

MATEUS RAMOS DE ANDRADE

EFEITOS DO RISCO DE PREDACÃO POR *Toxorhynchites theobaldi* (DIPTERA, CULICIDAE) NO COMPORTAMENTO DE MOSQUITOS SILVESTRES

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2011

Dedicatória

Àquela que me carregou nove meses na barriga,
um ano nos braços,
e mais de vinte na cabeça.
Véia, te dedico.

Dedicatória

Àquela que me carregou nove meses na barriga,
um ano nos braços,
e mais de vinte na cabeça.
Véia, te dedico.

“O coelho corre mais rápido que a raposa porque corre pela sua vida,
enquanto a raposa corre apenas pelo seu jantar”
(Fábula de Esopo, 620-560 a.C.)

Agradecimentos

À minha mãe, meu pai e meu irmão, que por certo se lembraram de mim em todos (ou quase todos) os dias durante esses 2 anos ausente.

Às minhas avós, tios(as), primos(as), e sobrinho.

Aos amigos dos velhos tempos, da Rua Crisandália e adjacências, pelos anos que já não me lembro quantos de convivência, por ainda se preocuparem comigo e sempre perguntarem quando é que vou parar de estudar e arrumar um emprego.

Ao Gigante, Manjuba, Perillo, Pirigoso e Didi, da BIO 2004/1 Noturno. Ao Anão, Minhoca, Russo, Maguina, Viné, Tias, Cottas, e demais amigos que fiz durante o curso. À toda galerinha da biologia da UFMG, por esses 7 anos de trabalhos, projetos, cursos, viagens, festas e principalmente de amizade. Saudades dessa turma!

Ao professor Álvaro pela grande oportunidade na iniciação científica, amigos do Laboratório de Ecologia Química de Insetos Vetores e demais laboratórios do Departamento de Parasitologia da UFMG, especialmente ao Michel, Renatinha e Rose.

Ao grande amigo e agora Dr. Andrey, pela parceria e apoio desde o início da minha jornada acadêmica. Valeu tio!

À Universidade Federal de Viçosa, professores e funcionários do Programa de Pós-graduação em Entomologia e ao CNPq.

Ao Laboratório de Ecotoxicologia, por permitir a utilização do equipamento de filmagem, e ao Alberto Corrêa pelo auxílio.

Aos amigos do Laboratório de Semioquímicos e Comportamento de Insetos pela companhia agradável, discussões sobre trabalho e conversa fiada no café.

Ao professor Eraldo pela orientação, conselhos, contribuições e confiança por aceitar, mesmo que a princípio contrariado, fazer a tese com aqueles insetos que tenho gosto em estudar.

Ao Daniel, um segundo irmão mais velho que conheci em Viçosa, pela amizade e fundamental apoio em todas as etapas desse trabalho, especialmente com o LATEX e o R. Boa sorte na gringolândia!

Ao Jardel, pelo interesse, dedicação e valiosa ajuda nos experimentos.

Aos demais amigos da entomologia, com quem dividi meu tempo entre farras e disciplinas.

Aos moradores da República Estábulo (Riiinch!) e vizinhança: Edmon, Bolha, Zacas e Thiago.

Enfim, a todos aqueles que em algum momento dessa vida me arrancaram um sorriso do rosto.

Muito obrigado!

Conteúdo

	Página
Lista de Figuras	viii
Resumo	ix
Abstract	xi
1 Introdução Geral	1
1.1 Os Mosquitos	3
1.1.1 Predador	3
1.1.2 Presas	3
1.2 Objetivo Geral	4
2 Capítulo 1	6
2.1 Introdução	6
2.2 Metodologia	7
2.2.1 Preparo dos substratos de oviposição	7
2.2.2 Testes de oviposição em campo	8
2.2.3 Testes de oviposição em laboratório	9
2.2.4 Análises estatísticas	9
2.3 Resultados	9
2.3.1 Testes de oviposição em campo	9
2.3.2 Testes de oviposição em laboratório	10

2.4	Discussão	10
3	Capítulo 2	15
3.1	Introdução	15
3.2	Metodologia	17
3.2.1	Coleta dos mosquitos	17
3.2.2	Preparo das arenas	17
3.2.3	Análise comportamental	17
3.2.4	Teste de Vulnerabilidade	18
3.2.5	Análises estatísticas	18
3.3	Resultados	19
3.3.1	Análise comportamental	19
3.3.2	Teste de Vulnerabilidade	21
3.4	Discussão	21
4	Conclusões e Perspectivas	27
5	Referências	29

Lista de Figuras

	Página
1 Média da proporção de larvas de A: <i>C. mollis</i> e B: <i>L. durhamii</i> nos substratos de oviposição	10
2 Média da proporção de ovos de <i>A. albopictus</i> nos substratos de oviposição	11
3 Média da proporção do tempo gasto por <i>C. mollis</i> em A: “resting”, B: “browsing” e C: “thrashing”	20
4 Média da proporção do tempo gasto por <i>L. durhamii</i> em A: “resting”, B: “browsing” e C: “thrashing”	20
5 Média da proporção do tempo gasto por <i>A. albopictus</i> em A: “resting”, B: “browsing” e C: “thrashing”	20
6 Média diária do consumo de uma larva de <i>T. theobaldi</i> para cada espécie de presa (<i>C. mollis</i> , <i>L. durhamii</i> e <i>A. albopictus</i>). Letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes	21

Resumo

RAMOS ANDRADE, Mateus, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro de 2011. **Efeitos do risco de predação por *Toxorhynchites theobaldi* (Diptera, Culicidae) no comportamento de mosquitos silvestres** Orientador: Eraldo Rodrigues de Lima. Coorientadores: Simon Luke Elliot e Ângelo Pallini Filho

Predadores capturam, abatem e consomem suas presas. Esta é a única abordagem considerada na maior parte dos estudos da interação predador-presa. Entretanto, alguns trabalhos recentes têm se preocupado com os efeitos indiretos da predação. Quando ameaçadas, presas podem alterar seu comportamento, reduzindo suas chances de morte. Sob essa perspectiva, experimentos realizados com espécies de mosquitos em ambientes aquáticos demonstram que, em diversas situações, presas são capazes de identificar a presença de predadores. Tal percepção induz alterações comportamentais como a repelência de oviposição das fêmeas e redução no forrageamento das larvas. Entretanto, o tipo de sinal percebido pelas presas, a importância das respostas induzidas para a sobrevivência dos indivíduos, e as razões destas evoluírem em algumas espécies, e não em outras, permanecem em discussão. O objetivo do trabalho foi verificar se pistas químicas da presença larva predadora *Toxorhynchites theobaldi* (Diptera: Culicidae) influenciam

o comportamento tanto de fêmeas ovipositantes quanto de imaturos de três espécies de presas da mesma família, entretanto com comportamentos bastante distintos, sendo elas *Culex mollis*, *Limatus durhamii* e *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). Verificamos que, na infusão onde larvas de *T. theobaldi* permaneceram abrigadas previamente, liberando possíveis sinais químicos, foi encontrada uma menor proporção de larvas (5,4%) de *C. mollis*, quando comparado com o controle (95,6%) , indicando repelência na oviposição. Enquanto isso, as outras duas espécies ovipositaram indiscriminadamente na infusão tratada e na controle. Observamos também que, na presença de indícios desse mesmo predador, imaturos de *C. mollis* passam maior parte do tempo em repouso (82,7%), quando comparado com a ausência de sinais de *T. theobaldi* (49,3%). Entretando, imaturos de *L. durhamii* e *A. albopictus* não apresentam alterações comportamentais na presença dos mesmos sinais. Ainda, *C. mollis* é predado em uma menor proporção que as demais, sugerindo que essas alterações influenciam na vulnerabilidade das espécies. A partir desses resultados, é discutido que a probabilidade da evolução de respostas defensivas induzidas pelo risco de predação está relacionada a diversos fatores como o histórico de contato com o predador, a estratégia de oviposição das fêmeas e o padrão fixo e flexível de comportamento e posicionamento das larvas. É abordada também a importância dos predadores nativos em conter a invasão de espécies exóticas e a disseminação de doenças por elas veiculadas.

Abstract

RAMOS ANDRADE, Mateus, M. Sc., Federal University of Viçosa, February, 2011. **Effects of predation risk by *Toxorhynchites* (Diptera: Culicidae) in the behavior of wild mosquitoes** Adviser: Eraldo Rodrigues de Lima. Co-advisers: Simon Luke Elliot e Ângelo Pallini Filho

Predators capture, kill and consume their prey. This is the only approach considered in most studies of predator-prey interactions. However, some recent studies have been concerned with the indirect effects of predation. When threatened, prey can change their behavior, thus reducing their chances of death. From this perspective, experiments performed with mosquitoes species in aquatic environments shows that, in several instances, preys are able to identify the presence of predators. This perception leads to behavioral alterations such as female oviposition repellency and reduced foraging larvae. However, the type of signal perceived by the prey, the importance of induced responses to the survival of individuals, and the reasons for these evolve in some species and not others, remain under discussion. The objective was to determine whether chemical cues of predator larva *Toxorhynchites theobaldi* (Diptera: Culicidae) are capable of influencing the behavior of females and immatures in three prey species of the same family, although

with very distinct behavior (*Culex mollis*, *Limatus durhamii* and *Aedes albopictus*). We found that, the infusion where *T. theobaldi* larvae was sheltered, probably releasing chemical signals, had a lower proportion of larvae (5.4 %) of *C. mollis*, compared with control (95.6 %), indicating oviposition repellency. Meanwhile, the other two species oviposited indiscriminately on infusion treated and control. We also observed that the presence of traces of the same predator, *C. mollis* larvae spend most of their time in rest (82.7 %) compared with no signs of *T. theobaldi* (49.3 %). However, *L. durhamii* and *A. albopictus* larvae do not show behavioral changes in the presence of the same signals. Yet, *C. mollis* larvae is preyed upon in a smaller proportion than the others, suggesting that these changes influence in species vulnerability. From these results, it is argued that the likelihood of the development of defensive responses induced by predation risk is related to several factors such as historic of contact with the predator, the oviposition strategy of the females and the fixed and flexible behavior standard and positioning of larvae. Also is discussed the importance of native predators to curb the invasion of exotic species and diseases spread by these vectors.

