

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

**PLASTICIDADE FISIOLÓGICA,
COMPORTAMENTAL E MORFOLÓGICA DE
Brevicoryne brassicae (L. 1758) (HEMIPTERA:
APHIDIDAE) NA UTILIZAÇÃO DE DISTINTOS
HOSPEDEIROS.**

CRISTIANE DIAS PEREIRA

**Profa Dra Cecília Lomônaco de Paula
(Orientadora)**

UBERLÂNDIA-MG

2001

SISBI/UFU



1000201940

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

MON
575.51
7436 P
TES/MEM

**PLASTICIDADE FISIOLÓGICA,
COMPORTAMENTAL E MORFOLÓGICA DE
Brevicoryne brassicae (L. 1758) (HEMIPTERA:
APHIDIDAE) NA UTILIZAÇÃO DE DISTINTOS
HOSPEDEIROS.**

CRISTIANE DIAS PEREIRA

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Genética e Bioquímica, área de concentração Genética.

**Profa Dra Cecília Lomônaco de Paula
(Orientadora)**

**UBERLÂNDIA-MG
MARÇO/2001**

39 299

070-63360

D SISBI/UFU
201940 ex.1

BIBLIOTECA
Universidade Federal de Uberlândia

FU-00012396-3

FICHA CATALOGRÁFICA

P436p Pereira, Cristiane Dias, 1975-
 Plasticidade fisiológica, comportamental e morfológica de *Brevicoryne brassicae* (L. 1758) (Hemiptera: Aphididae) na utilização de distintos hospedeiros. / Cristiane Dias Pereira. - Uberlândia, 2001.
 99f. : il.
 Orientador: Cecília Lomônaco de Paula.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Curso de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica.
 Inclui bibliografia.
 1. Genética quantitativa - Teses. 2. Plasticidade fenotípica - Teses. 3. Pulgão-da-couve - Teses. I. Universidade Federal de Uberlândia. Curso de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica. II. Título.

CDU: 575:51(043)

COMISSÃO JULGADORA

MEMBROS TITULARES:

Profa. Dra. Cecília Lomônaco de Paula

Orientadora

Prof. Dr. Marcelo Teixeira Tavares

Conselheiro

Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho

Conselheiro

MEMBROS SUPLENTES:

Prof. Dr. Júlio César Viglioni Penna

Prof. Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **Miguel e Joana** pelo amor, apoio e incentivo.

Aos meus irmãos, **Cleuton e Cleber** pelo carinho e ajuda nos momentos difíceis.

Às minhas Avós **Angela e Jerônima**, com saudade das “prosas” sobre os índios tupis-guaranis e seu massacre com a colonização dos portugueses e espanhóis no triângulo mineiro.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, amor e proteção.

A Profa. Dra. Cecília Lomônaco de Paula, pelo apoio e incentivo, extremamente importantes na realização deste trabalho. Obrigada pelos bons momentos sempre oferecidos durante sua orientação.

Ao Prof. Dr. Marcelo Teixeira Tavares (Departamento de Ciências Exatas e Naturais-UNIARA- Araraquara, SP), pelo que me ensinou sobre a identificação de parasitóides de brássicas, pelo apoio na aquisição do material bibliográfico e por aceitar participar da minha banca examinadora.

Ao Prof. Dr. Luíz Ricardo Goulart Filho, pelo que me ensinou sobre biologia molecular e por ter gentilmente aceito o convite de participar de minha banca examinadora.

Ao Prof. Dr. Júlio Viglioni Penna, pelo exemplo de vida.

Ao Prof. Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira e à coordenação do curso de pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de Uberlândia, pelo apoio.

Ao Instituto de Biologia, por permitir o uso de suas instalações, onde desenvolvi este trabalho.

À coordenação do curso de pós-graduação em Genética e Bioquímica da Universidade Federal de Uberlândia, pela colaboração e consideração no tratamentos aos alunos.

Ao técnico Lázaro Maria Peres, pelo apoio na construção dos canteiros.

Aos amigos Maria Inês, Edivane, Simone, Beatriz, Christiano, Francis e Marina, pelo companherismo e apoio.

Aos companheiros do Laboratório de Ecologia e Biologia Evolutiva, Alice, Selma e Grace, pelo auxílio e o apoio diário.

Aos amigos do laboratório de genética, Jamil, Jane, Maria Alice, Waldesse, Elisângela, Soraya e Rosana.

Aos meus primos, Jorge, Ivanilde, Késia, Joice, Jander, Glauber, Kélia, Eliandro, Érica, Jane, Henry, Olegária, Antônio Ferreira ... pelos bons momentos de convívio e pela mão estendida nos momentos difíceis.

A todos os demais colegas e professores do Instituto de Biologia e ao Instituto de Genética e Bioquímica, que direta ou indiretamente contribuíram para a minha formação.

Ao CNPq pela bolsa de mestrado, à FAPEMIG e à UFU pelo apoio financeiro e auxílio transporte.

À todas as famílias que abriram gentilmente a porta de suas casas e me atenderam na coleta dos afídeos.

E a todos os brasileiros que batalham dia a dia e merecem novas alternativas de vida, como uma alimentação mais saudável.

Pai Nosso.

Que estás nos céus, santificado seja o teu nome;

Venho o teu reino, seja feita a tua vontade, assim na terra como no céu;

O pão nosso de cada dia nos dá hoje;

E perdoa-nos as nossas dívidas, assim como nós perdoamos aos nossos devedores;

E não nos induzas à tentação; mas livra-nos do mal; porque teu é o reino, e o poder, e a glória, para sempre. Amém.

Porque, se perdoardes aos homens as suas ofensas, também vosso Pai celestial vos perdoará a vós;

Se, porém, não perdoardes aos homens as suas ofensas, também vosso Pai vos não perdoará as vossas ofensas (Mateus 6:9-15).



ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xii
RESUMO GERAL.....	xiv
GENERAL ABSTRACT.....	xvi
CAPÍTULO 1 – Introdução Geral: O papel adaptativo da plasticidade fenotípica e suas conseqüências evolutivas.....	1
Conceituação Geral.....	2
Revisão Histórica.....	4
Perspectivas Futuras.....	9
Conclusão.....	11
Referências Bibliográficas.....	13
CAPÍTULO 2 – Plasticidade fisiológica e comportamental de <i>Brevicoryne brassicae</i> (L.) (Hemiptera: Aphididae) em duas variedades de <i>Brassica oleraceae</i> L.....	18
Introdução.....	19
Material e Métodos.....	22
Resultados.....	28

Discussão.....	35
Resumo.....	37
Abstract.....	39
Referências Bibliográficas.....	40

CAPÍTULO 3 – Plasticidade para o tamanho e a fecundidade do pulgão <i>Brevicoryne brassicae</i> (L.) (Hemiptera: Aphididae) na utilização de distintos hospedeiros.....	43
Introdução.....	44
Material e Métodos.....	47
Resultados.....	54
Discussão.....	65
Resumo.....	69
Abstract.....	71
Referências Bibliográficas.....	73

CAPÍTULO 4 – Produção de morfos alados em colônias do afídeo <i>Brevicoryne brassicae</i> (L.) por indução de microhimenópteros parasitóides <i>Diaretiella rapae</i> (M'Intoshi).....	77
Introdução.....	78
Material e Métodos.....	80
Resultados e Discussão.....	84
Resumo.....	91
Abstract.....	93
Referências Bibliográficas.....	95

LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1 - Estoque dos clones de *Brevicoryne brassicae* em folhas de *Brassica oleracea* variedade *acephala*. A. Folha de couve envolta em organza. B. Hospedeiro com “clipcages” 26
- Figura 2.2. Ensaio para avaliação de preferência em clones de *Brevicoryne brassicae*. A. vista por cima. B. vista lateral..... 27
- Figura 2.3. Normas de reação da performance, fecundidade relativa e o período de desenvolvimento de clones de *Brevicoryne brassicae* que utilizaram couve e brócolis como hospedeiros..... 31
- Figura 2.4. Preferência de clones do afídeo *Brevicoryne brassicae* que utilizaram couve e brócolis como hospedeiros..... 34
- Figura 3.1. Localidades (bairros) de origem dos 11 clones de *Brevicoryne brassicae* avaliadas neste estudo, coletados na cidade de Uberlândia-MG: LUI (B. Luizote de Freitas I), TUB (B. Chácaras Tubalina), PLA (B. Planalto), ROO (B. Presidente Roosevelt), MAT (B. Martins), UMU (B. Jardim Umuarama), BRA (B. Brasil), TRY (B. Tibery), PAM (B. Pampulha), STM (B. Santa Mônica) e JKB (B. Jardim Karaíba)..... 49
- Figura 3.2. Ensaio para avaliação da plasticidade morfométrica de clones de *Brevicoryne brassicae* na utilização da acelga e rabanete como hospedeiros..... 50
- Figura 3.3. Caracteres morfológicos medidos no afídeo *Brevicoryne*

<i>brassicae</i> : a. comprimento do sifúnculo direito, b. segmento antenal III, c. tíbia anterior direita e d. comprimento do rostro. Fonte: Heie 1986.....	51
Figura 3.4. Normas de reação do índice multivariado de tamanho e fecundidade para clones de <i>Brevicoryne brassicae</i> que utilizaram acelga e rabanete como hospedeiros.....	61
Figura 3.5. Correlações genéticas entre índice multivariado de tamanho e fecundidade para os clones de <i>Brevicoryne brassicae</i> que utilizaram acelga e rabanete como hospedeiros.....	62
Figura 3.6. Correlações fenotípicas entre índice multivariado de tamanho e fecundidade para clones de <i>Brevicoryne brassicae</i> que utilizaram acelga e rabanete como hospedeiros.....	63
Figura 4.1. <i>Brevicoryne brassicae</i> parasitados (seta indicando uma múmia) em folha de couve, em condições de campo.....	83
Figura 4.2. Número médio de afídeos alados no clone de <i>Brevicoryne brassicae</i> produzidos no tratamento e no controle no ensaio de defesa induzida por parasitoidismo de <i>Diaretiella rapae</i> , em condições de laboratório.....	88
Figura 4.3. Correlação entre o número de alados e o número de múmias do clone de <i>Brevicoryne brassicae</i> após a exposição ao parasitóide <i>Diaretiella rapae</i> , em condições de laboratório.....	89
Figura 4.4. Número médio total (\pm erro padrão) de fêmeas e machos de parasitóides <i>Diaretiella rapae</i> que emergiram das múmias de <i>Brevicoryne brassicae</i> obtidas no ensaio de defesa induzida, em condições de laboratório.....	90

LISTA DE TABELAS

- Tabela 2.1. Valores médios dos caracteres estimados (\pm erro padrão) para os clones de *Brevicoryne brassicae* que utilizaram couve e brócolis como hospedeiros..... 29
- Tabela 2.2. Análise de Variância (ANOVA) para dois fatores na performance ou índice de “fitness” (r_m), fecundidade relativa e período de desenvolvimento de clones de *Brevicoryne brassicae* que utilizaram couve e brócolis como hospedeiros..... 30
- Tabela 2.3. Correlações genéticas (correlações do mesmo caráter estimado nos dois hospedeiros testados) do índice de “fitness” ou performance (r_m), período de desenvolvimento (PD), fecundidade relativa (FR) de *Brevicoryne brassicae* que utilizaram couve e brócolis como hospedeiros..... 32
- Tabela 3.1. Primeiros três componentes da matriz de correlação entre medidas morfométricas de *Brevicoryne brassicae*. A percentagem de variação explicada por cada componente está na base da tabela..... 57
- Tabela 3.2. Coeficientes de variação dos caracteres estimados para os clones de *Brevicoryne brassicae* que utilizaram acelga e rabanete como hospedeiros..... 58
- Tabela 3.3. Análise de Variância (ANOVA) para dois fatores no tamanho, número de ninfas e comprimento rostral de clones de

Brevicoryne brassicae que utilizaram acelga e rabanete como hospedeiros..... 59

Tabela 3.4. Valores médios dos caracteres estimados (\pm erro padrão) para os clones de *Brevicoryne brassicae* que utilizaram acelga e rabanete como hospedeiros..... 60

Tabela 3.5. Correlações fenotípicas do índice multivariado de tamanho e fecundidade para cada clone de *Brevicoryne brassicae* que utilizaram acelga e rabanete como hospedeiros..... 64

RESUMO GERAL

A plasticidade fenotípica descreve a habilidade de um organismo alterar seu fenótipo em resposta às pressões do ambiente. Este trabalho verificou a ocorrência de plasticidade fenotípica (fisiológica, comportamental e morfológica) de clones do pulgão *Brevicoryne brassicae* em distintas condições ambientais. Para verificar ocorrência de plasticidade fisiológica, ninfas provenientes de quatro clones foram alocadas individualmente nas folhas dos hospedeiros couve e brócolis e observadas diariamente quanto ao período de desenvolvimento e fecundidade, para cálculo do índice de “fitness” (r_m). Experimentos para determinar a preferência (plasticidade comportamental) foram realizados em laboratório, com uso de oitenta indivíduos (20 por clone), com base em suas escolhas por determinado hospedeiro. Medidas de variabilidade nas respostas plásticas entre clones foram feitas segundo modelo de genética quantitativa. Os clones demonstraram pequena plasticidade fisiológica provavelmente devido à grande similaridade genética entre as duas variedades de plantas testadas ($F=3,412$; $P=0,067$). No entanto, os clones apresentaram significativa preferência por determinado hospedeiro ($X^2=4,66$; $P<0,05$), sendo marcante o fenômeno de condicionamento (indivíduos “escolhiam” os hospedeiros nos quais se alimentaram durante seu período pré-reprodutivo). A plasticidade morfológica foi avaliada em onze clones, mantidos em acelga e rabanete. Após a terceira geração, o comprimento de quatro caracteres morfológicos (último segmento rostral, sifúnculo direito, segmento antenal III e tibia anterior direita) foram obtidos em dez adultos de cada clone e em cada hospedeiro ($n=220$). O

número de ninfas presentes no aparelho reprodutivo foi registrado para estimativa de fecundidade. Os clones apresentaram plasticidade no tamanho ($F=24,354$; $P<0,001$) e na fecundidade ($F=28,947$; $P<0,001$). As correlações fenotípicas entre o tamanho e a fecundidade ($r=0,24$, $P=0,02$) foram positivas e significativas apenas no hospedeiro rabanete. Divergências nas correlações fenotípicas na utilização dos hospedeiros para o tamanho e a fecundidade, podem ser indicativas de que há distintos mecanismos genéticos operando em cada ambiente. A indução na formação de alados, como defesa contra parasitóides foi observada em colônias experimentais do pulgão ($n=14$), iniciadas à partir da transferência de 10 afídeos adultos para plantas de couve isoladas em recipientes transparentes. Quando as colônias atingiram cerca de 56 indivíduos, foi colocado um casal do parasitóide *Diaretiella rapae* dentro de cada recipiente-teste, ovipondo livremente por três horas. O teste de Mann-Whitney indicou que houve diferenças significativas na formação de alados entre tratamento e controle ($U=48$; $P<0,002$). O *B. brassicae* apresentou plasticidade na expressão de vários caracteres quando em condições de estresse ou utilizando diferentes hospedeiros. Seu potencial plástico pode, portanto, ser considerado adaptativo.

GENERAL ABSTRACT

Phenotypic plasticity describes the ability of an organism to alter its phenotypic in response to environmental pressures. This work investigated the occurrence of phenotypic plasticity (physiological, behavioural and morphological) of aphids clones of *Brevicoryne brassicae* in distinctive environmental conditions. In order to verify physiological plasticity, ninphs from four clones were placed individually on the leaf surface on cabbage and broccoli. Their development time and fecundity were observed daily in order to calculate a fitness index (r_m). Measurements of variability on plastic responses among clones were done following a quantitative genetic model. Experiments to determine preference (behavioural plasticity) were done inside the laboratory, basing on the choice of eighty aphids (20 per clone) for a particular host. Clones demonstrated low physiological plasticity ($F=3.412$; $P=0.067$) probably due to the great genetic similarity between the two varieties of plants used as hosts. Nevertheless, they presented significant preference for a particular host ($X^2=4.66$; $P<0.05$), which demonstrate the conditioning behaviour (individuals choosing the hosts were they have fed during their development period). Morphology plasticity was evaluated in eleven clones kept on radish and chinese cabbage as hosts. Three generations after the clone establishment at the laboratory, morphological traits (ultimate rostral segment, right sifunculi, antennal segment III, and anterior right tibia) were obtained for ten adults from each clone and on each host ($n=220$). The number of ninphs inside the reproductive apparatus was registered to estimate fecundity. Clones demonstrated plasticity for size ($F=24.354$; $P<0.001$) and

fecundity ($F=28.947$; $P<0.001$). Phenotypic correlation between size and fecundity was positive and significant only for individuals reared on radish. Divergences on phenotypic correlations related to host use may indicate the occurrence of distinct genetic mechanism operating on each environment. Induced formation of alate morphs as defense against parasitoids was observed on experimental colonies ($n=14$), initiated by the transference of ten adult aphids to isolated cabbage plants inside transparent recipients. When the colonies had reached about 56 individuals, a parasitoid of *Diaretiella rapae* couple was placed inside each recipient-test, and they are allowed to oviposited freely for three hours. The Mann-Whitney test indicated that there was significant difference in the number of winged individuals formed between treatment and control ($U=48$; $P <0.002$). *B. brassicae* presented plasticity in the expression of some characters when utilising differentiates hosts or under stress conditions. The plastic potential of the species can able, therefore, considered adaptive.

CAPÍTULO 1

**Introdução Geral: O Papel Adaptativo da
Plasticidade Fenotípica e Suas
Conseqüências Evolutivas.**

Conceituação Geral

A determinação fenotípica de um caráter depende não somente de suas bases genéticas, mas também da interação do organismo com o meio em que vive. O termo plasticidade fenotípica descreve a habilidade de um organismo alterar sua fisiologia, morfologia ou desenvolvimento em resposta às características de seus ambientes (Schmalhausen 1949, Bradshaw 1965, Schlichting 1986, Scheiner 1993).

Os primeiros trabalhos descrevendo propriedades plásticas de organismos foram feitos no início dos anos 40. Exemplos clássicos abrangem variações no tamanho e forma da folha (Clausen *et al.* 1940) e heterofilia em plantas (Bradshaw 1965) e a indução de defesas morfológicas contra predadores em invertebrados (Gilbert 1966). Entretanto, somente ao longo das duas últimas décadas, o estudo da plasticidade fenotípica tem recebido maior atenção dos pesquisadores, porque modelos matemáticos desenvolvidos explicaram sua relação com importantes processos biológicos (Via & Lande 1985).

Respostas fenotípicas às mudanças ambientais podem facilitar a exploração de novos nichos, resultando no aumento dos limites de tolerância. A plasticidade fenotípica é portanto uma solução viável para o problema de adaptação a ambientes heterogêneos ou instáveis (Via *et al.* 1995). Circunstâncias tais como a produção de respostas induzidas (morfológicas e químicas) como forma de defesa do indivíduo contra seus consumidores e parasitas demonstram o valor da plasticidade detendo ou minimizando o ataque de inimigos naturais (Adler & Harvell 1990). Além disto, a plasticidade pode ter importância evolutiva por permitir, sob condições especiais, a formação de raças, ecótipos ou até mesmo de novas espécies (Via & Lande 1985, Thompson 1991).

Quando o organismo não apresenta plasticidade, ocorre o processo de canalização, ou seja, há a produção de um mesmo fenótipo, apesar das variações ambientais estarem presentes (Stearns 1989). Stearns *et al.* (1995) fizeram distinção entre canalização genética e ambiental. A canalização genética é a redução da expressão da variação genética em nível de fenótipo e a canalização ambiental refere-se à redução de sensibilidade do fenótipo à perturbação ambiental. Ambas minimizam a variação genética e tendem a ser favorecidas sob seleção estabilizadora (Gavrilets & Hastings 1994).

A plasticidade fenotípica pode ser descrita pelas normas de reação e estas são representadas como uma linha ou curva em um gráfico que plota o valor do fenótipo em relação ao fator ambiental (Stearns 1989). As normas de reação de um genótipo individual incluem não apenas informações dos valores médios dos caracteres em um ambiente particular, mas, além, disso demonstram a forma ou direção de respostas plásticas de um caráter entre ambientes (Stearns & Koella 1986).

Por muito tempo, a plasticidade fenotípica foi considerada um impedimento porque, ao desacoplar o genótipo do fenótipo, limitaria o potencial para mudanças evolutivas, por reduzir o impacto da seleção natural nas estruturas genéticas das populações (Wright 1931). Atualmente, a plasticidade fenotípica é considerada como sendo um caráter propriamente dito, que está sob controle genético, podendo, portanto evoluir (Scheiner 1993, Via *et al.* 1995). É também específica para o caráter e específica em relação às influências ambientais.

