



Hinc patriam sustinet

**Instituto Superior de Agronomia**  
**Universidade Técnica de Lisboa**

## **Capacidade reprodutiva e longevidade dos machos de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae)**

**Andreia da Mota Torres de Medeiros Torres**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Engenharia Agronómica**

Orientador: Doutor José Carlos Franco Santos Silva

Co-orientador: Doutora Elsa Borges da Silva

### **Júri:**

Presidente:

Doutora Maria José Antão Pais de Almeida Cerejeira, Professora Associada do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Vogais:

Doutora Teresa Ferreira Ramos Nabais de Oliveira Rebelo, Professora Auxiliar da Faculdade de Ciências da Universidade técnica de Lisboa.

Doutor José Carlos Franco Santos Silva, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Doutora Elizabete Tavares Lacerda de Figueiredo Oliveira, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Doutora Elsa Borges da Silva.

Lisboa, 2011

*“It is not the strongest that survives, nor the most intelligent that survives. It is the one that is most adaptable to change.”*

Charles Darwin

## Resumo

A presente dissertação de Mestrado inseriu-se no Projecto PTDC/AGR-AAM/099560/2008 “Biologia reprodutiva de cochonilha-algodão e interacções mediadas por feromonas: fundamentos para o desenvolvimento de novas tácticas de protecção de base ecológica” e teve como objectivo estudar alguns aspectos da biologia reprodutiva dos machos de cochonilha-algodão: *Planococcus citri*, *Planococcus ficus* e *Pseudococcus calceolariae*, nomeadamente o efeito do acasalamento na longevidade dos machos e a sua capacidade reprodutiva.

Os resultados mostram que os machos de *P. citri* fecundaram maior número de fêmeas do que os de *P. calceolariae*, os quais por sua vez fecundaram maior número de fêmeas que os machos de *P. ficus*. Os machos de *P. citri* fertilizaram cerca do dobro dos ovos fertilizados por *P. ficus* e *P. calceolariae*. A longevidade dos machos de *P. calceolariae* foi superior à longevidade dos machos das outras duas espécies. O acasalamento reduziu em 25-50% a longevidade dos machos das três espécies de cochonilhas-algodão em estudo, sugerindo a existência de “trade-off” entre reprodução e longevidade.

**Palavras-chave:** *Planococcus citri*; *Planococcus ficus*; *Pseudococcus calceolariae*; reprodução; longevidade; acasalamento.

## Abstract

The present Master's thesis is integrated in the research project PTDC/AGR-AAM/099560/2008 entitled "Mealybug reproductive biology and pheromone-mediated interactions: basis to develop ecological sound management tactics for pest mealybugs" and was aimed at analysing several aspects of male mealybug reproductive biology such as the effect of mating on male's longevity and the male reproductive success of three cosmopolitan mealybug species: *Planococcus citri*, *Planococcus ficus* and *Pseudococcus calceolariae*.

*Planococcus citri* males mated a larger number of females than *P. calceolariae*, which in turn mated a larger number of females than *P. ficus*. *P. citri* fertilised approximately twice as many eggs as did *P. Ficus* and *P. calceolariae*. *Pseudococcus calceolariae* males lived longer than *P. citri* and *P. ficus* males. Mating reduced in about 25-50% male lifespan all three studied mealybug species, suggesting the existence of trade-off between reproduction and longevity in male mealybugs.

**Key-words:** *Planococcus citri*; *Planococcus ficus*; *Pseudococcus calceolariae*; reproduction; longevity; mating.

## Extended abstract

The present Master's thesis is integrated the research project PTDC/AGR-AAM/099560/2008 entitled "Mealybug reproductive biology and pheromone-mediated interactions: basis to develop ecological sound management tactics for pest mealybugs" and was aimed at analysing several aspects of male mealybug reproductive biology such as the effect of mating on male's longevity and the male reproductive success of three cosmopolitan mealybug species: *Planococcus citri*, *Planococcus ficus* and *Pseudococcus calceolariae*.

The mealybug male reproductive success was determined by exposing in Petri dish arena an adult naïve male to 20 young virgin females per day under laboratory conditions. This procedure was repeated until the male's death after which the number of oviposited eggs per female and the successful fertilization rate were determined. The longevity of naive male mealybugs that were kept in Petri dishes without exposure to females was also assessed as a control treatment.

The mean number of fecundated females per male, during its lifespan, was significantly different among mealybug species, corresponding to  $14.0 \pm 0.5$  females,  $11.9 \pm 0.6$  females and  $6.7 \pm 0.4$  females, for *P. calceolariae*, *P. citri* and *P. ficus*, respectively. The higher longevity of *P. calceolariae* males is suggested to be related with their larger body size, and expected higher amount of energy reserves, in comparison with *Planococcus* males. The mean number oviposited per female was  $318.3 \pm 5.3$ , for *P. citri*,  $173.7 \pm 6.6$ , for *P. ficus* and  $121.9 \pm 4.5$ , for *P. calceolariae*. *Pseudococcus calceolariae* naïve males lived longer ( $4.7 \pm 0.3$  days) than *P. citri* ( $1.9 \pm 0.2$  days) and *P. ficus* males ( $2.2 \pm 0.2$  days). Mating reduced in about 25-50% the male lifespan in all three studied mealybug species, suggesting the existence of a trade-off between reproduction and longevity in male mealybugs. The effect of mating on male longevity was higher in *P. calceolariae* than in both *Planococcus* species. This higher impact of mating on male *P. calceolariae* is possibly due to the higher mating rate of these males during their longer lifespan.

**Key-words:** *Planococcus citri*; *Planococcus ficus*; *Pseudococcus calceolariae*; reproduction; longevity; mating.

## Agradecimentos

Antes de mais gostaria de agradecer ao Professor Doutor José Carlos Franco pela sua orientação e ajuda neste trabalho.

À Doutora Elsa Borges Silva pela grande ajuda, pela disponibilidade em esclarecer dúvidas, pelas revisões, pela motivação e paciência prestadas.

À Eng. Vera Zina, pelo companheirismo e apoio, essencial, dado na parte prática e pelos conselhos úteis.

Ao Professor Agra Coelho, por dar-me uma nova visão.

Aos meus amigos, à AEISA, ao ISA.

À minha família, especialmente aos meus pais, João e Tatão que me adoram, sempre.

Ao Hugo, por me moer o juízo.

Aos que já foram mas que ficam sempre connosco.

# Índice

Resumo.....	i
Abstract.....	ii
Extended abstract .....	iii
Agradecimentos .....	iv
Índice de figuras.....	viii
Índice de quadros.....	x
1-Introdução .....	1
2-Revisão bibliográfica .....	4
2.1- Caracterização sumária das cochonilhas-algodão .....	4
2.1.1-Posição sistemática.....	4
2.1.2 – Nomes vulgares.....	4
2.1.3-Aspectos de biologia e morfologia.....	4
2.2- Reprodução e capacidade reprodutiva dos machos .....	6
2.3- Longevidade dos machos .....	7
3-Material e métodos.....	11
3.1-Origem das cochonilhas-algodão.....	11
3.2- Criação das cochonilhas.....	11
3.3-Isolamento de fêmeas e machos virgens.....	12
3.4- Efeito do acasalamento na longevidade dos machos .....	13
3.4.1-Longevidade dos machos virgens .....	13
3.4.2- Longevidade dos machos sujeitos a acasalamento.....	13
3.4.3-Capacidade reprodutiva dos machos .....	14
3.5- Análise estatística.....	15
4-Resultados .....	17
4.1-Capacidade reprodutiva dos machos.....	17
4.1.1- Número de fêmeas fecundadas.....	17
4.2.2- Número de ovos postos por fêmea fecundada .....	18
4.2- Efeito do acasalamento na longevidade dos machos .....	20
5- Discussão .....	25
6- Conclusão .....	27
7-Referenciasbibliográficas .....	28
Anexos .....	32

Anexo 1- Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de fêmeas fecundadas por espécie.....	33
Anexo 1 (cont.) - Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de fêmeas fecundadas por espécie.....	34
Anexo 1.1 - Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de fêmeas fecundadas da espécie <i>Planococcus citri</i> .....	35
Anexo 1.1 (cont.) - Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de fêmeas fecundadas da espécie <i>Planococcus citri</i> .....	36
Anexo 1.2 - Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de fêmeas fecundadas da espécie <i>Planococcus ficus</i> .....	37
Anexo 1.2 (cont.) - Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de fêmeas fecundadas da espécie <i>Planococcus ficus</i> .....	38
Anexo 1.3 - Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de fêmeas fecundadas <i>Pseudococcus calceolariae</i> .....	39
Anexo 1.3 (cont) - Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de fêmeas fecundadas da espécie <i>Pseudococcus calceolariae</i> .....	40
Anexo 2- Resultados do programa SPSS correspondentes ao número ovos fertilizados por macho.....	41
Anexo 2 (cont.)- Resultados do programa SPSS correspondentes ao número ovos fertilizados por macho.....	41
Anexos 2.1- Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de ovos fertilizados por macho da espécie <i>Planococcus citri</i> .....	43
Anexos 2.1 (cont.)-Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de ovos fertilizados por macho da espécie <i>Planococcus citri</i> .....	44
Anexo 3- Resultados do programa SPSS correspondentes à longevidade dos machos virgens e acasalados de <i>Planococcus citri</i> , <i>Planococcus ficus</i> e <i>Pseudococcus calceolariae</i> .....	49
Anexo 4- Resultados do programa SPSS correspondentes à longevidade dos machos cochonilha-algodão virgens.....	50
Anexo 4 (cont.)- Resultados do programa SPSS correspondentes à longevidade dos machos cochonilha-algodão virgens.....	51
Anexo 5- Resultados do programa SPSS correspondentes à longevidade dos machos de cochonilha-algodão acasalados.....	52
Anexo 5 (cont.)- Resultados do programa SPSS correspondentes à longevidade dos machos de cochonilha-algodão acasalados.....	53