1 Introdução Geral

O fluxo de informações nas teias alimentares é um processo importante, que influencia o comportamento, ecologia, e dinâmica de populações das espécies. Animais possuem adaptações que os permitem reunir informações sobre seu ambiente e, de acordo com a situação confrontada, exibem uma resposta particular entre as várias alternativas possíveis (Dill, 1987). Sendo assim, a todo momento, indivíduos devem tomar decisões cruciais para seu “fitness” (Conradt & Roper, 2005).

Entre todos os tipos de informação, pistas sobre a presença de inimigos naturais são especialmente importantes para a sobrevivência. A falha em detectar predadores pode levar a consequências muito mais sérias que falhas temporárias em conseguir alimento ou cópula (Lima & Dill, 1990). De fato, presas podem reconhecer pistas que denunciam a ameaça de potenciais predadores. Essas podem ser visuais, mecânicas ou químicas, sendo que o método utilizado depende muito do meio disponível (Bradbury & Vehrencamp, 1998).

Ambientes aquáticos são ideais para a solução e dispersão de compostos químicos (Wisenden, 2000). Alguns desses são importantes pistas sobre o risco de predação iminente (Bronmark & Hansson, 2000) e insetos aquáticos evoluíram receptores altamente específicos capazes de detectá-los. Quando percebidos pela presa, esses sinais induzem respostas defensivas que diminuem as chances de mortalidade (Dicke & Grostal, 2001). Entretanto, apesar das vantagens óbvias, respostas defensivas muitas vezes apresentam um alto custo. Na tentativa de evitar serem atacadas, presas podem se engajar em comportamentos de baixo risco, comprometendo suas atividades regulares (Sih, 1980). Isso pode ter consequências drásticas para o sucesso reprodu-

tivo desses indivíduos (Lima, 1998; Preisser *et al.*, 2005; Preisser & Bolnick, 2008). Então, perceber compostos que dão indícios reais da ameaça e reagir adequadamente pode ser uma vantagem evolutiva para aqueles indivíduos que possuem essa capacidade.

Estratégias defensivas como camuflagens, aposematismos, mimetismos e comportamentos de baixo risco são relativamente comuns no reino animal (revisado em Edmunds, 1974; Endler, 1986). Apesar disso, enquanto algumas espécies são eficientes em evitar predadores, outras bastante próximas e susceptíveis às mesmas ameaças parecem não possuírem tal habilidade. Sendo assim, é intrigante pensar em quais condições essa característica tem maior probabilidade de evoluir. Com relação a esta questão, insetos aquáticos são modelos experimentais bem estudados (revisado em Kerfoot & Sih, 1997). Entre estes destacam-se espécies de mosquitos, devida a facilidade de manipulação e, principalmente, importância na veiculação de doenças (Blaustein & Schwartz, 2001).

Trabalhos realizados com espécies de mosquitos em ambientes aquáticos temporários demonstram que, em diversas situações, presas são capazes de identificar a presença de predadores. Tal percepção induz alterações comportamentais, como a redução da movimentação das larvas (Sih, 1986; Kesavaraju & Juliano, 2004) e a repelência de oviposição das fêmeas (Stav *et al.*, 1999, 2000; Blaustein & Kotler, 1993; Blaustein, 1998). Entretanto, o fato das estratégias antipredatórias serem encontradas em algumas espécies, e não em outras, tem sido muito discutido nesses estudos. Nesta tese, buscamos esclarecer alguns pontos a respeito desse fenômeno. Para isso, utilizamos como modelo quatro espécies da família Culicidae, sendo uma predadora generalista e três potenciais presas.

1.1 Os Mosquitos

1.1.1 Predador

Toxorhynchites theobaldi: são mosquitos de grande porte, adultos com escamas de brilho metálico e probóscide recurvada. O gênero *Toxorhynchites* é o único da família Culicidae que não se alimenta de sangue e, ao contrário dos outros mosquitos, são inofensivos à espécie humana (Collins & Blackwell, 2000). Além disso, suas larvas são vorazes predadoras de outros invertebrados aquáticos. Entre suas presas, estão outras espécies da família Culicidae, muitas conhecidas como pragas ou vetoras de doenças (Steffan & Evenhuis, 1981). Alguns trabalhos demonstram que os *Toxorhynchites* apresentam potencial como agentes de controle biológico (revisado em Focks, 2007).

1.1.2 Presas

Culex mollis: adultos com escudo marrom, recoberto por escamas douradas, tarsos escuros com marcações claras nas articulações. Segundo Consoli & Oliveira (1994), apesar de serem capturados em isca humana, fêmeas parecem ter preferência por sugar outros animais. Encontrado naturalmente infectado com viroses no Brasil e em Trinidad (Forattini, 1965a; Lourenço-de Oliveira & Silva, 1985; Hervé *et al.*, 1986). São noturnos, assim como os demais integrantes do gênero. Pouco se sabe sobre o comportamento de oviposição das fêmeas, entretanto, assim como outras espécies do gênero, é vista depositando muitos ovos no mesmo criadouro, formando uma jangada (observação pessoal). Suas formas imaturas habitam ambientes diversos, apresentando tendência a se adaptarem a criadouros artificiais. Em vista dessa capacidade, sempre que as condições são propícias, essa espécie se aproxima do ambiente humano.

Limatus durhamii: adultos de porte pequeno, recobertos de escamas de reflexo metálico, de tonalidades que variam do amarelo ao dourado, com manchas avermelhadas ou violáceas. Segundo Forattini (1965b) as fêmeas atacam

o homem e animais diversos com facilidade, preferencialmente junto ao solo. São diurnos e silvestres, podendo ser encontrados criando-se e picando no peridomicílio. Já foram achadas portando viroses no Brasil (Hervé *et al.*, 1986). Talvez sejam os Sabethini mais adaptados aos ambientes alterados pelo homem. Assim como outras espécies da tribo Sabethini, colocam ovos individualmente durante o voo (observação pessoal). Suas larvas são vistas criando-se em ambientes naturais e artificiais. Aproveitam muito os recipientes abandonados pelo homem na floresta, plantações ou peridomicílios. Não raramente são encontradas larvas em latas ou frascos de vidro e plástico.

Aedes albopictus: de acordo com Forattini (1965a) são mosquitos de origem asiática, encontrados no Brasil pela primeira vez em 1986. Apresenta coloração escura, com manchas claras características por todo o corpo. Muito parecidos com o *Aedes aegypti*, tanto na morfologia quanto na associação com a presença humana. Entretanto, se espalham com facilidade no ambiente rural, semi-silvestre e silvestre, onde populações humanas são escassas e a presença do *Aedes aegypti* é rara ou inexistente. São diurnos e ecléticos quanto a alimentação, sendo o homem e as aves as vítimas mais frequentes. Principal vetor de dengue no continente asiático, já foi encontrado naturalmente infectado com o vírus no Brasil. As fêmeas de *A. albopictus* frequentemente depositam seus ovos aos poucos, em vários recipientes diferentes, o que facilita a dispersão da espécie. Suas larvas se criam com facilidade em ambientes artificiais, principalmente nas bordas de matas e peridomicílios.

1.2 Objetivo Geral

Foram realizadas manipulações experimentais com essas espécies, com o objetivo de verificar a influência do risco de predação por *T. theobaldi* no comportamento de cada uma das presas. Para facilitar a compreensão da teoria e interpretação dos resultados, o trabalho foi dividido em dois capítulos. No primeiro é abordado risco de predação da prole, ou se fêmeas

conseguem perceber quimicamente a ameaça e evitam depositar seus ovos em ambientes com predadores. No segundo capítulo, é tratado o risco de predação do próprio indivíduo, ou seja, como as larvas dos mosquitos reagem à presença de sinais químicos liberados pelo predador. Por fim, são apresentadas algumas conclusões e perspectivas, integrando os principais pontos discutidos nos dois capítulos.

2 Capítulo 1

2.1 Introdução

A contribuição dos pais para a sobrevivência dos filhos é, por definição, responsável por um aumento substancial no sucesso reprodutivo do indivíduo. Em espécies sem cuidado parental, como ocorre na família Culicidae, a chance da prole atingir a idade adulta está relacionada com a qualidade do habitat onde os ovos são depositados. Sendo assim, localizar e selecionar um local para a oviposição é parte essencial na história de vida dessas espécies (Bentley & Day, 1989). Quando existem diversos criadouros em potencial com características bióticas e abióticas discrepantes, a escolha das fêmeas por um sítio adequado para o desenvolvimento dos imaturos deve ser de alto valor seletivo (Kiflawi *et al.*, 2003).