A compreensão do processo de evolução da plasticidade fenotípica foi, a princípio, dificultada por divergências de opiniões, sendo que a maior área de controvérsia estava nos seus mecanismos de gênese e regulação. O modelo conhecido como modelo epistático sugere que a plasticidade

fenotípica evolui independentemente da média dos caracteres e que “genes para a plasticidade” existem e são separados de genes que afetam o valor médio dos caracteres quantitativos (Bradshaw 1965, Schlichting & Levin 1984, Schlichting 1986, Scheiner & Lyman 1989, Scheiner 1993).

Entretanto, o modelo pleiotrópico afirma que a plasticidade fenotípica pode evoluir conforme a seleção de diferentes valores fenotípicos em diferentes ambientes (Via & Lande 1985, Via 1987, Gomulkiewicz & Kirkpatrick 1992), sem requerer a existência de genes separados para a plasticidade. Este modelo hipotetiza que espécies com distintos níveis de plasticidade experimentam, historicamente, diferentes graus de influência ambiental e que seus caracteres fenotípicos têm sido sujeitos a diferentes padrões de seleção dentro destes distintos ambientes (Via 1993).

O custo da plasticidade é o custo em se manter o maquinário celular genético para ser plástico (Scheiner 1993). Scheiner & Berrigan (1998) reconhecem 5 tipos de custos para o ajuste do organismo a um ponto ótimo. Estes custos são: custos de produção, manutenção e aquisição de informação, custos para o desenvolvimento de estabilidade e o custo genético.

Schamalhausen (1949) enfatizou que as respostas plásticas podem ocorrer na primeira experiência do indivíduo ao novo ambiente e, a repetida exposição da população aos gradientes ambientais poderia promover a evolução da plasticidade (Via 1991).

Revisão Histórica

Woltereck (1909) conduziu o primeiro experimento envolvendo produção de respostas plásticas com o crustáceo *Daphnia* (Cladocera) e

introduziu o conceito de norma de reação, definindo-a como o caminho padrão para se expressar a variação nos genótipos do indivíduo em vários ambientes.

Dobzansky (1947) publicou um trabalho com populações de *Drosophila* (Diptera) homozigotas e heterozigotas para inversões cromossomais e afirmou que a homozigosidade resultaria na ausência de plasticidade, enquanto que a heterozigosidade permitiria, por meio de ajustes plásticos, o desenvolvimento da homeostase (estabilidade).

Schmalhausen (1949) reexaminou o antigo conceito de norma de reação, tornando-o o objeto central do estudo da plasticidade fenotípica. Seu trabalho foi ignorado por um longo tempo.

Stebbins (1950) argumentou que, para plantas, os caracteres formados por longos períodos de atividade meristemática (tamanho, número de folhas) estariam mais sujeitos às influências ambientais e, provavelmente, seriam mais plásticos do que caracteres formados rapidamente, como as estruturas reprodutivas de plantas. Clausen *et al.* (1940, 1948) forneceram evidências que deram suporte a este argumento pelas diferenças na plasticidade amostradas em seus experimentos com a *Achillea* (Asteraceae) e a *Potentilla* (Rosaceae).

Waddington (1953) sugeriu que a plasticidade fenotípica poderia ampliar as relações ecológicas de uma espécie, expondo-a à pressões de seleção e criando oportunidades para mudanças genéticas.

Bradshaw (1963) constatou a formação de ecótipos na planta *Lemna* (Lemnaceae), em uma distância inferior a 10 metros, mostrando que pequenas distâncias não constituem barreiras para que mudanças evolutivas rumo à adaptação e posterior formação de ecótipos aconteçam.

Bradshaw (1965) publicou uma revisão e solidificou muitas questões sobre a ecologia, bases genéticas e a origem evolutiva da plasticidade

fenotípica. Seu trabalho motivou muitos biólogos, ecólogos e evolucionistas a realizarem pesquisas empíricas durante as décadas de 1970 e início de 1980.

Harvell (1984) verificou que o briozoário *Membranipora membranacea* (Cheilostomata) quando predado pelo molusco *Doridella steinbergae* (Nudibranchia), apresentava espinhos em suas colônias, o que poderia ser uma forma de defesa induzida, como estratégia para a sobrevivência ao ataque do predador.

Via & Lande (1985) publicaram o trabalho teórico experimental, reintroduzindo e revigorando a aplicação da genética quantitativa para a pesquisa da plasticidade fenotípica. Formulam o modelo pleiotrópico, e defenderam a ocorrência da plasticidade como função da expressão diferencial de um mesmo gene em distintos ambientes. Concluíram que a plasticidade será favorecida quando a variabilidade ambiental entre habitats for alta, habitats forem igualmente freqüentes, a pressão de seleção for a mesma nos habitats e o custo da plasticidade for baixo (Via *et al.* 1995).

Helgadottir & Snaydon (1986) verificaram ecótipos em *Poa pratensis* (Poaceae) e *Agrostis capillaris* (Poaceae) em área heterogênea, devido às influências de diversos fatores climáticos e edáficos.

Hart & Colvillec (1988) observaram a ocorrência de ecótipos de *Trifolium repens* (Fabaceae) altamente adaptados às diferentes concentrações de fósforo no solo.

Gillespie & Turelli (1989) propuseram o modelo de sobredominância ou homozigidade, que sugeria que a quantidade de variação no fenótipo em distintos ambientes era função decrescente do número de loci heterozigotos. Evidências empíricas não comprovaram esta predição (Scheiner *et al.* 1991).

Scheiner & Lyman (1989) conduziram um experimento com seleção artificial em *Drosophila* (Diptera) e demonstraram que a plasticidade é parcialmente independente do valor médio do caráter. Propuseram como base genética para a plasticidade uma interação complexa (epistática) entre diferentes tipos de genes. Surge, então, o modelo epistático.

Kindlmann & Dixon (1992) mostraram que havia variação no tamanho do afídeo *Aphis fabae* (Hemiptera) sob influência de diferentes temperaturas e recursos alimentares (hospedeiros).

Após um longo período de discussão sobre o melhor modelo para se estudar a plasticidade fenotípica, Via *et al.* (1995) reuniram-se e publicaram consensos e controvérsias de suas idéias e trabalhos sobre a plasticidade fenotípica.

Via & Shaw (1996) verificaram que o afídeo *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera) possuía diferentes tamanhos em decorrências das mudanças sazonais ao longo do ano, e que tais variações tinham caráter adaptativo.

Grill *et al.* (1997) mediram a plasticidade no período de desenvolvimento, tamanho do adulto e coloração em *Harmonia axyridis* (Coleoptera), alimentados com uma dieta de afídeos ou solução de sacarose. Verificaram diferenças no período de desenvolvimento e tamanho do adulto, mas não na coloração das joaninhas.

Pigliucci (1997) apresentou uma análise da variação ontogenética durante a fase reprodutiva em resposta a qualidade nutricional em três populações de *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae). Verificou que havia distintas categorias do início ao término do florescimento nesta espécie, amostrando susceptibilidade ambiental.

Ueno *et al.* (1997) observaram que *Ephilacha pustulosa* (Coleoptera), exibia variação interpopulacional na utilização das plantas hospedeiras.

Blanckenhorn (1998) investigou plasticidade fenotípica no crescimento, desenvolvimento, comprimento do corpo e diapausa em moscas *Scathophaga stercoraria* (Diptera) e verificou redução do crescimento e diminuição do período de desenvolvimento quando os recursos eram limitados.

Scheiner & Berrigan (1998) estudaram o crustáceo *Daphnia pulex* (Cladocera) e suas respostas (aparecimento de formas com espinhos) à presença de sinais químicos de um predador, o inseto *Chaoborus americanus* (Diptera).

Donohue & Schmitt (1999) examinaram a contribuição do fitocromo-mediador na variação genética das respostas plásticas das plantas anuais *Impatiens capensis* (Balsaminaceae) cultivadas em diferentes densidades. As plantas que cresceram em alta densidade tiveram alongamento dos internós, aumento no período de dormência meristemática, diminuição na área foliar e no comprimento das folhas quando comparadas às plantas que cresceram em baixa densidade.

Ishihara (1999) estudou populações univoltinas (apenas uma descendência por estação reprodutiva) e multivoltinas (mais de uma descendência por estação reprodutiva) de *Kytorhinus sharpianus* (Coleoptera) e verificou que havia potencial para a variação sazonal na plasticidade fenotípica nestas populações.

Perfectti & Camacho (1999) estudaram as bases genéticas da homeostase no desenvolvimento de *Annona cherimola* (Annonaceae), e do híbrido *A. cherimola* x *A. squamosa*. Os híbridos mostraram menor instabilidade no desenvolvimento do que as espécies parentais. No entanto, não foi encontrada nenhuma influência genética na homeostase do desenvolvimento de *A. cherimola*, provavelmente porque o baixo nível de

estresse obscureceu a relação entre o genótipo e a homeostase no desenvolvimento.

Via (1999), investigando o papel da plasticidade fenotípica na formação de novas espécies, analisou as causas de isolamento reprodutivo entre populações simpátricas do afideo *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera) na alfafa e no trevo dos prados e verificou que a escolha do habitat foi a maior causa de isolamento reprodutivo nesta espécie.

Fuzeto & Lomônaco (2000) verificaram a formação de ecótipos por plasticidade em *Cabralea canjerana* subesp. *polytricha* (Meliaceae) no gradiente cerrado/vereda. Sugeriram que a assincronia temporal de floração entre as áreas e o modo de ação de dispersores de sementes poderiam estar contribuindo para o aumento na divergência entre ecótipos na área estudada.

Trussel (2000) estudou *Littorina obtusata* (Mesogastropoda) buscando determinar clines latitudinais no sul e norte do golfo de Maine. Foi verificada plasticidade na forma, massa corporal e crescimento, induzidos por diferenças geográficas, temperatura da água e a abundância do predador o caranguejo *Carcinus maenas*.

Perspectivas Futuras

Estudos mais recentes objetivaram a investigação das bases moleculares da plasticidade fenotípica.

Santoni *et al.*(1994) compararam o perfil de proteínas obtidas por dois géis de eletroforese de um mesmo genótipo de *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae) crescendo em condições de claro e de escuro. Demonstraram o ligar e desligar de dúzias de genes que codificam

proteínas, em cada ambiente. O perfil de DNA de organismos do tratamento e do controle revelaram porções do genoma ativas em apenas algumas condições de tratamento.

Clack *et al.* (1994) foram bem-sucedidos no uso de hibridação de “blots” para identificar e isolar cinco genes do fitocromo de *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae), e, subseqüentemente, obter seqüências de cDNA. Os resultados obtidos indicaram que os fitocromos (PHYA e B) eram alvos do mesmo sinal de tradução em resposta a diferentes ações ambientais.

Pigliucci (1996) questionou a origem, evolução e função de genes plásticos e propôs dois mecanismos para estudá-los: o uso de mutantes que anulariam ou interfeririam num padrão conhecido de plasticidade fenotípica e a exposição de plantas ou animais a um conjunto de condições ambientais, com a identificação dos seus RNAs ou proteínas.

Jasienski *et al.* (1997) utilizaram a análise de RAPD-PCR para medir a similaridade entre fenótipos com as seqüências de DNA nos genótipos da planta anual *Abutilon theophrasti* (Malvaceae).

Kathiresan *et al.* (1998) clonaram um fragmento genômico que codificava resíduos de aminoácidos em *Stellaria longipes* (Caryophyllaceae). Verificaram regulação diferencial de genes, o que poderia consistir num dos mecanismo moleculares geradores da plasticidade fenotípica nesta espécie.

Wu (1998) afirmou que o número de locus do caráter quantitativo (QTLs) afetando respostas plásticas ao ambiente, a magnitude do seu efeito gênico e suas locações poderia ser mapeadas no genoma. Este autor trabalhou com *Populus trichocarpa* e *P. deltoides* (Salicaceae) e verificou algumas QTLs exibindo efeito alélico entre ambientes.

Weibel *et al.* (1999) verificaram variação genética do DNA mitocondrial (mtDNA) dentro e entre populações do peixe *Rivulus*

marmoratus (Atherinomorfa), as quais foram detectadas usando enzimas de restrição endonuclease (restriction fragment length polymorphism-RFLPs). Neste gênero a fecundação cruzada parece ser uma condição ancestral evoluindo como um caráter plástico, que é ativada apenas pela ação ambiental, o que pode significar vantagem adaptativa.

Conclusão

O estudo da influência ambiental na determinação de caracteres em diversos grupos de seres vivos teve início nos primeiros anos do século XX. Mas foi somente cerca de 50 anos depois que houve a publicação de um volume maior de artigos sobre o potencial plástico de plantas e suas implicações adaptativas e ecológicas. Mais recentemente, a pesquisa sobre plasticidade fenotípica expandiu seu campo de investigação, passando a incluir novos métodos e modelos matemáticos relacionados à genética quantitativa.

Atualmente podem ser identificados dois enfoques distintos nas pesquisas sobre plasticidade fenotípica. Em um deles, há o estudo de polimorfismos visíveis e eletroforéticos que poderiam esclarecer sua base genética. Entretanto, esta abordagem prioriza a descrição dos mecanismos genéticos, quase sempre sem considerar as implicações ecológicas e evolutivas do potencial plástico das espécies investigadas. No outro enfoque, medidas de variabilidade genética, fenotípica e da ação da seleção natural em caracteres quantitativos plásticos são realizadas negligenciando-se a investigação das bases genéticas que regulam os fenômenos observados.

A maior integração entre estudos moleculares e ecológicos poderá, sem dúvida, contribuir para aumentar o conhecimento sobre o fenômeno da plasticidade fenotípica, buscando respostas às muitas questões que ainda persistem.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adler, F.R. & C.D. Harvell. 1990.** Inducible defenses, phenotypic variability and biotic environments. *TREE* 5: 407-410.
- Blanchenhorn, W.U. 1998.** Adaptative phenotypic plasticity in growth, development, and body size in the yellow dung fly. *Evolution* 52: 1394-1407.
- Bradshaw, A.D. 1963.** The analysis of evolutionary process involved in the divergence of plant population. *Proc. Int. Cong. Gen.* 1: 143.
- Bradshaw, A.D. 1965.** Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Adv. Genet.* 13: 115-155.
- Clack, T., S. Mathews & R.A. Sharrock. 1994.** The phytochrome apoprotein family in *Arabidopsis thaliana* is encoded by five genes: the sequences and expression of PHYD and PHYE. *Plant Mol. Biol.* 25: 413-427.
- Clausen, J., D.D. Keck & W.M. Hiesey. 1940.** *Experimental studies on the nature of species. I. The effect of varied environments on western North American plants.* Washington, Carnegie Institute of Washington Publ.
- Clausen, J., D.D. Keck & W.M. Hiesey. 1948.** *Experimental studies on the nature species. III. Environmental responses of climatic races of Achillea.* Washington, Carnegie Institute of Washington Publ.
- Dobzansky, T. 1947.** Adaptative changes induced by natural selection in wild populations of *Drosophila*. *Evolution* 1: 1-16.
- Donohue, K. & J. Schmitt. 1999.** The genetic architecture of plasticity to density in *Impatiens capensis*. *Evolution* 53: 1377-386.
- Fuzeto, A.P. & C. Lomônaco. 2000.** Potencial plástico de *Cabralea canjerana* subsp. *polytricha* (Adr. Juss.) Penn. (Meliaceae) e seu

papel na formação de ecótipos em áreas de cerrado e vereda, Uberlândia, MG. *Revta. Brasil. Bot.* 23: 169-176.

- Gavrilets, S. & A. Hastings. 1994.** A quantitative-genetic model for selection on developmental noise. *Evolution* 48: 1478-1486.
- Gilbert, J.J. 1966.** Rotifer ecology and embryological induction. *Science* 224: 1357-1359.
- Gillespie, J.H. & M. Turelli. 1989.** Genotype-environment interactions and the maintenance of polygenic variation. *Genetics* 121: 129-138.
- Gomulkiewicz, R. & M. Kirkpatrick. 1992.** Quantitative genetics and evolution of reaction norms. *Evolution* 46: 396-411.
- Grill C.P., A.J. Moore & E.D. Brodie. 1997.** The genetics of phenotypic plasticity in a colonizing population of the ladybird beetle, *Harmonia axyridis*. *Heredity* 78: 261-269.
- Hart, A.L. & C. Colvillec. 1988.** Differences among attributes of white clover genotypes at various levels of phosphorus supply. *J. Plant Nutr.* 11: 189-208.
- Harvell, C.D. 1984.** Predator-induced defense in a marine bryozon. *Science* 224: 1357-1359.
- Helgadottir, A. & R.W. Snaydon. 1986.** Patterns of genetic variation among populations of *Poa pratensis* and *Agrostis capillaris* from Britain (UK) and Iceland. *J. App. Ecol.* 23: 3-719.
- Ishihara, M. 1999.** Adaptive phenotypic plasticity and its difference between univoltine and multivoltine populations in a bruchid beetle, *Kytorhinus sharpianus*. *Evolution* 53: 1979-1986.
- Jasienski, M., F.J. Ayala & F.A. Bazzaz. 1997.** Phenotypic plasticity and similarity of DNA among genotypes of an annual plant. *Heredity* 78: 176-181.

- Kathiresan, A., K.C. Nagarathna, M.M. Moloney, D.M. Reid & C.C. Chinnappa. 1998.** Differential regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene family and its role phenotypic plasticity in *Stellaria longipes*. *Plant Mol. Biol.* 36: 265-267.
- Kindlmann, P. & A.F.G. Dixon. 1992.** Optimum body size: effects of good quality and temperature when reproductive growth rate is restricted, with examples from aphids. *J. Evol. Biol.* 5: 677-690.
- Perfectti, F. & J.P.M. Camacho. 1999.** Analysis of genotypic differences in developmental stability in *Annona cherimola*. *Evolution* 1396-1405.
- Pigliucci, M. 1996.** How organisms respond to environmental changes: from phenotypes to molecules (and vice versa). *TREE* 11: 168-173.
- Pigliucci, M. 1997.** Ontogenetic phenotypic plasticity during the reproductive phase in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae). *Amer. J. Bot.* 84: 887-895.
- Santoni, V., C. Bellini & M. Caboche. 1994.** Use of two-dimensional protein-pattern analyses for the characterization of *Arabidopsis thaliana* mutants. *Planta* 192: 557-566.
- Schmalhausen, I.I. 1949.** *Factors of evolution: the theory of stabilizing selection*. Philadelphia, Blakiston.
- Scheiner, S.M. 1993.** Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 24: 35-68.
- Scheiner, S.M. & R.F. Lyman. 1989.** The genetics of phenotypic plasticity. I. Heritability. *J. Evol. Biol.* 2: 95-107.
- Scheiner, S.M. & D. Berrigan. 1998.** The genetics of plasticity. VIII. The cost of plasticity in *Daphnia pulex*. *Evolution* 52: 368-378.

- Scheiner, S.M., R.L. Caplan & R.F. Lyman. 1991.** The genetics of phenotypic plasticity III. Genetic correlations and fluctuating asymmetries. *J. Ecol. Biol.* 4: 51-68.
- Schlichting, C.D. 1986.** The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 17:667-693.
- Schlichting, C.D. & D.A. Levin. 1984.** Phenotypic plasticity in annual *Phlox*: tests of some hypotheses. *Amer. J. Bot.* 71: 252-260.
- Stearns, S.C. 1989.** The evolutionary significance of phenotypic plasticity. *Bioscience* 39: 436-445.
- Stearns, S.C. & J.C. Koella. 1986.** The evolution of phenotypic plasticity in life-history traits: predictions of reaction norms for age and size at maturity. *Evolution* 40:893-913.
- Stearns, S.C., M. Kaiser & T.J. Kawecki. 1995.** The differential genetic and environmental canalization of fitness components in *Drosophila melanogaster*. *J. Evol. Biol.* 8: 539-557.
- Stebbins, G.L. 1950.** *Variation and evolution in plants*. New York, Columbia University Press.
- Trussel, G.C. 2000.** Phenotypic clines, plasticity, and morphological trade-offs in an intertidal snail. *Evolution* 54: 151-166.
- Thompson, J.D. 1991.** Phenotypic plasticity as a component of evolutionary chance. *TREE* 6: 246-249.
- Ueno, H., N. Fujiyama & H. Katakura. 1997.** Genetics basis for different host use in *Epilacha pustulosa*, a herbivorous ladybird beetle. *Heredity* 78: 227-283.
- Via, S. 1987.** Genetic constraints on the evolution of phenotypic plasticity. In: V. Loeschke (ed.) *Genetic constraints on adaptive evolution*. Springer, Berlin.

