, L.M.; SILVA, V.B. 2002. Primeiro registro de *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae): um coccinélídeo originário da região paleártica. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.19, n.3, p. 941-944.
- BERBERET, R. C.; ARNOLD, D. C.; SOTERES, K. M. 1983. Geographical occurrence of *Acyrtosiphon kondoi* Shinji in Oklahoma and its seasonal incidence in relation to *Acyrtosiphon pisum* (Harris), and *Therioaphis maculata* (Buckton) (Homoptera: Aphididae). **Journal of Economic Entomology**, v. 76, n.5, p. 1064-1068.
- BERBERET, R. C.; GILES, K. L.; ZARRABI, A. A.; PAYTON, M. E. 2009. Development, reproduction, and within-plant infestation patterns of *Aphis craccivora* (Homoptera: Aphididae) on alfafa. **Environmental Entomology**, v.38, n.6, p. 1765-1771.
- BOSCH, R.V.D.; LAGACE, C.F.; STERN, V.M. 1967. The interrelationship of the aphid *Acyrtosiphon pisum*, and its parasite, *Aphidius smithi*, in a stable environment. **Ecology**, v. 48, n.6, p. 993-1000.
- BUENO, V. H.P.; SILVA, A.C. 2008. Pragmas na cultura de alfafa. *In*: FERREIRA, R. P.; RASSINI, J. B.; RODRIGUES, A. A.; FREITAS, A. F.; CAMARGO, A. C.; MENDONÇA, F. C. **Cultivo e utilização da alfafa nos trópicos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, p. 289-316.

- CARVALHO, A. R.; BUENO, V. H. P.; MENDES, S. 1996. Influência de fatores climáticos e do corte na flutuação populacional de pulgões (Homoptera: Aphididae) na cultura da alfafa (*Medicago sativa* L.) em Lavras, MG. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.31, n.5, p.317-324.
- CARVALHO, A. R.; MENDES, S.; BUENO, V. H. P. 1997. Influência de cortes na cultura de alfafa (*Medicago sativa*) sobre a flutuação populacional de ninfas e adultos de pulgões (Homoptera: Aphididae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.26, n.2, p. 265-275, ago.
- DIXON, A. F.G. 1985. **Aphid ecology**. Chapman & Hall, 2 ed. London: 300p
- EMBRAPA. 2012. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Disponível em:<<http://www.cppse.embrapa.br>>. Acesso em: 2 ago/12.
- HARPER, A. M.; SCHABER, B. D.; STORY, T. P.; ENTZ, T. 1990. Effect of swathing and clear-cutting alfalfa on insect populations in Southern Alberta. **Journal of Economic Entomology**, v. 83, n.5, p.2050-2057.
- ILHARCO, F. A. 1992. **Equilíbrio biológico de afídeos**. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, Portugal: 300 p.
- KALVELAGE, H. 1990. Principais insetos que atacam a cultura da alfafa no Brasil. In: NUERNBERG, N. J. ; MILAN, P. A.; SILVEIRA, C. A. M. **Manual de produção da alfafa**. Florianópolis: Empresa Catarinense de pesquisa Agropecuária, p. 63-86.
- LAMB, R. J. 1992. Developmental rate of *Acyrtosiphon pisum* (Homoptera: Aphididae) at low temperatures: Implications for estimating rate parameters for insects. **Environmental Entomology**, v. 21, n.1, p.10-19.
- LAZZARI, S. M.N.; CARVALHO, R. C. Z. ; FURIATTI, R. S.; MELLO, M. E. F. 1996. The spotted alfalfa aphid, *Therioaphis trifolii* (Monell) f. *maculata* in Brazil: first record. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.25, n.1, p. 153-155.

- LAZZARI, S. M. N.; LAZZAROTTO, C. M. 2005. Distribuição altitudinal e sazonal de afídeos (Hemiptera, Aphididae) na serra do mar, Paraná, Brasil. **Revista brasileira de Zoologia**, v.22, n.4, p.891-897.
- MENDES, S.; CERVIÑO, M. N.; BUENO, V. H. P.; AUAD, A. M. 2000. Diversidade de pulgões e de seus parasitóides e predadores na cultura da alfafa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.7, p.1305-1310.
- MESSENGER, P. S. 1964. The influence of rhythmically fluctuating temperatures on the development and reproduction of the spotted alfalfa aphid, *Therioaphis maculata*. **Journal of Economic Entomology**, v.57, n.1, p.71-76.
- MICHAUD, J.P. 2002. Invasion of the florida citrus ecosystem by *Harmonia axyridis* (Coleoptera:Coccinellidae) and asymmetric competition with a native species, *Cycloneda sanguinea*. **Environmental Entomology**, v.31, n.5, p. 827-835.
- MORGAN, D.; WALTERS, K. F. A.; AEGERTER, J.N. 2001. Effect of temperature and cultivar on pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae) life history. **Bulletin of Entomological Research**, v.91, p.47-52.
- OLIVEIRA, P. R. D.; VENDRAMIM, J. D.; CORSI, M. 1986. Pulgão verde-azulado *Acyrtosiphon kondoi* Shinji, 1938 (Homoptera: Aphididae): uma nova praga da alfafa (*Medicago sativa* L.) no Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.15, n.2, p. 397-398.
- PINTO, R.M.; BUENO, V.H.P.; SANTA-CECÍLIA, L.V.C. 2000. Flutuação populacional de afídeos (Hemiptera: Aphididae) associados á cultura de batata, *Solanum tuberosum* L., no plantio do inverno em Alfenas, sul de Minas Gerais. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.29, n.4, p. 649-657.

- RAKSHANI, H.; EBADI, R.; MAHAMMADI, A. A. 2009. Population dynamics of alfalfa aphids and their natural enemies, Isfahan, Iran. **J. Agr. Sci. Tech.** v.11, p. 505-520.
- SILVA, A. A.; VARANDA, E. M.; RASSINI, J. B. 2007. Weather, cultivar and density-dependent processes influence on aphid in alfalfa. **Bragantia**, v.66, n.2, p.285-290.
- SILVA-FILHO, M.C.; FALCO, M.C. 2000. Interação planta inseto. Adaptação dos insetos aos inibidores de proteinases produzidas pelas plantas. **Biotecnologia-Ciência e Desenvolvimento**, v.12, p.38.42.
- SOUSA-SILVA, C. R.; PACHECO, J. M.; RASSINI, J. B.; ILHARCO, F. A. 1998. Afídeos da alfafa no Brasil (Homoptera, Aphidoidea). **Revista Brasileira de Entomologia**. v. 41, n.4 p. 285-288.
- SUMMERS, C.G.; COVIELLO, R. I.; GUTIERREZ, A. P. 1984. Influence of constant temperatures on the development and reproduction of *Acyrtosiphon kondoi* (Homoptera:Aphididae). **Environmental Entomology**, v.13, n.1, p. 236-242.
- TER BRAAK, C.J.F. 1988. **Canoco- a Fortran program for canonical community ordination by (partial) (detrended) (canonical) correspondence analysis and redundancy analysis** (version 2.1), Wageningen: Institute of Applied Computer Science.

## **CAPÍTULO 2**

**DETERMINAÇÃO DE PREDADORES DOS AFÍDEOS *Acyrtosiphon pisum*,  
*Aphis craccivora* E *Therioaphis trifolii* forma *maculata* (HEMIPTERA,  
APHIDOIDEA), EM ALFAFA, NA REGIÃO DE SÃO CARLOS-SP ATRAVÉS  
DA TÉCNICA SEROLÓGICA**

## Resumo

Dentre as pragas que atacam a alfafa, destacam-se os afídeos (Hemiptera: Aphididae) responsáveis por danos diretos e indiretos à planta hospedeira. Em altas infestações o controle desses insetos na cultura é realizado via produtos químicos, com grande risco para a saúde do ambiente e do animal consumidor da forragem. Como alternativa a esses prejuízos o controle biológico de pragas é uma estratégia vantajosa sendo imprescindível o conhecimento das pragas e de seus inimigos naturais na cultura. Os objetivos deste trabalho visaram utilizar a serologia para determinar os predadores dos afídeos *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* e *Therioaphis trifolii* forma *maculata*, pragas da alfafa; verificar se há preferência dos predadores no consumo de uma das espécies de afídeo e compará-los quanto à eficiência de predação. A técnica serológica é baseada em reações do tipo antígeno/anticorpo onde os anticorpos são obtidos para a praga que se quer investigar e como antígenos são utilizados os vários consumidores da praga. Para a obtenção dos antissoros utilizou-se os extratos dos afídeos *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* e *Therioaphis trifolii* forma *maculata* coletados no período de agosto de 2011 a julho de 2012, em campos experimentais de alfafa, na Unidade da Embrapa pecuária Sudeste, São Carlos, SP e inoculados via linfonódulo, em 3 coelhos. As reações serológicas foram realizadas através de testes homólogos e heterólogos por dupla difusão em gel de ágar a 1%. Os homólogos apontaram reações cruzadas entre cada um dos antissoros e os diferentes afídeos da alfafa mostrando inespecificidade. Para verificar preferência entre predador/presa utilizou-se os coccinelídeos *Harmonia axyridis*, *Hippodamia convergens* e *Cycloneda sanguinea* que selecionaram suas presas dentre as espécies de afídeos *A. pisum*, *A. craccivora* e *T. trifolii*. Em campo foram coletados e testados serologicamente 2.161 predadores entre insetos e aranhas. Dentre os insetos, exemplares das famílias Coccinellidae, Carabidae, Nabidae, Syrphidae,

Dolichopodidae, Geocoridae, Reduviidae, Pentatomidae, Chrysopidae e Dermaptera e dentre as aranhas exemplares de Salticidae, Thomisidae, Lycosidae, Ctenidae, Nephilidae, Araneidae, Sparassidae, Theridiidae, Pholcidae, Trocantheriidae, Lymphidae e Sicariidae. Do total de predadores testados serologicamente, 508 (23,5%) foram positivos e dentre esses os sirfídeos e crisopídeos foram os que apresentaram maior porcentagem de resultados positivos nos testes serológicos. Nos testes de laboratório, *Cycloneda sanguinea*, *Harmonia axyridis* e *Hippodamia convergens* mostraram preferência por *Aphis craccivora*.

## 1 Introdução

A alfafa é uma das forrageiras mais cultivadas do mundo, atualmente Estados Unidos, Rússia, Canadá e Argentina são os principais produtores. No Brasil a área cultivada com a forrageira é de 30 mil ha, concentrada na região Sul do país o que representa 90% da produção total (PEREIRA, 2008). Os principais obstáculos para a sua expansão no Brasil são a falta de conhecimento sobre o controle de pragas, doenças, plantas infestantes, manejo inadequado da cultura, assim como o alto custo na aquisição de sementes. Os problemas com as pragas e as doenças se agravam, favorecidos pelas condições de elevadas temperaturas e umidade, características de regiões tropicais (FERRAGINE, 2003; PEREIRA, 2008).

Dentre as pragas que atacam a alfafa, destacam-se os afídeos (Hemiptera: Aphididae), insetos dotados de elevado potencial biótico, podendo gerar grandes populações em pouco tempo (ILHARCO, 1992), responsáveis por danos diretos e indiretos ao hospedeiro. Os danos diretos levam ao encurtamento dos internódios das plantas e ao encarquilhamento das folhas, que não se desenvolvem normalmente e acabam prejudicando o crescimento da forrageira, (AFONSO, 2008). Indiretamente um dos principais problemas é a veiculação de vírus aos hospedeiros. As espécies *Acyrtosiphon pisum* (Aphididae: Macrosiphini) *Aphis craccivora* (Aphididae: Aphidini) e *Therioaphis trifolii* forma *maculata* (Drepanosiphidae: Phyllaphidini) são pragas frequentes na cultura.

*A. pisum*, conhecido como pulgão da ervilha, pode variar de 2,5 a 4,4 mm de comprimento, é de coloração esverdeada, possui longas pernas e sifúnculos muito afilados, as antenas são longas e claras possuindo uma banda negra no final de cada segmento (SOUSA-SILVA et al., 1998). É de origem paleártica (BLACKMAM; EASTOP, 1994), com distribuição cosmopolita; formam colônias em plantas jovens

onde ninfas e adultos sugam a seiva das folhas e do caule provocando, sob ataques severos, o amarelamento e enrolamento das folhas, o que reduz a produção da forragem. (ILHARCO, 1992; SOUSA-SILVA; ILHARCO, 1995; SOUSA-SILVA et al., 1998; BUENO; SILVA, 2008). A melada que excretam facilita o aparecimento de fungos nas folhas das plantas reduzindo o rendimento da forrageira (AFONSO, 2008). Essa espécie foi constatada pela primeira vez em alfafais no Brasil na região de Lages, SC, em 1990, por Kalvelage (1992). De acordo com Sousa-Silva e Ilharco (1995) além de *Medicago sativa*, esses afídeos já foram registrados em *Capsella bursa-pastoris*, *Pisum sativum* e *Lens esculenta*. *A. pisum* é vetor de dois vírus persistentes da alfafa além do vírus do mosaico da alfafa, não persistente (SOUSA-SILVA et al., 1998). Segundo Bueno e Silva (2008) a espécie tem sido a principal causadora de danos nas culturas de alfafa nos estados de Minas Gerais e Goiás. Ilharco (1992) também cita a espécie como um grave problema dessa cultura na Europa Central.

*A. craccivora*, conhecido vulgarmente como pulgão negro, mede cerca de 2 mm de comprimento. Os adultos ápteros exibem coloração negra brilhante escura e os alados apresentam faixas transversais esclerotizadas no dorso do abdômen. As ninfas são de coloração verde (BLACKMAMM; EASTOP, 1994; AFONSO, 2008; SOUSA-SILVA et al., 1998). É uma espécie cosmopolita bem distribuída nos trópicos, originária da parte ocidental da região paleártica (BLACKMAN; EASTOP, 1994; AFONSO, 2008; SOUSA-SILVA et al., 1998). Seu primeiro relato em alfafa para o Brasil foi em 1995, em São Carlos, SP (SOUSA-SILVA et al., 1998). Podem ser encontrados formando densas colônias nos talos das plantas, causando enrugamento e deformação das folhas, retardando o crescimento (AFONSO, 2008; SOUSA-SILVA et al., 1998). São afídeos polípagos com marcante preferência por leguminosas (BLACKMAN; EASTOP, 1994). Podem, também, ser encontrados em *Amaranthus* sp., *Citrullus lanatus*, *Cucumis*

*sativus*, *Curcubita pepo*, *Dolichos lablab*, *Emilia* sp., *Indigofera tinctoria*, *Pisum sativum*, *Vicia faba*, *Vigna unguiculata*, dentre outros hospedeiros (SOUSA-SILVA; ILHARCO, 1995). São vetores de dois dos principais vírus da alfafa, mosaico e enações (AFONSO, 2008; SOUSA-SILVA et al., 1998). A dispersão destes vírus deve ser levada em consideração já que estes afídeos produzem formas aladas em quantidade elevada, com grande capacidade de vôo (SOUSA-SILVA et al., 1998).