De fato, no momento da oviposição, fêmeas de mosquitos são capazes de responder a várias particularidades dos criadouros, sendo os sinais químicos de fundamental importância nesse processo. Percebidos por receptores localizados principalmente nas antenas, tarsos e ovipositor, estes sinais podem dar indícios sobre a qualidade do ambiente, como a presença de nutrientes, competidores, sais inorgânicos e inseticidas (Bentley & Day, 1989; McCall, 2002). Os mecanismos neurais que integram a informação sensorial com as devidas decisões comportamentais, neste caso, permanecem desconhecidos. Da mesma forma, continua obscuro como é feito o balanço de sinais contraditórios (Angelon & Petranka, 2002). Sabe-se apenas que estes sinais podem estimular ou desencorajar a postura dos ovos, sendo que a decisão final é resultante de uma matriz complexa entre todos eles (Maire, 1983).

Assumindo que ovipositar em ambientes com predadores pode diminuir a aptidão da fêmea que o faz, pistas que denunciam o risco de predação da

prole são componentes muito importantes dessa matriz. Além de contribuir para o sucesso reprodutivo dessas espécies, esse comportamento pode implicar em consequências na dinâmica populacional, refletindo na estrutura de toda a comunidade (Stav *et al.*, 2000; Spencer *et al.*, 2002). Acumulam-se evidências na literatura, principalmente nos anos recentes, de organismos com a habilidade de reconhecer essas pistas e considerá-las no momento da oviposição (revisado em Blaustein, 1999). Entretanto, somente para poucas espécies, essa particularidade é bem explorada. Entre elas está o mosquito *Culiseta longiareolata*, atualmente o principal modelo no estudo de risco de predação da prole. A partir de trabalhos com *C. longiareolata* (Blaustein & Kotler, 1993; Blaustein *et al.*, 1995; Stav *et al.*, 1999, 2000; Kiflawi *et al.*, 2003; Blaustein *et al.*, 2004; Silberbush & Blaustein, 2008; Silberbush *et al.*, 2010), são discutidas as condições em que habilidade de detectar e evitar potenciais predadores deve evoluir, além das possíveis consequências dessa resposta. Testes com outras espécies são necessários para verificar os aspectos gerais desse comportamento na natureza.

Aqui, avaliamos se fêmeas de *Culex mollis*, *Limatus durhamii* e *Aedes albopictus* são capazes de identificar criadouros com sinais químicos do predador *Toxorhynchites theobaldi*, evitando ovipositar onde existe risco de predação para sua prole. Os experimentos seguintes visam reforçar a hipótese de que a evolução desse comportamento depende da estratégia de oviposição das espécies de presa e do histórico da interação entre presa e predador.

2.2 Metodologia

2.2.1 Preparo dos substratos de oviposição

Visando aumentar a atratividade a longa distância e reproduzir uma situação similar à encontrada na natureza, utilizamos uma infusão como substrato de oviposição, preparada acrescentando 7 gramas de serapilheira por litro de água deionizada, deixados em repouso por 7 dias. A serapilheira era recolhida na área dos testes de oviposição em campo. Para o preparo dos

substratos de oviposição, 100 potes plásticos com capacidade de 100 ml foram acrescidos com 80 ml de água deionizada. Em 50 destes, foi colocada uma larva L4 de *T. theobaldi*, em jejum há 48 horas. Esses potes foram dispostos em cubas tampadas com plástico transparente, onde ficavam por 96 horas. Após esse período, a quantidade de água perdida por evaporação era restituída e as infusões imediatamente utilizada nos testes, sendo a infusão pura o controle (IC) e a infusão onde os predadores foram mantidos o tratamento (IT).

2.2.2 Testes de oviposição em campo

A cada rodada do experimento, foram distribuídos 20 recipientes plásticos pretos, com 11 cm de altura e capacidade para 750 ml, em 10 pontos distintos da Mata da UFV (20°45'S, 42°51'O). Em cada ponto, era colocado um par desses recipientes, ao nível do solo, distantes cerca de um metro, sendo um controle e um tratamento. Ao pote controle foram acrescidos 400 ml de IC, e os potes tratamento receberam 400 ml de IT. A cada 24 horas, a posição dos recipientes era invertida. Passadas 96 horas, os potes foram recolhidos e levados para o laboratório.

Como a visualização e identificação de ovos é difícil, principalmente das espécies que não ovipositam em jangada, utilizamos o número de larvas como estimativa de oviposição. Após 3 dias, as larvas eram contabilizadas e identificadas. *C. mollis* e *L. durhamii* são facilmente distinguíveis já no primeiro instar larval. Entretanto, as larvas foram criadas até o último instar para a confirmação das espécies. Os potes foram mantidos no laboratório por mais 10 dias e analisados periodicamente, a fim de amostrar eventuais larvas que não haviam eclodido na avaliação inicial. Para ambas as espécies, desconsideramos as repetições em que larvas estavam ausentes tanto no pote controle quanto no tratamento.

2.2.3 Testes de oviposição em laboratório

Como não foi encontrado em campo um local com abundância significativa de *Aedes albopictus*, realizamos experimentos de oviposição dessa espécie invasora no laboratório. Em uma gaiola de tecido e acrílico (60x60x60 cm), foram colocados 2 copos plásticos com capacidade para 100 ml de água. Ao copo controle foram acrescidos 80 ml de IC, enquanto o copo tratamento recebeu 80 ml de IT. Em cada gaiola foi liberada uma fêmea acasalada, de 10-15 dias de idade, 72 horas após ser alimentada em um braço humano. Decorridas 48 horas, os potes foram recolhidos e os ovos contabilizados. Para cada gaiola, o teste foi repetido, invertendo a posição dos copos.

2.2.4 Análises estatísticas

Os dados dos testes de oviposição foram analisados utilizando os modelos lineares generalizados (MLG) com distribuição quasibinomial (Crawley, 2007). A opção por essa distribuição foi feita para corrigir a sobredispersão dos dados diagnosticada pela análise de resíduos para a distribuição binomial. Todas as análises foram realizadas no software estatístico R (R Development Core Team, 2006).

2.3 Resultados

2.3.1 Testes de oviposição em campo

Como mostrado na figura 1A, a proporção média de larvas de *C. mollis* encontradas nos recipientes controle (95,6%) foi significativamente maior que a dos recipientes com infusão tratada (5,4%) ($F_{1,15} = 34.08$; $p < 0,001$), sendo que, na infusão tratada, foi observada a presença de larvas dessa espécie em apenas uma das repetições. Para *L. durhamii* (figura 1B), a proporção média do número de larvas não diferiu estatisticamente entre a infusão tratada (55,1%) e a controle (44,9%) ($F_{1,67} = 0.0016$; $p > 0,05$).

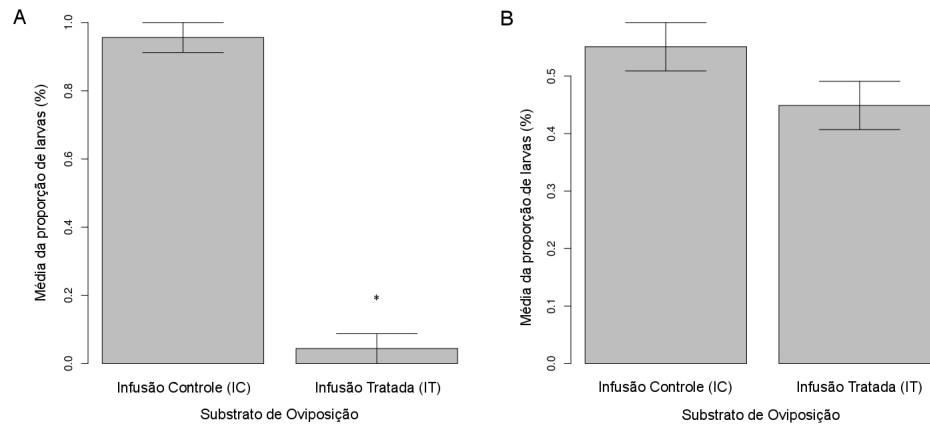


Figura 1: Média da proporção de larvas de A: *C. mollis* e B: *L. durhamii* nos substratos de oviposição

2.3.2 Testes de oviposição em laboratório

Para a espécie *A. albopictus*, foi encontrada uma proporção média de ovos depositados nos recipientes controle (44,3%) muito próxima a dos recipientes com infusão tratada (55,7%), sendo essa diferença não significativa ($F_{1,26} = 0.3181$; $p > 0,05$) (figura 2).

2.4 Discussão

Nos experimentos realizados em campo, foi amostrada uma quantidade muito inferior de larvas de *C. mollis* na infusão que abrigou previamente as larvas de *T. theobaldi*, quando comparado com o controle. A interpretação mais provável para o observado é que fêmeas de *C. mollis* conseguem perceber sinais químicos liberados pelo predador, e evitam depositar ovos nesses ambientes. Enquanto isso, *L. durhamii* parece não reconhecer essas pistas, pois ovipositou indiscriminadamente tanto na infusão tratada quanto no controle. Sendo ambas as espécies encontradas cohabitando com o predador *T. theobaldi*, e portanto presas em potencial, devem ser levantadas possíveis

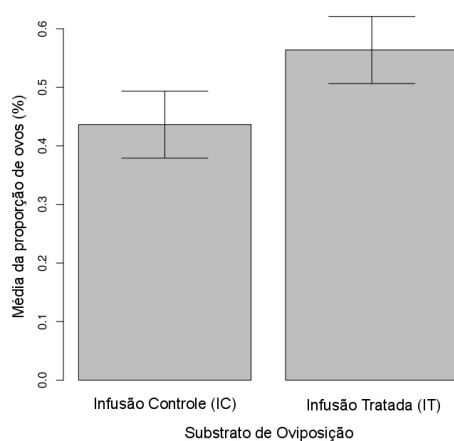


Figura 2: Média da proporção de ovos de *A. albopictus* nos substratos de oviposição

razões para que a capacidade de responder ao risco tenha evoluído em uma, e não na outra.