- Via, S. 1991.** The genetic structure of host plant adaptation in a spatial patchwork: demographic variability among reciprocally transplanted pea aphid clones. *Evolution* 45:827-852.
- Via, S. 1993.** Adaptive phenotypic plasticity: target or by-product of selection in a variable environment. *Amer. Nat.* 142: 352-365.
- Via, S. 1999.** Reproductive isolation between sympatric races of pea aphids. I. Gene flow restriction and habitat choice. *Evolution* 53: 1447-1457.
- Via, S. & R. Lande. 1985.** Genotype-environment interactions and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution* 39:505-522.
- Via, S. & A.J. Shaw. 1996.** Short-term evolution in the size and shape of pea aphids. *Evolution* 50: 163-173.
- Via, S., R. Gomulkiewicz, G. Dejong, S.M. Scheiner, C.D. Schlichting & P.H.V. Tienderen. 1995.** Adaptive phenotypic plasticity. Consensus and Controversy. *TREE* 10:212-217.
- Waddington, C.H. 1953.** Epigenesis and evolution. *Symp. Soc. Exptl. Biol.* 7: 186-199.
- Weibel, A.C., T.E. Dowling & B.J. Turner. 1999.** Evidence that an outcrossing population is a derived lineage in a hermaphroditic fish (*Rivulus marmoratus*). *Evolution* 53: 1217-1225.
- Woltereck, R. 1909.** Weitere experimentelle untersuchungen uber artveranderung, speziell uber das wesen quantitativer artunterschiede bei daphniden. *Verh. D. Tsch. Zool. Ges.* 1909: 110-172.
- Wright, S. 1931.** Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16: 97-159.
- Wu, R. 1998.** The detection of plasticity genes in heterogeneous environments. *Evolution* 52: 967-977.

CAPÍTULO 2

**Plasticidade Fisiológica e Comportamental
de *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera:
Aphididae) em Duas Variedades de *Brassica
oleraceae* L (Brassicaceae).**

2.1. INTRODUÇÃO

A plasticidade fenotípica refere-se a qualquer tipo de variação induzida pelo meio ambiente, sem que mudanças genéticas sejam necessárias (Bradshaw 1965, Scheiner 1993, Via *et al.* 1995). Como a seleção natural age por meio de diferenças no fenótipo (Via 1990), a plasticidade fenotípica é fator evolutivo importante por constituir-se num mecanismo gerador de variabilidade (Thompson 1991). Se o organismo não apresenta plasticidade e sempre produz o mesmo fenótipo, apesar de mudanças ambientais estarem presentes, pode-se verificar a ocorrência do processo dito canalização (Stearns 1989).

Uma dada característica pode ser plástica em resposta a um fator ambiental, mas não para outro (Bradshaw 1965, Scheiner 1993). Analogamente, caracteres distintos podem representar diferentes graus de plasticidade. Por isso, a plasticidade não é propriedade geral do genótipo, mas é específica ao caráter ou complexo de caracteres (Scheiner 1993).

Respostas plásticas nem sempre são adaptativas (Schlichting 1986). Contudo, a plasticidade fenotípica pode ser adaptativa se representa um mecanismo no qual o "fitness" relativo é mantido, em resposta à variação, devendo, portanto, envolver respostas morfológicas, fisiológicas (Thompson 1991) ou comportamentais.

Sabe-se que variedades de plantas podem apresentar diferentes performances em ambientes distintos. Do mesmo modo, insetos polívoros, podem responder de diferentes modos às variações genotípicas de suas plantas hospedeiras (Fry 1992). A evolução da relação inseto-planta é significativamente influenciada pelo grau de plasticidade dos insetos, pois a seleção para aumento no "fitness" em uma planta hospedeira pode resultar em seleção para um decréscimo em outras espécies de plantas e vice-versa.

Este fenômeno, conhecido como “trade-off” na performance pode promover a evolução de genótipos de insetos altamente especializados a determinados hospedeiros (Ueno *et al.* 1997). Se divergências entre populações de insetos que utilizam diferentes hospedeiros forem mantidas por seleção natural, haverá favorecimento para o surgimento de subespécies, raças ou ecótipos (Via & Lande 1985, Falconer 1989, Via 1991).

Muitos problemas com pragas agrícolas são também problemas evolutivos e compreender como ocorre a evolução em sistemas agrícolas pode facilitar a implementação de estratégias de controle (Via 1990). Pulgões ou afídeos, por exemplo, são considerados pragas de grande relevância na agricultura. As principais características que conferem esta importância econômica aos afídeos são a sua forma de alimentação, o seu alto poder de reprodução e a sua grande capacidade de dispersão (Souza-Silva & Ilharco 1995). Em pouco tempo, os afídeos se instalam em qualquer cultura, causando sérios danos, quer pela sucção contínua da seiva, quer pela transmissão de doenças (Gallo *et al.* 1988). O controle destes insetos-pragas em brássicas (couve, brócolis, repolho e similares) é atualmente feito com repetidas aplicações de inseticidas organofosforados, o que eleva o custo de produção, podendo ocasionar a contaminação do meio ambiente e incompatibilidade entre o intervalo das colheitas e o período de carência do inseticida (Paula *et al.* 1995). Deste modo, o conhecimento sobre potencialidades para a ocorrência de processos de especialização em pragas agrícolas, pode fornecer bases para a idealização de novas alternativas de manejo.

Este estudo teve como objetivo verificar o grau de plasticidade fenotípica fisiológica e comportamental em distintos clones de *Brevicoryne brassicae* (L.), na utilização de duas variedades de hospedeiros: a couve

SISBI/UFU
201940

manteiga (*Brassica oleracea* var. *acephala*) e o brócolis (*B. oleracea* var. *italica*).

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

O organismo estudado

O *Brevicoryne brassicae* é um afídeo polífago, cosmopolita, que parasita principalmente brassicáceas (Mariconi *et al.* 1963). Dentre os diversos hospedeiros por ele utilizados estão a couve (*Brassica oleraceae* var. *acephala*), brócolis (*B. oleraceae* var. *italica*), nabo (*B. rapa*), couve-flor (*B. oleraceae* var. *botrytis*), repolho (*B. oleraceae* var. *capitata*), espinafre (*Spinaceae oleraceae*), diversas variedades de mostarda e *Trapeolum majus*, a ornamental capuchinha (Souza-Silva & Ilharco 1995). O corpo possui coloração verde e apresenta produção de cera branca, sendo que, quando adulto, a secreção é tão abundante que cobre completamente o tegumento. É uma espécie holocíclica em climas temperados, possuindo geração sexual no outono, com ovos que atravessam o inverno, e apresentando reprodução partenogenética apomítica até o próximo outono. Em regiões de clima quente não apresentam ciclo sexuado (Heie 1986). Pouco se sabe sobre a biologia reprodutiva desta espécie em regiões tropicais (Dixon *et al.* 1987).

Local de Estudo e Cultivo dos Hospedeiros

Os trabalhos foram conduzidos no Instituto de Biologia, Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, MG. As sementes de *B. oleraceae* var. *italica* (Ramoso Santana) e *B. oleraceae* var. *acephala* (Manteiga) foram cultivadas em sementeiras. Quando as plântulas atingiram em torno de 10cm de altura e apresentaram quatro folhas definitivas, foram transplantadas para os canteiros com espaçamento 50 x 50cm. Este procedimento foi repetido diversas vezes durante o período de experimentação (15 de setembro de 1997 a 30 de agosto de 1998).

Obtenção e Manutenção dos Clones

Para a obtenção de uma amostra com grande variabilidade genética, os clones de *B. brassicae* foram coletados em locais distintos, distantes entre si por, pelo menos, 500m. Três clones foram obtidos em pés de couve e um, em folhas de brócolis. Estes clones foram estocados e mantidos em folhas completamente expandidas de couve e brócolis, envoltas por uma embalagem de organza (30 x 20cm) para permitir a ventilação e evitar que os distintos clones se misturassem (Fig. 2.1.A). A substituição das folhas dos hospedeiros em uso para o experimento era feita sempre que necessário, após o envelhecimento das mesmas, sendo os clones remanejados para folhas mais jovens, que ofereciam melhores condições de sobrevivência.

Plasticidade Fisiológica

Pulgões pertencentes a um mesmo clone foram alimentados simultaneamente em 2 hospedeiros distintos (variedades de *B. oleracea*) para a avaliação do grau de plasticidade na sua performance. Cinco ninfas de cada clone, com aproximadamente a mesma idade, foram colocadas em cada hospedeiro para estabelecerem diferentes linhagens (descendentes partenogénéticos). Estas fêmeas foram individualizadas nos hospedeiros testados, com o uso de “clipcages” ou pequenas arenas na face abaxial das folhas, para que pudessem ser acompanhadas diariamente (Fig. 2.1.B). A utilização dos “clipcages” também evitou o ataque de parasitóides, fuga ou queda dos pulgões. Após terem se tornado adultas, contava-se o número de ninfas produzidas a cada dia subsequente. As ninfas-filhas produzidas eram removidas diariamente e colocadas nas culturas estoques. Geralmente, no primeiro dia em que o adulto reproduzia, uma ninfa era isolada para constituir a nova geração a ser testada. Formas aladas eram descartadas e

novas ninfas foram escolhidas ao longo do experimento, quando necessário. Os indivíduos selecionados (cerca de $20,9 \pm 1,56$ de cada clone) foram observados e registrados o período de desenvolvimento (tempo decorrido entre o nascimento até o primeiro dia da reprodução) e a fecundidade (número de ninfas produzidas diariamente). Com estes dados foi calculado o índice de performance ou “fitness” (Wyatt & White 1977), enfocando a taxa de crescimento populacional (r_m), com a seguinte fórmula:

$$r_m = [0,738 (\ln Md)]/d$$

onde: d = Tempo de desenvolvimento até a fase adulta e Md = Número de ninfas produzidas no período d. A verificação de diferenças significativas nos caracteres coletados: período de desenvolvimento, fecundidade relativa e índice de “fitness” (r_m), foram estimadas utilizando análise de variância (ANOVA) para dois fatores, clones e hospedeiros. Segundo o modelo quantitativo de Via & Lande (1985), respostas plásticas podem ser detectadas quando a variação causada pelo fator “hospedeiro” for significativa. Interações entre clones e hospedeiros informam o grau de variabilidade nas respostas plásticas entre os genótipos analisados. A variabilidade genotípica entre os clones estudados é dada pela quantidade de variação atribuída ao fator “clone”. Para cada clone, em cada ambiente, foram calculados os valores médios dos caracteres analisados (valores genotípicos), que correspondem às medidas genéticas de cada caráter (valores médios fenotípicos). Utilizando estes valores, foram calculados as correlações genéticas dos caracteres genotípicos dos clones nos diferentes hospedeiros, por meio do coeficiente de correlação de Pearson. Correlações genéticas entre dois caracteres métricos informam sobre a influência de um

mesmo grupo de genes na determinação fenotípica destes caracteres (Falconer 1989). Para verificar a ocorrência de “trade-offs” (ou correlações genéticas negativas), normas de reação também foram efetuadas para cada caráter analisado. A norma de reação representa a direção das respostas plásticas e a variabilidade entre os genótipos (clones) quanto ao grau de plasticidade (Scheiner 1993). As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa SYSTAT para Windows versão 9.0 (Systat 2000).

Plasticidade Comportamental

No período de 9 de julho a 5 de agosto de 1998, foram realizados os experimentos de preferência em clones de *B. brassicae*, para avaliar o grau de escolha, em detrimento da experiência prévia. Os indivíduos testados foram cultivados nos hospedeiros por sessenta dias antes da realização do experimento. Dez recipientes plásticos, contendo duas aberturas no fundo foram utilizados como arenas. Nestas aberturas, foram inseridas folhas de cada hospedeiro, fixadas com rolhas de borracha, após o que, adultos ápteros eram colocados individualmente no centro dos recipientes. Os recipientes foram fechados com uma tampa plástica, para que não houvesse a interferência de odores e iluminação externos (Fig. 2.2). Os 20 indivíduos de cada clone testados quanto à escolha do hospedeiro, foram previamente submetidos à inanição por uma hora, antes da execução do experimento. A escolha final dos indivíduos era registrada após uma hora e 20 minutos. Um teste de heterogeneidade (X^2) foi realizado para se verificar diferenças nas respostas entre distintos clones. Tabelas de contingência foram feitas para verificar diferenças nas categorias de escolha. Nesta análise utilizou-se a correção de Yates (Zar 1984).



Figura 2.1 - Estoque dos clones de *Brevicoryne brassicae* em folhas de *Brassica oleracea* variedade *acephala*. A. Folha de couve envolta em organza. B. Hospedeiro com "clipcages".

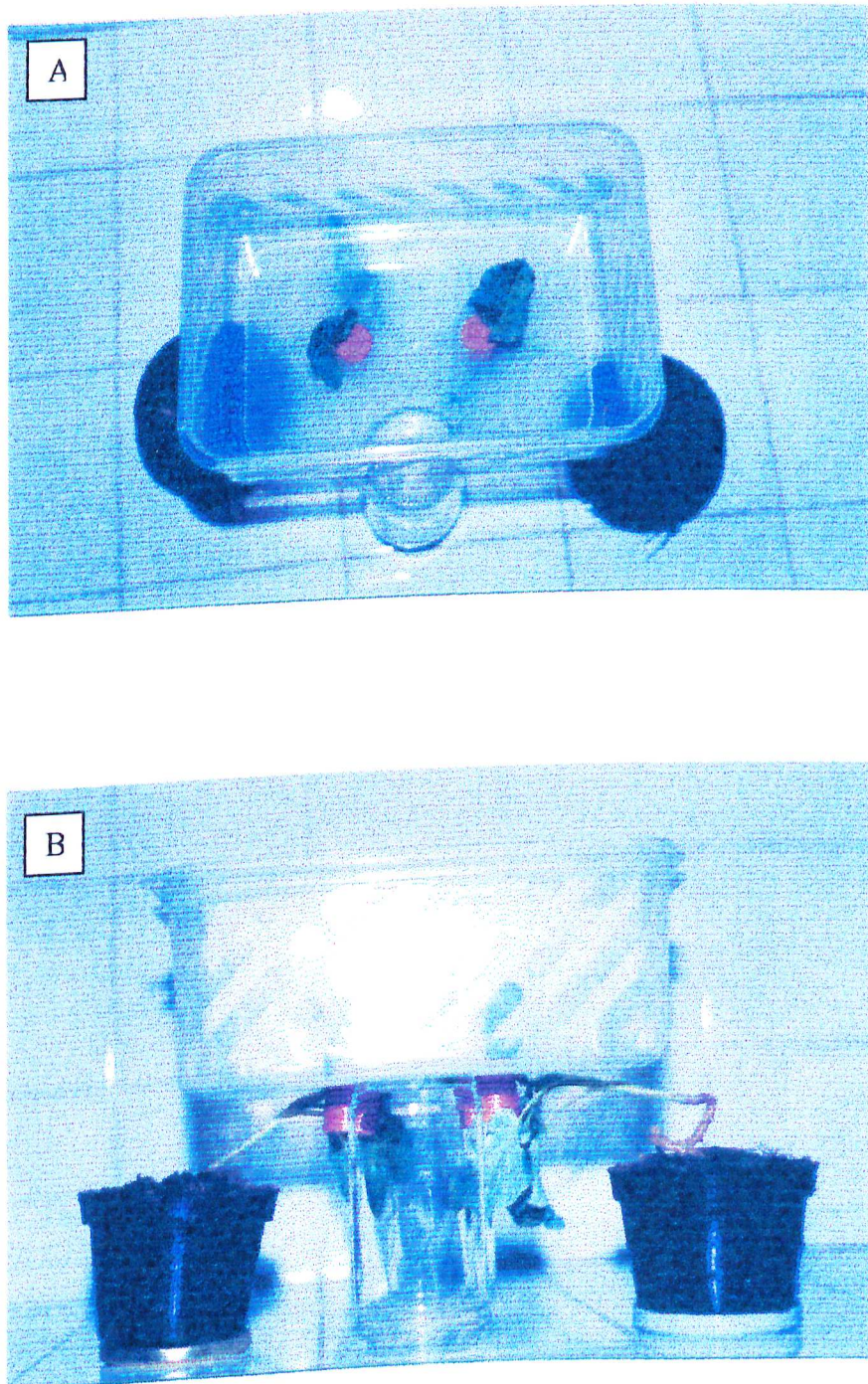


Figura 2.2. Ensaio para avaliação de preferência em clones de *Brevicoryne brassicae*. **A.** vista por cima. **B.** vista lateral.

2.3. RESULTADOS

Plasticidade Fisiológica

O tempo médio obtido para o período de desenvolvimento mostrou-se significativamente maior no brócolis (7,2 dias) que na couve (6,3 dias). Fora isto, os demais caracteres (fecundidade relativa e índice de “fitness”) não mostraram diferenças significativas nos valores médios entre hospedeiros, ou seja, não se apresentaram fenotipicamente plásticos, apresentando performances equivalentes em ambos hospedeiros (Tabelas 2.1 e 2.2.). Não foram detectadas diferenças significativas entre clones para nenhum dos caracteres analisados (Tabela 2.2), o que indica pequena ou nenhuma variabilidade genética entre os clones de *B. brassicae*. Também não foi verificada significativa variabilidade entre os clones quanto às respostas plásticas (interações clone x hospedeiro não foram significativas) dos caracteres analisados (Tabela 2.2). As normas de reação confirmam não haver diferenças também na direção de variação das respostas plásticas entre clones (Fig. 2.3).

Não foram encontradas correlações genéticas negativas significativas (indicativas de ocorrência de “trade-offs”) em nenhum dos caracteres testados entre os hospedeiros. Todos os coeficientes obtidos foram positivos, embora não significativos (Tabela 2.3).

Tabela 2.1. Valores médios dos caracteres estimados (\pm erro padrão) para os clones de *Brevicoryne brassicae* que utilizaram couve e brócolis como hospedeiros.

CARACTERÍSTICA	COUVE	BRÓCOLIS
Índice de "fitness" (fêmeas/ fêmeas por dia)	0,4 \pm 0,01 (n=98)	0,3 \pm 0,02 (n=69)
Período de desenvolvimento (dias)	6,3 \pm 0,16 (n=98)	7,2 \pm 0,25 (n=69)
Fecundidade relativa (fêmeas/ dia)	4,5 \pm 0,17 (n=98)	4,3 \pm 0,24 (n=69)

Tabela 2.2. Análise de Variância (ANOVA) para dois fatores na performance ou índice de “fitness” (r_m), fecundidade relativa e período de desenvolvimento de clones de *Brevicoryne brassicae* que utilizaram couve e brócolis como hospedeiros.