*T. trifolii* forma *maculata*, conhecido como pulgão manchado da alfafa, apresenta tamanho variando de 1,4 a 2,2mm. Tanto as formas ápteras como as aladas apresentam coloração variando do verde claro ao amarelo-pálido. O dorso do abdome desses afídeos é composto de 6 ou mais fileiras de tubérculos castanhos com cerdas capitadas (SOUSA-SILVA et al., 1998; AFONSO, 2008; BLACKMAMM; EASTOP, 1994). Os sífúnculos são curtos e largos na base (BUENO; SILVA, 2008; AFONSO, 2008). São originários do Norte da África, distribuindo-se amplamente em diferentes regiões do mundo. Foram inicialmente observados em alfafais no Paraná, em 1990 por Lazzari et al. (1996). Em situações favoráveis apresentam elevado potencial biótico atacando preferencialmente a face inferior das folhas basais que caem mediante a ação toxicogênica de sua saliva; retardam o desenvolvimento da planta, provocam clorose e queda das folhas, podendo acarretar a morte de plantas jovens (SOUSA-SILVA et al., 1998; AFONSO, 2008). A melada que produzem possibilita o aparecimento de fungos nas folhas das plantas, causando a depreciação da qualidade da forragem (AFONSO, 2008).

De acordo com Ilharco (1992), *T. trifolii* forma *maculata* é vetor do *alfafa mosaic virus* e “*clover (red) vein mosaic*”. É considerada uma das principais pragas da alfafa em Portugal (SOUSA-SILVA et al., 1998; ILHARCO, 1992) e na Califórnia, Estados Unidos (SCORZA JUNIOR et al., 1996).

Em altas infestações o controle de afídeos em alfafa é realizado via produtos químicos, com grande risco para a saúde do ambiente e do animal consumidor da forragem. Como alternativa a esses prejuízos, o controle biológico de pragas é uma estratégia vantajosa sendo imprescindível o conhecimento das pragas e de seus inimigos naturais na cultura. Diversos autores têm realizado estudos sobre predadores de afídeos em alfafa. Bueno e Silva (2008) citam como importantes predadores de afídeos na cultura os adultos e jovens de espécies das famílias Geocoridae, Nabidae, Coccinellidae e Anthocoridae, larvas de Chrysopidae e Syrphidae. Ilharco (1992) cita como principais insetos predadores de afídeos da alfafa, em Portugal os representantes das ordens Diptera, Coleoptera, Neuroptera, Heteroptera e Mecoptera. Segundo Aragon (1990, apud SOUSA-SILVA et al., 1998) na Argentina os principais predadores de afídeos na cultura são os coccinelídeos, sirfídeos e crisopídeos.

Giorgi et al. (2009) evidenciam os gêneros *Cycloneda*, *Harmonia* e *Hippodamia* (Coleoptera: Coccinellidae) pela marcante preferência alimentar por afídeos. Esta preferência, como observado por Rodriguez et al. (2008), pode ser influenciada pela ocorrência das altas populações da presa e pelo comportamento do predador. Para Saran et al. (2007), a capacidade de predação varia conforme a densidade da presa, pois quanto maior a densidade, maior será a probabilidade de ser encontrada e consumida.

As espécies *Cycloneda sanguinea*, *Harmonia axyridis* e *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae) são comuns e numerosas em culturas de alfafa. Por sua alta capacidade predatória, voracidade e preferência por afídeos, *C. sanguinea* é muito utilizada em programas de controle biológico (SARAN et al., 2007).

Na Califórnia *H. convergens* é responsável pelo controle da população de afídeos o que levou a espécie a ser introduzida em vários países, inclusive no Brasil para ser utilizada em programas de controle biológico (KATO et al., 1999).

*H. axyridis* é uma espécie asiática introduzida no país em 2002, no estado do Paraná, onde foi constatada alimentando-se de afídeos (ALMEIDA; SILVA, 2007). Segundo Gordon (1985) este coccinelídeo é tido como predador de 22 espécies de afídeos, 7 de psilídeos e uma espécie de coccídeo, sendo muito utilizada no controle biológico de pragas ao redor do mundo. Apesar da introdução de *H. axyridis* no Brasil ter sido registrada há mais de 10 anos, são poucas as informações acerca de sua biologia e preferência alimentar (SANTOS et al., 2009).

As ações predatórias frequentemente são constatadas através de observações diretas no campo. Nesses casos, a técnica serológica pode ser utilizada como ferramenta auxiliar nessas determinações, com a grande vantagem de minimizar as interferências no ambiente de pesquisa e não descartar predadores de hábitos noturnos. Essa técnica é baseada em reações do tipo antígeno/anticorpo onde os anticorpos são obtidos para a praga que se deseja investigar e os antígenos, obtidos a partir dos vários consumidores da praga.

Alguns usos da Serologia nos estudos de relações alimentares:

Dempster (1960) utilizou a serologia para determinar os predadores do besouro *Phytodecta olivacea* Foster; Rothschild (1966) para relacionar a mortalidade de ninfas e adultos de *Conomelus anceps* Germar (Homoptera: Delphacidae) com o parasitismo e a predação; Titova (1970) no estudo das interrelações entre *Eurygaster integriceps* Put (Hemiptera: Scutelleridae) e outros artrópodes; Vickerman e Sunderland (1975) para detectar a predação de afídeos por artrópodes em campos de cereais; Gardner et al., (1981) na identificação de predadores de lepidópteros pragas da cultura de soja e McIver (1981) para determinar os hábitos alimentares da aranha *Pardosa sternalis* (Thorell) (Araneae: Lycosidae); Sousa-Silva (1980, 1985) para identificar os predadores da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) e os

predadores de *Deois flavopicta* (Hemiptera: Cercopidae); na identificação de predadores de *Orphulella punctata* (De Geer) (Orthoptera: Acrididae) por Serrão et al. (1997) e por Cassaro-Silva et al. (2001) para identificar os principais predadores dos ovos desta espécie; Costa et al. (2009) na determinação dos predadores de *Ascia monuste orseis*; Santos-Neto et al. (2010) para identificar os predadores de ovos de *Spodoptera frugiperda*; Costa (2011) na determinação dos predadores dos afídeos *Aphis spiraecola* e *Toxoptera citricidus*, pragas da citricultura.

Diante do exposto, os objetivos deste trabalho visaram responder as seguintes questões:

- 1) É possível produzir antissoros específicos para os afídeos *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis craccivora* e *Therioaphis trifolii* f. *maculata*?
- 2) Com os antissoros produzidos é possível determinar a preferência dos predadores por uma determinada espécie de afídeo?
- 3) É possível utilizar a serologia para determinar a porcentagem de predação de afídeos pelos diversos grupos de predadores?
- 4) Em condições de laboratório, há preferência das espécies *Cycloneda sanguinea*, *Harmonia axyrids* e *Hippodamia convergens* por um dos afídeos *A. pisum*, *A. craccivora* e *T. trifolii* f. *maculata*, pragas da alfafa?
- 5) Em condições de laboratório, a influência da quantidade, espécie de afídeo e tempo após ter sido consumido pelo predador interferem nos resultados das reações serológicas?

## **2 Material e Métodos**

### **2.1 Área de estudo**

O trabalho foi realizado em alfafa (Fig. 1) cultivada na unidade da Embrapa

Pecuária Sudeste–CPPSE situada no município de São Carlos, SP a 21° 57' 33.32" S 47° 50' 33.28" W, à altitude de 856 m. O solo predominante é o latossolo vermelho amarelo – fase arenosa, havendo ainda áreas importantes com latossolo vermelho escuro e areia quartzosa distrófica. O clima, na classificação de Koeppen é do tipo Cw, ou seja, subtropical com inverno seco e verão quente e úmido. Julho é o mês mais frio, com média de temperatura de 16,3°C, e fevereiro é o mês mais quente, com média de temperatura de 23°C. A precipitação anual é em média de 1502 mm; agosto é o mês mais seco, com 32 mm, e dezembro, o mais chuvoso, com 262 mm (EMBRAPA, 2012).



Figura 1. Vista do campo experimental de alfafa onde foram realizadas as coletas.

## **2.2 Preparo dos antígenos e Obtenção dos antissoros.**

Os afídeos *A. pisum* (Fig. 2A), *A. craccivora* (Fig. 2B) e *T. trifolli* forma *maculata* (Fig. 2C) foram utilizados como antígenos no preparo de antissoros. Foram coletados diretamente sobre as plantas de alfafa e levados ao laboratório de Entomologia Econômica da Universidade Federal de São Carlos para triagem e identificação sob microscópio estereoscópico. Exemplares de cada espécie foram separados e mantidos

em jejum por 24h, macerados em solução salina 0,85% e centrifugados a 6000 g por 5 min.

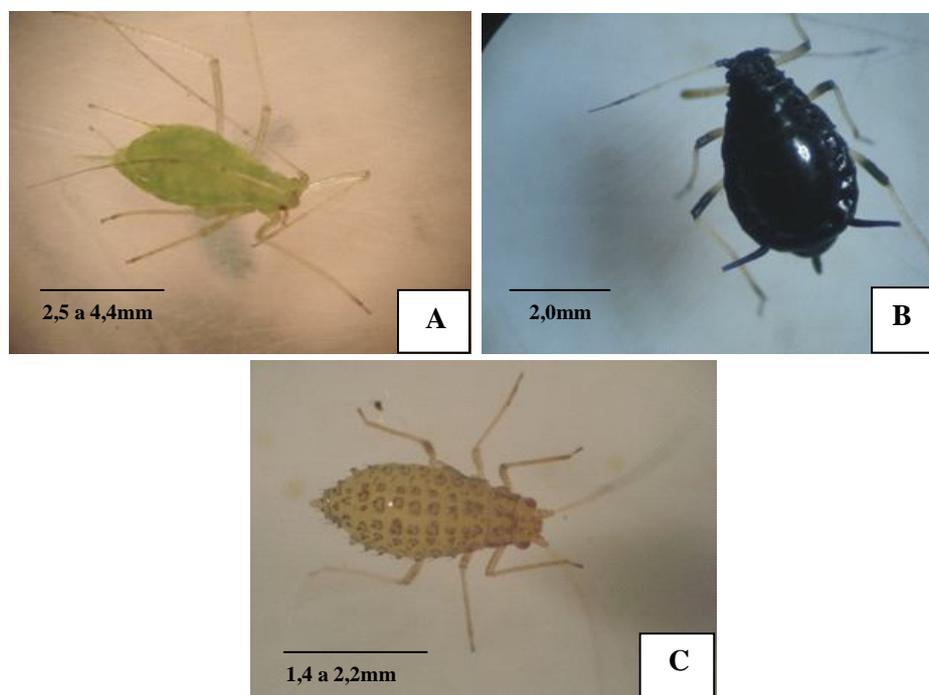


Figura 2. Afídeos da cultura da alfafa. A) *Acyrthosiphon pisum*, B) *Aphis craccivora* e C) *Therioaphis trifolii* forma *maculata*.

Os sobrenadantes de cada centrifugação foram emulsionados com Adjuvante Freund incompleto (v/v) e inoculados, via linfonódulo, em três diferentes coelhos para obtenção dos respectivos antissoros para *A. pisum* (AsAp); *T. trifolii* (AsTt) e *A. craccivora* (AsAc) (Fig. 3). Antes da primeira inoculação, recolheu-se 10 ml de sangue de cada animal para ser utilizado como controle nas reações serológicas.

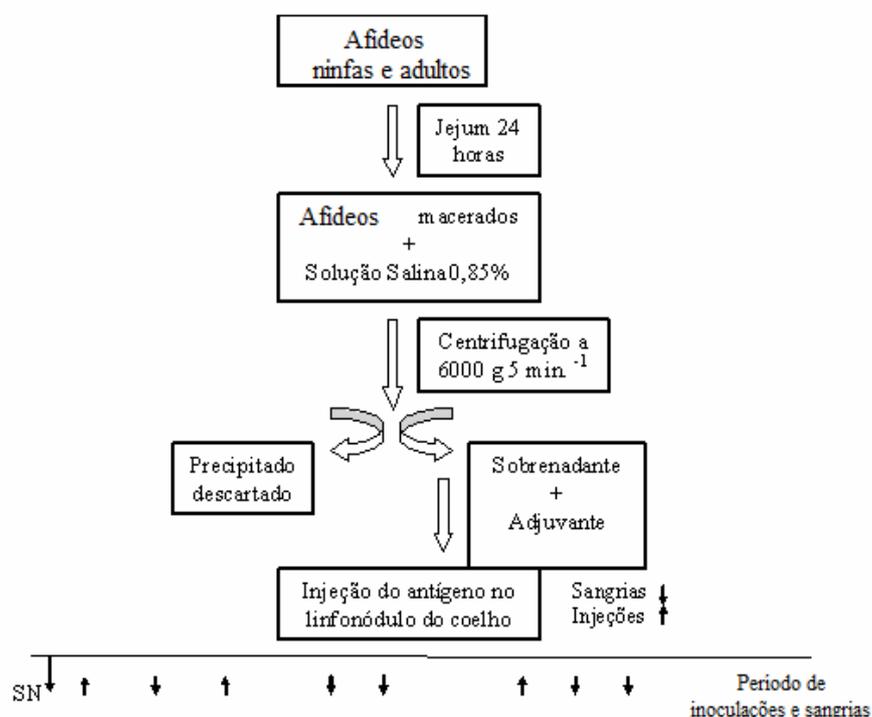


Figura 3. Esquema evidenciando as etapas para a obtenção de cada um dos antissoros. SN: Soro normal.

Para as inoculações quantificou-se o teor de proteínas em diferentes amostras dos afídeos utilizados. Inicialmente macerou-se os exemplares de cada uma das espécies de afídeo em presença de solução salina 0,85%, e esse extrato foi diluído sete vezes com água destilada seguindo-se uma progressão geométrica de razão 2. A seguir 10 $\mu$ l de cada diluição foi pipetada em uma microplaca tipo ELISA adicionando-se 190  $\mu$ l do reagente de Bradford (BRADFORD et al., 1976). A concentração de proteína de cada amostra foi determinada através de espectrofotometria em um comprimento de onda de 595nm, utilizando-se um leitor de microplacas. Os resultados dessa leitura foram comparados aos de uma curva padrão de albumina a 1%. Os testes foram feitos em duplicata para cada espécie de afídeo.