Como foram utilizados nos potes tratamento apenas a infusão onde os predadores foram abrigados previamente, sem a presença física dos mesmos, uma explicação razoável para o observado seria pela natureza química dos sinais emitidos pelas larvas do *T. theobaldi*. Mosquitos podem detectar compostos no ar, quando esses são suficientemente voláteis ou, no caso de compostos de baixa volatilidade, por mecanismos gustatórios envolvendo contato direto com a água (Clements, 1992). Silberbush & Blaustein (2008) demonstraram que fêmeas de *C. longiareolata* conseguem perceber sinais da presença do predador *Notonecta maculata* sem tocar a água. No entanto, a eficiência desse reconhecimento é notavelmente diminuída, se comparada com situações nas quais o contato com o substrato é permitido (Kiflawi *et al.*, 2003; Blaustein *et al.*, 2004). Isso sugere que, tanto compostos voláteis como não-voláteis estão envolvidos nesse processo. *C. mollis* oviposita pousado sobre a superfície da água, enquanto *L. durhamii* ejeta seus ovos durante o voo, sem contato com a lâmina d'água. Assim, a presença de *T. theobaldi* pode

ser imperceptível para fêmeas de *L. durhamii*, se os cairomônios liberados por esse predador forem de baixa volatilidade.

Uma abordagem alternativa seria através da estratégia de oviposição distinta entre as duas. Enquanto *C. mollis* deposita seus ovos todos de uma vez em uma massa formando uma jangada, *L. durhamii* os distribui entre vários criadouros. Blaustein (1999) sugere que a seleção do habitat de oviposição baseada no risco de predação da prole é mais provável de ocorrer em espécies que ovipositam em jangada. Isso porque a pressão seletiva exercida pelo predador nesse caso é mais intensa, considerando que, quando deposita todos os seus ovos em um criadouro com predadores, uma fêmea corre o risco de perder grande parte ou toda a sua prole. Enquanto isso, nas espécies que distribuem seus ovos aleatoriamente entre vários habitats, com predadores presentes em alguns e ausentes em outros, o efeito do consumo é diluído, tornando a pressão insuficiente para a evolução de uma resposta.

Para testar predições sobre quais organismos devem responder a predadores quando escolhem um sítio de oviposição, além de utilizar espécies com grandes chances de apresentarem a habilidade de reconhecer certo predador, é necessário também avaliar aquelas sobre as quais não se tem nenhuma expectativa (Blaustein *et al.*, 2004). E esse é o caso da interação envolvendo *A. albopictus* e *T. theobaldi*. Durante o período dos experimentos, *A. albopictus* não foi encontrado cohabitando com *T. theobaldi*, e parece optar por permanecer próximo a locais com maiores aglomerações humanas, enquanto o predador tem hábitos preferencialmente silvestres. Então, é de se esperar que, devido a ausência de um histórico evolutivo entre presa e predador, a possibilidade do surgimento de uma resposta ao risco seja remota. Como observamos nos testes de laboratório, fêmeas de *A. albopictus* parecem não notar os sinais de *T. theobaldi*, pois ovipositam indistintamente, havendo ou não vestígios de predador. De forma semelhante, Van Dam & Walton (2008) avaliaram, em um teste de dupla escolha, se sinais químicos do peixe *Gambusia affinis* poderiam dissuadir a oviposição de três espécies de mosquitos. Eles encontraram que a resposta das fêmeas é proporcional ao

risco real de predação da prole na natureza. *Culex tarsalis*, que frequentemente utilizam como criadouros ambientes que podem abrigar peixes, evitaram ovipositar na presença de sinais químicos do predador. Enquanto isso, *Culex quinquefasciatus* e *Aedes aegypti*, cujas larvas raramente ou nunca se desenvolvem em ambientes com peixes, apresentaram resposta moderada ou ausente, respectivamente.

Contudo, é válido ressaltar que, apesar de aparentemente benéfico para o “fitness” dos indivíduos, existem custos envolvidos na seleção de criadouros seguros para a prole. Gastar muito tempo na escolha de um local adequado para ovipositar pode ser perigoso. Muitas vezes, fêmeas grávidas são menos ágeis e mais facilmente notadas por predadores, tornando-se mais vulneráveis que os demais (Magnhagen, 1991). Apesar dessas observações serem feitas com aves (Lee *et al.*, 1996), répteis (Madsen, 1987; Seigel *et al.*, 1987) e crustáceos (Berglund & Rosenqvist, 1986), tal princípio pode ser estendido para outros grupos.

Com relação aos mosquitos, Roitberg *et al.* (2003) encontraram que, após se alimentarem de sangue, fêmeas de *Anopheles gambiae* tornam-se mais vulneráveis à predação por aranhas, provavelmente como consequência do aumento de massa. Como portar ovos também resulta em um aumento de massa corpórea, o momento da oviposição deve ser de especial vulnerabilidade. Sendo assim, é razoável considerar que escolher um criadouro livre de predadores pode ser arriscado pois, quanto maior a busca, maiores as chances de fêmea ser abatida antes mesmo de colocar um único ovo.

Além disso, uma grande concorrência por locais livres de predadores pode aumentar a densidade de coespecíficos nesses criadouros e, conseqüentemente, a competição (Blaustein, 1999). Isso torna-se particularmente interessante no caso de *L. durhamii*, pois suas larvas são canibais facultativas, principalmente na escassez de outros recursos (Lopes *et al.*, 1985). Dessa forma, podemos suspeitar que existam casos em que seleção do habitat de oviposição baseada no risco de predação da prole não evoluiu, simplesmente porque o custo desse comportamento excede os benefícios.

A partir da diferença na resposta das fêmeas sob risco de predação da prole entre as espécies, seria oportuno questionar sobre o papel da predação na evolução do comportamento dos mosquitos. É plausível que pressões seletivas exercidas pelos predadores tenham influenciado fortemente o surgimento e manutenção da grande variedade de estratégias de oviposição encontrada atualmente na família Culicidae.

3 Capítulo 2

3.1 Introdução

Larvas e pupas de mosquitos são vulneráveis a uma variedade de predadores, tanto vertebrados quanto invertebrados. Entre os primeiros podemos destacar os peixes, bastante comuns em corpos d'água permanentes. Já nos ambientes aquáticos temporários são encontrados muitos insetos predadores como hemípteros e larvas de coleópteros e odonatas (Clements, 1992). Um outro importante grupo presente nesses ambientes são as larvas de *Toxorhynchites* (Diptera: Culicidae), um dos potenciais agentes de controle biológico de mosquitos mais estudados até o presente (Quiroz-Martinez & Rodríguez-Castro, 2007). A maior parte desses estudos se preocupa em avaliar a eficácia desses predadores no consumo de larvas de mosquitos hematófagos e, conseqüentemente, sua capacidade em controlar populações desses insetos (revisado em Collins & Blackwell, 2000; Focks, 2007). Entretanto, populações de presas não são afetadas pelos predadores apenas quando há morte direta. Isso porque, longe de serem apenas integrantes desafortunadas no cenário ecológico, presas podem se defender alterando alguns traços fenotípicos e, assim, reduzindo seu risco de mortalidade (Preisser *et al.*, 2005). Essas alterações induzidas por predadores podem ser morfológicas, fisiológicas ou comportamentais (Werner & Peacor, 2003), sendo as últimas o foco desse trabalho.

A evolução de uma variedade de respostas comportamentais é creditada a pressões seletivas impostas por predadores, sendo que essas respostas podem ser fixas ou flexíveis (revisado em Endler, 1986; Kerfoot & Sih, 1997). Presas podem apresentar um padrão fixo/constitutivo de comportamentos de baixo risco, tendo assim sua vulnerabilidade à predação reduzida durante

todo o tempo. Em contraste, muitos organismos apresentam padrões comportamentais flexíveis/induzidos, adotando comportamentos de baixo risco apenas quando a presença de predadores é notada (Sih, 1986; Kerfoot & Sih, 1997; Lawler, 1989; McPeck, 1990). Para larvas de mosquitos, é demonstrado que a percepção do risco de predação pode induzir mudanças facultativas no comportamento das presas. Essas podem ser de escape, após o predador ter desferido o ataque; ou de evitamento, antes do ataque ter se iniciado. Apesar da maioria das observações de respostas antipredatórias das presas se concentrarem no comportamento de escape (Edmunds, 1974; Morse, 1980), o ato de evitar pode ser muito mais sofisticado e importante, pois envolve mudanças no uso do habitat, hora de atividade e padrão de movimentação (Jeffries & Lawton, 1984).

A principal resposta comportamental de evitamento relatada para a família Culicidae é a redução da atividade das presas que, por sua vez, diminui as suas chances de serem detectadas pelo predador (Juliano & Reminger, 1992; Juliano & Gravel, 2002). Entretanto, responder a ameaça de predação reduzindo o tempo gasto no forrageamento pode causar déficit energético, subnutrição e prejuízos no desenvolvimento (revisado em Brown & Kotler, 2004). Sendo assim, pressões seletivas devem favorecer aqueles capazes de diagnosticarem e responderem ao risco de forma precisa (Kats & Dill, 1998). Entretanto, mesmo que vulneráveis à predação, algumas espécies parecem não possuir a habilidade de detectar a ameaça. Assim, faz-se necessário levantar hipóteses sobre os requisitos necessários para a evolução de respostas antipredatórias induzidas em larvas de mosquitos.