Anexo 6- Resultados do programa SPSS correspondentes à longevidade dos machos de cochonilha-algodão virgens e acasalados.....	54
---	----

## Índice de figuras

Figura 1- Macho de <i>Planococcus ficus</i> (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) (o traço corresponde a 1mm; original da autora). .....	6
Figura 2- Fêmea de <i>Planococcus ficus</i> (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) (o traço corresponde a 1mm; original da autora). .....	6
Figura 3-Esquema de criação de cochonilhas-algodão (Hemiptera; Pseudococcidae) em laboratório (adaptado de Silva, 2008). .....	12
Figura 4- Placa de Petri com um macho e 20 fêmeas, nos ensaios de longevidade dos machos de cochonilhas-algodão, <i>Planococcus ficus</i> (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae), sujeitos a acasalamento (original da autora). .....	14
Figura 5- Caixa de Petri com fêmea isolada de <i>Pseudococcus calceolariae</i> (Maskell) (Hemiptera: Pseudococcidae), em postura. (o traço corresponde a 1mm; original da autora). .....	15
Figura 7-Fêmea de <i>Planococcus ficus</i> (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae), em postura. (o traço corresponde a 1mm; original da autora). .....	15
Figura 8- Fêmea de <i>Planococcus citri</i> (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae), em postura. (o traço corresponde a 1mm; adaptado de Mourato, 2010). .....	15
Figura 6- Fêmea de <i>Pseudococcus calceolariae</i> (Maskell) (Hemiptera: Pseudococcidae) em postura (o traço corresponde a 1mm; original de Elsa Silva). .....	15
Figura 9- Número médio ( $\pm$ erro padrão) de fêmeas fecundadas por dia de vida dos machos das três espécies estudadas de cochonilhas-algodão (Hemiptera, Pseudococcidae): A) <i>Planococcus citri</i> (Risso); B) <i>Planococcus ficus</i> (Signoret); e C) <i>Pseudococcus calceolariae</i> (Maskell). Para cada espécie, as colunas com a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $P=0,05$ ). .....	18
Figura 10- Número médio ( $\pm$ erro padrão) de ovos postos por fêmea registrado ao longo do período de vida dos machos de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae): A) <i>Planococcus citri</i> (Risso); B) <i>Planococcus ficus</i> (Signoret); e C) <i>Pseudococcus calceolariae</i> (Maskell). Para cada espécie, as colunas com a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $P=0,05$ ). .....	20
Figura 11- Distribuição de frequência relativa (proporção) do número de machos de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae) que sobreviveu até ao dia n, com n variando entre 1 e 11: A) <i>Planococcus citri</i> (Risso); B) <i>Planococcus ficus</i> (Signoret); e C) <i>Pseudococcus calceolariae</i> (Maskell). .....	22
Figura 12- Curvas de sobrevivência (proporção) dos machos virgens e acasalados, no conjunto das três espécies estudadas de cochonilhas-algodão (Hemiptera:	

Pseudococcidae): <i>Planococcus citri</i> (Risso), <i>Planococcus ficus</i> (Signoret) e <i>Pseudococcus calceolariae</i> (Maskell).....	23
Figura 13- Curvas de sobrevivência dos machos das três espécies estudadas de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae), <i>Pseudococcus calceolariae</i> (Maskell), <i>Planococcus ficus</i> (Signoret) e <i>Planococcus citri</i> (Risso), considerando o conjunto dos machos virgens e acasalados.....	23
Figura 14- Curvas de sobrevivência (proporção) dos machos virgens das três espécies estudadas de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae): <i>Planococcus ficus</i> (Signoret), <i>Planococcus citri</i> (Risso) e <i>Pseudococcus calceolariae</i> (Maskell). .....	24
Figura 15-Curva de sobrevivência (proporção) dos machos acasalados das três espécies estudadas de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae): <i>Planococcus ficus</i> (Signoret), <i>Planococcus citri</i> (Risso) e <i>Pseudococcus calceolariae</i> (Maskell). .....	24

## Índice de quadros

Quadro 1- Origem das cochonilhas-algodão utilizadas nos ensaios biológicos e respectivo número de gerações em laboratório.....	11
Quadro 2- Longevidade média, em dias ( $\pm$ erro padrão), dos machos das três espécies estudadas de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae), em função da ocorrência ou não de acasalamento.....	21

# 1-Introdução

Nas últimas quatro décadas, devido a uma maior preocupação em reduzir a utilização de pesticidas de largo espectro de acção, tem-se assistido ao interesse crescente na manipulação do comportamento de pragas em protecção de plantas (Carvalho, 1986; Foster & Harris, 1997; Antignus et al., 2001). Este trabalho surgiu da necessidade de um conhecimento mais aprofundado sobre a biologia reprodutiva das cochonilhas-algodão, tendo em vista o desenvolvimento ou aperfeiçoamento de métodos de protecção baseados na manipulação do comportamento dos machos, através da aplicação de feromonas.

As cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae) incluem várias espécies com estatuto de praga, nomeadamente, *Planococcus citri* (Risso), *Planococcus ficus* (Signoret) e *Pseudococcus calceolariae* (Maskell). Os estragos provocados pela actividade alimentar e a excreção de melada das suas populações, tendencialmente concentradas em frutos em fase de crescimento, traduzem-se na queda, descoloração e deformação de frutos, bem como na diminuição do seu calibre (estragos directos) ou pela formação de fumagina (estragos indirectos), podendo ser também vectores de vírus (Franco et al., 2000).

Ecologicamente, este grupo de insectos assume também grande importância pela interacção com outros insectos. A sua presença pode influenciar a ocorrência e intensidade de outras pragas (Franco et al., 2000).

*Planococcus citri* e *P. ficus* são espécies cosmopolitas, encontrando-se referenciadas em pelo menos 90 (Franco, et al., 2004) e 40 países (Godinho, 2001), respectivamente. *Pseudococcus calceolariae* é localmente importante em Itália, França, Austrália e Nova Zelândia, sendo praga-chave dos citrinos na Califórnia (Franco, et al., 2000).

Em Portugal, as cochonilhas-algodão *P. citri* e *P. calceolariae* surgem frequentemente associadas aos citrinos, podendo atingir estatuto de pragas-chave (Franco, et al., 2000). A cochonilha-algodão da vinha, *P. ficus*, é considerada praga ocasional da vinha (Godinho, 2001).

Devido ao seu carácter críptico e revestimento ceroso, típico deste grupo de cochonilhas, a aplicação de muitos insecticidas é ineficaz, pelo que o desenvolvimento de novas técnicas de protecção assume maior importância. A táctica de protecção de uso mais generalizado no combate às cochonilhas-algodão é a protecção química, nomeadamente através da aplicação de insecticidas de largo espectro de acção, tais como os organofosforados (Franco, 1997). No entanto, esta táctica tem-se revelado, com frequência, ineficaz devido não só aos aspectos biológicos acima descritos, como também ao desenvolvimento de resistência, registada em diversas regiões, nomeadamente em Israel em relação ao clorpirifos (Franco et al., 2004).

Para contrariar a utilização excessiva de produtos fitofarmacêuticos no tratamento contra as cochonilhas-algodão, surgem métodos alternativos de protecção biotécnica, nomeadamente baseados na utilização de feromona sexual, como captura em massa, “atração e morte” e confusão sexual. As principais vantagens destes métodos de protecção são a sua especificidade e o facto de não serem poluentes, reduzindo ou evitando a utilização de insecticidas, o que diminui a possibilidade de ocorrerem fenómenos de resistência. No entanto, a utilização destes métodos pressupõe um conhecimento mais aprofundado da biologia reprodutiva destes insectos (e.g., tipo de sistema de acasalamento, razão sexual, capacidade reprodutiva das fêmeas e machos, tipo de selecção sexual, aceitação do parceiro sexual) e outros aspectos biológicos relevantes (e.g., longevidade dos machos, chaves de localização das fêmeas), bem como os factores envolvidos.

Na Califórnia, a confusão sexual foi utilizada experimentalmente para combater *P. ficus*, em vinha, usando uma formulação microencapsulada de feromona. Verificou-se que esta tática foi eficaz, traduzindo-se numa menor intensidade de ataque e menores perdas de produção, especialmente em situações de baixa densidade populacional (Daane et al., 2006). Actualmente, a utilização de métodos de protecção biotécnica para cochonilhas-algodão baseados na aplicação de feromona sexual é possível devido ao facto de já estarem identificadas e terem sido sintetizadas feromonas de várias espécies de cochonilhas-algodão. A feromona sexual de *P. citri* foi pela primeira vez posta em evidência por Grawitz & Wilson (1968), mas só posteriormente identificada e sintetizada por Bierl-Leonardt et al. (1981). As feromonas sexuais de *P. ficus* e de *P. calceolariae* foram identificadas e sintetizadas mais recentemente por Hinkens et al. (2001) e Unelius et al. (2010), respectivamente (Franco et al., 2000).