Durante o período de imunização foram realizadas sangrias semanais em cada coelho, para a obtenção dos antissoros e avaliação de seus respectivos títulos. As

sangrias foram realizadas através de pequenas incisões longitudinais nas veias marginais das orelhas dos coelhos obtendo-se, em média 10 ml de sangue. Cada amostra permanecia por 2h em temperatura ambiente e os coágulos formados eram descartados e os antissoros, armazenados a  $-2^{\circ}\text{C}$  para uso posterior nas reações serológicas. As titulações foram realizadas através de reações serológicas entre as frações diluídas de cada um dos antissoros obtidos; AsAp, AsAc e AsTt e os respectivos antígenos homólogos AgAp, AgAc e AgTt. As diluições dos antissoros foram feitas com solução de NaCl a 0,85%, seguindo-se uma progressão geométrica de razão 2.

### **2.3 Análise dos afídeos através de Ressonância magnética Nuclear (RMN)**

Foi realizada uma análise de ressonância magnética nuclear das três espécies de afídeos estudadas e também da planta hospedeira a fim de verificar as semelhanças e diferenças de substâncias constituintes de cada um dos afídeos. A planta hospedeira também foi analisada para verificar quais substâncias presentes em ambos os afídeos foram adquiridas via alimentação.

Os afídeos foram coletados e posteriormente levados ao Laboratório de Entomologia Econômica do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva- DEBE da UFSCar para triagem e identificação das espécies via microscópio estereoscópio.

Para a análise os afídeos foram macerados nas seguintes proporções:

- 0,1908gramas (cerca de 250 afídeos) de *Acyrtosiphon pisum*;
- 0,3768gramas (cerca de 1000 afídeos) de *Aphis craccivora* e
- 0,2292gramas (cerca de 800 afídeos) de *Therioaphis trifolii*.

Os afídeos foram macerados adicionando-se primeiramente 400  $\mu\text{l}$  de solução salina (NaCl a 0,85%) e centrifugados a 6000 g por 10 minutos. Após este processo, o sobrenadante foi retirado e ao precipitado foi adicionado mais 400  $\mu\text{l}$  de solução salina e

levados a centrifuga por mais 10 minutos, totalizando assim 800  $\mu$ l de solução salina em cada amostra. Para o macerado da planta foi utilizado 0,1259g da planta (*Medicago sativa*) e 2 ml de solução salina, também centrifugados por 20 minutos.

Após este procedimento as amostras foram enviadas ao Laboratório de RMN no Instituto de Química da UFG, Goiás. Um espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de 500 MHz Avance III da Bruker® foi utilizado para fazer os espectros de hidrogênio ( $^1\text{H}$ ) com uma sonda de inversa (TBI) de 5 mm de diâmetro, com o programa de pulso desacoplado da água (zgcppr), Os solventes utilizados foram água destilada com água deuterada ( $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ ), padrão interno de trimetilsililpropionato de sódio deuterado (TMSP- $\text{d}_4$ ) O número de varredura foi 128, o ganho do receptor de 362 (RG) e a temperatura de 298 K.

## 2.4 Reações serológicas

As reações serológicas homólogas e heterólogas foram realizadas por dupla difusão em gel de ágar a 1% (OUCHTERLONY, 1958), com tampão PBS, pH 7,0, sobre lâminas de microscopia (3,0 ml da solução de ágar por lâmina de 75 X 25 mm). As reações homólogas entre cada um dos antissoros e seus respectivos antígenos e as heterólogas entre cada um dos antissoros e diferentes antígenos.

Reações Homólogas		Reações Heterólogas			
Antissoros	Antígenos	Antissoros		Antígenos	
AsAp	AsAp	AsAp	AgAc	AgTt	Predadores
AsAc	AgAc	AsAc	AsAp	AgTt	Predadores
AsTt	AgTt	AsTt	AsAp	AgAc	Predadores

As reações com predadores foram realizadas a partir de testes de laboratório e de campo. Para os testes de laboratório os antígenos foram obtidos pela maceração de exemplares de *Harmonia axyridis* alimentados com afídeos da alfafa. Para tanto separou-se 3 grupos com exemplares do predador, cada grupo com 20 repetições e cada repetição composta de 4 indivíduos. Cada conjunto assim formado foi mantido em jejum por 48 horas e após, para cada um, foi oferecido 1, 2, 3, 4 ou 5 afídeos de uma das três espécies tratadas. A seguir cada indivíduo de *H. axyridis* foi macerado observando-se um intervalo de 0, 24, 48 e 72h após ter consumido um ou mais dos afídeos oferecidos.

Para os testes de campo os antígenos foram obtidos pela maceração de predadores coletados semanalmente, junto às colônias de afídeos, diretamente sobre as plantas de alfafa no período de agosto de 2011 a julho de 2012. As coletas eram realizadas por agitação das hastes das plantas hospedeiras sobre uma bandeja e, também, com o auxílio de redes entomológicas (Fig. 4A e B). O material coletado era levado ao laboratório para triagem e identificação ao taxon possível. Dos predadores adultos eram utilizados os abdomens para a realização dos testes serológicos. Ninfas e/ou larvas eram maceradas e utilizadas integralmente.

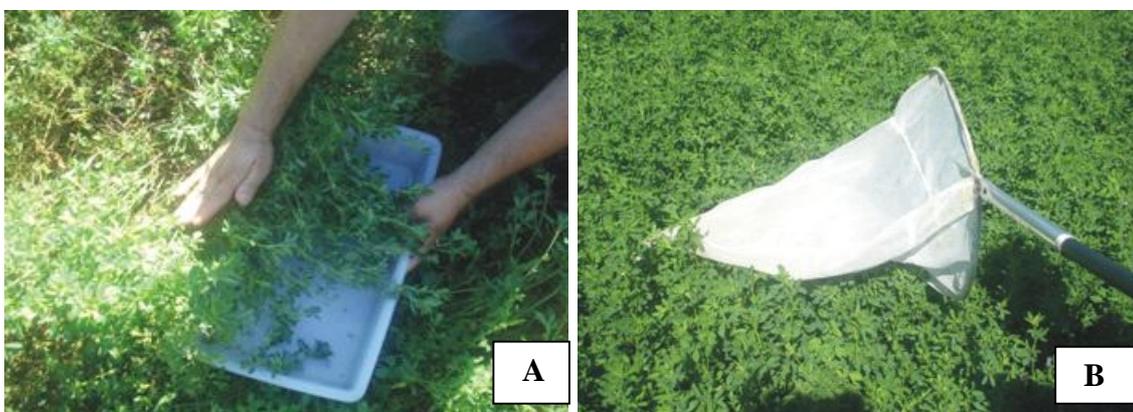


Figura 4. A) Captura de afídeos e predadores em cultura de alfafa com a utilização de bandejas e B) redes entomológicas para captura de predadores, na Embrapa–CPPSE, São Carlos, SP

## 2.5 Testes de preferência alimentar entre coccinelídeos e afídeos em laboratório

Para os testes de preferência alimentar entre coccinelídeos e afídeos em laboratório foram utilizados 60 exemplares de cada uma das espécies: *Cycloneda sanguinea*, *Harmonia axyrids* e *Hippodamia convergens*. Foram mantidos em jejum por 48h e individualizados em placas de Petri medindo 5 cm de diâmetro por 1cm de altura. Posteriormente em cada placa, foi adicionado 1 afídeo adulto de cada uma das 3 espécies tratadas. Para 180 predadores observados anotou-se a seqüência em que as presas eram consumidas.

Uma repetição do teste foi realizado com outros 40 exemplares de cada uma das espécies de coccinelídeos e, neste caso, oferecendo-se para cada um 12 afídeos adultos, sendo 4 de cada uma das 3 espécies. Duas horas após o início dos testes, os afídeos não consumidos foram contados e os resultados utilizados para o cálculo do Índice de Eletividade de Ivlev (KREBS, 1989) para estimar preferência do predador por alguma das espécies de afídeos oferecidas.

O índice foi calculado de acordo com o modelo:

$IEI = (r_i - n_i) / (r_i + n_i)$ , onde:

IEI= índice de eletividade para a presa i,

$r_i$ = abundância relativa de cada item consumido,

$n_i$ = abundância relativa de cada item no ambiente.

Os valores entre 0 e +1,0 condicionam preferência ou seleção positiva da presa, valores entre -1,0 e 00 condicionam rejeição ou ausência de seleção da presa. Valor 0 condiciona neutralidade, predação passiva.

### 3 Resultados e discussão

#### 3.1 Quantificação proteica das amostras de afídeos

Os resultados das análises indicaram que o teor proteico dos extratos das três diferentes espécies de afídeos são semelhantes, em média 1mg/ml.

#### 3.2 Obtenção dos antissoros

Para a obtenção do antissoro para *Acyrtosiphon pisum* foram realizadas 10 inoculações do antígeno em um coelho e 14 sangrias, obtendo-se assim 14 antissoros (ANEXO 1).

Para *Aphis craccivora* foram realizadas 19 inoculações e 43 sangrias, obtendo-se 43 antissoros (ANEXO 2).

Para *Therioaphis trifolli* foram imunizados 3 coelhos, 1 de cada vez, totalizando 26 inoculações e 33 sangrias resultando em 33 antissoros obtidos (ANEXOS 3, 4 e 5). O grande número de coelhos utilizados ocorreu devido a dificuldade na obtenção de reações serológicas mais significativas, o que levou a várias tentativas em coelhos diferentes.

Cerca de 7 dias após a primeira inoculação observaram-se os primeiros resultados positivos entre cada um dos antissoros e o seu antígeno homólogo. Cassaro - Silva et al. (2001) observaram reações positivas 14 dias após a primeira imunização.

As titulações máximas para os antissoros foram de 1/32 para *A. pisum*, 1/32 para *A. craccivora* e 1/ 8 para *T. trifolli*. Mollet e Armbrust (1978) afirmaram que o valor do título dos antissoros pode variar de acordo com o poder antigênico da proteína injetada no coelho e pode haver decréscimo de especificidade com grande número de inoculações realizadas.

Os testes serológicos com cada um dos antissoros em reações heterólogas com os diferentes afídeos da alfafa foram positivos, mostrando inespecificidade. Diante deste resultado, procurou-se limpar os antissoros adicionando-lhes uma alíquota dos antígenos de afídeos não homólogos, na proporção de 1/1. Os resultados, no entanto não mostraram a especificidade desejada. Um dos motivos pode ser a semelhança das proteínas nas diferentes espécies de afídeos e que induziram a formação de anticorpos inespecíficos. Buscou-se verificar essa possibilidade analisando-se os macerados obtidos de cada um dos afídeos utilizados na imunização dos coelhos, em um espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Os resultados mostraram a grande semelhança entre os compostos protéicos das três espécies de afídeos (Fig. 5).

Os trabalhos serológicos tiveram prosseguimento utilizando-se os antissoros inespecíficos que apresentaram os maiores títulos. Para *A. craccivora* foram utilizados os antissoros AsAc<sub>4</sub>, AsAc<sub>6</sub>, AsAc<sub>22</sub>, AsAc<sub>25</sub> e AsAc<sub>26</sub>; para *A. pisum* AsAp<sub>6</sub>, AsAp<sub>7</sub>, AsAp<sub>10</sub>, AsAp<sub>13</sub>, AsAp<sub>14</sub> e para *T. trifolii* AsTt<sub>4</sub>, AsTt<sub>5</sub>, AsTt<sub>6</sub>, AsTt<sub>7</sub> e AsTt<sub>10</sub> (3º coelho). O número subscrito indica a ordem da sangria para a obtenção do antissoro conforme anexos 1, 2 e 5.

Nas reações homólogas para *A. pisum* (AsAp x AgAp) observou-se o máximo de 2 linhas de precipitação. Nas heterólogas foram observadas 2 linhas com o antígeno de *A. craccivora* (AgAc) e 1 linha com o antígeno para *T. trifolii* (AgTt).

Para *A. craccivora*, 2 linhas nas reações homólogas (AsAc x AgAc) e nas heterólogas 2 linhas com o antígeno AgAp e 1 linha com o antígeno de AgTt.

Nas reações homólogas para *T. trifolii* (AsTt x AgTt) e heterólogas com os antígenos AgAp e AgAc, 1 linha de precipitação.

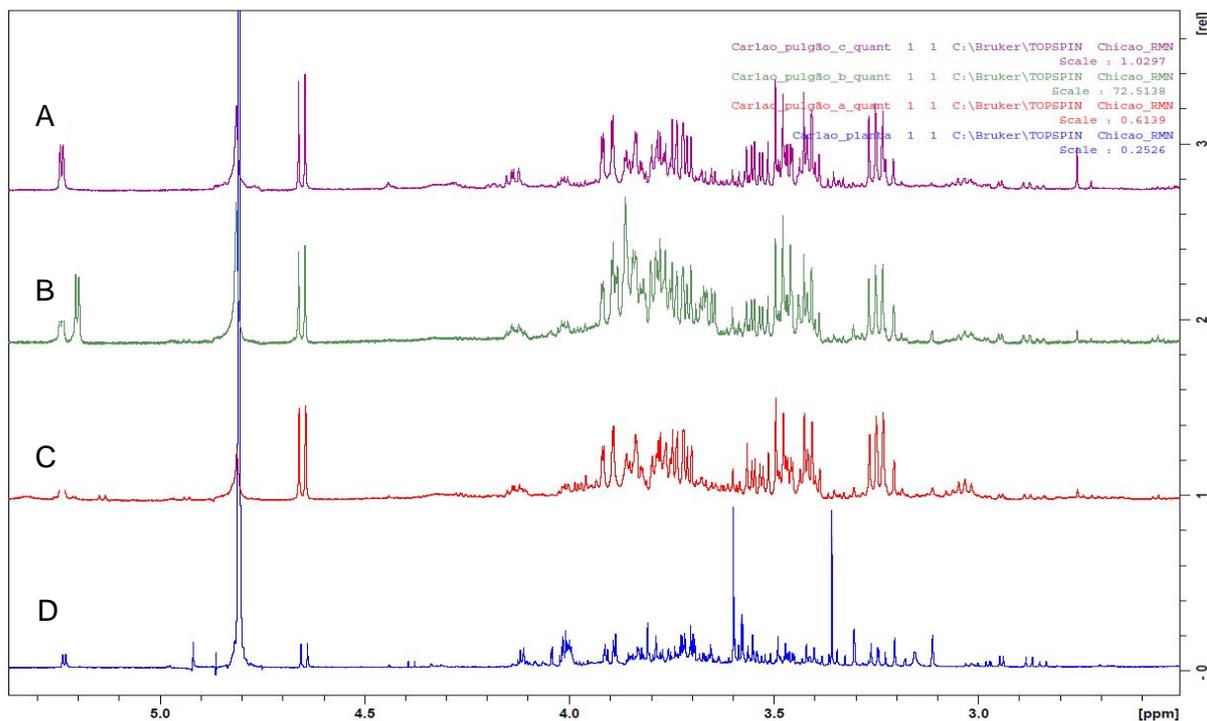


Figura 5. Ampliação dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  das amostras de afídeos e da planta hospedeira. A região entre 2,6 a 4,5 ppm evidencia a presença de compostos contendo  $\text{CH}_3$ , em 4,8 ppm observa-se o espectro da água em grande quantidade em ambas as espécies de afídeos e na planta hospedeira. Em A) *T. trifolii*, em B) *A. craccivora*, em C) *A. pisum* e em D) *M. sativa*.