FONTE	GL	MQ	F	P
Performance (r_m)				
Clone	3	0,004	0,341	0,796
Hospedeiro	1	0,039	3,412	0,067
Clone*hospedeiro	3	0,015	1,281	0,283
Erro	159	0,012		
Fecundidade relativa				
Clone	3	1,810	0,582	0,664
Hospedeiro	1	3,967	1,157	0,284
Clone*hospedeiro	3	1,428	0,416	0,741
Erro	159	3,429		
Período de desenvolvimento				
Clone	3	3,044	0,906	0,439
Hospedeiro	1	30,041	8,943	0,003
Clone*hospedeiro	3	1,307	0,389	0,761
Erro	159	3,359		

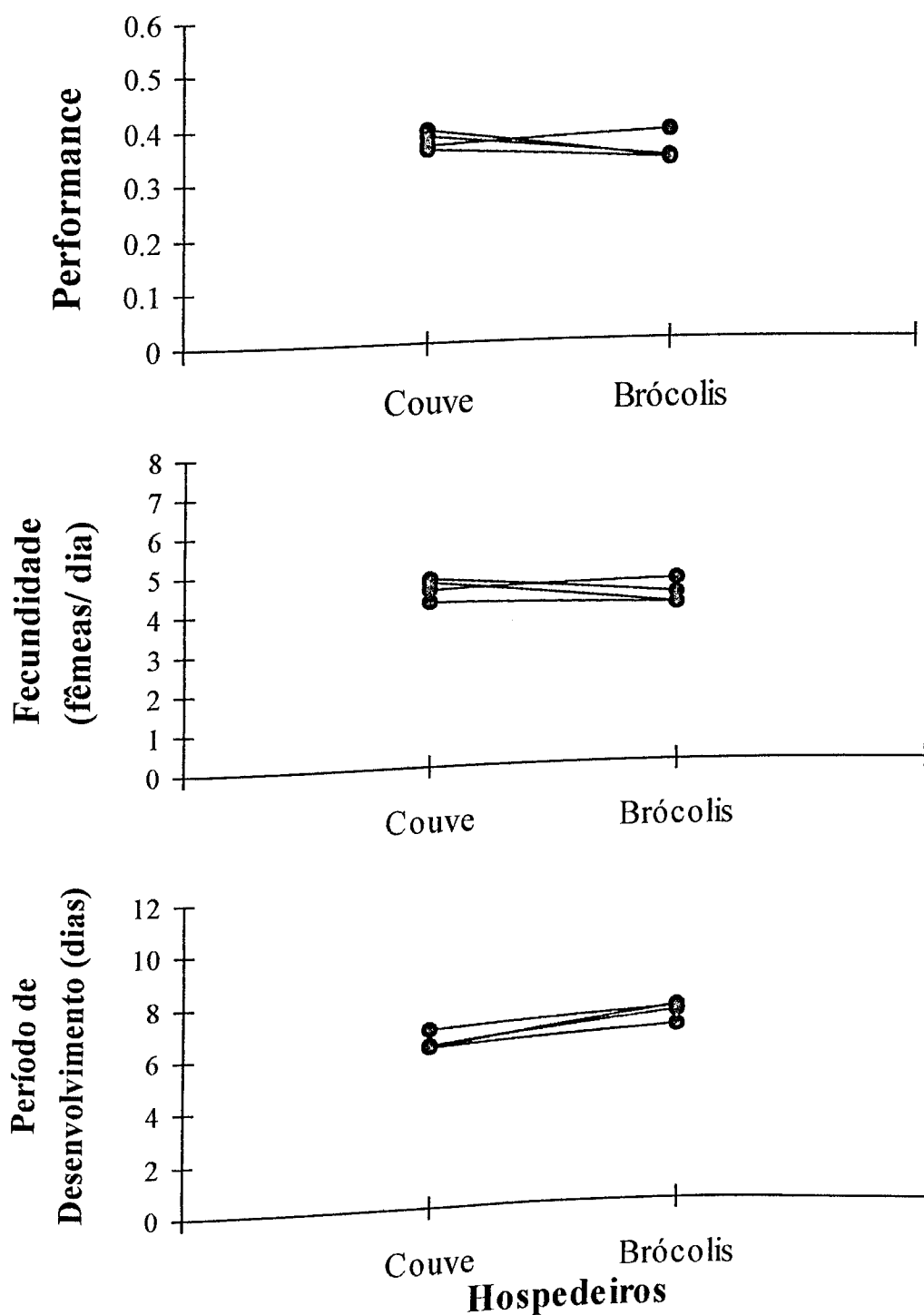


Figura 2.3. Normas de reação da performance, fecundidade relativa e o período de desenvolvimento de clones de *Brevicoryne brassicae* que utilizaram couve e brócolis como hospedeiros.

Tabela 2.3. Correlações genéticas (correlações do mesmo caráter estimado nos dois hospedeiros testados) do índice de “fitness” ou performance (r_m), período de desenvolvimento (PD), fecundidade relativa (FR) de *Brevicoryne brassicae* que utilizaram couve e brócolis como hospedeiros.

CARACTERÍSTICA	r	P	n
r_m	0,782	0,218	4
PD	0,315	0,685	4
FR	0,622	0,378	4

Plasticidade Comportamental

O teste de heterogeneidade demonstrou que as respostas dos distintos clones não foram diferentes estatisticamente quanto ao comportamento de escolha ($X^2=6,696$; $P>0,05$). Por isso, os dados foram agrupados para análise de preferência (Tabela de Contingência). O teste de preferência revelou que os clones testados escolheram a variedade na qual haviam sido criados ($X^2=11,328$; $P<0,001$). Deste modo, clones criados no brócolis preferiram esta variedade independentemente do hospedeiro em que foram inicialmente coletados. Analogamente, clones criados na couve preferiram este mesmo hospedeiro (Fig. 2.4).

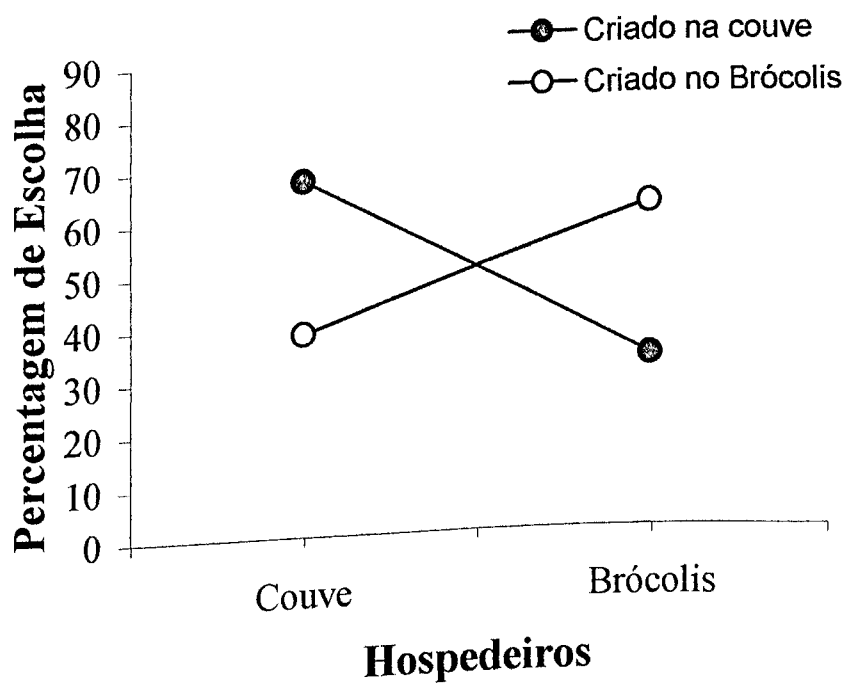


Figura 2.4. Preferência de clones do afídeo *Brevicoryne brassicae* que utilizaram couve e brócolis como hospedeiros.

2.4. DISCUSSÃO

A ausência de plasticidade, provavelmente ocorreu devido à grande similaridade existente entre as duas variedades de *B. oleracea* testadas, o que possibilitou ao afídeo *B. brassicae* a expressão de um fenótipo constante, com eficiência alimentar semelhante em ambos os hospedeiros. Embora divergências na performance não tenham sido encontradas, houve significativo aumento no período de desenvolvimento no brócolis, indicando assim, a presença de certo grau de plasticidade em um dos elementos determinantes da performance.

Outros estudos já demonstraram alto potencial plástico na performance de pulgões. Debarro *et al.* (1995) trabalhando com oito clones do afídeo *Sitobion avenae* (Fabricius) em duas espécies de hospedeiros, o trigo (*Triticum aestivum*) e a gramínea (*Dactylis Glomerata*), obtiveram performances significativamente diferentes nestes hospedeiros. O fato de clones diferirem na performance quando testados em hospedeiros distintos também já foi registrado para outras espécies de afídeos como *Acythosiphon pisum* (Haris) (Via 1991) e *Aphis fabae* (Scopoli) (Mackenzie 1996).

Pelo método quantitativo também não foi verificada a ocorrência de variabilidade entre os clones para a plasticidade fisiológica, visto que as respostas plásticas dos distintos clones foram similares. As correlações obtidas foram positivas e não significativas, não sendo portanto acusada a existência de "trade-offs". O afídeo *B. brassicae* possivelmente não está sofrendo seleção para a especialização no uso dos hospedeiros testados. Não se espera deste modo, pelo menos a curto prazo, que possa haver a formação de biótipos ou raças desta espécie adaptadas às diferentes variedades de brássicas.

Embora os diferentes clones de *B. brassicae* não tenham demonstrado plasticidade fisiológica no uso dos hospedeiros testados, apresentaram significativa preferência por determinado hospedeiro. Indivíduos selecionaram, de modo significativo, os hospedeiros nos quais se alimentaram durante seu período pré-reprodutivo. O fenômeno de condicionamento para a escolha de hospedeiros (Müller 1985) é também conhecido como Princípio de Hopkins (Hopkins 1917) ou preferência induzida (Jermy *et al.* 1968).

Thompson (1988) já havia verificado que a preferência para a escolha de um hospedeiro pode variar dentro de uma mesma população. Lushai *et al.* (1997) também verificaram forte influência do condicionamento na preferência do pulgão *S. avenae*. Guldemond (1990), que conduziu experimentos para determinação de preferência em espécies de afídeos do gênero *Cryptomyzus*, verificou grandes possibilidades para o isolamento reprodutivo em decorrência de preferência acentuada pelo hospedeiro usualmente utilizado. Além disso, parasitóides de afídeos tendem a permanecer no mesmo cultivar à procura de hospedeiros (Van-Emden *et al.* 1996), num processo resultante de condicionamento.

Embora as diferenças entre os hospedeiros testados não tenham sido grandes o bastante para influenciar a performance dos indivíduos, foram, entretanto, suficientes para produzir condicionamento induzido pela experiência prévia. O condicionamento para escolha de hospedeiros ocorrido entre clones como resultado de um comportamento de aprendizagem, pode ser considerado como um processo de plasticidade fenotípica comportamental.

2.5. RESUMO

Interações entre insetos fitófagos e suas plantas hospedeiras podem gerar modificações fisiológicas, morfológicas e comportamentais na população dos parasitas. Estas modificações, ocorridas devido à plasticidade fenotípica, podem ter relevância nos processos de especialização e formação de ecótipos. Este trabalho, teve como objetivo verificar a ocorrência de plasticidade fenotípica (fisiológica e comportamental) de quatro clones do pulgão *Brevicoryne brassicae* na utilização de duas variedades de hospedeiros, a couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*) e o brocólis (*B. oleracea* var. *italica*). Ninfas, com aproximadamente a mesma idade, foram alocadas individualmente na face abaxial das folhas dos hospedeiros testados e observadas diariamente quanto ao período de desenvolvimento e fecundidade para cálculo do índice de "fitness" (r_m) ou performance. Experimentos para determinar a preferência (plasticidade comportamental) foram realizados em laboratório, com uso de oitenta indivíduos (20 por clone), com base em suas escolhas por determinado hospedeiro. Medidas de variabilidade na ocorrência de plasticidade foram feitas segundo modelo de genética quantitativa. Os clones demonstraram pequena plasticidade fisiológica provavelmente devido à grande similaridade genética entre as duas variedades de plantas testadas ($F=3,412$; $P=0,067$). Também não foi verificada grande variabilidade nas respostas apresentadas entre clones ($F=1,281$; $P=0,283$). No entanto, os clones apresentaram significativa preferência por determinado hospedeiro ($X^2=4,66$; $P<0,05$), sendo marcante o fenômeno de condicionamento (indivíduos "escolhiam" os hospedeiros nos quais se alimentaram durante seu período pré-reprodutivo). Não foi detectada pressão de seleção

suficiente para promover a formação de biótipos ou raças nesta espécie, adaptadas às variedades de brássicas testadas.

2.6. ABSTRACT

Interactions between phytophagous insects and their host plants can produce physiological, morphological and behavioural changes on the population of the parasites. Such changes due to phenotypic plasticity may be relevant in both the specialization process and host races or ecotypes formation. In this work it was investigated the occurrence of phenotypic plasticity (physiological and behavioural) on distinct aphids clones of *Brevicoryne brassicae* (L.), utilizing two different hosts: cabbage (*Brassica oleraceae* var. *acephala*) and broccoli (*B. oleraceae* var. *italica*). Nymphs, with approximately the same age, were placed individually on the underneath leaf surface on each tested host. Their development time and fecundity were observed daily in order to calculate a fitness index (r_m) or performance. Experiments to determine preference (behavioural plasticity) were done inside the laboratory, basing on the choice of eighty aphids (20 per clone) for a particular host. Measurements of variability on plastic responses among clones were done following a quantitative genetic model. Clones demonstrated low physiological plasticity ($F=3.412$; $P=0.067$) probably due to the great genetic similarity between the two varieties of plants used as hosts. It was not verified great variability for this kind of plasticity among performances of the analysed clones ($F=1.281$; $P=0.283$). Nevertheless, they presented significant preference for a particular host ($X^2=4.66$; $P<0.05$), which demonstrate the conditioning behaviour (individuals choosing the hosts were they have fed during their development period). It was not detected a selection pressure hard enough to promote biotype or race formation in *B. brassicae* adapted to the host varieties tested.

2.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bradshaw, A.D. 1965.** Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Adv. Genet.* 13: 115-155.
- Debarro, P.J., T.N. Sherrat, O. David & N. Maclean. 1995.** An investigation of the differential performance of clones the aphid *Sitobion avenae* on two host species. *Oecologia* 104: 379-385.
- Dixon, A.F.G., P. Kindlaman, J. Leps & J. Holman. 1987.** Why there are few species of aphids especially in the tropics? *Amer. Nat.* 129: 580-592.
- Falconer, D.S. 1989.** *Introduction to quantitative genetics.* New York, Hongmansei & Tech.
- Fry, J.D. 1992.** On the maintenance of genetic variation by disruptive selection among hosts in a phytophagous mite. *Evolution* 46: 540-550.
- Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E. Berti Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves & J.D. Vendramim. 1988.** *Manual de entomologia agrícola.* São Paulo, Agronômica Ceres.
- Guldemon, J.A. 1990.** Choice of plant as a factor in reproductive isolation of the aphid genus *Cryptomyzus* (Homoptera: Aphididae). *Ecol. Entomol.* 15: 43-51.
- Heie, O.E. 1986.** *The aphidoidea (Hemiptera) of Fennoscandia and Dnmark III. Fauna Entomologica Scandinavica.* V. 25, Conpenhaagen, Scandinavian Science Press Ltda.
- Hopkins, A.D. 1917.** A discussion of C.G. Hewitt's paper on "Insect Behaviour". *J. Econ. Entomol.* 10: 92-93.

- Jermy, T., F.E. Hanson & V.G. Dethier. 1968.** Induction of specific food preference in lepidopterous larvae. *Entomol. Exp. Appl.* 11: 211-230.
- Lushai, G., N. Sherratt, O. David, P.J. Debarro & N. Maclean. 1997.** Host selection by winged summer females of the aphid *Sitobion avenae*. *Entomol. Exp. Appl.* 85: 199-209.
- Mackenzie, A. 1996.** A trade-off for host plant utilisation in the black bean *Aphis fabae*. *Evolution* 50: 155-162.
- Mariconi, F.A.M., A.P.L. Zamith & M. Menezes. 1963.** "Pulgão das Brássicas" *Brevicoryne brassicae* (L; 1758): Estudo descritivo, bionômico e de combate. *Olericult. Bras.* 3: 165-202.
- Müller, V.F.P. 1985.** Genetic and evolutionary aspects of host choice phytophagous insects, especially aphids. *Biol. Zbl.* 104: 225-237.
- Paula, S.V., M.C. Picanço, F.H. Koga & J.C. Moraes. 1995.** Resistência de sete clones de couve comum à *Brevicoryne brassicae* (L) (Homoptera: Aphididae). *An. Soc. Entomol. Brasil.* 24: 99-104.
- Scheiner, S.M. 1993.** Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 24: 35-68.
- Schlichting, C.D. 1986.** The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 17: 667-693.
- Souza-Silva, C.R. & F.A. Ilharco. 1995.** *Afídeos do Brasil e suas plantas hospedeiras: Lista Preliminar*. São Carlos, EDUFSCar.
- Stearns, S. C. 1989.** The evolutionary significance of phenotypic plasticity. *Bioscience* 39: 436-445.
- Systat. 2000.** *Systat for windows: statistics*. version 9th ed., SYSTAT, Evaston, III.
- Thompson, J.D. 1988.** Variation in preference and specificity in monophagous and oligophagous swallow tail butterflies. *Evolution* 42: 118-128.

- Thompson, J.D.** 1991. Phenotypic plasticity as a component of evolutionary chance. *TREE* 6: 246-249.
- Ueno, H., N. Fujiyama & H. Katakura.** 1997. Genetics basis for different host use in *Epilacha pustulosa*, a herbivorous ladybird beetle. *Heredity* 78: 227-283.
- Van-Emden, H.F, B. Sponagl, E. Wagner, T. Backer, S. Ganguly & S. Douloumpaka.** 1996. "Hopkins" "host selection principle, another nail in its coffin. *Physiol. Entomol.* 21: 325-328.
- Via, S.** 1990. Ecological genetics and host adaptation in herbivorous insects: the experimental study of evolution in natural and agricultural systems. *Ann. Rev. Entomol.* 35: 421-446.
- Via, S.** 1991. The genetic structure of host plant adaptation in a spatial patchwork: demographic variability among reciprocally transplanted pea aphid clones. *Evolution* 45: 827-852.
- Via, S. & R. Lande.** 1985. Genotype-environment interactions and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution* 39: 505-522.
- Via, S., R. Gomulkiewicz, G. Dejong, S.M. Scheiner, C.D. Schlichting & P.H.V. Tienderen.** 1995. Adaptive phenotypic plasticity: Consensus and controversy. *TREE* 10: 212-217.
- Wyatt, L.J. & P.F. White.** 1977. Simple estimation of intrinsic increase rates aphids and tetranychid mites. *J. Appl. Ecol.* 14: 757-766.
- Zar, J.H.** 1984. *Biostatistical analysis*. New Jersey, Prattice Hall.

CAPÍTULO 3

**Plasticidade para o Tamanho e a Fecundidade do
Pulgão *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera:
Aphididae) na Utilização de Distintos
Hospedeiros.**

3.1. INTRODUÇÃO

A plasticidade fenotípica é a habilidade do indivíduo alterar seu fenótipo em resposta às influências ambientais (Bradshaw 1965, Schlichting 1986, Via *et al.* 1995). Variações de natureza plástica podem ocorrer tanto em caracteres fisiológicos quanto morfológicos e, de modo geral, plasticidade morfológica é muitas vezes acompanhada por plasticidade em outros caracteres da história de vida (Kindlmann & Dixon 1992, Scheiner 1993).

Nas interações entre insetos e plantas, a plasticidade fenotípica parece ter papel relevante porque possibilita o uso de distintos hospedeiros em espécies polífagas. Além da expansão do número de hospedeiros utilizados, a evolução fenotípica pode também ser verificada em populações contemporâneas de insetos fitófagos sob condições peculiares, que incluem mudança ambiental drástica ou invasão de um novo predador (Via & Shaw 1996).

A plasticidade de um caráter está sob controle genético e pode, portanto, ser influenciada pela seleção natural (Bradshaw 1965). Representa, deste modo, um componente adaptativo fundamental capaz de gerar mudanças evolutivas (Thompson 1991). Assim, a plasticidade, que atua inicialmente como mecanismo adaptativo gerador de variabilidade para a manutenção da polifagia, pode ter seus custos aumentados, se a seleção natural operar intensificando a especificidade entre insetos e sua planta hospedeira. Como consequência, poderá haver, por seleção disruptiva, o aumento no grau de adaptabilidade e especialidade a um hospedeiro determinado, acompanhado pela perda na eficiência de utilização de um hospedeiro alternativo, resultando na formação de ecótipos ou raças (Scheiner & Callahan 1999). Além disto, se as pressões

de seleção forem mantidas e as divergências acentuadas, novas espécies poderiam ser formadas, mesmo simpatricamente (Via 1999).

A coevolução morfológica entre fitófagos e hospedeiros é muito comum entre os afídeos (Eastop 1986, Moran 1986, Via & Shaw 1996, Wool & Hales 1997). Afídeos são pequenos insetos (1 a 10 mm) que pertencem à superfamília Aphidoidea da ordem Hemiptera. Existem cerca de 4.000 espécies de afídeos, cuja maior parte vive em climas temperados, onde uma em quatro espécies de plantas são atacadas por estes fitófagos (Dixon 1985). Entretanto, também nas regiões tropicais afídeos danificam lavouras e são capazes de veicular viroses às plantas hospedeiras (Dixon 1985, Eastop 1986). Apresentam ciclo de vida partenogenético, o que não é muito usual entre os insetos (Blackman & Eastop 1984). São polípagos, pois tendem a se associar com espécies particulares de hospedeiros e são ocasionalmente encontradas em outras plantas, que normalmente não colonizam (Dixon 1985). A introdução de plantas cultivadas também pode fornecer livres e novos nichos ecológicos, que atuam como reservas de hospedeiros para estes insetos (Blackman & Eastop 1984).

A determinação fenotípica do tamanho dos afídeos parece ser bastante influenciada pelo valor nutricional de seus hospedeiros ou da qualidade dos elementos do floema, dos quais se alimentam (Gruber & Dixon 1988, Blackman & Spence 1994). Afídeos precisam consumir muitos mililitros de seiva elaborada para adquirir o necessário em proteínas, uma vez que o floema, embora seja rico em açúcares, é pobre em aminoácidos. Parecem preferir plantas mais jovens, onde a concentração de nitrogênio é maior (Weber 1985).