Os machos das cochonilhas-algodão têm longevidade reduzida (apenas alguns dias). Em condições de laboratório, têm capacidade para fecundar várias fêmeas (Mouco, 2006; Silva et al., 2009). As fêmeas são ápteras e, quando não fecundadas, podem viver vários meses. Estes aspectos da biologia das cochonilhas-algodão sugerem que os métodos de combate baseados na utilização de feromonas são apropriados para este tipo de insectos.

A presente dissertação de Mestrado insere-se no âmbito do Projecto PTDC/AGR-AAM/099560/2008 “Biologia reprodutiva de cochonilha-algodão e interacções mediadas por feromonas: fundamentos para o desenvolvimento de novas tácticas de protecção de base ecológica”, financiado pela FCT. Este projecto tem como objectivo o estudo da biologia reprodutiva das cochonilhas-algodão e das relações parasitóide- hospedeiro (ambas mediadas por feromonas). A aplicação dos princípios resultantes do conhecimento adquirido sobre a biologia reprodutiva dos machos de cochonilha-algodão proporciona as bases para a redução efectiva das populações destas pragas, através de tácticas que originem a

eliminação dos machos (e.g., captura em massa, atracção e morte) ou subvertam o seu potencial reprodutivo (e.g., confusão sexual).

Neste trabalho, pretendeu-se determinar a influência do factor acasalamento na longevidade dos machos de *P. citri*, *P. ficus* e *P. calceolariae*, em condições de laboratório. Para o efeito, determinou-se: 1) a longevidade dos machos virgens; 2) a longevidade dos machos sujeitos a acasalamento; 3) a capacidade reprodutiva dos machos.

## 2-Revisão bibliográfica

### 2.1- Caracterização sumária das cochonilhas-algodão

#### 2.1.1-Posição sistemática

Segundo Franco et al., (2000), a posição sistemática das cochonilhas-algodão em estudo é a seguinte:

Ordem Hemiptera

Subordem Sternorrhyncha

Superfamília Coccoidea

Família Pseudococcidae

Género *Pseudococcus*

Espécie *Pseudococcus calceolariae* (Maskell)

Género *Planococcus*

Espécie *Planococcus citri* (Risso)

Espécie *Planococcus ficus* (Signoret)

#### 2.1.2 – Nomes vulgares

Os nomes vulgares atribuídos aos pseudococcídeos reflectem o aspecto algodonoso e farinoso dos aglomerados de fêmeas e sacos ovíferos. Surgiram, assim, as designações de cochonilha-algodão, algodões, alforras, “cotonets”, entre outras (Franco et al, 2000).

#### 2.1.3-Aspectos de biologia e morfologia

O ciclo de vida das cochonilhas-algodão é caracterizado pela existência de três ou quatro instares ninfais, respectivamente nas fêmeas e machos. Após a eclosão, o desenvolvimento das fêmeas e dos machos é idêntico, apenas, nos dois primeiros instares. As fêmeas até atingirem o estado adulto completam mais um instar ninfal. Antes de cada muda, as ninfas param a actividade alimentar durante o período em que a armadura bucal não está funcional. Os machos (Fig. 1) deixam de se alimentar no final do 2º instar, segregando um casulo com filamentos cerosos, no interior do qual completam mais dois instares, pré-pupa e pupa, antes de atingirem o estado adulto. A postura ocorre algum



tempo depois do acasalamento e decorre de forma escalonada. As fêmeas (Fig. 2) morrem alguns dias após o final da postura. No entanto, caso não sejam fecundadas, podem viver vários meses (Franco et al., 2000).

O facto dos machos adultos emergirem sem armadura bucal funcional tem como consequência uma quantidade de reservas bastante limitada, da qual depende a actividade de voo, localização de fêmeas e o acasalamento (Waterworth et al., 2011). No caso de *P. citri*, o período máximo de vida livre dos machos foi estimado ser de 3-4 dias (Silva et al., 2009).

Quanto ao ciclo biológico, observou-se para *P. citri* a ocorrência de 3-5 gerações por ano, em Portugal (Carvalho, 1988; Franco, 1994, 1997), e 3-4 na generalidade da região do Mediterrâneo (Katsoyannos, 1996). Há um período de dormência, durante o Inverno e Primavera, quando estes insectos se refugiam em locais protegidos, nomeadamente no lenho das árvores ou no solo. Em Junho-Julho, ocorre migração das ninfas para os frutos recém-vingados (Franco, 1997).

Morfologicamente, as cochonilhas estão entre os insectos mais invulgares, apresentando os adultos elevado dimorfismo sexual (Franco et al., 2000). As fêmeas, sendo neoténicas, apresentam características idênticas ao estado ninfal. Têm o corpo, em geral, oval e achatado dorsoventralmente, coberto de partículas cerosas. São ápteras e não apresentam cabeça, tórax e abdómen bem definidos. O corpo é normalmente marginado por projecções cerosas, 18 pares no género *Planococcus* e entre 16 a 17 no género *Pseudococcus*. Pesam cerca de 200 a 300 vezes mais do que o macho. O macho é tipicamente imago, com as três regiões do corpo distintas (cabeça, tórax e abdómen). Têm corpo estreito e alongado, com asas mesotorácicas bem desenvolvidas e as metatorácicas transformadas em hamulo-alteres, possuindo filamentos caudais cerosos (Franco et al., 2000).

*Planococcus citri* e *P. ficus* são morfologicamente muito semelhantes, facto que tem dificultado a sua identificação sistemática e que levou a que durante muito tempo fossem consideradas a mesma espécie. A sua hemolinfa tem cor amarela e o comprimento do último par de filamentos caudais cerosos, quando adultos, não ultrapassa 1/4 do comprimento do corpo, enquanto que a hemolinfa de *P. calceolariae* tem coloração vinosa e o comprimento do último par de filamentos cerosos caudais não ultrapassa 1/2 do comprimento do corpo (Franco et al., 2000).



Figura 1- Macho de *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) (o traço corresponde a 1mm; original da autora).



Figura 2- Fêmea de *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) (o traço corresponde a 1mm; original da autora).

## 2.2- Reprodução e capacidade reprodutiva dos machos

Nos insectos, o sistema de acasalamento mais comum é a poligenia (Thornhill & Alcock, 2001), como parece ser o caso das cochonilhas-algodão, uma vez que pelo menos em algumas espécies (e.g., *P. citri*) os machos são capazes de realizar múltiplos acasalamentos (Franco et al., 2000). A reprodução e as estratégias de acasalamento destes insectos são, no entanto, temas relativamente pouco estudados. Foram publicados alguns estudos, maioritariamente sobre a capacidade reprodutiva dos machos e o seu comportamento de acasalamento, por James (1937), Nelson-Rees (1959, 1960), Tashiro & Moffitt (1968), El-Minshawy et al. (1974), Moreno et al. (1984) e Mathenge et al. (2009).

As cochonilhas-algodão em estudo reproduzem-se de forma sexuada, mas a existência de reprodução partenogénica tem sido alvo de alguma controvérsia. No entanto, os estudos efectuados por Bodenheimer (1951), Gray (1954) e Silva (1991) vieram reforçar os resultados, já anteriormente obtidos, segundo os quais fêmeas de *P. citri*, *P. calceolariae* e *Pseudococcus viburni* (Signoret) não produzem descendência na ausência de machos. Waterworth et al. (2011) também verificaram que três das espécies mais cosmopolitas, *Pseudococcus longispinus* (Targioni Tozzetti), *P. viburni* e *P. ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae), não se reproduzem na ausência de machos.

Recentemente, demonstrou-se que as fêmeas de *P. citri* e *P. calceolariae* podem acasalar com mais do que um macho, pelo menos cinco, no caso de *P. calceolariae* (Prieto, 2010; Sanz, 2010). Resultado idêntico foi obtido para *P. longispinus*, *P. viburni* e *P. ficus*, tendo as fêmeas destas espécies realizado entre uma a oito cópulas (Waterworth et al., 2011). Aparentemente, a emissão de feromona sexual não é afectada pela cópula, pelo menos até 24 horas após (Sanz, 2010). Segundo Waterworth et al. (2011), pelo menos algumas fêmeas mantêm-se receptivas durante um período máximo de cinco a vinte e três

dias, após a primeira cópula, a depender da espécie. Os resultados obtidos em laboratório por Prieto (2010), Sanz (2010) e Waterworth et al. (2011) sugerem a hipótese de existir poliandria em condições naturais, neste grupo de insectos.

O sucesso reprodutivo dos machos é usualmente determinado pela capacidade de transformar cópulas em fertilizações, sendo influenciado pelas variáveis ecológicas que determinam a probabilidade de um macho copular com mais do que uma fêmea (Harmer & Radhakrishnan, 2006). Estas variáveis incluem a proporção de machos sexualmente activos e disponíveis em cada momento e a distribuição espacial e temporal de fêmeas receptivas (Thornhill & Alcock, 2001).