No presente trabalho, verificamos se larvas de três espécies de mosquitos (*Culex mollis*, *Limatus durhamii* e *Aedes albopictus*) alteram seu comportamento em resposta a possíveis pistas químicas liberadas pelo predador *Toxorhynchites theobaldi*. Além disso, avaliamos se essas espécies apresentam diferenças quanto à vulnerabilidade à predação por *T. theobaldi*, e se essas podem ser relacionadas aos padrões comportamentais. É esperado que respostas comportamentais antipredatórias e baixa vulnerabilidade sejam característi-

cas de espécies nativas, pelo histórico de contato dessas com o predador ao longo do tempo evolutivo.

3.2 Metodologia

3.2.1 Coleta dos mosquitos

As larvas de *T. theobaldi*, *C. mollis* e *L. durhamii* utilizadas nos experimentos foram coletadas em pneus e potes plásticos com água, colocados na Mata da UFV, ao nível do solo. Já os *A. albopictus*, foram provenientes da colônia do Laboratório de Entomologia Médica do Centro de Pesquisas René Rachou, FIOCRUZ, Belo Horizonte.

3.2.2 Preparo das arenas

Para o preparo dos substratos das arenas de filmagem, 20 potes plásticos com capacidade de 100 ml foram acrescidos com 80 ml de água deionizada. Em 10 destes, foi colocada uma larva L4 de *T. theobaldi*, em jejum há 48 horas. Esses potes foram dispostos em uma cuba tampada com plástico transparente, onde ficavam por 96 horas. Após esse período, a quantidade de água perdida por evaporação era restituída e imediatamente utilizada nos testes, sendo a água pura o substrato controle (SC) e a água onde os predadores foram mantidos o substrato tratado (ST). Em uma placa de petri de 9 cm de diâmetro, eram colocados 20 ml de substrato (SC ou ST) e 5 ml de infusão de serapilheira. A função da infusão foi de acrescentar nutrientes ao substrato e estimular o forrageamento.

3.2.3 Análise comportamental

Larvas L4 das presas foram acondicionadas individualmente em água deionizada, permanecendo sem alimento por 24 horas. Decorrido esse período, os testes foram iniciados. A cada rodada, uma larva era transferida para a arena, onde ficava por 10 minutos para aclimatação. Na sequência,

uma câmera (BOSCH Dinium^{XF} CCD Camera) instalada sobre a arena era ligada, registrando a atividade da larva por 10 minutos. Para cada espécie de presa, essa operação foi realizada 50 vezes, totalizando 25 repetições para cada substrato (SC e ST). Após as filmagens, as imagens foram analisadas, registrando o tempo gasto nas três atividades possíveis realizadas por cada indivíduo. São elas: 1) “Resting”: larva não se movimenta; 2) “Browsing”: larva se locomove propelida pelo movimento do aparelho bucal; 3) “Thrashing”: larva se locomove propelida por flexões laterais vigorosas do corpo. Cada vídeo foi assistido por duas vezes, sendo na primeira cronometrado o tempo de “browsing” e na segunda o tempo de “thrashing”. A diferença entre o tempo de “browsing” e “thrashing” e o tempo total (10 minutos) era assinalada como ausência de movimento (“resting”).

3.2.4 Teste de Vulnerabilidade

Para verificar se as três espécies de presa apresentavam diferenças quanto a vulnerabilidade à predação, realizamos o seguinte teste. A um recipiente plástico preto com 11 cm de altura e capacidade para 750 ml foi acrescentado 400 ml de água deionizada e 1 g de serapilheira. O objetivo da serapilheira era fornecer abrigo para as larvas e simular uma situação mais próxima aquela encontrada na natureza. Então, foram colocados nesse recipiente 31 larvas de quarto ínstar, sendo 10 *C. mollis*, 10 *L. durhamii* e 10 *A. albopictus* e 1 *T. theobaldi*, estando a última em jejum por 72 horas para estimular o consumo. O pote era tampado e, decorridas 24 horas, seu conteúdo depositado em uma bandeja branca, o predador removido e as presas remanescentes contabilizadas, sendo registrado o número de indivíduos consumidos de cada espécie. Foram realizadas 30 repetições.

3.2.5 Análises estatísticas

Os dados dos testes de comportamento e vulnerabilidade foram analisados utilizando os modelos lineares generalizados (MLG) com distribuição quasib-

inomial (Crawley, 2007). A opção por essa distribuição foi feita para corrigir a sobredispersão dos dados diagnosticada pela análise de resíduos para a distribuição binomial. Todas as análises foram realizadas no software estatístico R (R Development Core Team, 2006).

3.3 Resultados

3.3.1 Análise comportamental

Quando tem sua atividade observada no substrato que abrigou previamente larvas do predador *T. theobaldi* (ST), *C. mollis* demonstra uma mudança no padrão de movimentação, comparando com o substrato controle (SC) (figura 3). A média da proporção do tempo gasto em “resting” (figura 3A) registrada no substrato ST foi de 82,7%, enquanto que, no substrato SC a espécie passou 49,3% do tempo em repouso ($F_{1,24} = 40.17$, $p < 0,001$). Essa alteração refletiu no tempo gasto em “browsing” (figura 3B), sendo que a média observada foi de 16,1% no ST e 48,5% no SC ($F_{1,24} = 38.33$, $p < 0,001$). Ainda, foi verificada uma diferença significativa no tempo gasto em “thrashing” (figura 3C). Enquanto no ST, *C. mollis* gastou em média 1,2% do tempo nessa atividade, no SC essa espécie passou em média 2,3% do tempo se movimentando através de flexões laterais do corpo ($F_{1,24} = 4.41$, $p < 0,05$) (figura 3C). Entretanto, para as espécies *L. durhamii* (figura 4) e *A. albopictus* (figura 5), as médias da proporção de tempo gasto em “resting” (*L. durhamii*: $F_{1,24} = 0.283$, $p > 0,05$; *A. albopictus*: $F_{1,24} = 0.733$, $p > 0,05$), “browsing” (*L. durhamii*: $F_{1,24} = 0.179$, $p > 0,05$; *A. albopictus*: $F_{1,24} = 0.097$, $p > 0,05$) e “thrashing” (*L. durhamii*: $F_{1,24} = 0.342$, $p > 0,05$; *A. albopictus*: $F_{1,24} = 0.654$, $p > 0,05$) foram estatisticamente iguais, quando comparados ST e SC.

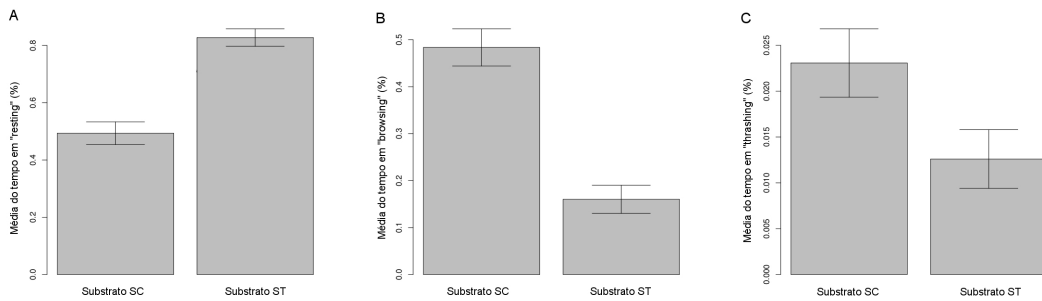


Figura 3: Média da proporção do tempo gasto por *C. mollis* em A: “resting”, B: “browsing” e C: “thrashing”

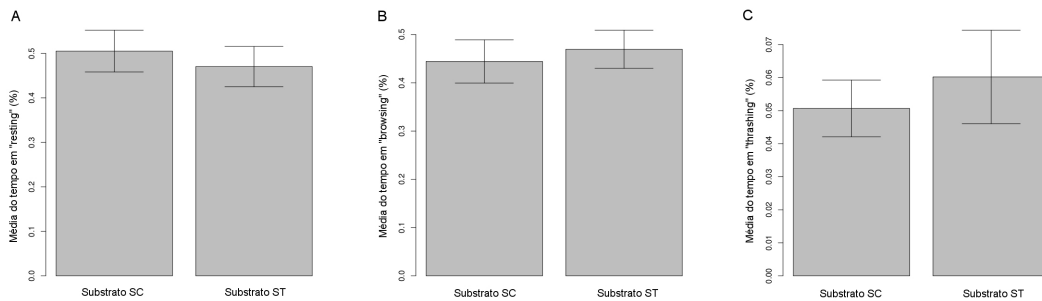


Figura 4: Média da proporção do tempo gasto por *L. durhamii* em A: “resting”, B: “browsing” e C: “thrashing”

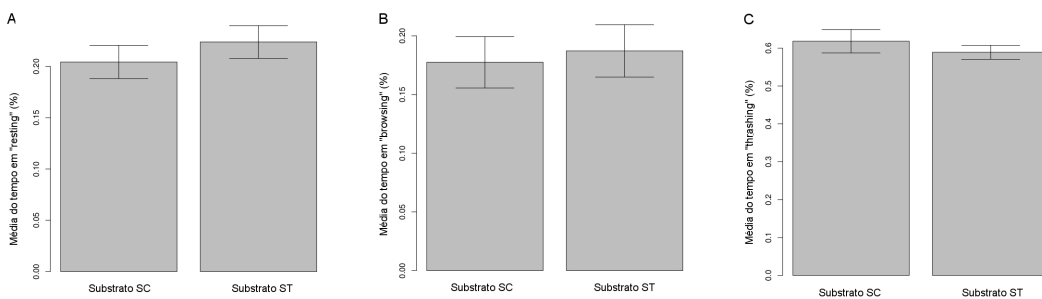


Figura 5: Média da proporção do tempo gasto por *A. albopictus* em A: “resting”, B: “browsing” e C: “thrashing”