### 3.3 Influência da quantidade, espécie de afídeo e tempo após ter sido consumido pelo predador, nos resultados das reações serológicas

Os resultados dos testes de alimentação realizados em laboratório com o predador *H. axyridis* foram distintos para os diferentes intervalos de tempo após a alimentação do predador e para as diferentes quantidades de afídeos que consumiram (Tabela 1).

Para os exemplares de *H. axyridis* que consumiram *A. pisum*, os testes realizados logo após a ingestão de 1 afídeo foram positivos mostrando 1 linha de precipitação e 2 linhas para os que consumiram 4 e 5 afídeos.

Tabela 1. Número de linhas de precipitação observadas nos testes serológicos com exemplares de *Harmonia axyridis* alimentados com os afídeos *Aphis craccivora*, *Acyrtosiphon pisum* e *Therioaphis trifolli* e macerados 0, 24, 48 e 72h após o consumo. Os traços indicam ausência de reação.

Predador	Número de afídeos consumidos por cada predador/tempo após o consumo																				Presa
	1				2				3				4				5				
	0h	24h	48h	72h	0h	24h	48h	72h	0h	24h	48h	72h	0h	24h	48h	72h	0h	24h	48h	72h	
H1	1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	2	-	-	-	2	1	-	-	<i>A. pisum</i>
H2	1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	2	-	-	-	2	1	-	-	
H3	1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	2	-	-	-	2	1	-	-	
H4	1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	2	-	-	-	2	1	-	-	
H1					1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	1	1	-	-	<i>A. craccivora</i>
H2					1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	1	1	-	-	
H3					1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	1	1	-	-	
H4					1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	1	1	-	-	
H1									1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	<i>T. trifolli</i>
H2									1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	
H3									1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	
H4									1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	

Após 24h da alimentação, somente as reações onde houve o consumo de 5 afídeos foram positivas, com 1 linha de precipitação. Quando alimentados com *A. craccivora*, os testes foram positivos quando realizados logo após o consumo de pelo menos 2 afídeos.

O tempo máximo no qual ainda se observaram resultados positivos foi de 24h após o consumo de 5 afídeos. Todas as reações resultaram em uma linha de precipitação. Quando o predador foi alimentado com *T. trifolii*, os resultados positivos foram observados somente logo após o consumo de 3 afídeos.

Os resultados evidenciam que o número de presas consumidas pelo predador, o tempo para a realização do teste após o consumo da presa pelo predador e o título do antissoro são fatores que devem ser levados em conta quando se emprega a serologia nos estudos de relações alimentares.

De acordo com Luck et al.(1988) a detecção da presa no intestino de um predador depende da quantidade de indivíduos ingeridos, do tempo decorrido após a alimentação, da taxa de digestão do predador e da sensibilidade do teste.

Para Mciver (1981) além destes fatores, a temperatura no qual os predadores estão submetidos também irão influenciar os resultados.

Dempster (1960) obteve resultados serológicos positivos com dermápteros testados até 30 h após o consumo de um ovo do coleóptero *P. olivacea* e até 5 dias, após o consumo de uma larva de último estágio. Nas reações serológicas com mirídeos e antocorídeos, o autor observou reações positivas até 24 h após cada exemplar ter sido alimentado com um adulto de *P. olivacea*.

Ohiagu e Boreham (1978) observaram resultados serológicos positivos para *Coccinella septempunctata* 48h após o consumo de *Acyrtosiphon pisum*.

McIver (1981) observou a frequência de consumo da aranha *Pardosa sternalis* (Lycosidae) e notou que mesmo após 150h decorridas da alimentação ainda foi possível obter resultados positivos. De acordo com o autor, as aranhas têm a capacidade de reduzir a taxa metabólica em condições de alimento limitadas.

Sousa-Silva (1980) observou reações positivas para percevejos e aranhas alimentados com lagartas de *Diatrea saccharalis*. Para os percevejos, os resultados foram positivos até 96h após a alimentação. Já para as aranhas, os resultados foram positivos somente até 24h após o consumo dos lepidópteros.

Cassaro-Silva et al. (2001) alimentaram aranhas com machos e fêmeas de *O. punctata* e observaram reações serológicas positivas nos testes com o predador, logo após o consumo das presas.

Reações heterólogas positivas foram registradas com predadores armazenados em freezer a  $-2^{\circ}\text{C}$  por 14 meses evidenciando que o congelamento não interferiu na capacidade de detecção através dos testes serológicos.

Segundo Harwood e Obrycki (2005) e Cassaro-Silva et al. (2001) predadores que não podem ser testados logo após a captura devem ser armazenados em baixas temperaturas para diminuir seu processo metabólico. O congelamento tem sido empregado para preservar a integridade do conteúdo proteico da presa consumida pelo predador, garantindo assim maior número de resultados positivos em testes serológicos.

Estudos realizados por Santos-Neto et al. (2010) apontaram que os antissoros a partir de ovos recém-ovipositados e congelados não mostraram diferenças na sua capacidade de reconhecer os antígenos, assim para os autores, o congelamento mantém a qualidade antigênica das proteínas que induzirão a produção do antissoro.

### 3.4 Coletas de campo e reações serológicas heterólogas

Durante o período amostral foram coletados 2.161 exemplares entre insetos e aranhas. Dentre os insetos, exemplares das famílias Coccinellidae; Nabidae; Pentatomidae; Geocoridae; Syrphidae; Carabidae; Chrysopidae; Reduviidae; Dermaptera; Dolichopodidae e dentre as aranhas exemplares de Salticidae, Thomisidae, Lycosidae, Ctenidae, Nephilidae, Araneidae, Sparassidae, Theridiidae, Pholcidae, Trocantheriidae, Lynphidae e Sicariidae. Imagens de alguns desses predadores são observadas nas figuras 6 e 7.

Do total de predadores testados serologicamente, 508 (23,5%) reagiram com um ou mais de um dos antissoros AsAp, AsAc ou AsTt (ANEXO 6).

Para 24 carabídeos testados, 12,5% dos resultados foram positivos. Esses predadores são extremamente generalistas, com atividade preponderantemente noturna (SARAN et al., 2007).

Dos 1404 coccinélideos adultos testados serologicamente 22,0% dos resultados foram positivos. Das 71 larvas testadas 47,8% dos testes foram positivos (Anexo 7). De acordo com Saran et al. (2007) as larvas de algumas espécies de coccinélideos consomem diariamente mais afídeos do que os adultos. Para *C. sanguínea*, por exemplo, o consumo diário larval pode chegar até a 200 afídeos enquanto o adulto preda em média apenas 20 afídeos por dia. Para Hodek, (1967) o consumo de presas por coccinélideos adultos é máximo para fêmeas ovipositando, baixo para fêmeas não ovipositando e mínimo para os machos.

Santos et al. (2009) observaram que a predação de coccídeos por larvas de coccinélideos é mais significativa do que por coccinélideos adultos.

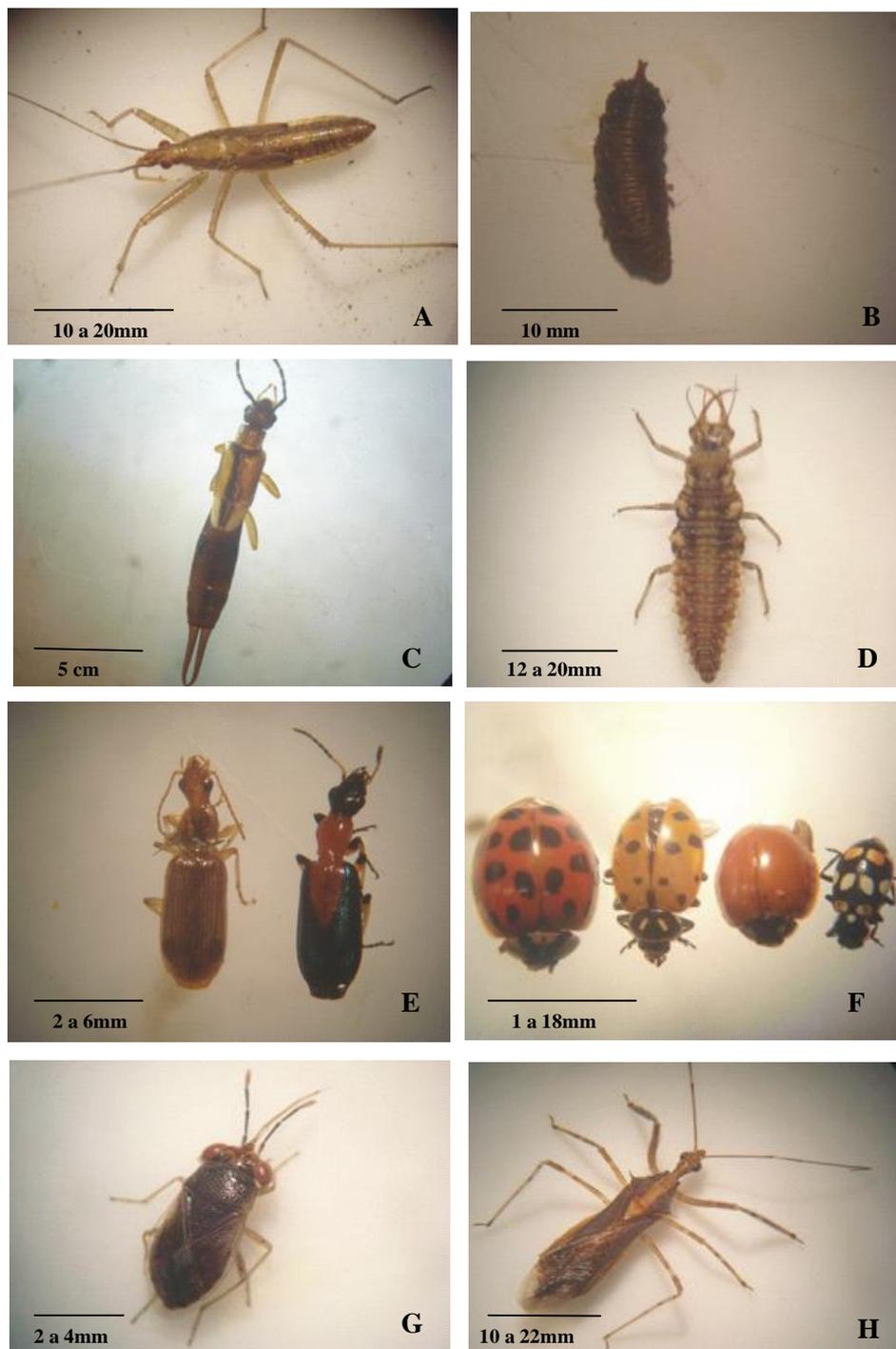


Figura 6. Imagens de alguns dos predadores coletados em cultura de alfafa (Embrapa, CPPSE- São Carlos, SP. Em A) ninfa de Nabidae; B) larva de Syrphidae; C) adulto de Dermaptera; D) larva de Chrysopidae; E) adultos de Carabidae; F) adultos de Coccinellidae, sendo da esquerda para direita: *H. axyridis*, *H. convergens*, *C. sanguinea* e *E. connexa*; G) adulto de Geocoridae e H) adulto de Reduviidae.

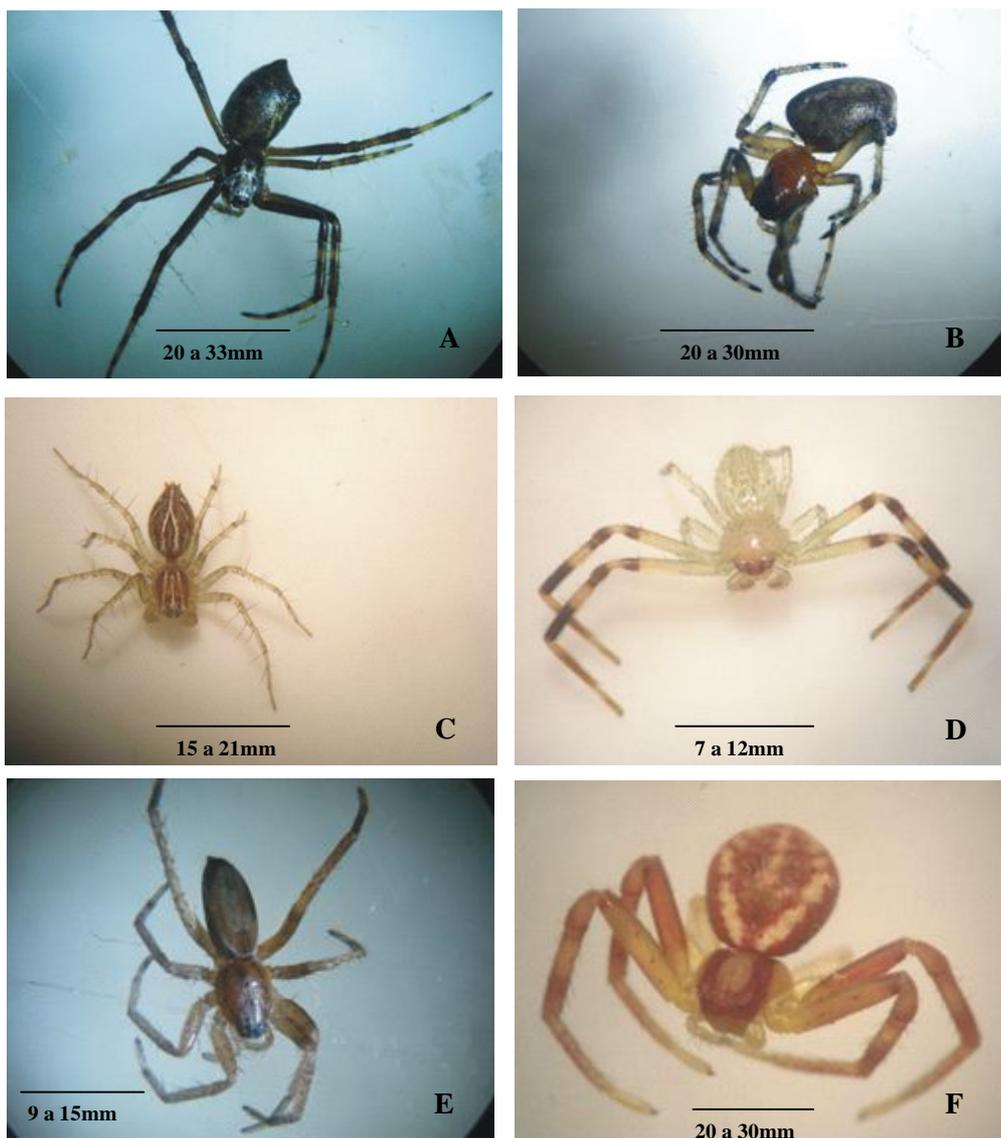


Figura 7. Imagens de alguns dos aracnídeos coletados na cultura da alfafa (Embrapa, CPPSE- São Carlos, SP). Em A) Nephilidae; B) Ctenidae; C) Salticidae; D) Sparassidae; E) Lycosidae e F) Thomisidae.