Em condições de campo, a reprodução sexuada é facilitada, quer pela conjugação dos ciclos evolutivos dos dois sexos, quer pela forte atracção que as feromonas sexuais femininas exercem sobre os machos. A heterogeneidade das populações, que em geral são constituídas por diferentes estádios de desenvolvimento e a capacidade de cada macho fecundar várias fêmeas, são também factores que facilitam a reprodução sexual em condições naturais (Carvalho, 1988).

São escassos os estudos realizados sobre a capacidade reprodutiva dos machos de cochonilha-algodão. Mathenge et al. (2009) avaliaram o potencial reprodutivo e a capacidade de acasalamento dos machos de *Dactylopius tomentosus* (Lamark) (Hemiptera: Dactylopidae) tendo determinado um máximo de 23 fêmeas fecundadas por macho e uma média de 9,8 fêmeas, sendo o número máximo de ovos postos por fêmea de 110,7. Segundo Nelson-Rees (1959), um macho de *P. citri* pode copular no máximo com 23 fêmeas. Um macho de *P. citri* e *P. longispinus* fecunda em média 9 e 8 fêmeas, respectivamente (Franco et al., 2000). Estes aspectos sugerem que, mesmo quando a proporção sexual dos machos é baixa, esta não constitui factor limitante à reprodução, devido à sua elevada capacidade reprodutiva. Outra característica importante a considerar é o facto dos machos de cochonilha-algodão necessitarem de um período de maturação sexual de cerca de 10 a 29 horas após emergência. Antes desse período, não respondem à feromona sexual e não acasalam (Mouco, 2006).

## **2.3- Longevidade dos machos**

A longevidade dos machos de cochonilha-algodão é uma das características biológicas desta espécie de insectos acerca da qual é essencial ter conhecimento para a determinação da eficácia dos métodos de combate baseados na aplicação de feromona sexual. Devido à pouca informação que se tem sobre este tema em relação a este tipo de insectos, foi apresentada informação sobre os insectos, em geral.

Sabe-se que há inúmeros factores que podem afectar a longevidade e pressupõe-se que o acasalamento seja um deles, considerando que os machos de cochonilha-algodão têm uma quantidade de reservas energéticas limitada, devido a só se alimentarem durante os primeiros dois estádios ninfais.

Nas cochonilhas, a humidade, a temperatura, a intensidade luminosa e o hospedeiro são considerados alguns dos factores condicionantes do desenvolvimento e longevidade. Num estudo realizado com a cochonilha *Aonidiella aurantii* (Maskell) (Hemiptera: Diaspididae) (Yan & Isman, 1986), verificou-se que os factores ambientais são limitantes da emergência e longevidade dos machos. A longevidade foi negativamente afectada com o aumento da temperatura. A uma temperatura elevada (40°C), cerca de 80% dos machos não sobreviveram mais do que 3 horas e 100% não sobreviveram 7 horas. À mais baixa temperatura testada (15°C), alguns machos sobreviveram 29 horas.

Favorecidos por uma baixa intensidade luminosa 1lux/0,3m<sup>2</sup>) os machos de *A. Aurantii* viveram 31 horas. Elevada humidade relativa (H.R.) favoreceu a sobrevivência dos machos, tendo alguns sobrevivido 20 horas a uma humidade relativa de 80-85% (Yan & Isman, 1986).

O aumento da temperatura diminuiu a longevidade das fêmeas de *Maconellicoccus hirsutus* (Green) (Hemiptera: Pseudococcidae): 28 dias a 20°C, 19 dias a uma temperatura de 25 °C e apenas 21 dias a 30 °C (Chong et al., 2008). A uma temperatura constante de 25 °C, os machos de *Phenacoccus madeirensis* (Green) (Hemiptera: Pseudococcidae) sobreviveram 2 dias e as fêmeas em postura sobreviveram cerca de 20 dias. A temperatura também influencia a fertilidade das fêmeas, que a uma temperatura de 20°C produziram um elevado número de ovos (Chong et al., 2003). Mouco (2006) e Silva et al. (2009) verificaram que, relativamente aos machos de *P. citri*, a duração máxima de vida (na ausência de acasalamento) foi de 4,8 dias (115 h). Cerca de 50% dos machos apresentaram longevidade inferior a 4,4 dias sem acasalamento.

A temperatura no intervalo 23,3°C-30,2°C e 40,5-92,5% de humidade relativa, os machos de *Phenacoccus solenopsis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) viveram cerca de 1,5 ± 0,1 dias (Vennila et al., 2010). Também a uma temperatura constante, os machos de *Laccifer lacca* (Kerr) (Hemiptera: Coccidae) sobreviveram entre 62 a 92 horas (Misra, 1931). Para outras espécies, como é o caso de *Aulacaspis yasumatsui* (Takagi) (Hemiptera: Diaspididae), a longevidade é ainda mais reduzida, tendo os machos desta espécie sobrevivido apenas um dia a 24°C e cerca de 70% HR (Bailey et al., 2010).

O estudo destes factores ambientais associados a outros aspectos da biologia dos machos, tais como o voo e acasalamento (processos onde é despendida energia), é essencial para compreender a sua longevidade.

Sabe-se que a actividade do voo dos machos dos pseudococcídeos não é contínua ao longo do dia. Os machos de *P. citri* e de *P. calceolariae* têm actividade de voo crepuscular, correspondente às primeiras horas do dia (Silva et al., 2009), no caso de *P. citri*, e às primeiras e últimas horas do dia, no caso de *P. calceolariae* (Rotundo & Tremblay, 1976). Num estudo realizado no Algarve, determinou-se que os machos de *P. ficus* iniciam a sua actividade pouco tempo após o nascer do Sol, entre a 2ª e a 4ª hora do dia, não tendo actividade significativa ao longo do resto do dia (Lemos, 2006).

Pensa-se que a restrição da actividade do voo dos machos a partir dessa hora poderá dever-se a uma adaptação dos machos adultos (organismos poiquilotérmicos, de pequena dimensão, armadura bucal não funcional, vida efémera) às condições ambientais (humidade relativa, temperatura, intensidade luminosa), otimizando as reservas de água e energia que dispõem, o que lhes permitirá aumentar o número de horas disponíveis para a localização de fêmeas e acasalamento (Antunes, 2005; Silva, 2008; Campos, 2008).

O factor hospedeiro não se revelou significativo na longevidade de *Paracoccus marginatus* (Williams & Granara de Willink) (Hemiptera: Pseudococcidae), tendo-se verificado que em quatro hospedeiros diferentes a sobrevivência média foi de 2,2 dias (Amarasekare et al., 2008). No entanto, em *P. solenopsis*, a longevidade dos machos foi influenciada pelo hospedeiro, tendo variado entre 2,3 dias e 4,6 dias (Qin et al., 2011).

Para além das condições ambientais, existem outros factores a considerar na longevidade dos machos de cochonilha-algodão. Foi analisado, recentemente, em três espécies de cochonilha-algodão, *P. ficus*, *P. viburni* e *P. longispinus* o efeito da exposição prolongada à sua feromona sexual. Observou-se que, os machos dessas três espécies, nessas condições, emergem mais cedo do que os não sujeitos à presença da feromona sexual, mas relativamente à longevidade não houve diferenças significativas entre os dois grupos, concluindo-se que a exposição prolongada à feromona sexual não influencia a longevidade nestas espécies (Waterworth et al., 2011).

Pressupõe-se que o acasalamento diminua a longevidade, principalmente nas fêmeas e que este aspecto se verifica apenas em insectos com baixa longevidade, como *Drosophila* spp. (Diptera: Drosophilidae), não se verificando para espécies com longevidade elevada, como as formigas e as abelhas (De Loof, 2010). Num estudo realizado com *Onthophagus binodis* Thunberg (Coleoptera: Scarabaeidae), verificou-se que o acasalamento reduzia a longevidade dos machos, mas não das fêmeas (Kotiaho & Simmons, 2003). Em espécies de insectos poligâmicas, o sucesso reprodutivo do macho está directamente relacionado com o número de acasalamentos realizados durante o seu tempo de vida, no entanto encontra-se ainda por esclarecer que impacto têm, na longevidade, os diferentes tipos de actividade sexual dos machos, tais como a localização de fêmeas, a corte e o acasalamento propriamente dito. Num estudo realizado com a mosca da fruta, *Ceratitis capitata* (Wiedman)

(Diptera: Tephritidae), verificou-se que o acasalamento reduzia para cerca de metade a longevidade dos machos (Papadopoulos et al., 2009).

### 3-Material e métodos

#### 3.1-Origem das cochonilhas-algodão

A origem das populações das três espécies de cochonilhas-algodão utilizadas nos ensaios biológicos encontra-se referida no Quadro 1.

Quadro 1-Origem das cochonilhas-algodão utilizadas nos ensaios biológicos e respectivo número de gerações em laboratório.