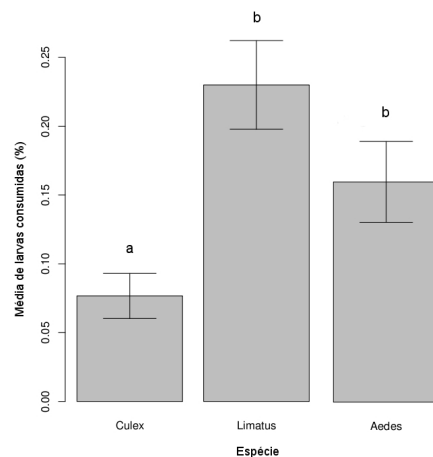


Figura 6: Média diária do consumo de uma larva de *T. theobaldi* para cada espécie de presa (*C. mollis*, *L. durhamii* e *A. albopictus*). Letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes

3.3.2 Teste de Vulnerabilidade

Após 24 horas em contato com *T. theobaldi*, a espécie *C. mollis* foi menos predada que as demais ($F_{1,29} = 8.799$, $p < 0,001$). Enquanto a média diária de consumo de *L. durhamii* (23%) e *A. albopictus* (16%) foram estatisticamente iguais ($F_{1,29} = 2.924$, $p > 0,05$), *C. mollis* teve em média 7,7% de indivíduos consumidos (figura 6).

3.4 Discussão

A partir da análise dos resultados, podemos notar que *L. durhamii* e *A. albopictus* não alteram o padrão de atividade na presença de sinais químicos de *T. theobaldi*. Por outro lado, na mesma situação, *C. mollis* reduz drasticamente sua movimentação, permanecendo mais tempo em repouso e evitando movimentos turbulentos. Um padrão semelhante de respostas comportamentais tem sido observado em diversos organismos (revisado em Dill, 1987; Lima & Dill, 1990; Benard, 2004), com destaque para aves e mamíferos (revisado

em Caro, 2005); anuros (ex. Kats *et al.*, 1988; Lawler, 1989; Skelly & Werner, 1990; Azevedo-Ramos *et al.*, 1992; Relyea, 2001) e os insetos (ex. Hassell & Southwood, 1978; Kerfoot & Sih, 1997; Kohler & McPeck, 1989; McPeck, 1990). Para larvas de mosquitos, *C. mollis* é a terceira espécie descrita a apresentar alteração comportamental induzida pelo risco de predação.

Sih (1979, 1980, 1981, 1982) havia observado que larvas de mosquitos que se movimentavam menos e permaneciam próximas às bordas dos criadouros tinham a probabilidade reduzida de serem capturadas por predadores do gênero *Notonecta*. Sabendo disso, conduziu uma série de experimentos (Sih, 1986) para contrastar as respostas induzidas por pelo predador *Notonecta undulata* em duas espécies de presas (*Culex pipiens* e *A. albopictus*), sendo que a primeira cohabita frequentemente com esse predador e a segunda não compartilha histórico algum de contato com o mesmo. Ele encontrou que ambas as espécies respondem à presença física do predador, reduzindo a movimentação e evitando permanecer no centro das arenas de teste. Foi observado também que *C. pipiens* apresenta alterações comportamentais na presença de somente sinais químicos da predação por *N. undulata*, enquanto *A. albopictus* não o faz. Em nossos testes, nos quais utilizamos apenas prováveis sinais químicos nas arenas de teste, encontramos que somente *C. mollis* demonstra mudanças no comportamento em resposta ao risco de predação. Entretanto, talvez *A. albopictus* e *L. durhamii* possam valer de outros indícios para estimar a ameaça. Enquanto as respostas comportamentais de *C. mollis* parecem mediadas pelas pistas químicas, existe a possibilidade das outras duas espécies terem a capacidade de diagnosticar a presença de *T. theobaldi* através de pistas mecânicas e visuais. Porém, essas pistas não foram o foco dos nossos experimentos. De qualquer forma, possivelmente a presença de uma única larva de *T. theobaldi* não seja suficiente para induzir alterações comportamentais em *A. albopictus* e *L. durhamii*, visto o maior consumo dessas espécies de presa no teste de vulnerabilidade. Assim, as diferenças no comportamento podem ser a principal causa da predação diferencial entre as espécies. No

trabalho de Sih (1986), foi verificado que *C. pipiens* é menos vulnerável à predação por *N. undulata* que *A. albopictus*. De modo semelhante, vimos em nossos testes que *C. mollis*, espécie que diminui a movimentação na presença dos sinais químicos do predador, é menos capturada por *T. theobaldi* que aquelas que não exibem respostas induzidas.

Padrões comportamentais das presas são, a curto prazo, o principal determinante da probabilidade de predação por larvas de *Toxorhynchites* (Juliano *et al.*, 1993). *Toxorhynchites* são primariamente predadores de emboscada, sendo a presa detectada aparentemente por mecanorreceptores (Russo, 1986; Steffan & Evenhuis, 1981). Neste caso, indivíduos mais ativos, que movem e se alimentam com mais frequência, experimentam maiores chances de serem vítimas de predação (Grill & Juliano, 1996; Russo & Westbrook, 1986). Juliano & Reminger (1992) registraram o comportamento de duas populações de *Aedes triseriatus*, na presença e ausência do predador *Toxorhynchites rutilus*. Foi observado um comportamento fixo diferenciado entre a população originada de um local onde o predador era abundante e a população proveniente de um local onde o mesmo predador era raro. Naquela em que o predador era frequente nos criadouros, as presas passavam mais tempo em repouso quando comparado com a população que tinha pouco contato com o mesmo. Eles também registraram o tipo de atividade exercida pela presa no momento da captura. Assim, verificaram que “thrashing” era o comportamento mais imprudente, “browsing” apresentava um risco intermediário, e “resting” foi classificado como um comportamento de baixo risco. Confirmando essas predições, foi demonstrado que a população que evitava comportamentos de risco era de fato menos vulnerável à predação, e sugerido que essas diferenças comportamentais fossem resultantes da pressão seletiva imposta pelos predadores. Além disso, foram encontradas evidências de respostas comportamentais flexíveis, com larvas de último ínstar de *A. triseriatus* reduzindo a movimentação na presença de *T. rutilus*. Entretanto, essas respostas foram pouco conspícuas, além de não ser possível saber qual o tipo de sinal (visual,

mecânico ou químico) utilizado pela presa para a detecção do predador. Em nossos experimentos, por ser utilizado apenas o substrato onde o predador permaneceu abrigado, ficando impossibilitada a percepção de pistas visuais ou mecânicas pela presa, temos um forte indício que compostos químicos liberados por *T. theobaldi* são os principais sinais detectados por *C. mollis*. Na presença desses sinais, *C. mollis* apresentam respostas antipredatórias bastante conspícuas, reduzindo o tempo gasto em “thrashing”, comportamento avaliado como o de maior risco, e priorizando o repouso.

Em nossas observações, notamos que as três espécies de presa avaliadas diferem grandemente no padrão fixo de comportamento. Na ausência do risco de predação, enquanto as nativas passam aproximadamente metade do seu tempo em repouso, a espécie exótica permanece parada por apenas cerca de 20% do tempo. Entretanto, o tempo de atividade das larvas não está totalmente de acordo com os resultados do teste de vulnerabilidade, visto que, apesar de muito mais ativa, *A. albopictus* é predada numa taxa semelhante a *L. durhamii*. Uma possível explicação estaria relacionada ao posicionamento adotado pelas larvas nos criadouros. Além do tempo de atividade, Juliano & Reminger (1992) registraram a posição na arena em que as larvas se encontravam no momento da captura. Então, verificaram que a superfície era a posição mais segura e o fundo a mais arriscada. Ainda que não analisada aqui, uma diferença na posição preferencial na coluna d’água é facilmente notada. Enquanto *C. mollis* passa a maior parte do tempo na superfície, *L. durhamii* tem preferência pelo fundo, subindo raramente para respirar e *A. albopictus* se movimenta por toda a coluna (observação pessoal). Assim, além da movimentação, o posicionamento das larvas na coluna d’água parece ser importante para se determinar o grau de vulnerabilidade das espécies.

Em um trabalho posterior, Juliano & Gravel (2002) utilizaram como substrato para observação do comportamento das presas apenas a água onde o predador *T. rutilus* permaneceu se alimentando de larvas de *A. triseriatus* ou *A. albopictus*, sem a presença física dos mesmos. Eles registraram que *A.*

triseriatus reduz a movimentação na presença dos sinais de predação, tanto dos coespecíficos quanto dos indivíduos da outra espécie, demonstrando dessa vez a importância do componente químico nesse fenômeno. Entretanto, não foi possível diagnosticar a origem dessa pista química, podendo ser liberada tanto pelo predador quanto pelos indivíduos ameaçados ou predados (Chivers & Smith, 1998). Já em nossos testes, por utilizarmos somente predadores em jejum no preparo dos substratos, é bastante provável que o sinal responsável por induzir alterações comportamentais em *C. mollis* seja o odor do próprio *T. theobaldi*. Apesar de aparentemente não conseguir reconhecer os odores do predador, talvez *L. durhamii*, possa perceber sinais liberados por seus coespecíficos, e apresentar alterações comportamentais frente a esse indício alternativo de risco. Entretanto, um teste com esse propósito não foi realizado. Enquanto isso, assim como em nossos experimentos, Juliano & Gravel (2002) encontraram que a espécie invasiva não altera o padrão de atividade em nenhuma das circunstâncias.