Vickermam e Sunderland (1975) através da técnica serológica constataram a predação de afídeos em campos de cereais por carabídeos, coccinelídeos e dermápteros sendo a predação por coccinelídeos em maior proporção.

Dentre os coccinelídeos *H. axyridis* foi a espécie mais coletada. Dos 748 indivíduos testados serologicamente apenas 15,24% das reações foram positivas. Na China a espécie é considerada uma das principais predadoras de afídeos em algodão, sendo

também muito utilizada em programas de controle biológico na Ásia (ALMEIDA; SILVA, 2002).

Em relação a *C. sanguínea* foram testados 213 exemplares dos quais 15,17% reagiram positivamente. Esta espécie é considerada o principal inimigo natural dos pulgões em algodoeiro no Brasil (BASTOS; TORRES, 2005).

Dos 32 exemplares de *E. connexa* testados, apenas 2,27% dos resultados foram positivos.

Nos testes serológicos com 409 exemplares de *H. convergens* 30,5% dos resultados foram positivos. De acordo com Kato et al. (1999) a espécie é responsável por manter a população de afídeos da cultura da alfafa abaixo do nível de controle na Califórnia.

Também na Argentina, *Eriopis connexa* e *Hippodamia convergens* destacam-se como bons controladores de afídeos em culturas de alfafa. (ARAGON, 1990 apud SOUSA-SILVA, 1998).

Foram testadas serologicamente 55 larvas de sirfídeos, resultando em 67,2% de resultados positivos com até 3 linhas de precipitação. As larvas de sirfídeos, segundo Ilharco (1992), durante seu desenvolvimento alimentam-se de centenas de afídeos. Saran et al. (2007) ressaltam que a capacidade de consumo das larvas de sirfídeos é de 300 a 800 afídeos durante o seu desenvolvimento. São considerados predadores essenciais no controle dos afídeos em Portugal (ILHARCO, 1992). No Brasil, são citados por Bastos e Torres (2005) como potenciais predadores de muitas espécies de afídeos em diversas culturas.

Nenhum dos dois exemplares de Dolichopodidae coletados no presente trabalho e testados serologicamente foram positivos. Em Minas Gerais, Morais (2010) observou adultos dessa família predando afídeos em cultura de repolho. A predação de afídeos

por dolícopodídeos em cultura de algodão é citada por Bastos e Torres (2005). Esses insetos são predadores de afídeos tanto na fase larval quanto adulta.

Dos 20 crisopídeos coletados 65,0% resultaram em reações serológicas positivas evidenciando sua importância como controlador de afídeos na cultura da alfafa. Mendes et al. (2000) observaram em cultura de alfafa em Lavras, MG, que crisopídeos e geocorídeos (Hemiptera: Heteroptera) somaram menos de 1% do total de predadores coletados e foram considerados acidentais na cultura. De acordo com Bastos e Torres (2005) apesar de serem capazes de predação vários insetos, os crisopídeos predam preferencialmente afídeos e que durante toda a sua fase larval podem consumir de 100 a 600 afídeos.

Dentre os Heteroptera foram testados 156 nabídeos dos quais 33,9% responderam positivamente aos testes serológicos. Dos 55 geocorídeos testados 27,2% de reações serológicas foram positivas. Segundo Mendes et al. (2000) *Geocoris* destaca-se como predador de afídeos.

Dos 76 pentatomídeos testados serologicamente 5,2% das reações foram positivas. Pentatomídeos do gênero *Podisus* predam preferencialmente lagartas de Lepidoptera, mas também podem predação outros insetos como os afídeos (SARAN et al., 2007).

Foram testados 17 reduvídeos com 41,1% de resultados positivos.

Dentre os 13 dermápteros coletados 7% responderam positivamente aos testes serológicos. Bastos e Torres (2005) e Saran et al. (2007) consideram esse grupo de insetos importantes controladores de afídeos e mosca branca. A busca pela presa em geral é realizada no período noturno.

Dentre os insetos os sirfídeos foram os que apresentaram a maior porcentagem de resultados serológicos positivos (67,2%). Em seguida, os Crisopídeos com 65,0%.

Após, os coccinelídeos com 20% de resultados positivos, destacando-se nesse grupo *H. convergens* com 30,5% de reações positivas.

Esses predadores se destacaram no controle dos afídeos em alfafa, devendo merecer grande atenção dos especialistas para serem utilizados em programas de controle biológico na cultura.

Do total de aranhas (Araneae) foram testados serologicamente 95 exemplares de Salticidae com 7,14% das reações positivas; 74 de Thomisidae com 6,75% dos testes positivos; 14 exemplares de Nephilidae, com 14,28% de resultados positivos; 6 exemplares de Pholcidae com 16,6% dos testes positivos; 26 exemplares de Lycosidae dos quais 7,69% dos testes foram positivos; 19 exemplares de Ctenidae com 5,28% de resultados positivos e 11 indivíduos de Araneidae com 9,0% dos resultados dos testes serológicos positivos (Tabela 2).

Greenstone (1993) observou que a serologia é um importante método para o estudo da predação por aranhas, já que apenas os fluidos corpóreos da presa são consumidos tornando difícil a detecção da predação com o emprego de outras técnicas. Sunderland et al. (1987) mencionam Lycosidae e Tetragnatidae como importantes famílias de aranhas predadoras de afídeos em cereais.

Sujii et al. (2007) observaram várias espécies de aranhas predando afídeos em cultura de algodão no Distrito Federal. Para Ilharco (1992) embora haja evidências de que as aranhas possam predação afídeos, pouco interesse tem sido dado ao grupo como controlador biológico desses insetos.

Saran et al. (2007) ressaltam que todas as aranhas são predadoras generalistas podendo se alimentar tanto de insetos pragas como de insetos benéficos à cultura. Além de utilizarem o alimento que acaba prendendo-se em suas teias são ávidas caçadoras ocorrendo tanto no solo como em partes mais altas das plantas.

Tabela 2. Aracnídeos coletados, de agosto de 2011 a julho de 2012, em campos de alfafa e testados através da técnica serológica. Somente as coletas em que houve resultados serológicos positivos foram consideradas. Os números entre parênteses ( ) indicam os resultados positivos.

<b>Data/Coleta</b>	<b>Salticidae</b>	<b>Thomisidae</b>	<b>Pholcidae</b>	<b>Lycosidae</b>	<b>Araneidae</b>	<b>Ctenidae</b>	<b>Nephilidae</b>
17/8/11	0	1(1)	0	0	0	1(0)	0
31/8/11	0	0	1(1)	0	0	0	0
13/10/11	3(1)	5(1)	0	0	0	0	0
24/10/11	0	4(1)	0	0	0	0	0
30/1/12	0	4(1)	1(0)	1(0)	0	0	0
15/2/12	20(6)	4(0)	0	2(0)	3(1)	0	0
29/2/12	1(0)	3(0)	0	1(1)	0	0	0
21/3/12	0	3(1)	0	0	0	0	0
4/4/12	18(3)	11(1)	2(0)	2(0)	2(0)	2(0)	6(0)
11/4/12	30(4)	7(0)	1(0)	9(0)	5(0)	7(0)	4(1)
18/4/12	13(2)	15(0)	0	8(1)	1(0)	6(1)	2(1)
3/5/12	2(1)	2(0)	0	0	0	0	2(0)
20/7/12	2(2)	1(0)	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>95(19)</b>	<b>74(5)</b>	<b>6(1)</b>	<b>26(2)</b>	<b>11(1)</b>	<b>19(1)</b>	<b>14(2)</b>

Como salienta Mciver (1981), na maioria dos casos, os estudos serológicos são amplamente utilizados para qualificar a relação predador-presa, pois estimar a quantidade de presas consumidas por um predador, por exemplo, não é possível sem levar em conta a temperatura, a taxa de digestão da presa e a influência do tempo decorrido após a alimentação do predador.

Provavelmente esse conjunto de fatores influenciou os resultados das reações serológicas com o material coletado em campo neste trabalho.

Como salientado por Santos et al. (2009) essas influências podem contribuir para resultados falso negativos, pois devido ao decréscimo do antígeno no intestino do predador este pode não ser detectado pelo antissoro.

Resultados negativos podem não significar que o predador testado não consumiu a presa, mas sim pode ser o resultado da influência de qualquer um dos fatores citados. A predação secundária pode ser um agravante para resultados falso positivos.

Harwood et al. (2001) detectaram erros na relação entre afídeo-aranha-carabídeo utilizando a serologia. Segundo os autores a predação secundária de Carabidae foi detectada quando os testes serológicos foram realizados logo após o consumo de afídeos pelas aranhas. No entanto os autores salientam que conhecendo a biologia dos predadores testados a ocorrência de falso positivo será menor.

Para Sunderland et al. (1987) a grande variação na detecção do afídeo em serologia pode ser atribuída ao tamanho do afídeo consumido e ao tamanho do próprio predador. Os autores também constataram que o sexo do predador pode interferir nos resultados. Em testes realizados com aranhas e coccinelídeos fêmeas, observaram maior número de resultados positivos do que os registrados nos testes com os machos. Isto se deve a uma combinação entre a maior taxa de predação e taxa de digestão mais lenta das fêmeas em relação aos machos.

Nos testes serológicos utilizando-se os predadores coletados em campo observou-se 392 resultados positivos com o antissoro para *A. craccivora*, 296 com o antissoro para *A. pisum* e 224 reações positivas com o antissoro para o afídeo *T. trifolii* (Tabela 3). Observa-se que a soma dos resultados das reações com cada antissoro é diferente do valor total do número de resultados positivos, uma vez que com o mesmo predador pode haver 1, 2 ou 3 resultados positivos quando testados com os diferentes antissoros, que apesar da inespecificidade parecem mostrar uma preferência alimentar dos predadores por *A. craccivora*. Mesmo em períodos em que a espécie ocorria em menor quantidade (Tabela 4) era, mesmo assim, a mais consumida (Tabela 5).

Tabela 3. Resultados obtidos nas reações serológicos entre predadores coletados em alfafa e os antissoros AsAc (*A. craccivora*), AsAp (*A. pisum*) e AsTt (*Therioaphis trifolii*)

Predador	Nº predadores testados	Nº resultados positivos	Resultados para cada Antissoro		
			AsAc	AsAp	AsTt
Coccinellidae	1404	309	231	177	108
L. Coccinellidae	71	34	27	13	27
Chrysopidae	20	13	11	11	4
Syrphidae	55	37	36	29	23
Reduviidae	17	7	7	3	4
Carabidae	24	3	3	0	1
Pentatomidae	76	4	3	2	3
Geocoridae	55	15	11	8	9
Dermaptera	13	1	1	0	0
Nabidae	156	53	41	38	24
Aracnídeos	266	32	21	15	21
<b>Total</b>	<b>2161</b>	<b>508</b>	<b>392</b>	<b>296</b>	<b>224</b>

Tabela 4. Abundância numérica total das espécies de afídeos amostradas na cultura de alfafa em cada período durante as coletas de agosto de 2011 a julho de 2012.

<b>Período</b>	<b><i>A. pisum</i></b>	<b><i>A. craccivora</i></b>	<b><i>T. trifolii</i></b>
Primavera	491	430	1658
Verão	3734	1377	2056
Outono	1228	227	566
Inverno	314	535	494

Tabela 5. Resultados dos testes serológicos realizados entre cada um dos afídeos *A. craccivora* (Ac), *A. pisum* (Ap) e *T. trifolii* (Tt) e antissoro obtido pela maceração de exemplares de *H. axyridis* coletados em diferentes períodos, O afídeo sublinhado indica sua predominância quantitativa no período.

	<b>Primavera</b>	<b>Verão</b>	<b>Outono</b>	<b>Inverno</b>
<b>Coccinelídeos</b>	<b>Ac - <u>Ap</u> - <u>Tt</u></b>	<b>Ac- <u>Ap</u>- Tt</b>	<b>Ac- <u>Ap</u>- Tt</b>	<b><u>Ac</u>- <u>Ap</u>- <u>Tt</u></b>
<i>H. axyridis</i>	2 - 4- 4	22- 20- 22	51- 35- 31	1- 0- 0
<i>H. convergens</i>	26- 31- 21	14- 15- 10	47- 29- 23	4- 6- 0
<i>C. sanguínea</i>	8- 6- 5	5- 3- 4	29- 10- 6	13- 12- 5
<i>E. connexa</i>	2- 3- 2	1- 1- 1	4- 2- 4	0- 0- 0

Essa tendência é reforçada pelas observações em laboratório que mostram que a maioria dos exemplares de *C. sanguínea*, *H. axyridis* e *H. convergens* consumiu primeiro *A. craccivora*. A espécie foi consumida primeiro por 101 coccinelídeos, *A. pisum* foi o primeiro afídeo consumido de 45 coccinelídeos e *T. trifolii* foi consumido primeiro por 34 dos coccinelídeos observados (Tabela 6). Lucas et al. (1997) salientam

que o tipo de presa consumida no campo durante o seu desenvolvimento pode influenciar na seleção da presa no decorrer dos testes de preferência em laboratório, ou seja, o predador poderá selecionar nos testes a mesma presa à qual está acostumado a consumir todos os dias em condições naturais.

No momento em que os afídeos eram oferecidos aos predadores estes pareciam selecionar a presa, não consumindo a primeira que encontravam.

Tabela 6. Dados dos testes de consumo dos afídeos *A. craccivora*, *A. pisum* e *T. trifolii* pelos predadores *C. sanguínea*, *H. axyridis* e *H. convergens* realizados em laboratório.