Espécie	Local de captura	Hospedeiro	Nº de gerações
<i>Pseudococcus calceolariae</i>	Loulé	laranjeira-doce ( <i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck))	47
<i>Planococcus ficus</i>	Tavira	vinha ( <i>Vitis vinífera</i> L.)	21
<i>Planococcus citri</i>	Silves	laranjeira-doce ( <i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck))	34

#### 3.2- Criação das cochonilhas

O material biológico necessário aos ensaios a realizar foi obtido através da criação em laboratório das espécies recolhidas anteriormente no campo (Quadro 1). Este processo, realizado semanalmente, sendo a duração do ciclo de vida aproximadamente um mês, para assegurar a obtenção dos indivíduos necessários, decorreu em duas fases distintas.

Na primeira fase, procedeu-se à obtenção do substrato necessário á criação das cochonilhas, i.e., brotos de batata (*Solanum tuberosum* L.). A etapa de crescimento dos brotos de batata consistiu na lavagem e armazenamento de batatas com um peso médio de 91g, variedade Desirée, em tabuleiros sobrepostos. Estes tabuleiros encontravam-se cobertos por um tecido negro por um período de cerca de 20 dias. Este procedimento foi efectuado de modo a que crescimento dos brotos decorresse sem produção de solanina (ponta verde), cuja toxicidade é prejudicial ao desenvolvimento das cochonilhas-algodão. As batatas foram pulverizadas regularmente, para garantir a humidade adequada, e mantidas a uma temperatura de  $22^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , de modo promover o abrolhamento (Fig.3).

A segunda fase, correspondente à criação propriamente dita, consistiu em colocar em cada broto de batata 2 ou 3 ovisacos (dependendo do tamanho do broto) de tamanho médio, obtidos de fêmeas em postura. Estas batatas foram colocadas numa caixa de

plástico fechada, com tampa, com cinco orifícios (3 cm de diâmetro), revestidos com tecido, para permitir o arejamento, e mantidas numa câmara climatizada (*P. citri* e *P. ficus*: 24,0°C ± 5°C; *P. calceolariae*: 26,0°C ± 0,5°C; 60,0% ± 5% H.R., sem luz), durante aproximadamente quatro semanas, até se obterem fêmeas com posturas e efectuar novas criações (Fig.3).

Com o propósito de evitar contaminações, as populações das várias espécies de cochonilhas-algodão foram mantidas em câmaras climatizadas, separadas por espécie, e o seu manuseamento foi realizado separadamente. Após o seu manuseamento, procedeu-se à desinfecção da bancada de trabalho e material de utilizado (i.e., agulha entomológica).

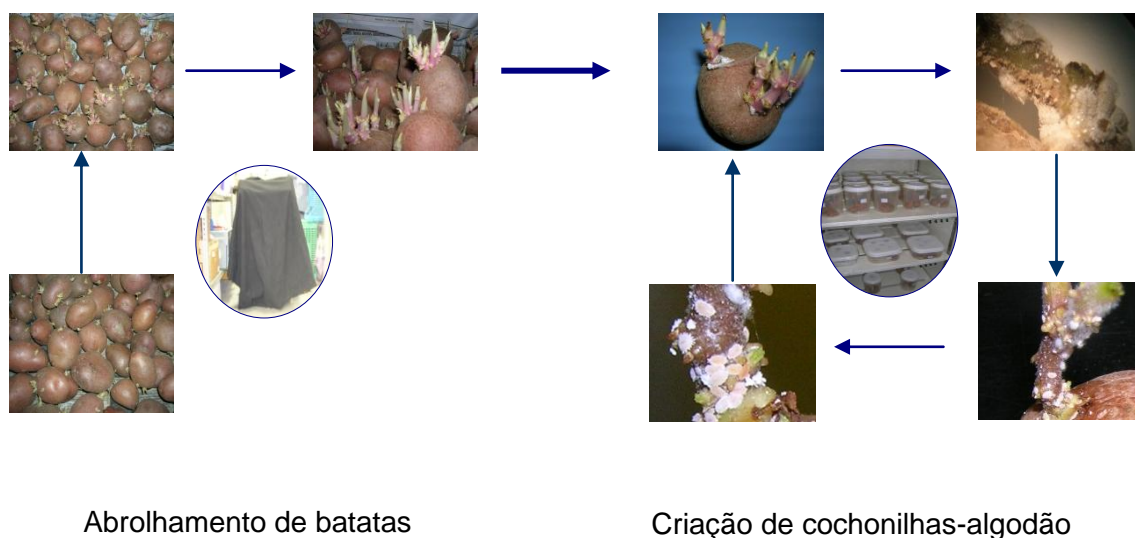


Figura 3-Esquema de criação de cochonilhas-algodão (Hemiptera; Pseudococcidae) em laboratório (adaptado de Silva, 2008).

### 3.3-Isolamento de fêmeas e machos virgens

Para a obtenção de espécimes virgens, foram isolados machos no estado de pré-pupa e fêmeas no 3º instar ninfal. As fêmeas foram colocadas em brotos de 2 batatas e os casulos dos machos em discos de papel, em caixas de plástico separadas, fechadas com tampa, com um orifício (3 cm de diâmetro) revestido com tecido, para permitir o arejamento, e mantidas numa câmara climatizada (24,0°C ± 0,5°C; 60,0% ± 5% H.R., sem luz), durante uma semana, até atingirem o estado adulto. Estes machos foram utilizados nos dois tipos de ensaios: machos virgens e machos sujeitos a acasalamento.



### **3.4- Efeito do acasalamento na longevidade dos machos**

Foram estudadas três espécies de cochonilhas-algodão, *P. citri*, *P. ficus* e *P. calceolariae*. Os procedimentos respeitantes ao material e métodos foram realizados tendo em conta os estudos efectuados por Mourato (2010), Mouco (2006), Silva (2008, 2009) para *P. citri*. No caso dos machos acasalados, seguiu-se a metodologia adoptada por Mourato (2010), de manutenção dos machos com as fêmeas virgens durante 24 horas. As condições laboratoriais foram as seguintes: 1) 23,0-24,0°C; 50-60% H.R; 300 Lux, correspondentes ao fotoperíodo natural, nos meses de Julho a Agosto; 2) 18,0-19,0°C; 50-60% H.R; 300 Lux, correspondentes ao fotoperíodo natural nos meses de Novembro a Janeiro.

#### **3.4.1-Longevidade dos machos virgens**

Para avaliar a longevidade dos machos de cada espécie, foi colocado um macho virgem numa placa de Petri (9,0 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura), com um disco de papel dobrado em harmónica, para facilitar o abrigo e evitar possíveis fugas. Os machos foram mantidos em condições de laboratório e observados ao fim de cada período de 24 horas. O número de repetições foi o seguinte: *P. citri* = 55; *P. ficus* = 50; *P. calceolariae* = 63.

#### **3.4.2- Longevidade dos machos sujeitos a acasalamento**

Neste caso, procedeu-se de forma idêntica ao referido no ponto anterior, mas expondo cada macho a 20 fêmeas virgens, com 50 repetições, excepto no caso de *P. citri*, em que se realizaram 40 repetições. Os machos que se mantiveram vivos, no final de cada período de 24 horas, foram expostos a um novo grupo de 20 fêmeas virgens, sendo este procedimento repetido até à sua morte (Fig.4).

Em relação a *P. citri*, utilizaram-se os dados obtidos por Mourato (2010).

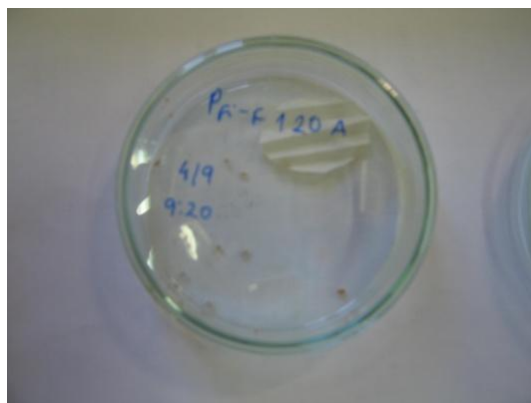


Figura 4- Placa de Petri com um macho e 20 fêmeas, nos ensaios de longevidade dos machos de cochonilhas-algodão, *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae), sujeitos a acasalamento (original da autora).

### 3.4.3-Capacidade reprodutiva dos machos

A fecundidade das fêmeas utilizadas no ensaio de longevidade dos machos sujeitos a acasalamento foi utilizada como base para avaliar a capacidade reprodutiva dos machos de cada espécie estudada (ver 3.4.2). Após a exposição a cada macho, as fêmeas foram mantidas em câmara climatizada ( $24,0^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ;  $60,0\% \pm 5\%$  H.R; sem luz), em caixas de Petri (9,0 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura) e alimentadas com brotos de batata. Durante quinze dias, as fêmeas foram observadas regularmente, tendo as que apresentavam postura sido isoladas, em caixas de Petri de pequena dimensão (6 cm de diâmetro x 1 cm de altura), para posterior contagem do número total de ovos postos, até à sua morte (Fig. 5).

Para avaliar a capacidade reprodutiva dos machos, teve-se em conta os seguintes parâmetros: 1) o número de fêmeas fertilizadas por dia de vida de cada macho; 2) o número máximo de fêmeas fertilizadas, durante o período de vida dos machos; 3) o número de ovos que cada fêmea pôs.