Este trabalho descreve a ocorrência de plasticidade fenotípica morfológica em 11 clones do pulgão *Brevicoryne brassicae*, em decorrência do uso dos hospedeiros: rabanete (*Raphanus sativus*) e acelga

(*Brassica campestris* var. *pekinsens*), averiguando potencialidades para especialização. Verifica também se as correlações genéticas e fenotípicas entre tamanho e fecundidade são alteradas em virtude da seleção para diferentes regimes alimentares.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

O organismo estudado

Brevicoryne brassicae (L.) é a principal praga da couve e demais brassicáceas. Sob condições tropicais, ocorrem o ano todo, apresentando reprodução partenogenética (Dixon 1985). Quando a colônia é ainda inicial, localizam-se nos brotos e folhas novas. À medida em que a população aumenta, os afideos vão se distribuindo por todo o hospedeiro, parasitando inclusive folhas velhas. Toda a planta sofre graves danos, tais como deformações e amarelecimento das folhas, paralisia parcial ou total no crescimento e, às vezes, a morte (Mariconi *et al.* 1963, Lara *et al.* 1978).

Coleta dos clones

Onze clones foram coletados em janeiro de 2000 em diferentes localidades (bairros) na cidade de Uberlândia, MG; Brasil (Fig. 3.1). Optou-se pela coleta em bairros distintos para aumentar a probabilidade de que os clones fossem geneticamente diferentes. Todos os clones foram coletados em couve (*Brassica oleraceae* var *acephala*) em hortas domésticas ou comerciais.

Estabelecimento e manutenção dos clones em laboratório

O desenvolvimento dos clones no hospedeiro rabanete (variedade Crimson gigante), foi obtido em potes (\varnothing 13,5 cm; altura 25,0 cm), que possuíam aberturas laterais cobertas com organza, para permitir a ventilação. Os clones também foram cultivados em folha de acelga (couve chinesa) em potes (\varnothing 11,5 cm; altura 9,8 cm) com a tampa perfurada e coberta com organza (Fig 3.2). Todos os clones foram mantidos sob as

mesmas condições de temperatura ($t_{\text{mín}}=25,5\pm 1,6^{\circ}\text{C}$ e $t_{\text{máx}}=27,2\pm 1,6^{\circ}\text{C}$), em iluminação artificial (luz fria incandescente), com fotoperíodo de 24 h.

Análises morfométricas

Na terceira geração após o estabelecimento dos clones em laboratório foram tomadas medidas morfológicas de indivíduos adultos. Para isto, 220 indivíduos (10 fêmeas de cada clone em cada hospedeiro) foram pegos ao acaso, sacrificados em álcool 70% e montados à fresco entre lâminas e lamínulas.

O comprimento de 4 caracteres morfológicos foram medidos em cada indivíduo, utilizando régua micrométrica no aumento de 10 vezes. Estes caracteres foram: o último segmento rostral (URS), comprimento do sífúnculo direito (SD), segmento antenal III (SAIII) e tibia anterior direita (TAD) (Fig. 3.3). O número de ninfas presentes no aparelho reprodutivo também foi registrado por meio de inspeção visual, para estimativa de fecundidade.

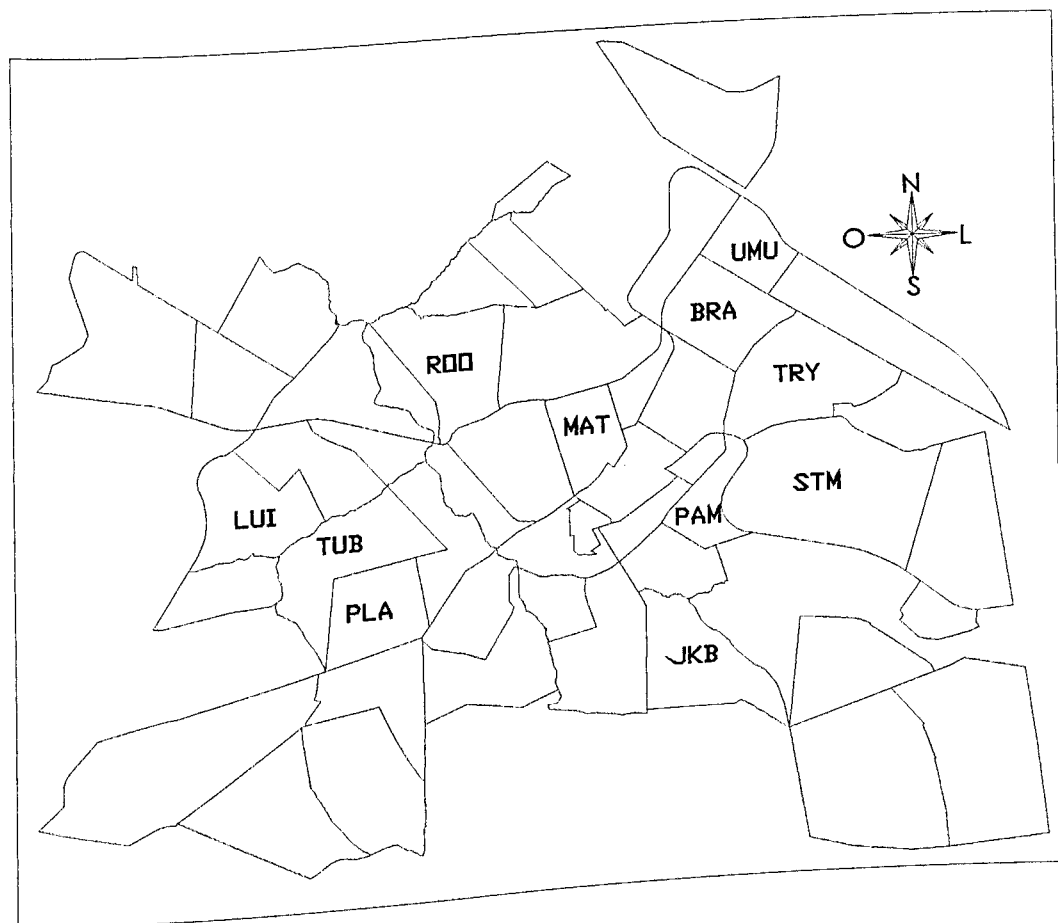


Figura 3.1. Localidades (bairros) de origem dos 11 clones de *Brevicoryne brassicae* avaliadas neste estudo, coletados na cidade de Uberlândia-MG: LUI (B. Luizote de Freitas I), TUB (B. Chácaras Tubalina), PLA (B. Planalto), ROO (B. Presidente Roosevelt), MAT (B. Martins), UMU (B. Jardim Umuarama), BRA (B. Brasil), TRY (B. Tibery), PAM (B. Pampulha), STM (B. Santa Mônica) e JKB (B. Jardim Karaíba).



Figura 3.2. Ensaio para avaliação da plasticidade morfométrica de clones de *Brevicoryne brassicae* na utilização da acelga e rabanete como hospedeiros.

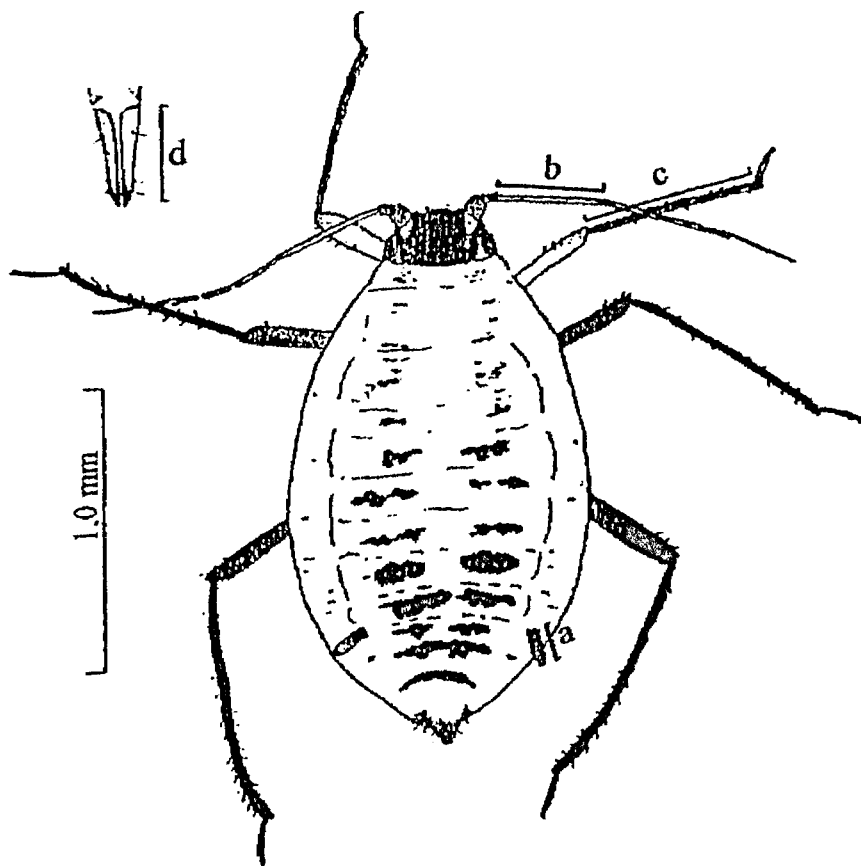


Figura 3.3. Caracteres morfológicos medidos no afídeo *Brevicoryne brassicae*: a. comprimento do sífúnculo direito, b. segmento antenal III, c. tibia anterior direita e d. comprimento do rostro. Fonte: Heie 1986.

Métodos de análise

As medidas morfológicas foram submetidas à análise de componente principal (ACP) para redução da multidimensionalidade dos dados, deles extraindo um índice multivariado de tamanho para cada organismo (Manly 1994). Na ACP, o primeiro componente representa o tamanho e os componentes seguintes são os indicadores de diferenças na forma dos organismos estudados (Reis 1988).

A ocorrência de plasticidade no tamanho e na fecundidade de *B. brassicae* no uso dos hospedeiros distintos foi avaliada segundo o modelo quantitativo de Via & Lande (1985). Este modelo utiliza a análise de variância (ANOVA) para dois fatores para estimar: o componente genético de variabilidade entre clones (fator clone); o componente ambiental da variação, ou seja, a resposta plástica no uso de hospedeiros distintos (fator hospedeiro) e a variabilidade genética para o potencial plástico entre clones (fator clone x hospedeiro).

Uma vez que a análise de variância informa apenas a quantidade de variação ocorrida entre os clones, normas de reação, que denotam a direção de variação, foram também confeccionadas para os caracteres analisados. Normas de reação, que se constituem portanto, na expressão gráfica do genótipo, são também úteis para a detecção de "trade-offs" (Stearns 1989).

"Trade-offs" podem ser detectados por correlação genética negativa de caracteres ligados à sobrevivência e à fecundidade no uso de diferentes hospedeiros (Via 1991). Segundo Rausher (1988), "trade-offs" ocorrem quando em uma parte da população a perda do valor adaptativo no uso de um hospedeiro é acompanhada do aumento na eficiência de utilização de outro hospedeiro, e por isso, sua ocorrência na utilização de diferentes recursos indica potencialidades para a especialização.

Utilizando os valores médios dos caracteres obtidos em cada ambiente, para cada clone, foram calculadas as correlações genéticas. Correlação genética, segundo Falconer (1989), é a correlação entre os valores genotípicos dos caracteres quantitativos, atribuídos à soma dos efeitos médios dos genes que o indivíduo possui, determinados pelo par de alelos de cada loco e para todos os locos (Falconer 1989).

Utilizando valores fenotípicos individuais (10 indivíduos para cada clone) foram calculados as correlações fenotípicas entre tamanho e fecundidade em cada hospedeiro. A correlação fenotípica denota a associação entre duas características que podem ser observadas diretamente, em um número de indivíduos da população (Falconer 1989). Correlações genéticas e fenotípicas foram calculadas obtendo-se o coeficiente de correlação de Pearson (Zar 1984). As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa SYSTAT para Windows versão 9.0 (Systat 2000)

3.3. RESULTADOS

Plasticidade no tamanho e na fecundidade

A percentagem total de variação explicada pelo primeiro componente principal foi de 69,2%. Todos os "loadings" deste componente apresentaram valores positivos e altos (próximos de uma unidade), embora apresentaram valores positivos e altos (próximos de uma unidade), embora apresentaram valores diferentes (Tabela 3.1). Existem portanto, distintos índices de variação em relação ao sentido do primeiro eixo principal. O coeficiente do segundo componente principal relativo à variável rostro, apresentou sinal negativo o que indica ocorrência de alometria. Isto significa não haver proporcionalidade linear entre o índice de tamanho e o comprimento do rostro. De fato, o coeficiente de variação do rostro foi menor que os das demais variáveis morfológicas (Tabela 3.2). Além disto, o comprimento do rostro ($1,14 \pm 0,01$; $n=110$ na acelga e $1,13 \pm 0,01$; $n=110$ no rabanete) não diferiu entre os indivíduos que utilizaram os distintos hospedeiros ($F=1,997$; $P=0,159$). O segundo componente principal, que pode ser entendido como variação na forma, explica 19,4% do total percentual de variância contida nos dados analisados (Tabela 3.1).

A ANOVA indicou que há diferenças estatísticas significativas no tamanho entre os clones, visto que, boa parte da variação total obtida foi decorrente de causas genéticas ($F=28,079$; $P<0,0001$). Há, também, significativa variabilidade devido ao uso de distintos hospedeiros, ou seja, existe plasticidade fenotípica morfológica ($F=24,354$; $P<0,0001$). A interação genético-ambiental nas respostas plásticas foi significativa, pois, clones responderam fenotipicamente às influencias ambientais de modo distinto (Tabela 3.3).

Os valores médios dos índice de tamanho indicaram que, de maneira geral, clones criados na acelga foram maiores que os clones criados no

rabanete (Tabela 3.4). Entretanto, três clones não demonstraram plasticidade para o tamanho e outros dois clones foram maiores quando utilizaram o rabanete como hospedeiro.

Observou-se grande variabilidade genotípica entre os clones em relação à fecundidade ($F=3,419$; $P<0,0001$). Mas, a maior parte da variabilidade total foi atribuída ao fator hospedeiro, o que demonstra a ocorrência de plasticidade fenotípica ($F=28,947$; $P<0,0001$). A interação clone x hospedeiro também foi significativa (Tabela 3.3), indicando haver variabilidade nas respostas plásticas apresentadas pelos clones quanto à fecundidade entre os hospedeiros (Fig. 3.4).

Os clones na acelga possuíam maior fecundidade média do que clones que utilizaram o rabanete (Tabela 3.4), com exceção de um clone que não se mostrou plástico para este carácter e outro que apresentou maior fecundidade utilizando o rabanete.

As normas de reação confirmaram, graficamente, a ocorrência de plasticidade para o tamanho e a fecundidade (Fig. 3.4).

Correlações genéticas e fenotípicas.

Não foram verificadas correlações genéticas negativas significativas indicativas de "trade-offs" nem para o tamanho ($r=0,565$; $P=0,070$), e nem para fecundidade ($r=0,001$; $P=0,997$). Deste modo, "trade-offs" não foram confirmados quantitativamente (Fig. 3.5). Também não foram significativas as correlações genéticas entre estes dois caracteres em nenhum dos hospedeiros ($r=0,280$; $P=0,404$ na acelga e $r=0,362$; $P=0,274$ no rabanete) (Fig. 3.5).

No entanto, os índices de correlação não foram similares nos dois hospedeiros. Houve correlação fenotípica positiva e significativa entre o tamanho e a fecundidade ($r=0,233$; $P=0,014$) apenas no hospedeiro

rabanete, pois, na acelga, esta correlação não foi significativa ($r=0,140$; $P=0,144$) (Fig. 3.6)

As correlações fenotípicas entre tamanho e fecundidade realizadas individualmente para cada clone, foram na sua maioria positivas e não significativas. Entretanto, índices de correlação negativos também foram obtidos em algumas situações. Não houve, portanto, um padrão geral de covariância entre tamanho e fecundidade nos distintos clones (Tabela 3.5).

Tabela 3.1. Primeiros três componentes da matriz de correlação entre medidas morfométricas de *Brevicoryne brassicae*. A percentagem de variação explicada por cada componente está na base da tabela.

VARIÁVEIS	COMPONENTES		
	1 (TAMANHO)	2 (FORMA)	3 (FORMA)
Sifúnculo	0,864	0,109	-0,492
Antena	0,913	0,255	0,211
Tíbia	0,932	0,148	0,224
Rostro	0,565	-0,824	0,041
Variância explicada	2,767	0,778	0,338
Percentagem de variação	69,180	19,440	8,457

Tabela 3.2. Coeficientes de variação dos caracteres morfológicos estimados para os clones de *Brevicoryne brassicae* que utilizaram acelga e rabanete como hospedeiros.

CARACTERÍSTICA	ACELGA	RABANETE
Sifúnculo	0,087	0,084
Antena	0,121	0,141
Tíbia	0,106	0,108
Rostro	0,048	0,043

Tabela 3.3. Análise de Variância (ANOVA) para dois fatores no tamanho e número de ninfas (fecundidade) de clones de *Brevicoryne brassicae* que utilizaram acelga e rabanete como hospedeiros.

FONTE	GL	MQ	F	P
Tamanho				
Clone	10	10,581	28,079	<0,0001
Hospedeiro	1	9,177	24,354	<0,0001
Clone x Hospedeiro	10	2,941	7,804	<0,0001
Erro	198	0,377		
Fecundidade				
Clone	10	14,971	3,419	<0,0001
Hospedeiro	1	126,768	28,947	<0,0001
Clone x Hospedeiro	10	14,938	3,411	<0,0001
Erro	198	4,379		

Tabela 3.4. Valores médios dos caracteres estimados (\pm erro padrão) para os clones de *Brevicoryne brassicae* que utilizaram acelga e rabanete como hospedeiros.

CARACTERÍSTICA	ACELGA	RABANETE	F	P
Índice multivariado de tamanho	0,2 \pm 0,09 (n=110)	-0,2 \pm 0,09 (n=110)	3,419	<0,0001
Fecundidade	7,1 \pm 0,23 (n=110)	5,5 \pm 0,22 (n=110)	28,947	<0,0001

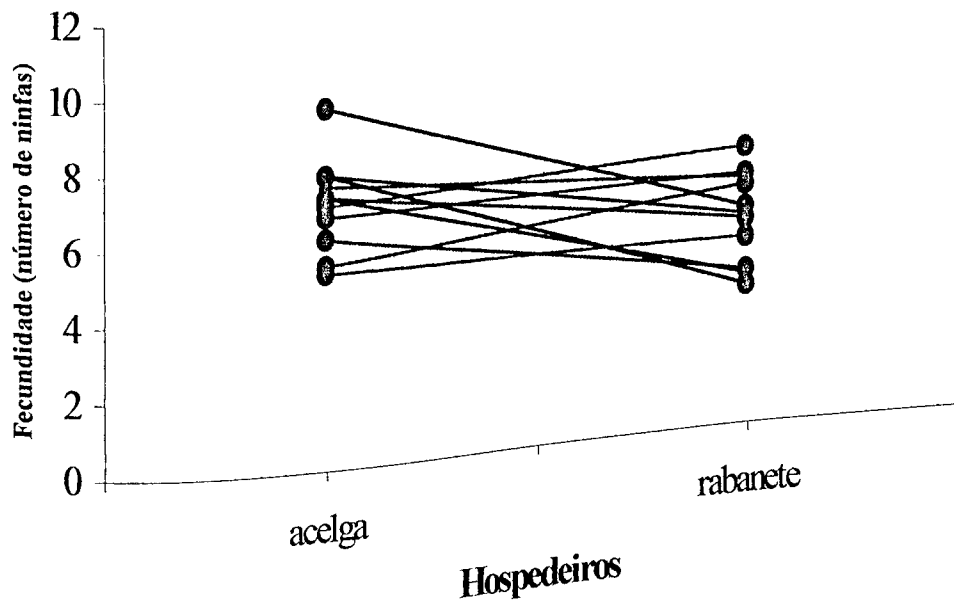
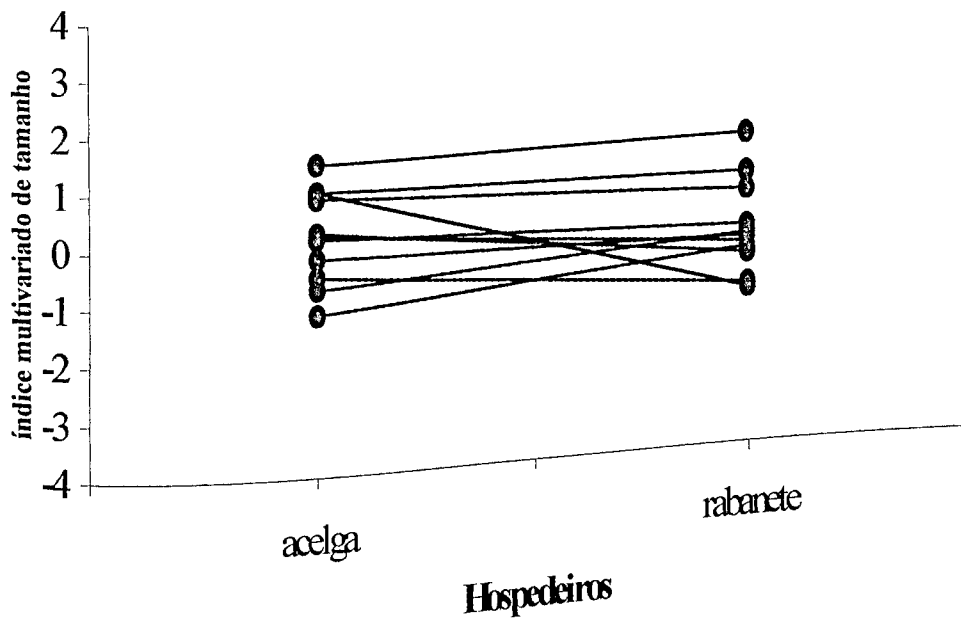


Figura 3.4. Normas de reação do índice multivariado de tamanho e fecundidade para clones de *Brevicoryne brassicae* que utilizaram acelga e rabanete como hospedeiros.