Predador	Nº de exemplares de afídeos consumidos primeiro por cada espécie de predador		
	<i>A. craccivora</i>	<i>A. pisum</i>	<i>T. trifolii</i>
<i>C. sanguínea</i>	34	15	11
<i>H. axyridis</i>	37	10	13
<i>H. convergens</i>	30	20	10
<b>Total</b>	101	45	34

De acordo com os resultados dos cálculos do Índice de Eletividade de Ivlev, dos 40 coccinelídeos de cada espécie, para *C. sanguínea*, 7 foram neutros, 1 preferiu *T. trifolii* e 32 preferiram *A. craccivora*. Em relação a *H. axyridis*, 5 dos exemplares foram neutros, 1 preferiu *A. pisum* e 34 preferiram *A. craccivora*. Para *H. convergens*, 5 foram neutros, 1 preferiu *T. trifolii* e 34 preferiram *A. craccivora* (Tab. 7), (ANEXOS 8, 9 e 10).

Segundo Rezende e Mazzoni (2006) a preferência alimentar tende a ser uniforme entre os indivíduos de mesma espécie, como visto neste trabalho.

Tabela 7. Média do Índice de Eletividade de Ivlev para as presas *A. craccivora*, *A. pisum* e *T. trifolii* consumidos em laboratório por *C. sanguinea*, *H. axyridis* e *H. convergens*.

Predador	Média do Índice de Eletividade de Ivlev das presas		
	<i>A. craccivora</i>	<i>A. pisum</i>	<i>T. trifolii</i>
<i>C. sanguinea</i>	+ 0,22	- 0,35	- 0,17
<i>H. axyridis</i>	+ 0,22	- 0,35	- 0,25
<i>H. convergens</i>	+ 0,20	- 0,33	- 0,15

Cabral e Nuñez (2011), analisando o ciclo de vida e o consumo dos afídeos *Toxoptera citricidus* e *A. craccivora* pelos predadores *C. sanguinea* e *H. axyridis*, constataram que ambos os coccinelídeos exibiram preferência alimentar por *A. craccivora*.

Alvarez et al. (2005) realizaram experimentos para verificar a preferência alimentar de *C. sanguinea* pelos afídeos *Aphis helianthi*, *A. craccivora* e *Lypaphis erysimi* e também observaram que *A. craccivora* foi o afídeo mais consumido.

Segundo Agarwala et al. (2001) *A. craccivora* é o alimento preferencial do coccinelídeo *Menochilus sexmaculatus*.

Para Giorgi et al. (2009), algumas espécies de coccinelídeos exibem preferências alimentares claramente definidas, mas para outras, vários fatores como disponibilidade da presa no ambiente, palatabilidade, tamanho da presa e do predador etc, podem influenciar na escolha da presa a ser consumida.

Pinto (2009) salientou que na natureza, a seleção do recurso alimentar pode estar relacionada com a disponibilidade de presas no ambiente, como já observado por outros autores. Em testes de laboratório são oferecidas quantidades de presas semelhantes, desta forma este fator provavelmente não interfere na escolha da presa.

Para Rezende e Mazzoni (2006), o tamanho da presa assim como o do próprio predador pode interferir na escolha do alimento.

Nos testes realizados neste trabalho, em relação ao tamanho das presas, *A. pisum* era o afídeo de maior comprimento, atingindo até 4,4mm, *T. trifolli* foi o afídeo de menor comprimento atingindo de 1,4 a 2 mm e *A. craccivora* com 2mm em média. Em relação aos predadores, *H. axyridis* era o maior, e *C. sanguínea* o menor. Para este predador pode ser difícil capturar um afídeo de maior tamanho, da mesma forma que para *H. axyridis* capturar uma presa pequena pode ser desvantajoso do ponto de vista energético.

Segundo Hodek (1967) as presas podem ser classificadas como alternativas e essenciais. Os coccinellideos aceitam um alimento alternativo na ausência do alimento essencial e este lhe servirá apenas como fonte de energia, no entanto não permite seu pleno desenvolvimento que é alcançado a partir do consumo de presas essenciais que garantem o desenvolvimento larval e a oviposição do predador. De acordo com Omkar (2005) a preferência alimentar e a escolha da presa adequada também podem ser influenciados pelos próprios constituintes da planta hospedeira da presa e até mesmo pela sua arquitetura. Outros fatores tais como palatabilidade e qualidade nutricional da presa são citados por Rezende e Mazzoni (2006).

Omkar (2005) avaliou a preferência alimentar e o desempenho do coccinellideo *Propylea dissecta* alimentado com 7 diferentes espécies de afídeos. Observou que a preferência do coccinellideo foi por *A. craccivora* que também lhe proporcionou melhor desenvolvimento. O melhor desempenho pode ser atribuído a presença de nutrientes no afídeo em níveis adequados ao coccinellideo, e o alto consumo a sua melhor palatabilidade. Ainda segundo o autor, a alta palatabilidade de *A. craccivora* para *P. dissecta* pode ser atribuída a construção química da planta hospedeira da presa.

Hodek (1967) salientou que o consumo de determinada presa pode levar o predador a morte por conta de alguma substância química que pode ser tóxica ao predador e possivelmente seja requerida da planta hospedeira pela presa. Nesse aspecto Omkar (2005) observa que *H. axyridis*, quando alimentada com *A. craccivora* proveniente dos hospedeiros *Robinia pseudoacacia* e *Vicia faba* não conseguiu se desenvolver o que levou a morte do predador. No entanto, *A. craccivora* proveniente do hospedeiro *Dolichos lablab* propiciou o pleno desenvolvimento de *P. disssecta*.

Para Soares et al. (2004), a preferência de um predador por determinada presa está correlacionada com o desempenho que esta lhe proporcionará, preferindo presas mais adequadas ao seu desenvolvimento. No entanto, segundo Hodek (1993) a preferência alimentar de um predador pode não ser pela presa mais adequada ao seu desenvolvimento, longevidade e reprodução. O autor salienta como exemplo que embora o neuróptero *Micromus angulatus* prefira afídeos à uma mistura de açúcar e levedura, este último alimento foi o mais favorável a sobrevivência e reprodução do predador.

Outros fatores também podem estar relacionados com a escolha da presa. Soares et al. (2004) citam a preferência dos coccinelídeos por certos habitats, sincronia do ciclo de vida da presa com o seu ciclo de vida e a associação da presa com a planta hospedeira como fatores que também influenciam a preferência alimentar.

O conhecimento da preferência alimentar de um predador, assim como de outros fatores relacionados, tais como a flutuação populacional das espécies de afídeos e da diversidade de predadores, fornece subsídios importantes que auxiliam a escolha de espécies que possam ser utilizadas em programas de controle biológico, tornando mais eficiente o controle de uma determinada praga.

#### 4 Conclusões

- Os antissoros para os afídeos *Aphis craccivora*, *Acyrtosiphon pisum* e *Therioaphis trifolii* f. *maculata* não foram específicos.
- Foi possível através da serologia reconhecer predadores de afídeos em alfafa;
- Os testes de laboratório mostram que houve preferência alimentar dos coccinelídeos *Cycloneda sanguínea*, *Harmonia axyridis* e *Hippodamia convergens* pelo afídeo *Aphis craccivora*.
- Sirfídeos e crisopídeos foram proporcionalmente os predadores com maior número de resultados serológicos positivos.
- Predadores congelados por um período de até 14 meses mostraram resultados positivos nos testes serológicos com os antissoros AsAc, AsAp e AsTt.
- Os testes serológicos para verificar a influência da quantidade, espécie de afídeo e tempo após ter sido consumido pelo predador, mostraram que as reações serológicas positivas são detectadas até 24 horas do consumo da presa pelo predador.

## 5. Referências Bibliográficas

- AFONSO, A. P. S. 2008. Insetos pragas da alfafa. *In*: MITTELMANN, A.; LEDO, F.J.S.; GOMES, J.F. **Tecnologias para produção de alfafa no Rio Grande do Sul**. EMBRAPA – Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado, Pelotas RS/ Juiz de Fora MG, p. 18-33.
- ALMEIDA, L.M.; SILVA, V.B. 2002. Primeiro registro de *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae): um coccinélídeo originário da região paleártica. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.19, n.3, p. 941-944.
- ALVAREZ, J. M. M.; VAZQUEZ, M. A. Z.; GONZALEZ, N.; VIZA, D.; CROCHE, G.; SOTOMAYOR, E.; CRUZ, B.; RAMOS, N. 2005. Preferencia alimentaria de *Cycloneda sanguinea* L. (Coleoptera: Coccinellidae) a diferentes espécies plagas. **Revista Agrotecnia de Cuba**.
- AGARWALA, B.K.; BARDHANROY, P.; YASUDA, H.; TAKIZAWA, T. 2001. Prey consumption and oviposition of the aphidophagous predator *Menochilus sexmaculatus* (Coleoptera: Coccinellidae) in relation to prey density and adult size. **Environmental Entomology**. v.30, n.6, p. 1182-1187.
- BASTOS, C.S.; TORRES, J.B. 2005. **Controle biológico e manejo de pragas do algodoeiro**. Embrapa. Campina Grande, PB. Circular técnica. 63p.
- BLACKMAM, R.L.; EASTOP, V. F. 1994. **Aphids on the world's crops: an identification guide**. CAB International, 1000p.
- BRADFORD, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. v.72, p.248-254.
- BUENO, V. H.P.; SILVA, A.C. 2008. Pragmas na cultura de alfafa. *In*: FERREIRA, R. P.; RASSINI, J. B.; RODRIGUES, A. A.; FREITAS, A. F.; CAMARGO, A. C.;

- MENDONÇA, F. C. **Cultivo e utilização da alfafa nos trópicos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, p. 289-316.
- CABRAL, C.C.; NUÑEZ, L.A. 2011. Ciclo de vida e consumo larval de *Cycloneda sanguinea* e de *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) alimentados com *Toxoptera citricida* e *Aphis craccivora* (Hemiptera: Aphididae) em condições de laboratório. **Simpósio de controle biológico**, 12º Sincobiol. “Mudanças climáticas e sustentabilidade: quebra de paradigmas” p. 415-416.
- CASSARO-SILVA, M.; SERRÃO, J.E.; SOUSA-SILVA, C.R.; MARQUES-PACHECO, J. 2001. Identificação de predadores de *Orphulella punctata* (de Geer) (Orthoptera: Acrididae) através de serologia. **Revista Brasileira de Zoologia**. v.18, n.1, p. 75-79.
- COSTA, F. 2011. **Análise comparativa da predação de *Toxoptera citricidus* (Kirkaldy) e *Aphis spiraecola* (Patch) (Hemiptera: Aphididae) por artrópodes, em cultura de citrus, através de serologia**. Tese de doutorado. Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais. UFSCar. 76p.
- COSTA, F.; LOFFREDO, A.P.; ONODY, H.C.; SOUSA-SILVA, C.R. 2009. Utilização da serologia na identificação de *Ascia monuste orseis* (Latreille, 1819) (Lepidoptera: Pieridae) **Acta Scientiarum**. Biological sciences v.31, n.2 p.149-157.
- DEMPSTER, J.P. 1960. A quantitative study of the predators on the eggs and larvae of the broom beetle *Phytodecta olivaceae* Forster, using the precipitation test. **Journal of Animal Ecology** v. 29, p. 149-167.
- EMBRAPA. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 2012.  
Disponível em: <<http://www.cppse.embrapa.br>>.

- FERRAGINE, M. D.C. 2003. **Determinantes morfofisiológicos de produtividade e persistência de genótipos de alfafa sob pastejo**. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz, Universidade de São Paulo, 130p.
- GARDNER, W.A.; SHEPARD, B.M.; NOBLET, R. 1981. Precipitin test for examining predator-prey interactions in soybeans fields. **The Canadian Entomologist**. v.113, n.5, p. 365-369.
- GIORGI, J.A.; VANDENBERG, N.J.; MCHUNG, J.V.; FORRESTER, J.A.; SLIPINSKI, A.; MILLER, K.B.; SHAPIRO, L.R.; WHITING, M.F. 2009. The evolution of food preferences in coccinellidae. **Biological Control**. v.51, p. 215-231.
- GORDON, R.D. 1985. The Coccinellidae (Coleoptera) of America north of Mexico. **Journal of the New York Entomological Society** n.93. p. 1-912.
- GREENSTONE, M.H.; HUNT, J.H. 1993 Determination of prey antigen half-life in *Polistes metricus* using a monoclonal antibody-based immunodot assay. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. v.68, p. 1-7.
- HARDWOOD, J.D.; OBRYCKI, J. 2005. Quantifying aphid predation rates generalist predators in the field. **European Journal Entomology** v.102, p. 335-350.
- HARDWOOD, J.D.; PHILLIPS, S.W.; SURDERLAND, K.D.; SYMONDSON, W.O.C. 2001. Secondary predation: quantification of food chain errors in an aphids-spiders-carabid system using monoclonal antibodies. **Molecular Ecology**, v.10, p. 2049-2057.
- HODEK, I. 1967. Bionomics and ecology of predaceous Coccinellidae. **Annual Review of Entomology**. n. 12, p. 79-104.
- HODEK, I. 1993. Habitat and food specificity in aphidophagous predators. **Biocontrol science and Technology**. n. 3, p. 91-100.

- ILHARCO, F. A. 1992. **Equilíbrio biológico de afídeos**. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, Portugal: 300 p.
- KALVELAGE, H. 1990. Principais insetos que atacam a cultura da alfafa no Brasil. *In*: NUERNBERG, N. J. ; MILAN, P. A.; SILVEIRA, C. A. M. **Manual de produção da alfafa**. Florianópolis: Empresa Catarinense de pesquisa Agropecuária, p. 63-86.
- KATO, C. M.; BUENO, V. H. P.; MORAIS, J. C.; AUAD, A. M. 1999. Criação de *Hippodamia convergens* Guérin-meneville (Coleoptera: Coccinellidae) em ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.28, n.3, p. 455-459.
- KREBS, C. J. 1989. **Ecological Methodology**. New York, Harper Collins Publishers. 654p.
- LAZZARI, S. M.N.; CARVALHO, R. C. Z. ; FURIATTI, R. S.; MELLO, M. E. F. 1996. The spotted alfalfa aphid, *Therioaphis trifolii* (Monell) f. *maculata* in Brazil: first record. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.25, n.1, p. 153-155.
- LUCAS, E.; CODERRE, D.; VINCENT, C. 1997. Voracity and feeding preferences of two aphidaphagous coccinellids on *Aphis citricola* and *Tetranychus urticae*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. v.85, p. 151-159.
- LUCK, R.F., SHEPARD, B.M.; KENMORE, P.E.1988. Experimental methods for evaluating arthropod natural enemies. **Annual Review Entomology**. v.33, p.367-91.
- MCIVER, J.D.1981. An examination of the utility of the precipitin test for evaluation of arthropod predator-prey relationships. **The Canadian Entomologist**. v. 113, n.3, p. 213-222.