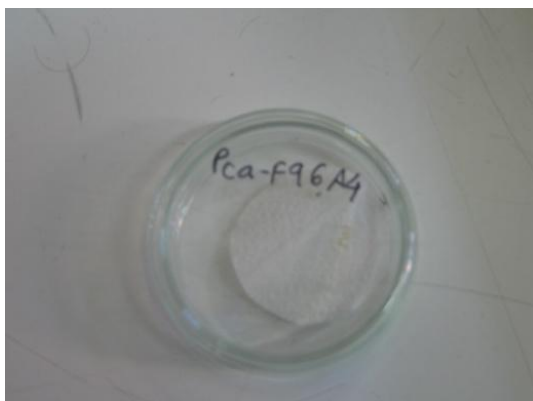


Figura 5- Caixa de Petri com fêmea isolada de *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) (Hemiptera: Pseudococcidae), em postura. (o traço corresponde a 1mm; original da autora).



Figura 6- Fêmea de *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) (Hemiptera: Pseudococcidae) em postura (o traço corresponde a 1mm; original de Elsa Silva).



Figura 7-Fêmea de *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae), em postura. (o traço corresponde a 1mm; original da autora).



Figura 8- Fêmea de *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae), em postura. (o traço corresponde a 1mm; adaptado de Mourato, 2010).

### 3.5- Análise estatística

O efeito do acasalamento na longevidade dos machos de cochonilha-algodão foi avaliado através de análise de sobrevivência de Kaplan-Meier, tendo-se procedido, separadamente, à análise do efeito do tratamento (macho virgem *versus* macho acasalado) e da espécie (*P. calceolariae*, *P. citri* e *P. ficus*) e à análise da interação dos dois factores. A comparação do número de dias de vida dos machos, entre o estado virgem e acasalado, para cada espécie, foi analisada através do teste *t-student*.

Para avaliar o efeito da idade do macho no número de fêmeas fecundadas e no número de ovos postos por fêmea recorreu-se a análise de variância (ANOVA), separadamente para cada espécie, seguida do teste de comparação de médias *à posteriori*

de Tukey HSD. Para efectuar a comparação conjunta das três espécies, procedeu-se a análise da variância (ANOVA), considerando os factores idade do macho e espécie.

A comparação do potencial reprodutivo dos machos das três espécies foi feita utilizando Modelos Lineares Generalizados (GLM), ajustando uma distribuição de Poisson.

Os dados são apresentados sob a forma de média  $\pm$  erro padrão. O nível de significância considerado foi  $\alpha = 0,05$ . Todas as análises foram realizadas através de SPSS 17,0 para o Windows (SPSS Inc. Chicago, E.UA.).

## 4-Resultados

### 4.1-Capacidade reprodutiva dos machos

#### 4.1.1- Número de fêmeas fecundadas

O número médio de fêmeas fecundadas por macho, durante o seu período de vida, diferiu significativamente entre espécies ( $\chi^2=125,218$ , g.l. = 2,  $P\leq 0,001$ ), tendo sido de  $14,0 \pm 0,5$  fêmeas,  $11,9 \pm 0,6$  fêmeas e  $6,7 \pm 0,4$  fêmeas, para *P. calceolariae*, *P. citri* e *P. ficus*, respectivamente.

O número médio de fêmeas fecundadas por macho de *P. citri* manteve-se semelhante do primeiro para o segundo dia, diminuindo significativamente do segundo para o terceiro dia de vida ( $F_{2,438}=6,931$ ,  $P\leq 0,001$ ; Fig.9 A). Apenas um macho durou quatro dias de vida, com um padrão de acasalamento distinto dos restantes, razão pela qual foi eliminado da análise.

O número médio de fêmeas fecundadas pelos machos de *P. ficus* nos três primeiros dias de vida diferiu significativamente entre si ( $F_{2,336}=8,812$ ,  $P\leq 0,001$ ), tendo o máximo sido atingido no segundo dia e o mínimo no terceiro (Fig. 9 B).

Relativamente ao número de fêmeas fecundadas pelos machos de *P. calceolariae*, verifica-se um decréscimo significativo do primeiro (10,42) para o segundo e quarto dias de vida ( $F_{4,724}=16,533$ ,  $P\leq 0,001$ ; Fig. 9 C). O único macho que sobreviveu até ao quinto dia não fecundou nenhuma fêmea nesse dia.

Em termos globais, comparando o número médio de fêmeas fecundadas por dia, pelos machos das três espécies, verifica-se que apresentam um padrão temporal significativamente diferente entre si (i.e., existe interacção entre os factores espécie e dia de vida do macho) ( $F_{2,1507}=19,395$ ,  $P\leq 0,001$ ). No entanto, o número médio de fêmeas fecundadas no último dia de vida em que se registou acasalamento foi significativamente inferior ao registado no primeiro dia de vida, em qualquer uma das três espécies estudadas (Figura 9).

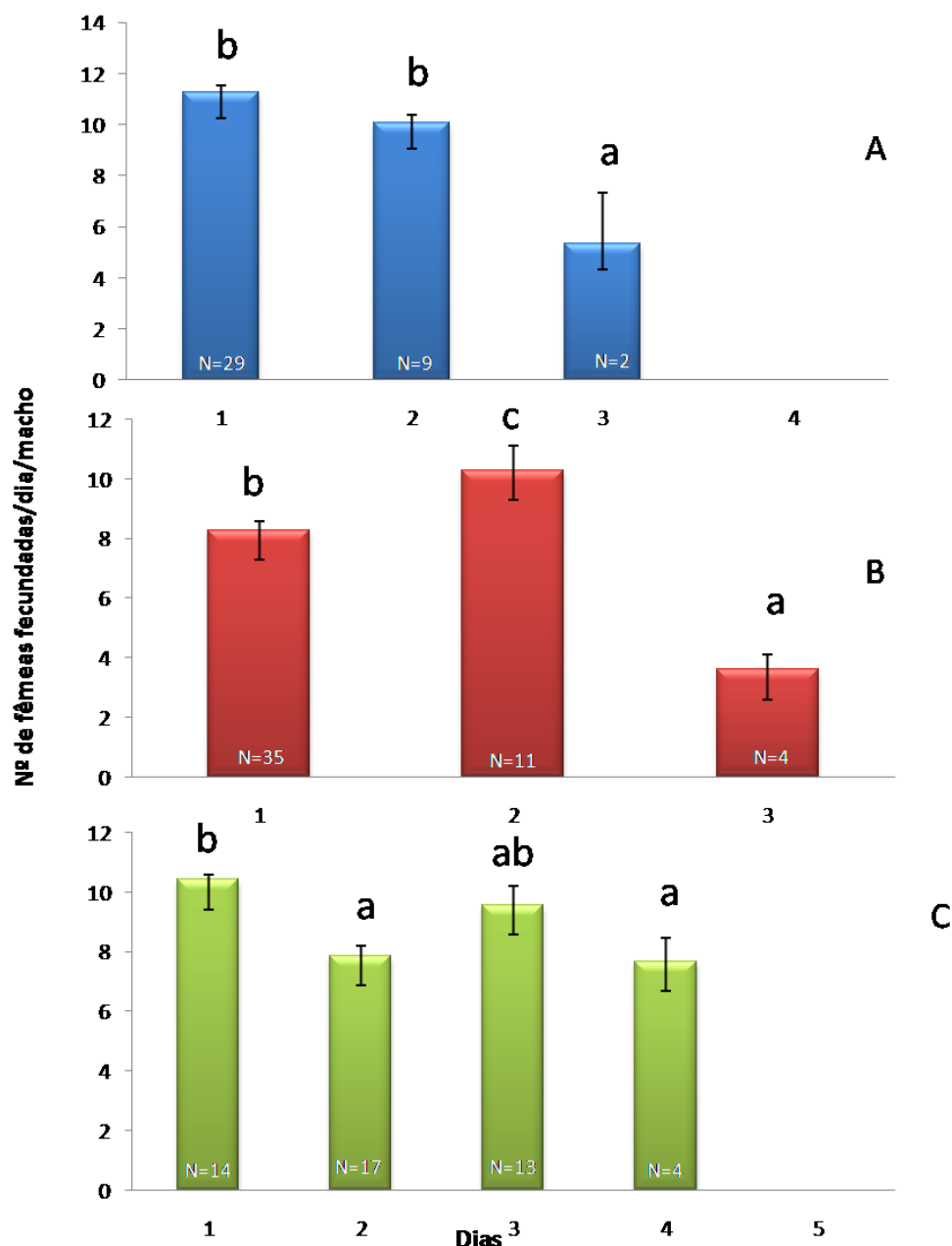


Figura 9- Número médio ( $\pm$  erro padrão) de fêmeas fecundadas por dia de vida dos machos das três espécies estudadas de cochonilhas-algodão (Hemiptera, Pseudococcidae): A) *Planococcus citri* (Risso); B) *Planococcus ficus* (Signoret); e C) *Pseudococcus calceolariae* (Maskell). Para cada espécie, as colunas com a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $P=0,05$ ).