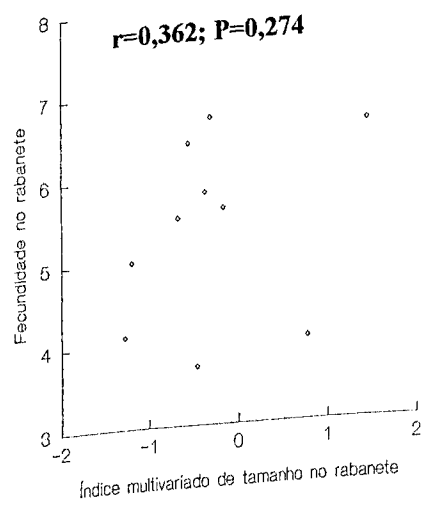
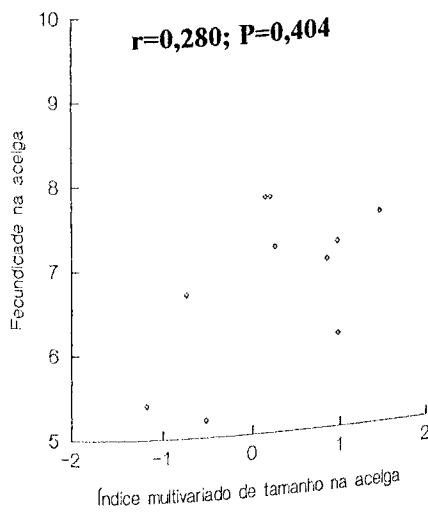
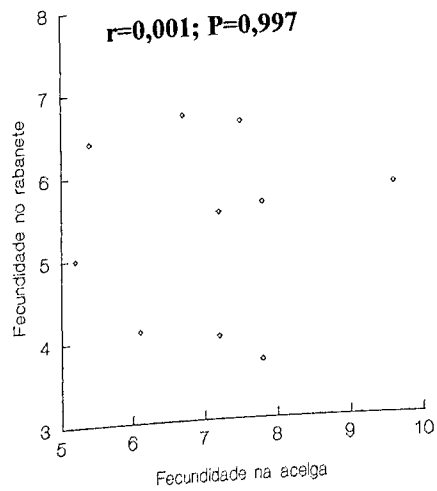
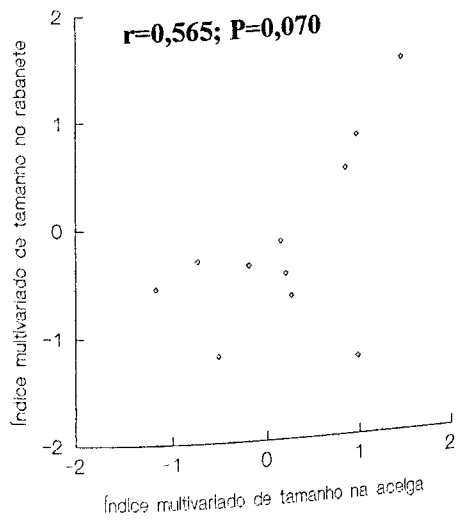


Figura 3.5. Correlações genéticas entre índice multivariado de tamanho e fecundidade para os clones de *Brevicoryne brassicae* que utilizaram acelga e rabanete como hospedeiros.

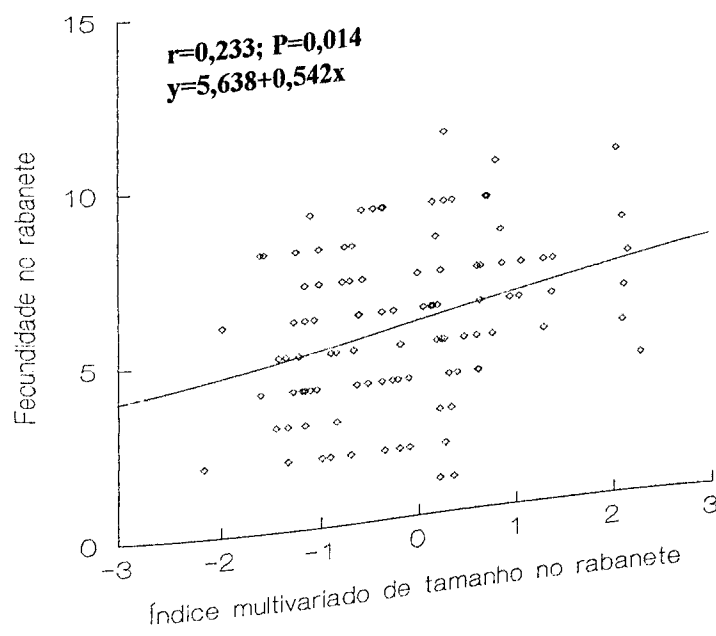
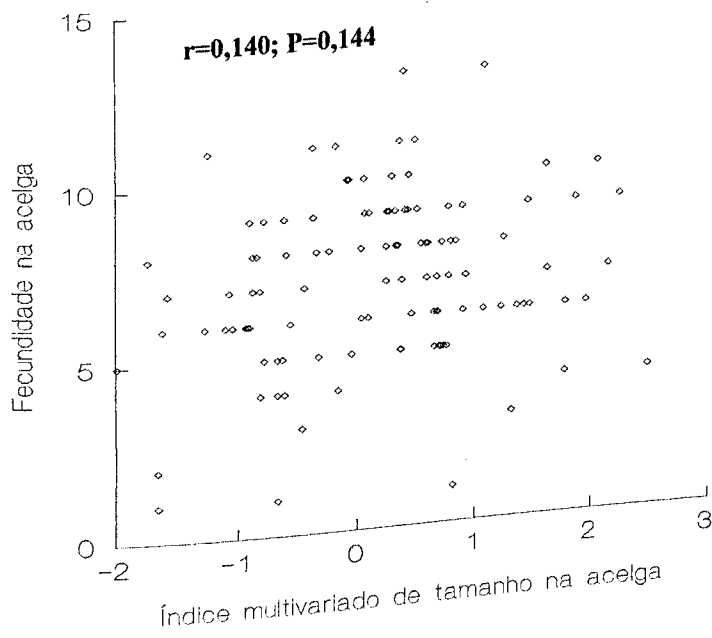


Figura 3.6. Correlações fenotípicas entre índice multivariado de tamanho e fecundidade para clones de *Brevicoryne brassicae* que utilizaram acelga e rabanete como hospedeiros.

Tabela 3.5. Correlações fenotípicas do índice multivariado de tamanho e fecundidade para cada clone de *Brevicoryne brassicae* que utilizaram acelga e rabanete como hospedeiros.

CLONE	n	HOSPEDEIRO	R	P
LUI	10	Acelga	-0,107	0,770
LUI	10	Rabanete	-0,118	0,746
MAT	10	Acelga	-0,257	0,474
MAT	10	Rabanete	0,477	0,164
ROO	10	Acelga	0,424	0,222
ROO	10	Rabanete	0,248	0,490
BR	10	Acelga	0,704	0,023*
BR	10	Rabanete	0,173	0,633
JKB	10	Acelga	0,785	0,007*
JKB	10	Rabanete	-0,564	0,090
STM	10	Acelga	-0,657	0,039*
STM	10	Rabanete	0,092	0,800
PAM	10	Acelga	0,529	0,116
PAM	10	Rabanete	0,561	0,092
TUB	10	Acelga	-0,590	0,073
TUB	10	Rabanete	0,094	0,797
TRY	10	Acelga	-0,504	0,137
TRY	10	Rabanete	0,245	0,494
PLA	10	Acelga	0,361	0,306
PLA	10	Rabanete	-0,051	0,888
UMU	10	Acelga	-0,299	0,402
UMU	10	Rabanete	0,470	0,171

* (valores significativos $P < 0,05$)

3.4. DISCUSSÃO

Os diferentes clones de *Brevicoryne brassicae* responderam fenotipicamente às influências dos seus hospedeiros. Deste modo, a determinação do tamanho e da fecundidade não dependeu apenas da expressão genética, porque houve considerável influência do ambiente.

As significativas interações genótipo-ambiente e as normas de reação indicaram haver variações na intensidade e direção das respostas plásticas entre os clones para o tamanho e a fecundidade. Alguns clones tiveram respostas canalizadas ou semelhantes nos cultivares testados. Mas, a maior parte apresentou maior tamanho e fecundidade quando utilizava um dos hospedeiros. Nestes clones, custos para a plasticidade podem ser apontados pela redução do tamanho e da fecundidade no hospedeiro alternativo.

Como *B. brassicae* apresentou maior tamanho e fecundidade ao utilizar a acelga, este parece ser um hospedeiro mais favorável, se comparado ao rabanete. Entretanto, em ambientes com forte seleção para sobrevivência, espera-se, geralmente, encontrar baixa variabilidade populacional (Falconer 1989). Uma vez que a variabilidade fenotípica total para estes caracteres foi similar na utilização dos cultivares, pode-se supor que os aumentos na variabilidade para o tamanho e a fecundidade estejam sendo gerados por plasticidade fenotípica. A plasticidade fenotípica gerando variabilidade, ao envolver ajustes morfológicos e também fisiológicos em resposta a heterogeneidade ambiental, auxilia a manutenção da sobrevivência e da capacidade reprodutiva, podendo, por causa disto, ser considerada adaptativa (Thompson 1991, Via 1991, Zhivotovsky *et al.* 1996).

Diversos fatores podem ter contribuído para tornar o rabanete um hospedeiro menos adequado ao desenvolvimento e à reprodução de *B.*

brassicae. Além das diferenças nutricionais, os hospedeiros possuem distintas características foliares como a presença de tricomas no rabanete e cera na acelga. Thompson (1988) afirmou que os caracteres anatômicos nas espécies hospedeiras são importantes agentes indutores da especialização herbívora. Tricomas e pêlos são considerados defesas morfológicas em plantas, porque podem restringir o acesso de fitófagos ao floema (Moran 1986). A especialização morfológica às peculiaridades da superfície foliar pode, deste modo, atuar seletivamente nos modos de locomoção, investigação e penetração da superfície para alimentação (Via & Shaw 1996).

Para pulgões do gênero *Uroleucon*, por exemplo, Moran (1986) observou correlação positiva entre comprimento do rostro e diversidade de tricomas foliares de suas plantas hospedeiras.

Peppe & Lomônaco (dados não publicados) verificaram que clones do afideo *Mysus persicae* criados em rabanete possuíam rostros maiores que aqueles que se alimentaram em couve. Contrariamente, os clones de *B. brassicae* apresentaram baixos coeficientes de variação no comprimento do rostro, apesar das diferenças anatômicas dos hospedeiros testados. Divergências nas estratégias de variações plásticas entre *B. brassicae* e *M. persicae* poderiam ser conseqüentes de diferenças no tamanho destes pulgões. *B. brassicae* são maiores que *M. persicae*, o que pode ser facilmente verificado por inspeção visual. Por causa disto, seleção para rostro de maior tamanho em hospedeiros que apresentam grande diversidade de pêlos nas folhas seria mais intensa em *M. persicae*, dado seu menor tamanho.

Além da qualidade nutricional e características anatômicas de hospedeiros, fatores climáticos são também capazes de influenciar a variação nas características quantitativas da população de afideos, tais

como dimensões do comprimento do corpo e número de descendentes (Dixon 1985). O pulgão *Aphis fabae* mostrou ampla variação no tamanho quando se alimentou em diferentes temperaturas e em diferentes hospedeiros (Kindlmann & Dixon 1992). Altas temperaturas podem alterar a forma do corpo, produzindo indivíduos com antenas e patas mais curtas (Kindlmann & Dixon 1992). Rubin-de-Celis *et al.* (1997), verificaram que o clima foi responsável por diferenças fenotípicas entre populações de *Schizaphis graminum* (Rondani) coletados em três localidades brasileiras, e que maior variabilidade ocorreu em pulgões de locais onde as condições climáticas eram mais severas. Kuo (1986) observou plantas induzindo redução no tamanho de afídeos e Wang *et al.* (1997) descreveram a influência da temperatura no desenvolvimento e reprodução do pulgão *Aphis nasturtii*.

A plasticidade no tamanho é, muitas vezes acompanhada pela plasticidade em outros caracteres da história de vida (Kindlmann & Dixon 1992) e, quando existe covariância entre dois caracteres plásticos, correlações genéticas podem ser verificadas entre eles (Falconer 1989). Embora *B. brassicae* tenha mostrado potencial plástico tanto para caracteres morfológicos quanto para a fecundidade, correlações genéticas não indicaram relação linear entre eles. Isto não significa, entretanto, que sejam caracteres independentes. O aumento da variabilidade fenotípica dos clones analisados quando criados no rabanete (o hospedeiro menos favorável), revela que um novo nível de organização genômica está ocorrendo. Esta nova arquitetura genética pode ser causada pela expressão de novos genes ou diferentes expressões do mesmo grupo de genes com efeitos pleiotrópicos sobre os caracteres analisados (Schlichting & Levin 1984, Schlichting 1986, Scheiner & Lyman 1989, Via & Lande 1985, Holloway *et al.* 1990, Gomulkiewicz & Kirkpatrick 1992, Via *et al.* 1995).

Este fato poderia estar influenciando a relação entre fecundidade e tamanho, tornando-a não linear e, portanto, não passível de ser detectada por correlação genética simples. O fato de as correlações fenotípicas entre fecundidade e tamanho somente terem sido positivas e significativas para indivíduos criados no rabanete, corrobora a hipótese de distintos mecanismos genéticos estarem atuando em cada ambiente.

“Trade-offs” que indicariam potencialidades para a especialização no uso de hospedeiros não foram detectados por correlação genética negativa. Pesquisas feitas até o momento parecem indicar serem as correlações negativas, eventos relativamente raros (Rausher 1988, Josh & Thompson 1995). Poucos estudos têm encontrado “trade-offs” para o “fitness” na utilização de diferentes hospedeiros por pulgões (Via 1991, Mackenzie 1996).

Por outro lado, correlações genéticas positivas podem indicar potencialidades para a pré-adaptação de fitófagos a recursos ainda não utilizados (Via 1990, Fry 1992, Josh & Thompson 1995). De fato, o grande potencial plástico de *B. brassicae* para o tamanho e a fecundidade permitiu a utilização do hospedeiro alternativo, mesmo sendo este pouco favorável. Embora a trajetória evolutiva do *B. brassicae* tenha favorecido especialização para o uso de brássicas, parece haver, grandes potencialidades para a pré-adaptação a diferenciados hospedeiros, que poderiam eventualmente ser incorporados à gama de recursos já utilizados pela espécie.

A exemplo do que ocorreu com *B. brassicae*, a possibilidade de colonização ou adaptação ao uso de um hospedeiro por pulgões deve ser considerada com mais atenção na elaboração de programas de manejo de pragas e culturas.

3.5. RESUMO

A plasticidade fenotípica é a habilidade do organismo em alterar seu fenótipo em resposta às influências ambientais. Este trabalho tem como objetivo verificar a ocorrência de plasticidade fenotípica na morfologia e fecundidade de clones de *Brevicoryne brassicae* (L.) na utilização dos hospedeiros rabanete (*Raphanus sativus*) e acelga (*Brassica pekinensis*). Onze clones foram coletados em diferentes localidades (bairros) na cidade de Uberlândia, MG e mantidos nos hospedeiros acelga e rabanete sob as mesmas condições de temperatura e luminosidade. Após a terceira geração, o comprimento de quatro caracteres morfológicos foram obtidos em dez adultos de cada clone e em cada hospedeiro (n=220). Os caracteres medidos foram: último segmento rostral, sífúnculo direito, segmento antenal III e tibia anterior direita. O número de ninfas presentes no aparelho reprodutivo foi registrado para estimativa de fecundidade. As medidas morfológicas foram simplificadas por Análise de Componente Principal, obtendo-se um índice multivariado de tamanho. A ocorrência de plasticidade no tamanho e na fecundidade de *B. brassicae* foi avaliada segundo o modelo de genética quantitativa. Correlações genéticas e fenotípicas foram obtidas por cálculo do coeficiente de correlação de Pearson. A percentagem total de variação explicada pelo primeiro componente principal foi de 69,2%. Os coeficientes do segundo componente principal, relativos à ao segmento rostral, apresentaram sinais negativos, indicando ocorrência de alometria. O rosto parece ser um caráter canalizado na utilização dos hospedeiros testados, uma vez que apresenta o menor coeficiente de variação de todas as estruturas morfológicas analisadas. Os clones apresentaram plasticidade no tamanho (F=24,354; P<0,001) e na fecundidade (F=28,947; P<0,001). Também

foram verificadas variações genéticas nas respostas plásticas entre os clones tanto para o tamanho ($F=7,804$; $P<0,001$) quanto para a fecundidade ($F=3,411$; $P<0,001$). Não foram verificadas correlações genéticas negativas significativas, indicativas de “trade-offs” no uso de hospedeiros para nenhum dos caracteres analisados. No entanto, as correlações fenotípicas entre o tamanho e a fecundidade ($r=0,24$, $P=0,02$) foram positivas e significativas apenas no hospedeiro rabanete. Divergências nas correlações fenotípicas na utilização dos hospedeiros para o tamanho e a fecundidade, podem ser indicativas de que há distintos mecanismos genéticos operando em cada ambiente.

3.6. ABSTRACT

Phenotypic plasticity is the ability of an organism to alter its phenotype in response to environmental influences. This work describes plasticity on the morphology and fecundity of *Brevicoryne brassicae* (L.) clones, utilizing radish (*Raphanus sativus*) and chinese cabbage (*Brassica pekinensis*) as hosts. Eleven clones were collected in different sites (districts) of Uberlândia city, MG, and kept on tested hosts under the same conditions of temperature and photoperiod. Three generations after the clone establishment at the laboratory, morphological traits were obtained for ten adults from each clone and on each host (n=220). The measured characters were: ultimate rostral segment, right sifunculi, antenal segment III, and anterior right tibia. The number of ninphs inside the reproductive apparatus was registered to estimate fecundity. The morphological characters were simplified by PCA analysis and a multivariate index of size was obtained. Plasticity of size and fecundity of *B. brassicae* was evaluated using a quantitative genetic model. Genetic and phenotypic correlations were calculated by Pearson coefficient. The total percentage of variation explained by the first principal component was equivalent to 69.2%. The coefficients related to the rostrum segment on the second principal component presented negative signs, indicating the occurrence of allometry. The rostrum seems to be a canalised structure, among the clones on the tested hosts, since they showed the lowest coefficient of variation. Clones demonstrated plasticity for size ($F=24.354$; $P<0.001$) and fecundity ($F=28.947$; $P<0.001$). Genetic variation among the clones on its plastic responses were also observed both for size ($F=3.411$; $P<0.001$) and fecundity ($F=3.411$; $P<0.001$). Negative genetic correlations indicative of trade-offs were not found. For instance, phenotypic correlation between

size and fecundity was positive and significant only for individuals reared on radish. Divergences on phenotypic correlations related to host use may indicate the occurrence of distinct genetic mechanism operating on each environment.