- MENDES, S.; CERVIÑO, M. N.; BUENO, V. H. P.; AUAD, A. M. 2000. Diversidade de pulgões e de seus parasitóides e predadores na cultura da alfafa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.7, p.1305-1310, jul.
- MOLLET, J.A.; ARMBRUST, 1985. J. Age specific serological identification of adult stages of alfalfa weevil, *Hypera postica*. **Annals of the Entomological Society of America**. v.71, n.2, p.207-211.
- MORAIS, E.G.F. 2010. **Fatores determinantes do ataque dos pulgões *Brevicoryne brassicae*, *Lipaphis erysimi* e *Myzus persicae* ao repolho**. Tese de doutorado. Universidade Federal de Viçosa, MG. 103p.
- OHIAGU, C.E.; BOREHAM, P.F.L. 1978. A simple field test for evaluating insect prey-predator relationships. **Entomologia Experimentalis et applicata**. v.23, p.40-47.
- OMKAR, G. M. 2005. Preference-performance of a generalist predatory ladybird: A laboratory study. **Biological Control**. n. 34, p. 187-195.
- OUCHTERLO Y, O. 1958. Diffusion in gel methods for immunological analysis, p. 1-78/11: S. KARGER (Ed.). **Progress in allergy**. New York, Plenum Press, 312p.
- PEREIRA, A. V. 2008. Cultivares de alfafa. In: FERREIRA, R. P.; RASSINI, J. B.; RODRIGUES, A. A.; FREITAS, A. F.; CAMARGO, A. C.; MENDONÇA, F. C. **Cultivo e utilização da alfafa nos trópicos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, p. 289-316.
- PINTO, T.L.F. 2009. **Preferência alimentar por insetos aquáticos em espécies de peixe de um riacho tropical**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual paulista, UNESP. 115 p.
- REZENDE, C. F.; MAZZONI, R. 2006. Disponibilidade e uso de recursos alóctones por *Bryconamericus microcephalus* (Miranda- Ribeiro) (Actinopterygii,

- Characidae), no córrego Andorinha, Ilha Grande, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**. v.23, n.1, p. 218-222.
- RODRIGUES, W. C.; CASSINO, P. C. R.; SILVA-FILHO, R. 2008. Ocorrência e distribuição de Coccinélídeos (Coleoptera, Coccinellidae) associados às plantas cítricas no estado do Rio de Janeiro. **Entomobrasilis**, v.1, n.2, p. 23-27.
- ROTHSCHILD, G.H.L. 1966. A study of a natural population of *Conomelus anceps* (Germar) (Homoptera, Delphacidae) including observations on predation using the precipitin test. **Journal of Animal Ecology**, v.35, n.3, p. 413-434.
- SANTOS, S.A.P.; PEREIRA, J.A.; RODRIGUES, M.C.; TORRES, L.M.; PEREIRA, A.M.N.; NOGUEIRA, A.J.A. 2009. Identification of predator-prey relationships between coccinellids and *Saissetia oleae* (Hemiptera: Coccidae), in olives groves, using an enzyme-linked immunorbent assay. **Journal of Pest Science**. v.82, p. 101-108.
- SANTOS- NETO, J.R.; MIZENCO, J.M.S.;CHAGAS, A.T.A.; MICHEREFF-FILHO, M.; SERRÃO, J.E. 2010. Use of serological techniques for determination of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) predators (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**. v.39 ,n.3 p. 420-423.
- SARAN, E.D.; THOMAZONI, D.; SERRA, A.P.; DEGRANDE, P. 2007. **Manual dos insetos benéficos do algodoeiro**. FMC- Química do Brasil- Campinas, v.1, 227p.
- SCORZA JUNIOR, R.P.; AQUINO, L.H.; BUENO, V. H.P. 1996. Plano de amostragem sequencial para avaliação de infestação de *Therioaphis trifolii* (Monell) f. maculata (Homoptera: Aphididae) em Albany, Califórnia, EUA. **Ciência e Agrotecnologia** Lavras, v.20, n.3, p. 346-351, jul/set.
- SERRÃO, J. E.; SILVA, M.; SOUSA-SILVA, C. R.; PACHECO, J. M.1997. Uso de Serologia na Identificação de Predadores de *Orphulella punctata* (De Geer)

- (Orthoptera: Acrididae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**.v. 26, n.2. p. 375-378.
- SOARES, A. O.; CODERRE, D.; SCHANDERL, H. 2004. Dietary self-selection behavior by the adults of the aphidophagous ladybeetle *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). **Journal of Animal Ecology**. n. 73, p. 478-486.
- SOUSA-SILVA, C. R. 1980. **Uso de radiotraçador e serologia no estudo das relações alimentares entre a broca da cana-de-açúcar *Diatrea saccharalis* (Fabr.1974) e artrópodes predadores**. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz. Universidade de São Paulo, 63p.
- SOUSA-SILVA, C.R. 1985. **Serologia aplicada ao estudo de *Deois flavopicta* (Stal, 1854) (Homoptera: Cercopidae)**. Tese de doutorado. Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz. Universidade de São Paulo, 99p.
- SOUSA-SILVA, C. R.; ILHARCO, F. A. **Afídeos do Brasil e suas plantas hospedeiras (lista preliminar)**. Edufscar: 1995, 85p.
- SOUSA-SILVA, C. R.; PACHECO, J. M.; RASSINI, J. B.; ILHARCO, F. A.1998. Afídeos da alfafa no Brasil (Homoptera, Aphidoidea). **Revista Brasileira de Entomologia**. v.41, (2-4) p. 285-288.
- SUJII, E.R.; BESERRA, V.A.; RIBEIRO, P.H.; SILVA-SANTOS, P.V.; PIRES, C.S.S.; SCHIMIDT, F.G.V.; FONTES, E.M.G.; LAUMAN, R.A. 2007. Comunidade de inimigos naturais e controle biológico natural do pulgão *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) e do curuquerê *Alabama argilacea* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do algodoeiro no Distrito Federal. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v.74, n.4, p. 329-336 out/dez.

- SUNDERLAND K.D.; CROOK, N.E.; STACEY, D.L.; FULLER, B.J. 1987. A study of feeding by polyphagous predators on cereal aphids using ELISA and gut dissection. **Journal of Applied Ecology**, v.24, n.3, p.907-933.
- TITOVA, E. V. 1970. Use of precipitin test in a study of interrelationship between *Eurygaster integriceps* Put (Hemiptera: Scuteleridae) and predatory arthropods. **Entomological Review**, v.49, n.2, p.155-16.
- VICKERMAN, G.P.; SUNDERLAND, K.D. 1975. Arthropods in cereal crops: nocturnal activity, vertical distribution and aphid predation. **Journal of Applied Ecology**, v.12, n.3, p. 755-766.

## **ANEXOS**

ANEXO 1. Data das inoculações do antígeno *Acyrtosiphon pisum* no coelho, sangrias e antissoros obtidos.

Data das inoculações	Data das sangrias	Antissoros obtidos
-	7/3/12	SN*
1 <sup>a</sup> - 7/3/12	-	-
2 <sup>a</sup> - 14/3/12	14/3/12	ASAP <sub>1</sub>
3 <sup>a</sup> - 21/3/12	21/3/12	ASAP <sub>2</sub>
4 <sup>a</sup> - 28/3/12	28/3/12	ASAP <sub>3</sub>
5 <sup>a</sup> - 4/4/12	4/4/12	ASAP <sub>4</sub>
6 <sup>a</sup> - 11/4/12	11/4/12	ASAP <sub>5</sub>
7 <sup>a</sup> - 18/4/12	18/4/12	ASAP <sub>6</sub>
-	25/4/12	ASAP <sub>7</sub>
-	-	-
8 <sup>a</sup> - 30/7/12	-	-
9 <sup>a</sup> - 3/8/12	3/8/12	ASAP <sub>8</sub>
-	6/8/12	ASAP <sub>9</sub>
-	7/8/12	ASAP <sub>10</sub>
-	8/8/12	ASAP <sub>11</sub>
10 <sup>a</sup> - 10/8/12	10/8/12	ASAP <sub>12</sub>
-	13/8/12	ASAP <sub>13</sub>
-	14/8/12	ASAP <sub>14</sub>

\*SN: Soro normal, - : ausência de inoculação ou sangria

ANEXO 2. Data das inoculações do antígeno *Aphis craccivora* no coelho, sangrias e antissoros obtidos.

Data das inoculações	Data das sangrias	Antissoros obtidos
-	11/11/11	SN*
1 <sup>a</sup> - 11/11/11	-	-
2 <sup>a</sup> - 22/11/11	22/11/11	ASAC <sub>1</sub>
3 <sup>a</sup> - 30/11/11	30/11/11	ASAC <sub>2</sub>
-	1/12/11	ASAC <sub>3</sub>
-	5/12/11	ASAC <sub>4</sub>
4 <sup>a</sup> - 9/12/11	9/12/11	ASAC <sub>5</sub>
5 <sup>a</sup> - 19/12/11	19/12/11	ASAC <sub>6</sub>
-	20/12/11	ASAC <sub>7</sub>
-	21/12/11	ASAC <sub>8</sub>
-	22/12/11	ASAC <sub>9</sub>
-	23/12/11	ASAC <sub>10</sub>
6 <sup>a</sup> - 26/12/11	26/12/11	ASAC <sub>11</sub>
-	27/12/11	ASAC <sub>12</sub>
-	2/1/12	ASAC <sub>13</sub>
-	3/1/12	ASAC <sub>14</sub>
-	9/1/12	ASAC <sub>15</sub>
-	17/1/12	ASAC <sub>16</sub>
7 <sup>a</sup> - 7/3/12	7/3/12	ASAC <sub>17</sub>
8 <sup>a</sup> - 14/3/12	14/3/12	ASAC <sub>18</sub>
9 <sup>a</sup> - 21/3/12	21/3/12	ASAC <sub>19</sub>
10 <sup>a</sup> - 28/3/12	28/3/12	ASAC <sub>20</sub>
11 <sup>a</sup> - 4/4/12	4/4/12	ASAC <sub>21</sub>
12 <sup>a</sup> - 11/4/12	11/4/12	ASAC <sub>22</sub>
13 <sup>a</sup> - 18/4/12	18/4/12	ASAC <sub>23</sub>

*Continuação anexo 2*

-	25/4/12	ASAC <sub>24</sub>
14 <sup>a</sup> - 10/7/12	-	-
-	11/7/12	ASAC <sub>25</sub>
-	12/7/12	ASAC <sub>26</sub>
-	13/7/12	ASAC <sub>27</sub>
15 <sup>a</sup> - 16/7/12	-	-
-	17/7/12	ASAC <sub>28</sub>
-	18/7/12	ASAC <sub>29</sub>
-	19/7/12	ASAC <sub>30</sub>
-	20/7/12	ASAC <sub>31</sub>
-	-	-
16 <sup>a</sup> - 23/7/12	23/7/12	ASAC <sub>32</sub>
-	24/7/12	ASAC <sub>33</sub>
-	25/7/12	ASAC <sub>34</sub>
-	26/7/12	ASAC <sub>35</sub>
-	27/7/12	ASAC <sub>36</sub>
17 <sup>a</sup> - 30/7/12	-	-
-	1/8/12	ASAC <sub>37</sub>
18 <sup>a</sup> - 3/8/12	3/8/12	ASAC <sub>38</sub>
-	6/8/12	ASAC <sub>39</sub>
-	7/8/12	ASAC <sub>40</sub>
19 <sup>a</sup> - 10/8/12	10/8/12	ASAC <sub>41</sub>
-	13/8/12	ASAC <sub>42</sub>
-	14/8/12	ASAC <sub>43</sub>

---

\*SN: Soro normal, -: ausência de inoculação ou sangria

ANEXO 3. Data das inoculações do antígeno *Therioaphis trifolli* no primeiro coelho, sangrias e antissoros obtidos.

Data das inoculações	Data das sangrias	Antissoros obtidos
-	19/09/11	SN*
1 <sup>a</sup> - 19/09/11	-	-
2 <sup>a</sup> - 26/09/11	26/09/11	ASTT <sub>1</sub>
3 <sup>a</sup> - 3/10/11	3/10/11	ASTT <sub>2</sub>
4 <sup>a</sup> - 9/10/11	9/10/11	ASTT <sub>3</sub>
5 <sup>a</sup> - 19/10/11	19/10/11	ASTT <sub>4</sub>
6 <sup>a</sup> - 27/10/11	27/10/11	ASTT <sub>5</sub>

\*SN: Soro normal, -: ausência de inoculação ou sangria

ANEXO 4. Data das inoculações do antígeno *Therioaphis trifolli* no segundo coelho, sangrias e antissoros obtidos.

Data das inoculações	Data das sangrias	Antissoros obtidos
-	11/11/11	SN*
1 <sup>a</sup> - 11/11/11	-	-
2 <sup>a</sup> - 22/11/11	22/11/11	ASTT <sub>1</sub>
3 <sup>a</sup> - 30/11/11	30/11/11	ASTT <sub>2</sub>
-	1/12/11	ASTT <sub>3</sub>
-	5/12/11	ASTT <sub>4</sub>
4 <sup>a</sup> - 9/12/11	9/12/11	ASTT <sub>5</sub>
5 <sup>a</sup> - 19/12/11	19/12/11	ASTT <sub>6</sub>
-	20/12/11	ASTT <sub>7</sub>
-	21/12/11	ASTT <sub>8</sub>
-	22/12/11	ASTT <sub>9</sub>
-	23/12/11	ASTT <sub>10</sub>
6 <sup>a</sup> - 26/12/11	26/12/11	ASTT <sub>11</sub>
-	27/12/11	ASTT <sub>12</sub>
7 <sup>a</sup> - 5/1/12	5/1/12	ASTT <sub>13</sub>
-	6/1/12	ASTT <sub>14</sub>
8 <sup>a</sup> - 16/1/12	16/1/12	ASTT <sub>15</sub>
-	17/1/12	ASTT <sub>16</sub>
9 <sup>a</sup> - 26/1/12	26/1/12	ASTT <sub>17</sub>
-	27/1/12	ASTT <sub>18</sub>

\*SN: Soro normal, -: Ausência de inoculação ou sangria

ANEXO 5. Data das inoculações do antígeno *Therioaphis trifolli* no terceiro coelho, sangrias e antissoros obtidos.