#### 4.2.2- Número de ovos postos por fêmea fecundada

O número médio de ovos postos por fêmea fecundada variou entre  $318,3 \pm 5,3$ , em *P. citri*,  $173,7 \pm 6,6$ , em *P. ficus* e  $121,9 \pm 4,5$ , em *P. calceolariae*. *Planococcus citri* apresentou um máximo de 861 ovos fertilizados por dia de vida de um macho, enquanto que para *P. ficus* e *P. calceolariae* registaram valores máximos de 576 e 470 ovos, respectivamente. O

número total de ovos por fêmea durante o período de vida do macho foi em média, 324, 260 e 200 para as espécies *P. citri*, *P. ficus* e *P. calceolariae*, respectivamente. O número de ovos fertilizados por macho de *Pseudococcus calceolariae* foi significativamente menor do que o registado em *P. ficus*, que por sua vez foi significativamente menor do que o de *P. citri* ( $F_{2,1509} = 358,096$ ,  $P \leq 0,001$ ). Se considerarmos a quantidade de ovos fertilizados em cada dia de vida de um macho, verifica-se que os machos de *P. citri* fertilizaram em média um número de ovos não significativamente diferente nos três dias de vida ( $F_{2,438} = 0,981$ ,  $P = 0,376$ ; Fig.10A). *Planococcus ficus* apresentou um decréscimo significativo ( $F_{2,336} = 7,261$ ,  $P \leq 0,001$ ) do número médio de ovos fertilizados, do primeiro para o segundo dia de vida, não se tendo registado diferenças significativas entre o segundo e terceiro dia (Fig. 10 B). No caso de *P. calceolariae*, não se verificaram diferenças significativas entre os dias de vida dos machos ( $F_{4,729} = 4,732$ ,  $P = 0,006$ ; Fig. 10 C).

Comparando o número médio de ovos postos por fêmea e considerando os factores espécie e dia de vida do macho, verifica-se um padrão temporal significativamente diferente entre as três espécies ( $F_{2,1506} = 358,096$ ,  $P \leq 0,001$ ).

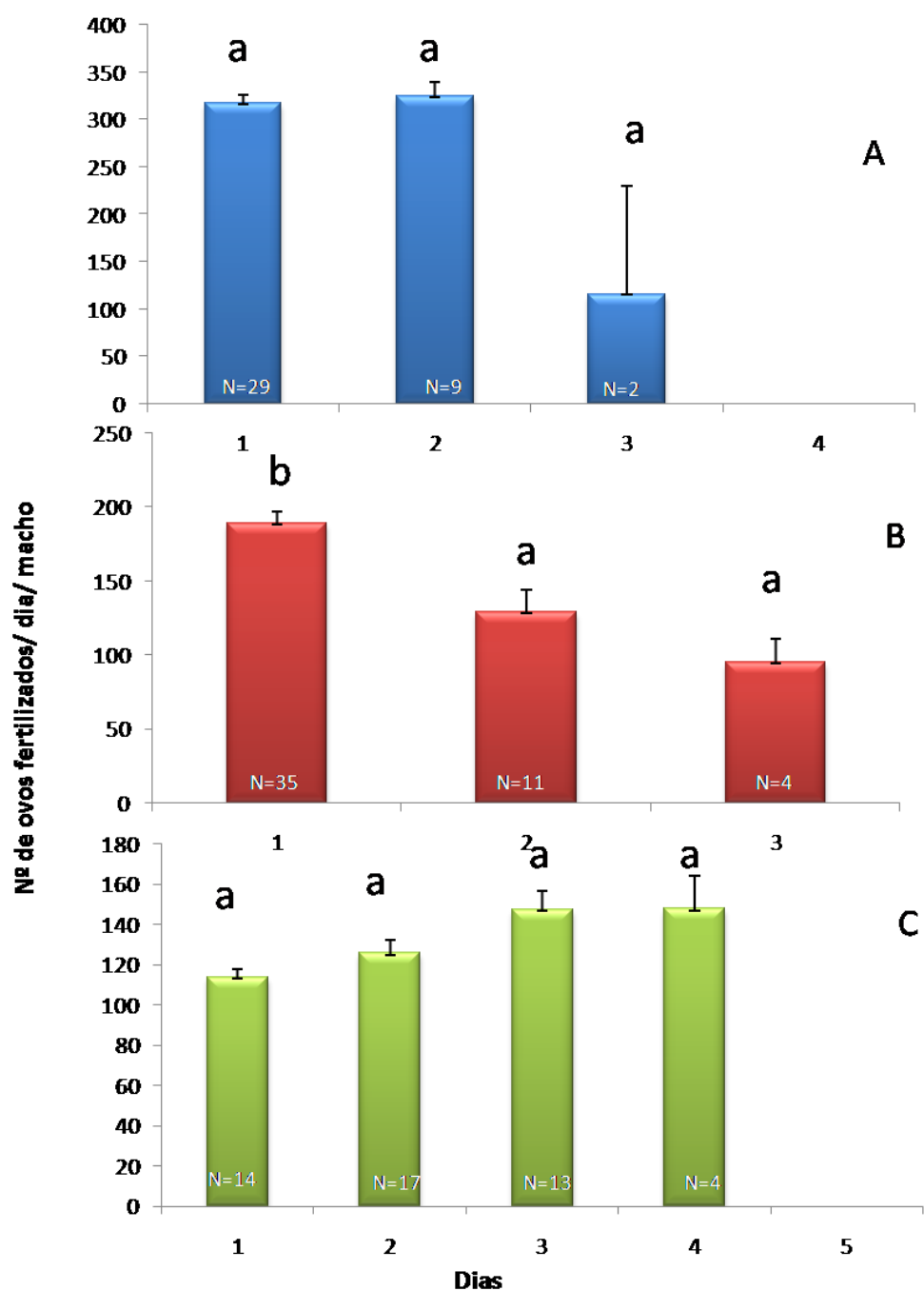


Figura 10- Número médio (± erro padrão) de ovos postos por fêmea registrado ao longo do período de vida dos machos de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae): A) *Planococcus citri* (Risso); B) *Planococcus ficus* (Signoret); e C) *Pseudococcus calceolariae* (Maskell). Para cada espécie, as colunas com a mesma letra não diferem significativamente entre si ( $P=0,05$ ).

#### 4.2- Efeito do acasalamento na longevidade dos machos

Para as três espécies em estudo (*P. citri*, *P. ficus*, *P. calceolariae*), a longevidade dos machos diminuiu quando acasalados ( $t_{93} = 2,242$ ,  $P \leq 0,05$ ;  $t_{106} = 3,778$ ,  $P \leq 0,05$ ;  $t_{111} = 6,605$ ,  $P \leq 0,05$ ; Quadro.2). A longevidade média de machos virgens de *P. calceolariae* foi



significativamente superior ( $F_{2,173}=49,261$ ,  $P\leq 0,001$ ) à dos machos virgens de *P. citri* e *P. ficus*, que não diferiram entre si.

A longevidade média dos machos de *P. calceolariae* sujeitos a acasalamento foi significativamente superior ( $F_{2,137}=17,506$ ,  $P\leq 0,001$ ) à das outras duas espécies em estudo, as quais também não diferiram entre si.

Quadro 2- Longevidade média, em dias ( $\pm$  erro padrão), dos machos das três espécies estudadas de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae), em função da ocorrência ou não de acasalamento (para cada espécie, as médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si,  $P\leq 0,05$ ).

Espécie	Machos virgens		Machos acasalados	
	Média	Máximo	Média	Máximo
<i>Pseudococcus calceolariae</i>	4,68 $\pm$ 0,29 b	11	2,26 $\pm$ 0,16 a	5
<i>Planococcus citri</i>	1,93 $\pm$ 0,16 b	6	1,45 $\pm$ 0,11 a	4
<i>Planococcus ficus</i>	2,16 $\pm$ 0,16 b	5	1,42 $\pm$ 0,09 a	3

O padrão de distribuição de frequência do número de machos que sobreviveu até determinado dia, dentro do período máximo de vida registrado para cada espécie, variou entre as três espécies estudadas (Fig.11). *Planococcus ficus* e *P. citri* apresentam um padrão relativamente semelhante, em que o número de machos sobreviventes decresce rapidamente ao longo dos três primeiros dias de vida. Em contraste, o padrão de distribuição apresentado pelos machos de *P. calceolariae* é bastante distinto, com moda registrada no segundo ou terceiro dias de vida (Fig.11).

No entanto, para qualquer das três espécies de cochonilhas-algodão, o efeito do acasalamento traduziu-se numa marcada concentração dos machos nas classes de frequência correspondentes aos dois primeiros dias de vida. Assim, a percentagem de machos que sobreviveram somente um dia passou de 51% (machos virgens) para 73% (machos acasalados), em *P. citri*; de 40% para 70%, em *P. ficus*; e de 6% para 28%, em *P. calceolariae*. Em *P. calceolariae*, passou de 10% para 34%, no segundo dia e de 19% para 26%, no terceiro dia.