A invasão de espécies exóticas de mosquitos pode ocasionar sérios impactos aos ecossistemas. Enquanto larvas competem por alimento com organismos aquáticos residentes, adultos ameaçam a saúde humana e de outros animais (Juliano & Philip Lounibos, 2005). Entre as espécies de mosquitos, *A. albopictus* está entre as mais estudadas, principalmente por seu histórico de invasões bem sucedidas em diversos países (Benedict *et al.*, 2007). Trabalhos confirmam que *A. albopictus* é melhor competidor que algumas espécies residentes, podendo levar a uma exclusão competitiva das últimas (ex. Livdahl & Willey, 1991; Novak *et al.*, 1993; Armistead *et al.*, 2008). Controversamente, as mesmas características que fazem de uma espécie exótica uma competidora superior, podem ser responsáveis por uma alta vulnerabilidade à predação (Juliano *et al.*, 2010). Nossos resultados estão de acordo com outros discutidos aqui, demonstrando que, provavelmente pelo histórico recente de contato com predadores nativos, espécies exóticas não apresentam respostas antipredatórias induzidas pelo risco de predação, aumentando as suas chances de captura. Como mostrado na revisão de Carlsson *et al.*

(2009), predadores nativos podem muitas vezes atuar como barreira biológica contra o estabelecimento de espécies invasoras. Sendo assim, o estudo e conservação de predadores de mosquitos, entre eles os *Toxorhynchites*, são de fundamental importância na contenção das doenças disseminadas por esses vetores.

4 Conclusões e Perspectivas

A partir dos resultados mostrados nesse trabalho e outros encontrados na literatura, podemos atribuir algumas conclusões. A principal delas é que *C. mollis* é a primeira espécie descrita capaz de responder tanto ao risco de predação da prole quanto do próprio indivíduo, induzida pela mesma espécie de predador. Na presença de sinais químicos liberados pelas larvas de *T. theobaldi*, fêmeas grávidas de *C. mollis* evitam a oviposição e imaturos exibem respostas comportamentais antipredatórias, reduzindo o forrageamento. Enquanto isso, as outras espécies testadas não demonstraram nenhum tipo de alteração comportamental em resposta ao risco de predação. Essa diferença de resposta entre as espécies pode ser justificada pela estratégia de oviposição, forma de detecção química do risco e grau de contato com o predador ao longo do tempo evolutivo.

Diferenças no padrão de atividade das larvas na presença do predador podem ter influência direta na vulnerabilidade das presas. Apesar disso, outros fatores como a posição preferencial das larvas na coluna d'água também devem ser considerados.

Como larvas de *A. albopictus* exibem um comportamento de alto risco e não apresentam respostas antipredatórias induzidas, influenciando em sua vulnerabilidade, a presença de um predador como *T. theobaldi* pode ser de fundamental importância em conter o estabelecimento dessa espécie invasora.

Essas conclusões nos levam a especular sobre algumas questões a serem respondidas no futuro. Sobre a natureza das pistas liberadas pelo predador, seria interessante investigar quais os compostos químicos que delatam a presença de *T. theobaldi*, induzindo alterações comportamentais em *C. mollis*. Além disso, se adultos e imaturos reconhecem os mesmos compostos ou po-

dem perceber substâncias diferentes e se essa resposta é dose dependente. Ainda, podem existir pistas liberadas pelas presas ameaçadas ou abatidas, como feromônios de alarme ou produtos da decomposição de suas carcaças, que resultariam em respostas semelhantes, principalmente nas espécies que não respondem ao odor do predador.

Seria oportuno também avaliar os custos envolvidos em exibir respostas antipredatórias. Gastar tempo em busca de locais seguros para ovipositar ou perder oportunidades de forrageamento na presença de predadores, pode influenciar, respectivamente, a vulnerabilidade das fêmeas à outras ameaças e desenvolvimento das larvas. Como sugerem alguns autores, os efeitos indiretos da predação podem ser ainda mais drásticos que aqueles relacionados ao consumo.

A continuação do trabalho com essas espécies, entre outras, pode ter impacto na teoria da interação predador-presa; comportamento e biologia de mosquitos; controle químico; e controle biológico de insetos vetores de doenças.

5 Referências

Angelon, K. & Petranka, J. (2002). Chemicals of predatory mosquitofish *Gambusia affinis* influence selection of oviposition site by *Culex mosquitoes*. *Journal of Chemical Ecology*, 28, 797–806.

Armistead, J.; Arias, J.; Nishimura, N. & Lounibos, L. (2008). Interspecific larval competition between *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* (Diptera: Culicidae) in Northern Virginia. *Journal of Medical Entomology*, 45, 629.

Azevedo-Ramos, C.; Van Sluys, M.; Hero, J. & Magnusson, W. (1992). Influence of tadpole movement on predation by odonate naiads. *Journal of Herpetology*, 26, 335–338.

Benard, M. (2004). Predator-induced phenotypic plasticity in organisms with complex life histories. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 35, 651–673.

Benedict, M.; Levine, R.; Hawley, W. & Lounibos, L. (2007). Spread of the tiger: global risk of invasion by the mosquito *Aedes albopictus*. *Vector-borne and Zoonotic Diseases*, 7, 76–85.

Bentley, M. D. & Day, J. F. (1989). Chemical ecology and behavioral aspects of mosquito oviposition. *Annual Review of Entomology*, 34, 401–421.

- Berglund, A. & Rosenqvist, G. (1986). Reproductive costs in the prawn *Palaemon adspersus*: effects on growth and predator vulnerability. *Oikos*, 46, 349–354.
- Blaustein, L. (1998). Influence of the predatory backswimmer, *Notonecta maculata*, on invertebrate community structure. *Ecological Entomology*, 23, 246–252.
- Blaustein, L. (1999). Oviposition site selection in response to risk of predation: evidence from aquatic habitats and consequences for population dynamics and community structure. In: *Evolutionary theory and process: modern perspectives*, Kluwer Dordrecht.
- Blaustein, L.; Kiflawi, M.; Eitam, A.; Mangel, M. & Cohen, J. E. (2004). Oviposition habitat selection in response to risk of predation in temporary pools: mode of detection and consistency across experimental venue. *Oecologia*, 138, 300–305.
- Blaustein, L.; Kotler, B. & Ward, D. (1995). Direct and indirect effects of a predatory backswimmer *Notonecta maculata* on community structure of desert temporary pools. *Ecological Entomology*, 20, 311–318.
- Blaustein, L. & Kotler, B. P. (1993). Oviposition habitat selection by the mosquito *Culiseta longiareolata*: effects of conspecifics, food and green toad tadpoles. *Ecological Entomology*, 18, 104–108.
- Blaustein, L. & Schwartz, S. (2001). Why study ecology in temporary pools? *Israel Journal of Zoology*, 47, 303–312.
- Bradbury, J. W. & Vehrencamp, S. L. (1998). *Principles of animal communication*. Sunderland, MA: Sinauer Associates Inc.
- Bronmark, C. & Hansson, L. A. (2000). Chemical communication in aquatic systems: an introduction. *Oikos*, 88, 103–109.

- Brown, J. & Kotler, B. (2004). Hazardous duty pay and the foraging cost of predation. *Ecology Letters*, 7, 999–1014.
- Carlsson, N.; Sarnelle, O. & Strayer, D. (2009). Native predators and exotic prey-an acquired taste? *Frontiers in Ecology and the Environment*, 7, 525–532.
- Caro, T. (2005). *Antipredator defenses in birds and mammals*. University of Chicago Press.
- Chivers, D. P. & Smith, R. J. F. (1998). Chemical alarm signaling in aquatic predator/prey interactions: a review and prospectus. *Ecoscience*, 5, 338–352.
- Clements, A. N. (1992). *The Biology of Mosquitoes*. Chapman and Hall, London.
- Collins, L. E. & Blackwell, A. (2000). The biology of *Toxorhynchites* mosquitoes and their potential as biocontrol agents. *Biocontrol News and Information*, 21, 105 – 116.
- Conradt, L. & Roper, T. (2005). Consensus decision making in animals. *Trends in Ecology & Evolution*, 20, 449–456.
- Consoli, R. & Oliveira, R. (1994). *Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil*. Fiocruz.
- Crawley, M. (2007). *The R Book*. John Wiley & Sons Inc.
- Dicke, M. & Grostal, P. (2001). Chemical detection of natural enemies by arthropods: an ecological perspective. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1–23.
- Dill, L. (1987). Animal decision making and its ecological consequences: the future of aquatic ecology and behaviour. *Canadian Journal of Zoology*, 65, 803–811.

- Edmunds, M., ed. (1974). *Defence in animals*. Longman inc., New York.
- Endler, J. A. (1986). *Predator-prey relationships*, Univ. of Chicago Press, chap. Defense against predators. pp. 109–134.
- Focks, D. A. (2007). *Toxorhynchites* as biocontrol agents. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23, 118–127.
- Forattini, O. . P. (1965a). *Entomologia Médica Vol. 2 Culicini: Culex, Aedes e Psorophora*. Editora da Universidade de São Paulo.
- Forattini, O. . P. (1965b). *Entomologia Médica Vol. 3 Culicini: Haemagogus, Mansornia, Culiseta, Sabethini, Toxorhynchitini, Arboviroses, Filariose bancroftiana e Genética*. Editora da Universidade de São Paulo.
- Grill, C. & Juliano, S. (1996). Predicting species interactions based on behaviour: predation and competition in container-dwelling mosquitoes. *Journal of Animal Ecology*, 65, 63–76.
- Hassell, M. & Southwood, T. (1978). Foraging strategies of insects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 9, 75–98.
- Hervé, J. P.; Dégallier, N.; Travassos da Rosa, A. P. A.; Pinheiro, F. P. & Sá Filho, G. C. (1986). Arboviroses - aspectos ecológicos. In: *Instituto Evandro Chagas - 50 anos de contribuição às ciências biológicas e à medicina tropical*, Fund. Serv. Saúde Pública, Belém.
- Jeffries, M. & Lawton, J. (1984). Enemy free space and the structure of ecological communities. *Biological Journal of the Linnean Society*, 23, 269–286.
- Juliano, S.; Hechtel, L. & Waters, J. (1993). Behavior and risk of predation in larval tree hole mosquitoes: effects of hunger and population history of predation. *Oikos*, 68, 229–241.