Data das inoculações	Data das sangrias	Antissoros obtidos
-	7/3/12	SN*
1 <sup>a</sup> - 7/3/12	-	-
2 <sup>a</sup> - 14/3/12	14/3/12	ASTT <sub>1</sub>
3 <sup>a</sup> - 21/3/12	21/3/12	ASTT <sub>2</sub>
4 <sup>a</sup> - 28/3/12	28/3/12	ASTT <sub>3</sub>
5 <sup>a</sup> - 4/4/12	4/4/12	ASTT <sub>4</sub>
6 <sup>a</sup> - 11/4/12	11/4/12	ASTT <sub>5</sub>
7 <sup>a</sup> - 18/4/12	18/4/12	ASTT <sub>6</sub>
-	25/4/12	ASTT <sub>7</sub>
8 <sup>a</sup> - 6/9/12	-	-
9 <sup>a</sup> - 10/9/12	10/9/12	ASTT <sub>8</sub>
10 <sup>a</sup> - 13/9/12	13/9/12	ASTT <sub>9</sub>
11 <sup>a</sup> - 17/9/12	17/9/12	ASTT <sub>10</sub>

\*SN: Soro normal, -: Ausência de inoculação ou sangria

ANEXO 6. Predadores coletados, de agosto de 2011 a julho de 2012, e testados através da técnica serológica. Os números entre parênteses ( ) indicam os resultados positivos. **Coc**= Coccinellidae, **LCoc**= Larvas de Coccinellidae, **Cri**= Larvas de Chrysopidae, **Sir**= Larvas de Syrphidae, **Red**= Reduviidae, **Car**= Carabidae, **Pen**= Pentatomidae, **Geo**= Geocoridae, **Der**= Dermaptera, **Nab**= Nabidae e **Ara**= Aracnídeos.

<b>Data/Coleta</b>	<b>Coc</b>	<b>LCoc</b>	<b>Cri</b>	<b>Sir</b>	<b>Red</b>	<b>Car</b>	<b>Pen</b>	<b>Geo</b>	<b>Der</b>	<b>Nab</b>	<b>Ara</b>
17/8/11	21(4)	1(0)	0	3(3)	0	0	0	0	0	0	4(1)
24/8/11	5(0)	0	1(1)	0	0	1(0)	0	2(0)	0	4(0)	0
31/8/11	5(0)	3(0)	0	0	0	0	3(0)	0	0	3(1)	3(1)
9/9/11	19(6)	0	5(2)	0	0	0	7(0)	4(1)	0	11(4)	7(0)
28/9/11	13(9)	2(1)	0	0	0	0	0	0	0	0	2(0)
4/10/11	39(15)	2(1)	0	0	0	0	3(0)	0	0	0	0
13/10/11	12(3)	1(0)	1(1)	0	0	0	1(0)	0	0	2(1)	12(2)
24/10/11	31(12)	3(2)	0	0	0	0	0	0	0	0	4(1)
2/11/11	8(4)	0	0	4(3)	0	2(0)	0	0	0	12(5)	0
9/11/11	21(8)	0	0	0	0	0	1(0)	0	0	0	1(0)

## Continuação anexo 6

<b>Data/Coleta</b>	<b>Coc</b>	<b>LCoc</b>	<b>Cri</b>	<b>Sir</b>	<b>Red</b>	<b>Car</b>	<b>Pen</b>	<b>Geo</b>	<b>Der</b>	<b>Nab</b>	<b>Ara.</b>
28/11/11	6(2)	0	5(4)	0	0	0	0	0	0	0	3(0)
5/12/11	9(2)	1(1)	0	0	0	0	1(0)	0	0	0	1(0)
12/12/11	71(15)	2(0)	0	0	0	0	1(0)	0	0	0	1(0)
21/12/11	34(9)	1(0)	0	0	0	0	1(0)	0	0	2(1)	2(0)
3/1/12	4(1)	2(1)	3(1)	6(4)	1(1)	0	0	1(0)	0	0	0
30/1/12	0	0	0	1(1)	1(0)	2(0)	2(0)	0	0	8(3)	6(1)
3/2/12	3(2)	1(0)	0	2(2)	0	0	0	4(0)	0	1(1)	5(0)
15/2/12	97(19)	5(3)	0	0	0	2(0)	9(0)	0	0	23(11)	29(7)
24/2/12	0	0	0	0	0	1(0)	5(0)	1(0)	0	1(0)	3(0)
29/2/12	86(9)	8(6)	0	7(4)	0	2(1)	6(0)	0	0	1(1)	5(1)
8/3/12	79(10)	20(14)	0	0	0	0	2(1)	0	0	0	0

## Continuação anexo 6

<b>Data/Coleta</b>	<b>Coc</b>	<b>LCoc</b>	<b>Cri</b>	<b>Sir</b>	<b>Red</b>	<b>Car</b>	<b>Pen</b>	<b>Geo</b>	<b>Der</b>	<b>Nab</b>	<b>Ara.</b>
14/3/12	137(10)	3(3)	0	0	0	1(0)	0	0	0	0	0
21/3/12	73(8)	0	0	0	2(0)	0	0	0	0	0	3(1)
28/3/12	126(22)	14(2)	0	5(2)	0	0	0	1(0)	0	0	2(0)
4/4/12	41(7)	0	0	1(0)	6(2)	0	13(1)	0	0	20(6)	47(4)
11/4/12	71(6)	0	0	0	3(1)	3(0)	12(2)	5(0)	9(0)	33(9)	69(5)
18/4/12	141(50)	0	0	5(3)	1(1)	7(2)	6(0)	12(6)	1(0)	33(8)	46(5)
3/5/12	48(10)	2(0)	1(1)	2(2)	1(1)	1(0)	3(0)	14(5)	1(0)	0	6(1)
11/5/12	129(46)	0	0	6(4)	2(1)	1(0)	0	3(2)	2(1)	1(1)	1(0)
22/5/12	46(10)	0	0	2(2)	0	0	0	0	0	1(1)	1(0)
20/7/12	28(12)	0	4(3)	11(7)	0	1(0)	0	8(1)	0	0	3(2)
<b>Total</b>	<b>1404(309)</b>	<b>71(34)</b>	<b>20(13)</b>	<b>55(37)</b>	<b>17(7)</b>	<b>24(3)</b>	<b>76(4)</b>	<b>55(15)</b>	<b>13(1)</b>	<b>156(53)</b>	<b>266(32)</b>

ANEXO 7. Coccinelídeos coletados, no período de agosto de 2011 a julho de 2012, e testados serologicamente com os antissoros AsAc, AsTt e AsAp. Entre parênteses indica-se o número de resultados positivos nas reações serológicas.

<b>Data/coleta</b>	<b><i>C. sanguinea</i></b>	<b><i>E. connexa</i></b>	<b><i>H. convergens</i></b>	<b><i>H. axyridis</i></b>	<b><i>C. maculata</i></b>
17/8/11	4(0)	2(0)	11(3)	3(1)	0
9/9/11	4(1)	1(0)	14(5)	0	0
28/9/11	4(3)	3(2)	6(4)	0	0
4/10/11	11(6)	0	27(9)	1(0)	0
13/10/11	2(0)	2(1)	8(2)	0	0
24/10/11	0	0	30(12)	1(0)	0
2/11/11	0	0	4(1)	4(3)	0
9/11/11	5(1)	4(1)	7(6)	5(0)	0
28/11/11	0	1(0)	2(1)	3(1)	0
5/12/11	3(1)	0	4(1)	2(0)	0
12/12/11	8(3)	0	52(11)	11(1)	0
21/12/11	7(2)	0	27(7)	0	0
3/1/12	2(0)	0	0	2(1)	0
3/2/12	1(0)	1(1)	0	1(1)	0
15/2/12	23(3)	2(0)	15(5)	57(11)	1(0)
29/2/12	5(0)	0	23(4)	58(5)	0
8/3/12	3(0)	1(0)	13(3)	62(7)	0
14/3/12	4(0)	0	3(1)	130(9)	0
21/3/12	1(0)	0	13(0)	59(8)	0
28/3/12	7(1)	0	8(5)	111(16)	0
4/4/12	2(1)	0	1(0)	38(6)	0
11/4/12	3(1)	0	5(1)	63(4)	0

Continuação anexo 7

<b>Data/coleta</b>	<b><i>C. sanguinea</i></b>	<b><i>E. connexa</i></b>	<b><i>H. convergens</i></b>	<b><i>H. axyridis</i></b>	<b><i>C. maculata</i></b>
18/4/12	13(5)	2(1)	31(13)	95(31)	0
3/5/12	5(1)	1(0)	4(0)	38(7)	0
11/5/12	50(14)	4(2)	70(28)	4(2)	1(0)
22/5/12	16(6)	3(1)	27(3)	0	0
20/7/12	23(12)	5(0)	0	0	0
<b>Total</b>	<b>213(61)</b>	<b>32(9)</b>	<b>409(125)</b>	<b>748(114)</b>	<b>2(0)</b>

Anexo 8. Cálculo do índice de Eletividade e Ivlev (IEI) para cada um dos 40 indivíduos de *Hippodamia convergens* alimentados com os afídeos *Aphis craccivora*, *Acyrtosiphon pisum* e *Therioaphis trifolii* f. *maculata*.

<i>H. convergens</i>	<i>A. craccivora</i>	<i>A. pisum</i>	<i>T. trifolii</i>
1	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI= 0
2	3/6, ri=0,5; IEI= 0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI= 0
3	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI= 0	2/6, ri=0,33; IEI= 0
4	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI= 0
5	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
6	3/6, ri=0,5; IEI= 0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI= 0
7	3/6, ri=0,5; IEI= 0,20	2/6, ri=0,33; IEI= 0	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
8	3/6, ri=0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI= 0
9	3/6, ri=0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI= 0
10	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI= 0	2/6, ri=0,33; IEI= 0
11	3/6, ri=0,5; IEI=0,20	0/6, ri=0; IEI= -1	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20
12	3/6, ri=0,5; IEI=0,20	2/6, ri=0,33; IEI=0	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
13	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
14	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	2/6, ri=0,33; IEI= 0	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
15	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	0/6, ri=0; IEI= -1	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20
16	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI= 0
17	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	0/6, ri=0; IEI= -1	2/6, ri=0,33; IEI= 0
18	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI= 0
19	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI= 0
20	2/6, ri=0,33; IEI= 0	2/6, ri=0,33; IEI= 0	2/6, ri=0,33; IEI= 0
21	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	2/6, ri=0,33; IEI= 0	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
22	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI= 0
23	2/6, ri=0,33; IEI= 0	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20

*Continuação anexo 8*

24	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	0/6, ri=0; IEI= -1	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20
25	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	0/6, ri=0; IEI= -1	2/6, ri=0,33; IEI= 0
26	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	2/6, ri=0,33; IEI= 0	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
27	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	2/6, ri=0,33; IEI= 0	0/6, ri=0; IEI= -1
28	2/6, ri=0,33; IEI= 0	2/6, ri=0,33; IEI= 0	2/6, ri=0,33; IEI= 0
29	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI= 0
30	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	2/6, ri=0,33; IEI= 0	0/6, ri=0; IEI= -1
31	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
32	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI= 0
33	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	0/6, ri=0; IEI= -1	2/6, ri=0,33; IEI= 0
34	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI= 0
35	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	0/6, ri=0; IEI= -1	2/6, ri=0,33; IEI= 0
36	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	2/6, ri=0,33; IEI= 0	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
37	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	2/6, ri=0,33; IEI= 0	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
38	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI= 0
39	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI= 0
40	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI= 0

---

ANEXO 9. Calculo do índice de Eletividade e Ivlev (IEI) para cada um dos 40 indivíduos de *Harmonia axyridis* alimentados com os afídeos *Aphis craccivora*, *Acyrtosiphon pisum* e *Therioaphis trifolii* f. *maculata*.

<i>H. axyridis</i>	<i>A craccivora</i>	<i>A pisum</i>	<i>T. trifolii</i>
1	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
2	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	2/6, ri=0,33; IEI=0	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
3	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0
4	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0
5	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI=0
6	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	2/6, ri=0,33; IEI=0	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
7	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	0/6, ri=0; IEI= -1
8	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	0/6, ri=0; IEI= -1	2/6, ri=0,33; IEI=0
9	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	0/6, ri=0; IEI= -1	2/6, ri=0,33; IEI=0
10	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0
11	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	0/6, ri=0; IEI= -1
12	2/6, ri=0,33; IEI=0	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
13	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	0/6, ri=0; IEI= -1	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20
14	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	0/6, ri=0; IEI= -1	2/6, ri=0,33; IEI=0
15	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	2/6, ri=0,33; IEI=0	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
16	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	0/6, ri=0; IEI= -1	2/6, ri=0,33; IEI=0
17	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0
18	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
19	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
20	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI=0
21	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
22	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	2/6, ri=0,33; IEI=0	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
23	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI=0

*Continuação anexo 9*

24	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	2/6, ri=0,33; IEI=0	0/2, ri=0; IEI= -1
25	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI=0
26	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
27	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
28	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	2/6, ri=0,33; IEI=0	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
29	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	0/6, ri=0; IEI= -1	2/6, ri=0,33; IEI=0
30	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI=0
31	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	0/6, ri=0; IEI= -1
32	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	2/6, ri=0,33; IEI=0	0/6, ri=0; IEI= -1
33	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	0/6, ri=0; IEI= -1	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20
34	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI=0
35	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
36	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI=0
37	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
38	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	0/6, ri=0; IEI= -1	2/6, ri=0,33; IEI=0
39	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI=0
40	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0

---

ANEXO 10. Calculo do índice de Eletividade e Ivlev (IEI) para cada um dos 40 indivíduos de *Cycloneda sanguinea* alimentados com os afídeos *Aphis craccivora*, *Acyrtosiphon pisum* e *Therioaphis trifolii* f. *maculata*.

<i>C. sanguinea</i>	<i>A craccivora</i>	<i>A pisum</i>	<i>T. trifolii</i>
1	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
2	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	2/6, ri=0,33; IEI=0	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
3	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
4	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
5	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	0/6, ri=0; IEI= -1	2/6, ri=0,33; IEI=0
6	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0
7	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI=0
8	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
9	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	2/6, ri=0,33; IEI=0	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
10	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	2/6, ri=0,33; IEI=0	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
11	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0
12	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	0/6, ri=0; IEI= -1	2/6, ri=0,33; IEI=0
13	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0
14	2/6, ri=0,33; IEI=0	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20
15	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
16	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI=0
17	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI=0
18	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0
19	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	0/6, ri=0; IEI= -1	2/6, ri=0,33; IEI=0
20	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	0/6, ri=0; IEI= -1	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20
21	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	0/6, ri=0; IEI= -1	2/6, ri=0,33; IEI=0
22	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
23	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI=0

*Continuação anexo 10*

24	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
25	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	2/6, ri=0,33; IEI=0	0/6, ri=0; IEI= -1
26	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	2/6, ri=0,33; IEI=0	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
27	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0
28	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	0/6, ri=0; IEI= -1	2/6, ri=0,33; IEI=0
29	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
30	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI=0
31	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
32	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
33	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI=0
34	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0
35	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0	2/6, ri=0,33; IEI=0
36	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
37	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI=0
38	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34
39	3/6, ri= 0,5; IEI=0,20	1/6, ri=0,16; IEI= -0,34	2/6, ri=0,33; IEI=0
40	4/6, ri=0,66; IEI=0,33	0/6, ri=0; IEI= -1	2/6, ri=0,33; IEI=0

---