3.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blackman, R.L. & V.F. Eastop. 1984.** *Aphids on the World's crops: an identification and information guide.* New York, John Wiley Sons.
- Blackman, R.L. & J.M. Spence. 1994.** The effects of temperature on aphid morphology using a multivariate approach. *Eur. J. Entomol* 91:7-22.
- Bradshaw, A.D. 1965.** Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Adv. Genet.* 13:115-155.
- Dixon, A.F.G. 1985.** *Aphid Ecology.* Blackie, Glasgow and London.
- Eastop, V.F. 1986.** Aphid-plant associations In: A.R. Stone and D.L. Hawsworth (eds). *Coevolution and systematics.* Clarendon, Oxford Press.
- Falconer, D.S. 1989.** *Introduction to quantitative genetics.* New York, Hongmansei & Tech.
- Fry, J.D. 1992.** On the maintenance of genetic variation by disruptive selection among hosts in a phytophagous mite. *Evolution* 46:540-550.
- Gomulkiewicz, R. & M. Kirkpatrick. 1992.** Quantitative genetics and evolution of reaction norms. *Evolution* 46: 396-411.
- Gruber, K. & A.F.G. Dixon. 1988.** The effect of nutrient stress on the development and reproduction in a aphid. *Ent. Exp. Appl.* 47: 23-30.
- Heie, O.E. 1986.** *The aphidoidea (Hemiptera) of Fennoscandia and Dnmark III. Fauna Entomologica Scandinavica.* V. 25, Conpenhaagen, Scandinavian Science Press Ltda.
- Holloway, G.J., S. Povey & R. Sibly. 1990.** The effect of new environment on adapted genetic architecture. *Heredity* 64: 323-330.

- Joshi, A. & J.N. Thompson. 1995.** Trade-offs and evolution of host specialisation. *Evol. Ecol.* 9: 82-92.
- Kindlmann, P. & A.F.G. Dixon. 1992.** Optimum body size: effects of good quality and temperature when reproductive growth rate is restricted, with examples from aphids. *J. Evol. Biol.* 5: 677-690.
- Kuo, H.L. 1986.** Resistance of oats to cereal aphids: effects on parasitism by *Aphelinus asychis* (Walker). In: D.J. Boethel and R.D. Eikenbary (Eds). *Interactions of plant resistance and parasitoids and predators of insects*. Chichester, Ellis Horwood.
- Lara, F.M., J. Mayor Jr., A. Coelho & J.B. Fornaster. 1978.** Resistência de variedades de couve a *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758). I. Preferência em condições de campo e laboratório. *An. Soc. Bras. Entomol.* 7: 175-182.
- Mackenzie, A. 1996.** A trade-off for host plant utilization in the black bean *Aphis fabae*. *Evolution* 50:155-162.
- Manly, B.F.J. 1994.** *Multivariate Statistical Methods*. London, Chapman & hall.
- Mariconi, F.A.M., A.P.L. Zamith & M. Menezes. 1963.** "Pulgão das Brássicas" *Brevicoryne brassicae* (L, 1758): estudo descritivo, bionômico e de combate. *Olericult. Bras.* 3:165-202.
- Moran, N.A. 1986.** Morphological adaptation to host plants in *Uroleucon* (Homoptera: Aphididae). *Evolution* 49: 1044-1050.
- Rausher, M.D. 1988.** Is coevolution dead? *Ecology* 69: 898-901.
- Reis, S.F. 1988.** Morfometria e estatística multivariada em biologia evolutiva. *Rev. Bras. Zool.* 5: 571-580.
- Rubin-de-Celis, V.E., D.N. Gassen, S.M. Callegari-Jacques, V.L.S. Valente & A.K. Oliveira. 1997.** Morphometric observations on three

- populations of *Schizaphis graminum* (Rondani), a main wheat aphid pest in Brazil. *An. Soc. Entomol. Brasil.* 26: 417-429
- Scheiner, S.M. 1993.** Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 24:35-68.
- Scheiner, S.M. & R.F. Lyman. 1989.** The genetics of phenotypic plasticity. I. Heritability. *J. Evol. Biol.* 2: 95-107.
- Scheiner, S.M. & H.S. Callahan. 1999.** Measuring natural selection on phenotypic plasticity. *Evolution* 53: 1704-1713.
- Schlichting, C.D. 1986.** The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 17: 667-693.
- Schlichting, C.D. & D.A. Levin. 1984.** Phenotypic plasticity in annual *Phlox*: tests of some hypotheses. *Amer. J. Bot.* 71: 252-260.
- Sterns, S.C. 1989.** The evolutionary significance of phenotypic plasticity. *Bioscience* 39: 436-445.
- Systat. 2000.** Systat for windows: statistic. Version 9th. ed., SYSTAT, Evaston, Ill.
- Thompson, J.D. 1988.** Variation in preference and specificity in monophagous and oligophagous swallow tail butterflies. *Evolution* 42: 118-128.
- Thompson, J.D. 1991.** Phenotypic plasticity as a component of evolutionary chance. *TREE* 6: 246-249.
- Via, S. 1990.** Ecological genetics and host adaptation in herbivorous insects: the experimental study of evolution in natural and agricultural systems. *Ann. Rev. Entomol.* 35: 421-446.
- Via, S. 1991.** The genetic structure of host plant adaptation in a spatial patchwork: demographic variability among reciprocally transplanted pea aphid clones. *Evolution* 45: 827-852.

- Via, S. 1999.** Reproductive isolation between sympatric races of pea aphids. I. gene flow restrictive and habitat choice. *Evolution* 53: 1446-1457.
- Via, S. & R. Lande. 1985.** Genotype-environment interactions and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution* 39: 505-522.
- Via, S. & A.I. Shaw. 1996.** Short-term evolution in the size and shape of pea aphids. *Evolution* 50: 163-173.
- Via, S., R. Gomulkiewicz, G. Dejong, S.M. Scheiner, C.D. Schlichting & P.H.V. Tienderen. 1995.** Adaptive phenotypic plasticity. Consensus and Controversy. *TREE* 10:212-217.
- Wang, K., J.H. Tsai & N.A. Harrison. 1997.** Influence of temperature on development, survivorship and reproduction of blackthorn aphid (Homoptera: Aphididae). *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 90: 62-68.
- Weber, G. 1985.** On the ecological genetic of *Sitobion avenae* (F.) (Homoptera: Aphididae). *Z. Ang. Entomol.* 100: 100-110
- Wool, D. & D.F. Hales. 1997.** Phenotypic plasticity in Australian cotton aphid (Homoptera: Aphididae): host plant effects on morphological variation. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 90: 316-328.
- Zar, J.H. 1984.** Biostatistical analysis. New Jersey, Prentice Hall.
- Zhivotovsky, L.A., M.W. Feldman & A. Bergman. 1996.** On the evolution of phenotypic plasticity in a spatially heterogeneous environment. *Evolution* 50: 547-558.

SISBI/UFU
201940

CAPÍTULO 4

Produção de morfos alados em colônias do afídeo *Brevicoryne brassicae* (L.) por indução do microhimenóptero parasitóide *Diaretiella rapae* (M'Intoshi).

4.1- INTRODUÇÃO

Defesas podem ser induzidas em resposta à ação de inimigos naturais, visando deter o ataque do predador ou aumentar a tolerância do organismo para o perigo (Karban & Baldwin 1997, Tollrian & Harvell 1998). Respostas desta natureza podem ocorrer na morfologia, comportamento ou na história de vida do indivíduo e trazem sobre si um custo energético (Riessen 1992). O custo geralmente é manifestado por queda da fecundidade nas espécies atacadas ou aumento no período de desenvolvimento (Dixon & Wratten 1971, Dixon 1985, Riessen 1992). Exemplos de defesas induzidas em resposta a seus consumidores incluem rápidas mudanças na química das plantas (Rhoades 1985, Baldwin 1988, Karban & Myers 1989), produção de espinhos em invertebrados marinhos (Harvell 1984, Havel 1986) e a ativação de sistemas imunes em invertebrados e vertebrados por patógenos (Klein 1982).

Muitos insetos fitófagos, como os pulgões, são atacados por inimigos naturais (Cappuccino 1988), que incluem predadores e parasitóides. O termo parasitóide é utilizado para designar certos insetos cujas larvas se alimentam sobre ou no interior do corpo de um artrópodo hospedeiro, levando-o quase sempre, à morte (Gauld & Bolton 1988) e que apresentam tamanho um pouco menor que seus hospedeiros (Askew 1971). Os inimigos naturais mais conhecidos e de maior importância dos afídeos são: Neuroptera, Diptera (Syrphidae e Cecidomyidae), Coleoptera (Coccinellidae e Carabidae) e as pequenas vespas Hymenoptera (Aphidiinae) (Frazer 1998).

Afídeos, apesar de geneticamente idênticos em uma colônia, apresentam polimorfismo para formas ápteras e aladas. Afídeos alados promovem a expansão espacial da população (Blackman & Eastop 1984,

Dixon 1985) e fornecem oportunidades para a exploração de outras plantas agrícolas e podem, deste modo garantir a sobrevivência do clone em outros hospedeiros (Tatchell 1990). Alados podem ocorrer em resposta à alta densidade de afídeos na planta, declínio da qualidade das plantas hospedeiras ou devido as mudanças sazonais (Taylor *et al.* 1999).

O objetivo deste trabalho foi o de verificar se há a formação diferenciada de morfos alados produzidos em colônias do afídeo *Brevicoryne brassicae* quando expostas ao parasitóide microhimenóptero *Diaretiella rapae*.

4.2- MATERIAIS E MÉTODOS

Organismos estudados

A vespa *Diaretiella rapae* (M'Intosh) (Hymenoptera: Aphidiinae) é conhecida como o parasitóide do pulgão da couve, *Brevicoryne brassicae* (Green & Ayal 1998, Bueno & Souza 1993). É um endoparasita solitário, ou seja, apenas uma larva completa seu desenvolvimento por hospedeiro (Mackauer 1996). Este microhimenóptero também pode utilizar como hospedeiros outros pulgões como *Brachycaudus helichrysi* (K.), *Macrosiphoniella sanborni* (G.), *Mysus persicae* (S.), *Rhopalosiphum maidis* (F.), *Schizaphus graminum* (R.) e *Uroleucon sp* (M.) (Starý 1976, Tavares 1991). É uma espécie cosmopolita, encontrada frequentemente no novo mundo (Van Achterberg 1997).

Brevicoryne brassicae parasita brassicáceas tanto em agroecossistemas, quanto em ambientes naturais (Longhini & Busoli 1993, Grez & González 1995, Paula *et al.* 1995, White *et al.* 1995, Souza-Silva & Ilharco 1995). Formas ápteras possuem rostró curto, tórax verde, com manchas negras, pernas bem desenvolvidas e sífúnculos curtos. Indivíduos alados possuem cabeça negra, superfície do segmento III da antena áspera com grande número de sensórios (50 a 69), sífúnculos curtos e faixas transversais no abdome. (Mariconi *et al.* 1963, Heie 1986).

Criação de *Diaretiella rapae* em laboratório

A criação de *D. rapae* foi feita em laboratório no período de 07 de junho de 2000 à 17 de Janeiro de 2001, utilizando um clone de *B. brassicae*, coletado na Fazenda Experimental do Glória, da Universidade Federal de Uberlândia.

Neste processo, os afídeos parasitados (múmias) foram retirados de

folhas da couve (Fig. 4.1) e isolados em câmaras de emergência (caixas acrílicas com 7,5 cm de comprimento x 2,0 cm de altura x 4,3 cm de largura) com abertura circular (\varnothing 2,9 cm), coberta com organza. Após a emergência, os microhimenópteros eram transferidos para um recipiente plástico transparente (\varnothing 20,0 cm, altura 20,0 cm), com tampa de papel celofane e laterais recortadas e cobertas com organza, para permitir a ventilação e impedir a fuga dos insetos. No interior deste recipiente, afídeos foram criados e multiplicados em couve manteiga (*Brassica oleracea* var. *achephala*).

Os microhimenópteros foram alimentados com uma gota de mel puro, colocado na parede do recipiente plástico.

Ensaio de defesa induzida

Colônias experimentais ($n=14$) foram iniciadas à partir da transferência de 10 afídeos adultos para plantas de couve. Cada colônia foi montada em recipientes similares ao descrito para a cultura dos microhimenópteros. Quando as colônias atingiram cerca de 56 indivíduos, um casal de microhimenópteros foi introduzido dentro de cada recipiente-teste. Os microhimenópteros permaneceram por 3 horas ovipondo livremente, após o que foram retirados. Os casais foram mantidos juntos por 12 h para permitir o acasalamento, antes de serem colocados nos recipientes. Foram utilizadas 7 repetições para o controle (sem o microhimenóptero) e 7 repetições para o tratamento (com a presença do microhimenóptero). O número de múmias e alados produzidos foi anotado diariamente. O número total de pulgões em cada recipiente foi registrado de quatro em quatro dias e a densidade foi mantida, por remoções controladas, em cerca de 66 afídeos por colônia. Este experimento foi realizado em laboratório com temperatura $t_{\text{ambiente}}=26,2\pm 0,21^{\circ}\text{C}$ e

$t_{\text{recipiente}}=26,2\pm 0,18^{\circ}\text{C}$, contínua iluminação (luz fria incandescente) e presença de um sistema de ventilação para a troca constante do ar. O cultivo das plantas foi realizado utilizando terra vegetal e húmus de minhoca comercial (Horta e Jardim). A troca das plantas hospedeiras ocorria de 10 em 10 dias, para minimizar o efeito da deterioração de sua qualidade. As múmias formadas foram retiradas e individualmente colocadas em câmaras de emergência, para acompanhamento da longevidade e registro do sexo dos parasitóides.

Análise estatística

Para verificar se a produção de alados era a mesma no controle e no tratamento foi usado o teste não paramétrico de Mann-Whitney (Zar 1984). Os valores médios do número de alados e múmias foram calculados para o tratamento.

O índice de correlação simples de Pearson foi obtido para analisar as relações entre o número de alados e número de múmias formadas no tratamento (Zar 1984).

A fertilidade das fêmeas de parasitóides foi obtida com o número total de pulgões parasitados em cada colônia, considerando a densidade inicial de 56 afídeos. A taxa de parasitoidismo foi calculada com a seguinte fórmula para cada repetição do tratamento:

$$P = (Nm/Npi) \times 100$$

onde: Nm é o número de múmias e Npi o número de pulgões intactos.

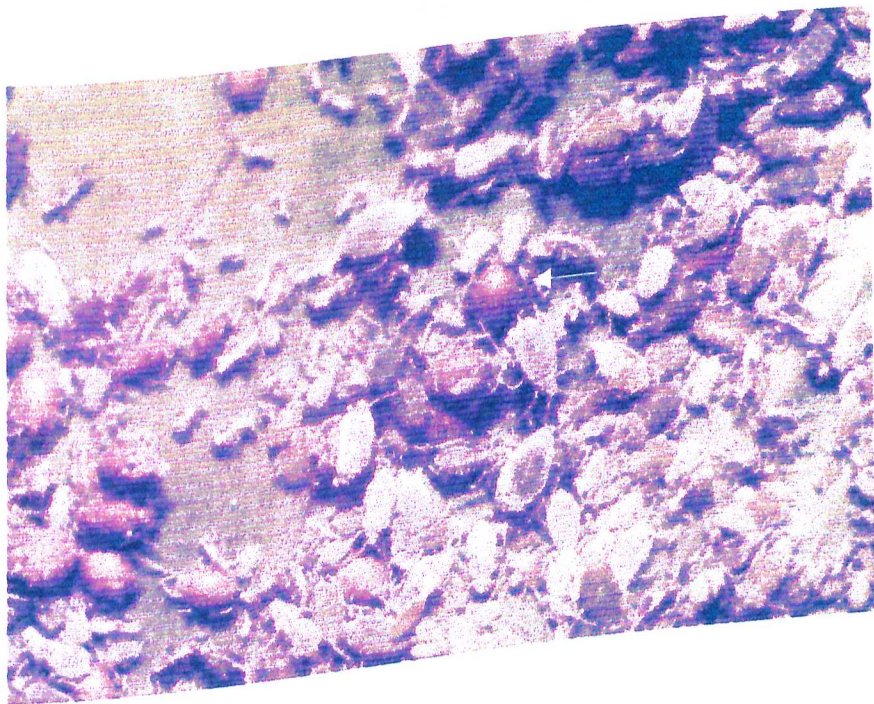


Figura 4.1. *Brevicoryne brassicae* parasitados (seta indicando uma múmia) em folha de couve, em condições de campo.

4.3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfos alados apareceram primeiramente nos recipientes tratamento (colônias de afideos expostas ao parasitóide) após $7,6 \pm 1,2$ dias e, nos do controle, após $24,0 \pm 3,0$ dias. Além disto, o tratamento apresentou valor médio do número de alados ($4,43 \pm 0,95$) maior do que o controle ($0,29 \pm 0,18$) (Fig. 4.2). O teste de Mann-Whitney indicou que há diferenças significativas no número de alados produzidos entre tratamento e controle ($U=48$; $P<0,002$).

Algumas colônias responderam à presença do parasitóide com maior produção de alados do que outras colônias (amplitude= $8,0$). Além disso, não foi verificada correlação significativa entre o número de alados e o número de múmias ($r=0,69$; $P=0,85$) (Fig.4.3).

As múmias foram visualizadas a partir de sete dias após a exposição aos parasitóides. A emergência dos parasitóides deu-se entre 9 e 16 dias após o tratamento. Foram registradas 81 múmias, numa média de $11,6 \pm 3,0$ múmias por recipiente. Entretanto, em apenas 62,9% destas múmias emergiram parasitóides, sendo 66,6% machos e 33,4% fêmeas (Fig. 4.4), o que resultou numa razão sexual de 0,34. A longevidade média dos parasitóides foi de $2,3 \pm 0,2$ dias, com o mínimo de 1 dia e o máximo de 4 dias.

A percentagem de parasitoidismo variou entre os tratamentos de 5,4% e 39,3%, com média de $20,6 \pm 5,2$.

O clone do afideo *Brevicoryne brassicae* respondeu à presença do parasitóide *Diaretiella rapae* com aumento na produção de morfos alados em condições de laboratório. Isto pode ser considerado um mecanismo de defesa, pois pulgões podiam estrategicamente manter sua sobrevivência, escapando pelo vôo e colonizando outras plantas hospedeiras.

Segundo Adler & Karban (1994), o sucesso de uma estratégia induzida requer que a informação seja rica, ou seja, que a pressão de seleção seja forte. De fato, a fecundidade de *D. rapae* e outras fêmeas Aphiidinae pode ser potencialmente muito alta podendo variar de 300 a 1800 ovos (Mackauer & Chow 1986). Além disto, uma fêmea pode ter 200 ou mais ovos maduros em seu ovários (Mackauer & Völkl 1993). Portanto, a ação de *D. rapae* pode significar um risco de grandes perdas populacionais para colônias de *B. brassicae*.

No entanto, a produção de formas aladas e sua dispersão demanda custos. Em termos de sobrevivência, há custos quanto ao tempo, que poderia estar sendo utilizado em atividades de alimentação e reprodução, e há também custos quanto à fecundidade, pois o migrante investirá parte dos recursos energéticos para o seu deslocamento (Van Lenteren 1990, Riessen 1992, Weisser *et al.* 1999). É também muito importante que o migrante faça boa escolha do hospedeiro porque seus descendentes, sendo ápteros por muitas gerações, terão menores chances para colonizar outras plantas, tentando corrigir deficiências nutricionais (Balckman 1990).

Afídeos são também capazes de se defender de parasitóides, parasitas e predadores, recuando ou se afastando da planta hospedeira, cobrindo-se com cera exudada pelo seu sifúnculo ou produzindo feromônio de alarme (Van Lenteren 1990).

Em condições de campo, a dinâmica estabelecida entre parasitóides, pulgões e plantas pode ser muito mais complexa. Moraes *et al.* (2000) relatam que algumas plantas exalam compostos voláteis quando insetos herbívoros sugam sua seiva, atraindo o parasitóide. Há também evidências de que o hiperparasitóide pode reduzir o impacto dos parasitóides (Sullivan 1987). O hiperparasitóide *Alloxysta brassicae* (Charipidae) está normalmente associado à *D. rapae*. Este hiperparasitóide é endoparasita e a

fêmea ovipõe diretamente no ovo embrionado ou larva do parasitóide no interior do afídeo mumificado (Matjeko & Sullivan 1979).

Outro fenômeno é a especificidade na interação do parasitóide com o pulgão, o que manteria a ação deste inimigo natural nas espécies que normalmente ovipõe. Van Emden *et al.* (1996) verificaram que o parasitóide *Aphidius rhopalosiphi* apresentou comportamento de preferência induzida (princípio de Hopkins) em duas cultivares de trigo, e esta discriminação pode ser determinada pelo contato químico do parasitóide adulto ao emergir da múmia.