- Juliano, S.; Lounibos, L.; Nishimura, N. & Greene, K. (2010). Your worst enemy could be your best friend: predator contributions to invasion resistance and persistence of natives. *Oecologia*, 162, 709–718.
- Juliano, S. & Philip Lounibos, L. (2005). Ecology of invasive mosquitoes: effects on resident species and on human health. *Ecology Letters*, 8, 558–574.
- Juliano, S. & Reminger, L. (1992). The relationship between vulnerability to predation and behavior of larval treehole mosquitoes: geographic and ontogenetic differences. *Oikos*, 63, 465–476.
- Juliano, S. A. & Gravel, M. E. (2002). Predation and the evolution of prey behavior: an experiment with tree hole mosquitoes. *Behavioral Ecology*, 13, 301–311.
- Kats, L. & Dill, L. (1998). The scent of death: chemosensory assessment of predation risk by prey animals. *Ecoscience*, 5, 361–394.
- Kats, L.; Petranka, J. & Sih, A. (1988). Antipredator defenses and the persistence of amphibian larvae with fishes. *Ecology*, 69, 1865–1870.
- Kerfoot, W. C. & Sih, A. (1997). Predator and prey lifestyles: an evolutionary and ecological overview. In: *Predation: direct and indirect impacts on aquatic communities*, Univ. Press of New England, Hanover, NH.
- Kesavaraju, B. & Juliano, S. A. (2004). Differential behavioral responses to water-borne cues to predation in two container-dwelling mosquitoes. *Entomological Society of America*, 97, 194–201.
- Kiflawi, M.; Blaustein, L. & Mangel, M. (2003). Predation-dependent oviposition habitat selection by the mosquito *Culiseta longiareolata*: a test of competing hypotheses. *Ecology Letters*, 6, 35–40.
- Kohler, S. & McPeck, M. (1989). Predation risk and the foraging behavior of competing stream insects. *Ecology*, 70, 1811–1825.

- Lawler, S. (1989). Behavioural responses to predators and predation risk in four species of larval anurans. *Animal Behaviour*, 38, 1039–1047.
- Lee, S.; Witter, M.; Cuthill, I. & Goldsmith, A. (1996). Reduction in escape performance as a cost of reproduction in gravid starlings, *Sturnus vulgaris*. *Proceedings: Biological Sciences*, 263, 619–623.
- Lima, S. (1998). Nonlethal effects in the ecology of predator-prey interactions. *Bioscience*, 48, 25–34.
- Lima, S. & Dill, L. (1990). Behavioral decisions made under the risk of predation: a review and prospectus. *Canadian Journal of Zoology*, 68, 619–640.
- Livdahl, T. & Willey, M. (1991). Prospects for an invasion: competition between *Aedes albopictus* and native *Aedes triseriatus*. *Science*, 253, 189–189.
- Lopes, J.; R., A. J. & D., C. J. (1985). Estudo ecológico de Culicidae (Diptera) silvestres criando em pequenos recipientes de água em mata e em capoeira no município de Manaus - AM. *Ciência e Cultura*, 37, 1299–1340.
- Lourenço-de Oliveira, R. & Silva, T. F. (1985). Alguns aspectos da ecologia dos mosquitos (Diptera: Culicidae) de uma área de planície (Grangas Calábria), em Jacarepaguá, Rio de Janeiro. iii. Preferência horária das fêmeas para o hematofagismo. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 80, 195–202.
- Madsen, T. (1987). Cost of reproduction and female life-history tactics in a population of grass snakes, *Natrix natrix*, in southern sweden. *Oikos*, 49, 129–132.
- Magnhagen, C. (1991). Predation risk as a cost of reproduction. *Trends in Ecology & Evolution*, 6, 183–186.

- Maire, A. (1983). Oviposition site selection by mosquito females (Culicidae): a review. *Revue Canadienne de Biologie Experimentale*, 42 (2), 235–241.
- McCall, P. J. (2002). *Chemoecology of insect eggs and eggs and egg deposition.*, Blackwell, Berlin., chap. Chemoecology of oviposition in insects of medical and veterinary importance. pp. 265–290.
- McPeck, M. (1990). Behavioral differences between *Enallagma* species (Odonata) influencing differential vulnerability to predators. *Ecology*, 71, 1714–1726.
- Morse, D. H. (1980). *Behavioral mechanisms in ecology*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, USA.
- Novak, M.; Higley, L.; Christianssen, C. & Rowley, W. (1993). Evaluating larval competition between *Aedes albopictus* and *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae) through replacement series experiments. *Environmental Entomology*, 22, 311–318.
- Preisser, E. & Bolnick, D. (2008). The many faces of fear: comparing the pathways and impacts of nonconsumptive predator effects on prey populations. *PloS ONE*, 3, 2465.
- Preisser, E.; Bolnick, D. & Benard, M. (2005). Scared to death? The effects of intimidation and consumption in predator-prey interactions. *Ecology*, 86, 501–509.
- Quiroz-Martinez, H. & Rodríguez-Castro, A. (2007). Aquatic insects as predators of mosquito larvae. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23, 110–117.
- R Development Core Team (2006). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0.
- URL <http://www.R-project.org>

- Relyea, R. (2001). The relationship between predation risk and antipredator responses in larval anurans. *Ecology*, 82, 541–554.
- Roitberg, B.; Mondor, E. & Tyerman, J. (2003). Pouncing spider, flying mosquito: blood acquisition increases predation risk in mosquitoes. *Behavioral Ecology*, 14, 736.
- Russo, R. (1986). Comparison of predatory behavior in five species of *Toxorhynchites*. (Diptera: Culicidae). *Annual Entomological Society of American*, 79, 715–722.
- Russo, R. & Westbrook, A. (1986). *Ecdysteroid levels in eggs and larvae of Toxorhynchitesamboinensis*. Insect neurochemistry and neurophysiology, Totowa, NJ, USA.
- Seigel, R.; Huggins, M. & Ford, N. (1987). Reduction in locomotor ability as a cost of reproduction in gravid snakes. *Oecologia*, 73, 481–485.
- Sih, A. (1979). Stability and prey behavioural responses to predator density. *The Journal of Animal Ecology*, 48, 79–89.
- Sih, A. (1980). Optimal behavior: can foragers balance two conflicting demands? *Science*, 210, 1041–1043.
- Sih, A. (1981). Stability, prey density and age/dependent interference in an aquatic insect predator, *Notonecta hoffmanni*. *The Journal of Animal Ecology*, 50, 625–636.
- Sih, A. (1982). Foraging strategies and the avoidance of predation by an aquatic insect, *Notonecta hoffmanni*. *Ecology*, 63, 786–796.
- Sih, A. (1986). Antipredator responses and the perception of danger by mosquito larvae. *Ecology*, 67, 434–441.

- Silberbush, A. & Blaustein, L. (2008). Oviposition habitat selection by a mosquito in response to a predator: are predator-released kairomones airborne cues? *Journal of Vector Ecology*, 33, 208–211.
- Silberbush, A.; Markman, S.; Lewinsohn, E.; Bar, E.; Cohen, J. & Blaustein, L. (2010). Predator-released hydrocarbons repel oviposition by a mosquito. *Ecology Letters*, 13(9), 1129–1138.
- Skelly, D. & Werner, E. (1990). Behavioral and life-historical responses of larval American toads to an odonate predator. *Ecology*, 71, 2313–2322.
- Spencer, M.; Blaustein, L. & Cohen, J. (2002). Oviposition habitat selection by mosquitoes *Culiseta longiareolata* and consequences for population size. *Ecology*, 83, 669–679.
- Stav, G.; Blaustein, L. & Margalit, J. (1999). Experimental evidence for predation sensitive oviposition by a mosquito, *Culiseta longiareolata*. *Ecological Entomology*, 24, 202–207.
- Stav, G.; Blaustein, L. & Margalit, Y. (2000). Influence of nymphal *Anax imperator* (Odonata: Aeshnidae) on oviposition by the mosquito *Culiseta longiareolata* (Diptera: Culicidae) and community structure in temporary pools. *Journal of Vector Ecology*, 25, 190–202.
- Steffan, W. A. & Evenhuis, N. L. (1981). Biology of *Toxorhynchites*. *Annual Review of Entomology*, 26, 159–181.
- Van Dam, A. R. & Walton, W. E. (2008). The effect of predatory fish exudates on the ovipositional behaviour of three mosquito species: *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* and *Culex tarsalis*. *Medical and Veterinary Entomology*, 22, 399–404.
- Werner, E. & Peacor, S. (2003). A review of trait-mediated indirect interactions in ecological communities. *Ecology*, 84, 1083–1100.

Wisenden, B. (2000). Olfactory assessment of predation risk in the aquatic environment. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 355, 1205–1208.