Muitos estudos têm mostrado que defesas induzidas são efetivas na redução de prejuízos às populações por predadores. Weisser *et al.* (1999) verificaram a produção de morfos alados no afídeo da ervilha, *Acyrtosiphon pisum*, na presença do predador as joaninhas *Coccinella septempunctata* e *Adalia bipunctata* (Coleoptera). A predação induziu a formação de espinhos defensivos no briozoário *Membranipora membranacea* (Cheilostomata) (Harvell 1984) e houve grande variação populacional nas respostas induzidas (Harvell 1988). O crustáceo *Daphnia pulex* (Cladocera) também produziu espinhos em resposta ao predador *Chaoborus* (Diptera) (Havel 1985) ou sob condições alimentares inadequadas (Riessen 1992). A cauda muscular de larvas da rã *Pseudacris triseriata* (Hylidae) desenvolveu-se mais em ambientes com predadores, o que possivelmente ocorreu pelo fato das larvas gastarem mais tempo deslocando-se (Van Buskirki *et al.* 1997).

Neste experimento a emergência, em maioria, de machos pode ser explicada por cópulas mal sucedidas. De acordo com Tavares (1991), nos afidiíneos podem ocorrer três tipos de partenogênese: arrenotoquia, tetoquia e deuterotoquia. Assim, mesmo que a fêmea não tivesse copulado ou a cópula tivesse sido mal sucedida, ela seria capaz de ovipor e o ovo se

desenvolveria partenogeneticamente, produzindo machos, por deuterotoquia e arrenotoquia.

Aphidiinae são r-estrategistas, ou seja, possuem alto potencial de fecundidade e baixo investimento nos ovos individuais (Mackauer & Völkl 1993). Entretanto, muitos fatores podem influenciar a oviposição dos parasitóides. O mutualismo entre formigas e afídeos pode ter significativa influência no comportamento de forrageamento reduzindo a oviposição dos microhimenópteros (Völkl & Mackauer 1993). O padrão de distribuição espacial dos indivíduos da colônia também pode influenciar o impacto do parasitóide. Os afídeos *B. brassicae* em colônias densas em couve são parasitados em menor grau por *D. rapae*, se comparados a pulgões de colônias com menor densidade (Lopez *et al* 1990). Henter & Via (1995) apontaram a resistência do afídeo à ação dos parasitóides. Para isso, o parasitóide *Aphidius ervi* foi colocado para ovipor em linhagens susceptíveis e resistentes do afídeo *Acyrtosiphon pisum*, cujos ovos não desenvolveram nos hospedeiros resistentes. Baixos níveis de variação genética restringiram a evolução da resistência ao parasitoidismo em populações do afídeo *Acyrtosiphon pisum* especializado no uso do trevo, levando-os a serem mais susceptíveis do que populações desta mesma espécie na alfafa (Hufbauer & Via 1999).

Considerando todos os fatores acima mencionados, é importante ressaltar que a fecundidade, longevidade, razão sexual e taxas de parasitoidismo obtidas no ensaio podem divergir bastante dos valores encontrados sob condições de campo.

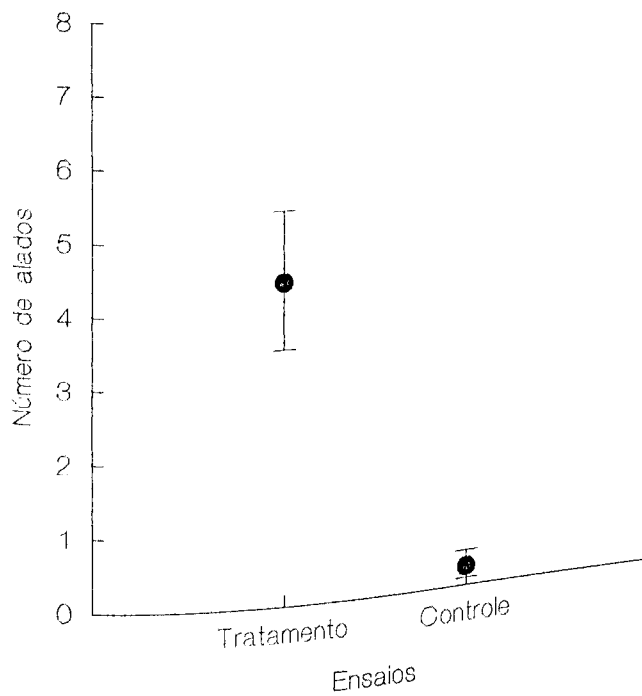


Figura 4.2. Número médio de afídeos alados no clone de *Brevicoryne brassicae* produzidos no tratamento e no controle no ensaio de defesa induzida, por parasitoidismo de *Diaretiella rapae*, em condições de laboratório.

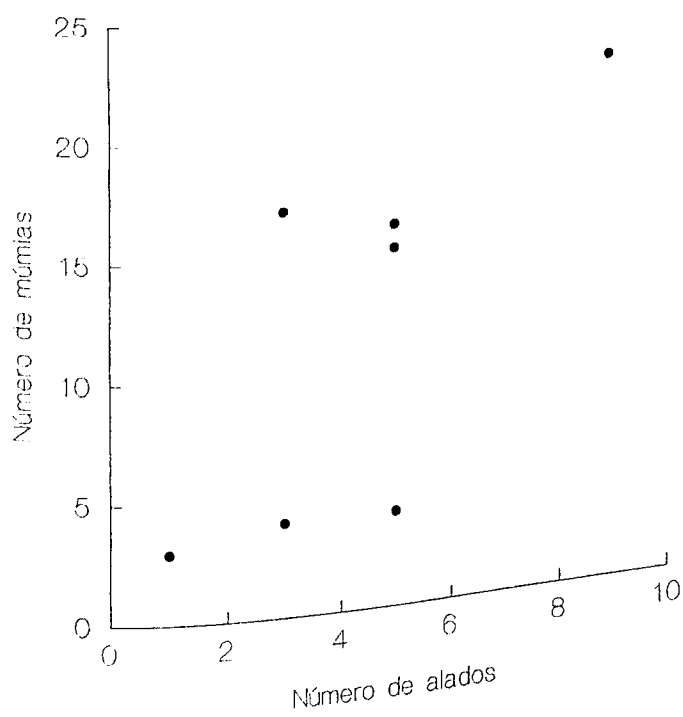


Figura 4.3. Correlação entre o número de alados e o número de múmias do clone de *Brevicoryne brassicae* após a exposição ao parasitóide *Diaretiella rapae*, em condições de laboratório.

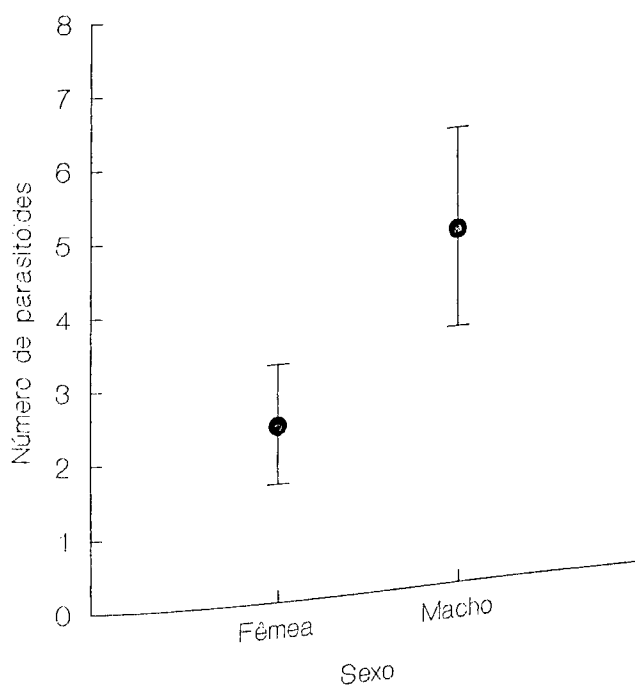


Figura 4.4. Número médio total (\pm erro padrão) de fêmeas e machos de parasitóides *Diaretiella rapae* que emergiram das mummies de *Brevicoryne brassicae* obtidas no ensaio de defesa induzida, em condições de laboratório.

4.5. RESUMO

Afídeos podem responder ao ataque de inimigos naturais com mudanças adaptativas na morfologia, no comportamento ou em seu ciclo de vida, visando sua sobrevivência. O objetivo deste trabalho foi o de verificar se há a formação diferenciada de formas aladas produzidas em colônias do afídeo *Brevicoryne brassicae* quando expostas ao parasitóide *Diaretella rapae*. Colônias experimentais do pulgão (n=14) foram iniciadas à partir da transferência de 10 afídeos adultos para plantas de couve isoladas em recipientes transparentes. Quando as colônias atingiram cerca de 56 indivíduos, foi colocado um casal dentro de cada recipiente-teste, ovipondo livremente por três horas. Foi utilizado o teste de Mann-Whitney para verificar se a produção de alados era a mesma no controle e no tratamento. A correlação de Pearson foi feita entre o número de alados e número de múmias formadas no tratamento. Foram calculados valores médios para o número de alados no controle e no tratamento. Morfos alados apareceram primeiramente no tratamentos após $7,6 \pm 1,2$ dias e no controle após $24,0 \pm 3,0$ dias. O teste de Mann-Whitney indicou que houve diferenças significativas na formação de alados entre tratamento e controle ($U=48$; $P < 0,002$). Não foi verificada correlação significativa entre o número de alados e o número de múmias ($r=0,69$; $P=0,90$). Oitenta e uma múmias foram formadas, mas, apenas 62,9% emergiram, sendo 66,6% machos e 33,4% fêmeas. A longevidade média foi de $2,3 \pm 0,2$ dias e a percentagem de parasitoidismo variou entre as repetições do tratamento ($20,6 \pm 5,2$). O clone do afídeo *B. brassicae* respondeu à presença do parasitóide *D. rapae* com aumento na produção de morfos alados em condições de laboratório. Isto pode ser considerado um mecanismo de defesa, pois pulgões podem,

estrategicamente, manter sua sobrevivência, escapando pelo vôo e colonizando outras plantas hospedeiras.

4.6. ABSTRACT

Aphids can respond to the attack of natural enemies with adaptative changes on its morphology, behavior and life cycle. The objective of this work was to verify the differentiate formation of winged morphs, produced in colonies of the aphid *Brevicoryne brassicae* after exposition to the parasitoid *Diaretiella rapae*. Experimental colonies (n=14) were initiated transferring ten adult aphids to isolated cabbage plants inside transparent recipients. When the colonies had reached about 56 individuals, a parasitoid couple was placed inside each recipient-test, and they are allowed to oviposited freely for three hours. The Mann-Whitney test was used to verify if the production of winged was the same in the control and in the treatment. The Pearson correlation index was calculated between the number of winged individuals and the number of mummies formed. Medium values were calculated for number of winged morphs, number of mummies, longevity of the parasitoid and number of males and females that emerged. Winged morphs were formed earlier in the treatments (7.6 ± 1.2 days) than in the controls (24.0 ± 3.0 days). The Mann-Whitney test indicated that there was significant difference in the number of winged individuals formed between treatment and control ($U=48$; $P<0.002$). Significant correlation was not verified between the number of winged individuals and number of mummies ($r=0.69$; $P=0.90$). Eighty one mummies were formed, but only 62.9% had successfully emerged (66.6% males and 33.4% females). The longevity was 2.3 ± 0.2 days and the parasitoidism percentage varied among the treatments (20.6 ± 5.2). The clone of *B. brassicae* answered to the presence of the parasitoid *D. rapae* increasing the production of winged morphs in laboratory condition. This can be considered a defense mechanism, whereas aphids could strategically

maintain the clone survivorship, escaping by flight to form a new colony in other hosts.

4.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adler, F.R. & Karban, R. 1994.** Defended fortresses or moving targets? Another model of inducible defences inspired by military metaphors. *Amer. Nat.* 144: 813-832.
- Askew, R.R. 1971.** *Parasites Insects*. London, Heinemann Educational Books.
- Baldwin, I.T. 1988.** Short-term damage-induced alkaloids protect plants. *Oecologia* 75: 367-370.
- Blackman, R.L. & V.F. Eastop. 1984.** *Aphids on the world's crops: an identification and information guide*. Chichester, John Wiley & Sons.
- Blackman, R.L. 1990.** Specificity in aphid/ plant genetic interaction with particular attention to the role of the alate colonizers. In: R.K. Campbell and R.D. Eikenbary (eds). *Aphid-plant genotype interactions*. Oxford, Elsevier.
- Bueno, V.H.P. & B.M. Souza. 1993.** Ocorrência e diversidade de insetos predadores e parasitóides na cultura de couve *Brassica oleraceae* var. *acephala* em lavras MG, Brasil. *An. Soc. Entomol. Brasil.* 22: 5-18.
- Cappuccino, N. 1988.** Spatial patterns of goldenrod aphids and the response of enemies to patch density. *Oecologia* 76: 607-610
- Dixon, A.F.G. & S.D. Wratten. 1971.** Laboratory studies on aggregation, size and fecundity in the black bean aphid, *Aphis fabae* Scop. *Bull. Ent. Res.* 61: 97-111
- Dixon, A. F.G. 1985.** *Aphid Ecology*. Glasgow and London, Blackie.
- Frazer, B.D. 1998.** Predators. In: A.K. Minks & P. Harrewijn (eds.) *Aphids: Their biology, natural enemies and control*. World crop pests 2B, Amsterdam, Elsevier.

- Green, R.F. & Y. Ayal. 1998.** A simple markov model for the assessment of host patch quality by foraging parasitoids. *Oecologia* 116: 456-466.
- Grez, A.A. & R.H. González. 1995.** Resource concentration hypothesis: effect of host plant patch size on density of herbivorous insects. *Oecologia* 103: 471-474.
- Gauld, I.D. & B. Bolton. 1988.** *The Hymenoptera*. London, Oxford Press University.
- Heie, O.E. 1986.** *The aphidoidea (Hemiptera) of Fennoscandia and Denmark III. Fauna Entomologica Scandinavica*. V. 25, Copenhagen, Scandinavian Science Press Ltda.
- Havel, J. 1985.** Cyclomorphis of *Daphnia pulex* spined morphs. *Limnol. Ocean.* 30: 853-861.
- Havel, J. 1986.** Predator-induced defenses: a review. In: W.C. Kerfoot & A. Sih (eds.). *Predation: direct and indirect impacts on aquatic communities*. Hanover, University of New England Press.
- Harvell, C.D. 1984.** Predator-induced defence in a marine Bryozoan. *Science* 224: 1357-1359.
- Harvell, C.D. 1988.** Genetic variation and polymorphism in the inducible spine of marine bryozoan. *Evolution* 52: 80-86.
- Henter, H.J. & S. Via. 1995.** The potential for coevolution in a host-parasitoid system. I. Genetic variation within an aphid population in susceptibility to a parasitic wasp. *Evolution* 49: 427-438.
- Hufbauer, R.A. & S. Via. 1999.** Evolution of aphid-parasitoid interaction: variation in resistance to parasitism among aphid populations specialized on different plants. *Evolution* 53: 1435-1445.
- Karban, R. & J.H. Myers. 1989.** Induced plant responses to herbivory. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 20: 331-348.

- Karban, R. & I.T. Baldwin.** 1997. *Induced responses to herbivory*. Chicago, the University of Chicago Press.
- Klein, J.** 1982. *Immunology: The science of self-nonsel self discrimination*. New York, Wiley Interscience.
- Longhini, L.C.S.B. & A.C. Busoli.** 1993. Controle integrado de *Brevicoryne brassicae* (L., 1758) (Homoptera, Aphididae) e *Ascia monuste orseis* (Latr., 1819) (Lepidoptera, Pieridae), em couve (*Brassica oleraceae* var. *acephala*). *Científica* 21: 231-237.
- Lopez, E.R., R.G. Van Driesche & J.S. Elkinton.** 1990. Rates of parasitism by *Diaretiella rapae* (Hymenoptera: Braconidae) for cabbage aphids (Homoptera : Aphididae) in and outside of colonies: Why do they differ? *J. Kans. Entomol. Soc.* 63: 158-165.
- Mackauer, M. & F.J. Chow.** 1986. Parasites and parasite impact on aphid populations. In: McLeand, G.D., R.G. Garret and W.G. Ruesink (eds.) *Plant virus epidemics: monitoring, modelling and preidcting outbreaks*. Sydney, Academiv Press.
- Mackauer, M. & W. Völkl.** 1993. Regulation of aphid populations by aphidiid wasps: does parasitoid foraging behaviour or hyperparasitism limit impact? *Oecologia* 94: 339-350.
- Mackauer, M.** 1996. Sexual size dimorphism in solitary parasitoid wasps: influence of host quality. *Oikos* 76: 265-272.
- Mariconi, F.A.M., A.P.L. Zamith & M. Menezes.** 1963. "Pulgão das Brássicas" *Brevicoryne brassicae* (L, 1758): estudo descritivo, bionômico e de combate. *Olericult. Bras.* 3:165-202.
- Matjeko, I. & D.J. Sullivan.** 1979. Bionomics and behavior of *Alloxistamegourae*, na aphid hyperparasitoid (Hymenoptera: Cynipidade). *J. N. Y. Entomol. Soc.* 87: 275-282.

- Moraes, C.M., W.J. Lewis & J.H. Tumlinson. 2000.** Examining plant-parasitoid interactions in tritrophic systems. *An. Soc. Entomol. Brasil.* 29: 189-203.
- Paula, S.V., M.C. Picanço, F.H. Koga & J.C. Moraes. 1995.** Resistência de sete clones de couve comum à *Brevicoryne brassicae* (L) (Homoptera: Aphididae). *An. Soc. Entomol. Brasil.* 24: 99-104.
- Rhoades, D.F. 1985.** Offensive-defensive interactions between herbivores and plants: Their relevance in herbivore population dynamics and ecological theory. *Amer. Nat.* 125: 205-238.
- Riessen, H.P. 1992.** Cost-benefit model for the induction of an anti-predator defence. *Amer. Nat.* 140: 349-362.
- Souza-Silva, C.R. & F.A. Ilharco. 1995.** *Afideos do Brasil e suas plantas hospedeiras: Lista Preliminar.* São Carlos, EDUFSCar.
- Stary, P. 1976.** *Aphid parasites (Hymenoptera, Aphidiidae) of the mediterranean area.* W. Junk (ed.), Prague, The Hague Publishers.
- Sullivan, D.J. 1987.** Insect hyperparasitism. *Ann. Rev. Entomol.* 32: 49-70.
- Tatchell, G.M. 1990.** Monitoring and forecasting aphid problems. In: D.C. Peter, J.A. Webster and C.S. Chlouber (eds.). *Proceedings aphid-plant: population to molecules.* Oklahoma, USDA/ Agricultural Research Service, Oklahoma State University.
- Tavares, M.T. 1991.** Estudo das interações planta/ afideo/ parasitóide e hiperparasitóide em ambientes naturais e antrópicos. *Dissertação de mestrado em ecologia e recursos naturais.* Universidade Federal de São Carlos, SP.
- Taylor, L.R., I.P. Woivod & R.A.J. Taylor. 1999.** The migratory ambit of the hop aphid and its significance in aphid population dynamics. *J. Animal. Ecol.* 48: 955-972.

- Tollrian, R. & C.D. Harvell. 1988.** *The ecology and evolution of inducible defences.* Princeton, Princeton University Press.
- Van Achterberg, C. 1997.** Subfamily Aphidiinae In: Wharton, R.A.; Marsh, P.M. and Sharkey, M.J. *Manual of the new world genera of family Braconidae (Hymenoptera).* Washington, Special Publication of The International Society of Hymenopterists.
- Van Buskirk, J., S.A. Mccollum & E.E. Werner. 1997.** Natural selection for environmentally induced phenotypes in tadpoles. *Evolution* 51: 1983-1992.
- Van Emden, A.F., B. Sponagl, E. Wagner, T. Baker, S. Ganguly & S. Douloumpaka. 1996.** Hopkins' 'host selection principle', another nail in its coffin. *Physiol. Entomol.* 21: 325-328.
- Van Lenteren, J.C. 1990.** Biological control in a tritrophic system approach. In: D.C. Peter, J.A. Webster and C.S. Chlouber (eds.). *Proceedings aphid-plant: population to molecules.* Oklahoma, USDA/ Agricultural Research Service, Oklahoma State University.
- Völkl, W. & M. Mackauer. 1993.** Interactions between ants attending *Aphis fabae* ssp. *cirsiiacanthoidis* on thistles and foraging parasitoid wasps. *J. Insect. Behav.* 6: 301-312.
- Weisser, W.W., C. Braendle & N. Minoretti. 1999.** Predator-induced morphological shift in the pea aphid. *Biol. Sciences.* 266: 1175-1181.
- White, A.J., S.D. Wratten, N.A. Berry & U. Weigmann. 1995.** Habitat manipulation to enhance biological control of *Brassica* pests by hover flies (Diptera: Syrphidae). *Entomol. Soc. Amer.* 88: 1171-1176.
- Zar, J.H. 1984.** *Biostatistical analysis.* New Jersey, Prattice Hall.