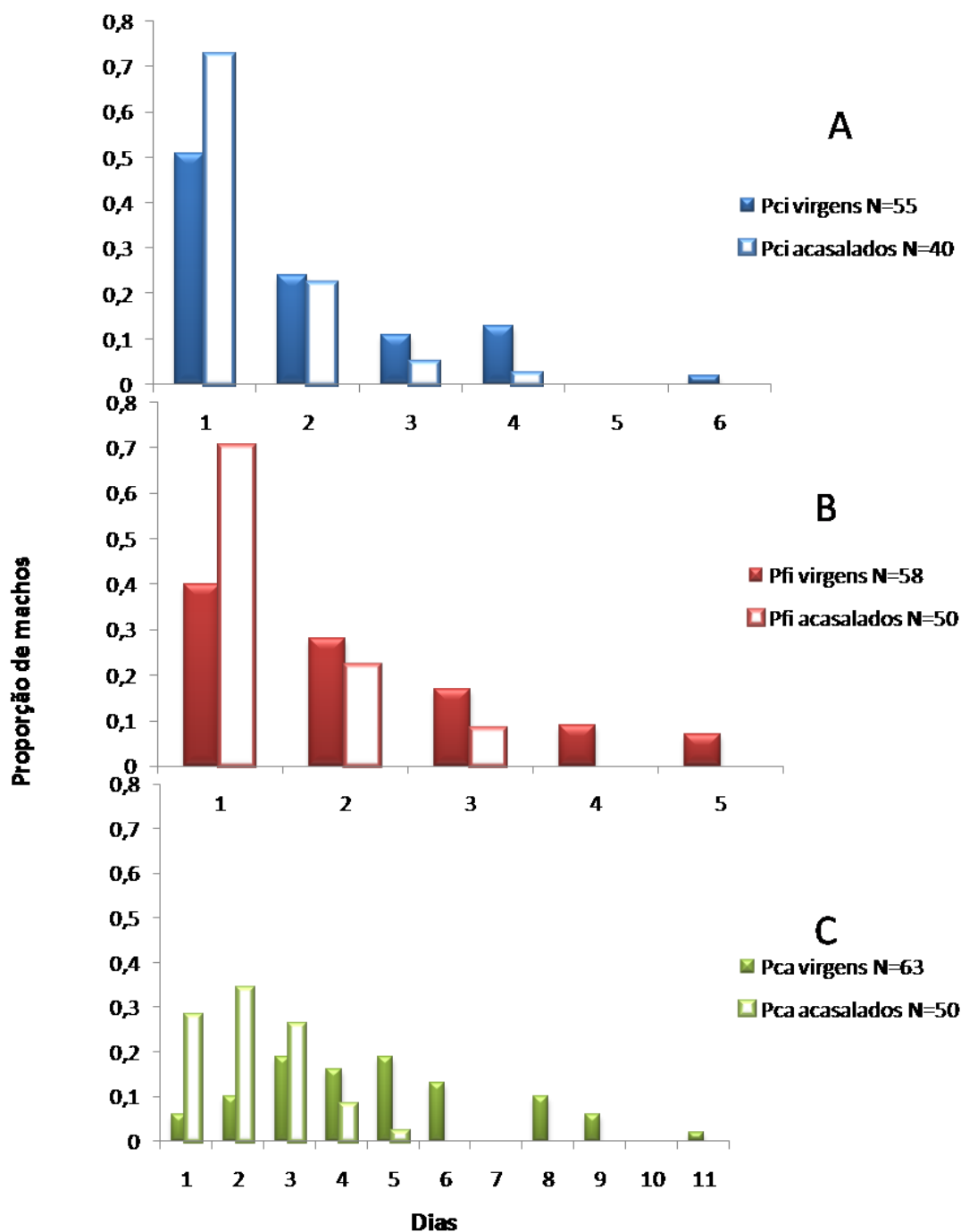


Figura 11- Distribuição de frequência relativa (proporção) do número de machos de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae) que sobreviveu até ao dia n, com n variando entre 1 e 11: A) *Planococcus citri* (Risso); B) *Planococcus ficus* (Signoret); e C) *Pseudococcus calceolariae* (Maskell).

Agregando os dados das três espécies de cochonilhas, verifica-se que o acasalamento reduziu significativamente a longevidade dos machos ( $\chi^2 = 29,652, g.l. = 1, P \leq 0.001$ ), de  $2,7 \pm 0,2$  dias, nos machos virgens, para  $1,8 \pm 0,1$  dias, nos machos acasalados (Fig.12). Agregando os dados dos machos virgens e acasalados, verifica-se que a média da longevidade variou significativamente entre as três espécies de cochonilhas ( $\chi^2 = 59,65, g.l. = 2,$

$P \leq 0.001$ ), tendo sido de  $3,3 \pm 0,2$  dias para *P. calceolariae*, de  $1,8 \pm 0,1$  dias para *P. ficus* e de  $1,6 \pm 0,1$  dias para *P. citri* (Fig.13).

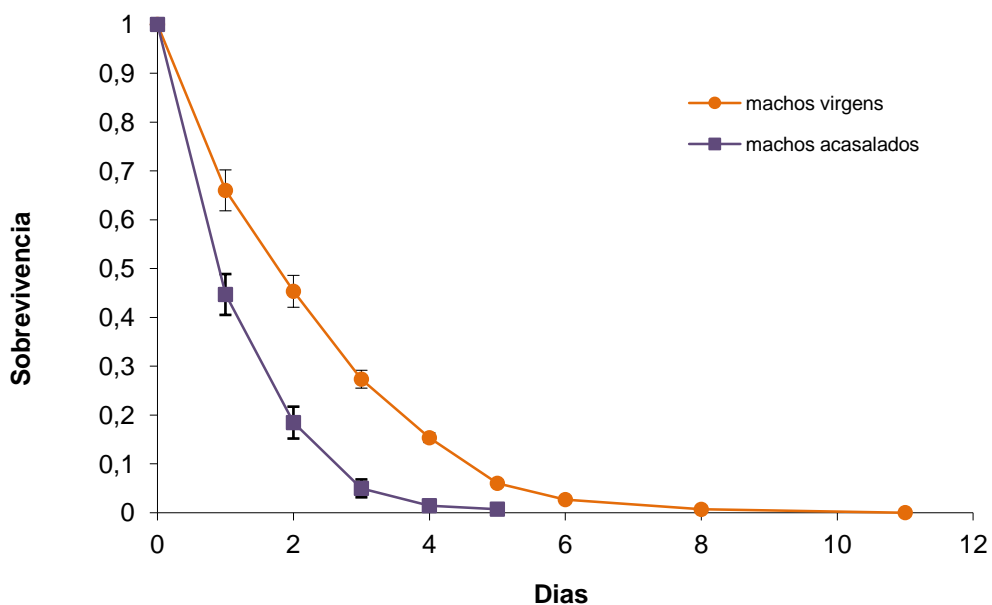


Figura 12- Curvas de sobrevivência (proporção) dos machos virgens e acasalados, no conjunto das três espécies estudadas de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae): *Planococcus citri* (Risso), *Planococcus ficus* (Signoret) e *Pseudococcus calceolariae* (Maskell).

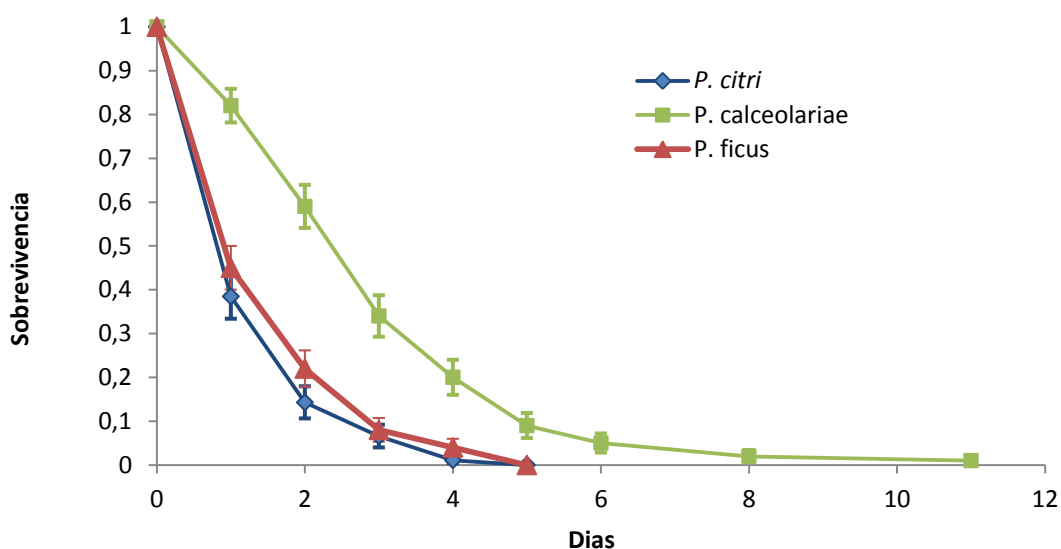


Figura 13- Curvas de sobrevivência dos machos das três espécies estudadas de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae), *Pseudococcus calceolariae* (Maskell), *Planococcus ficus* (Signoret) e *Planococcus citri* (Risso), considerando o conjunto dos machos virgens e acasalados.

Comparando as espécies entre si, relativamente ao efeito do acasalamento sobre a longevidade, verifica-se que *P. ficus* e *P. citri* não diferem significativamente entre si ( $\chi^2_2 = 1,4$ ,  $P=0.24$ ). Contudo, *P. calceolariae* difere significativamente de *P. ficus* ( $\chi^2 = 55,74$ , g.l.=2,  $P \leq 0.001$ ) e de *P. citri* ( $\chi^2 = 46,81$ , g.l.= 2,  $P \leq 0.001$ ) (Figs.14 e15).

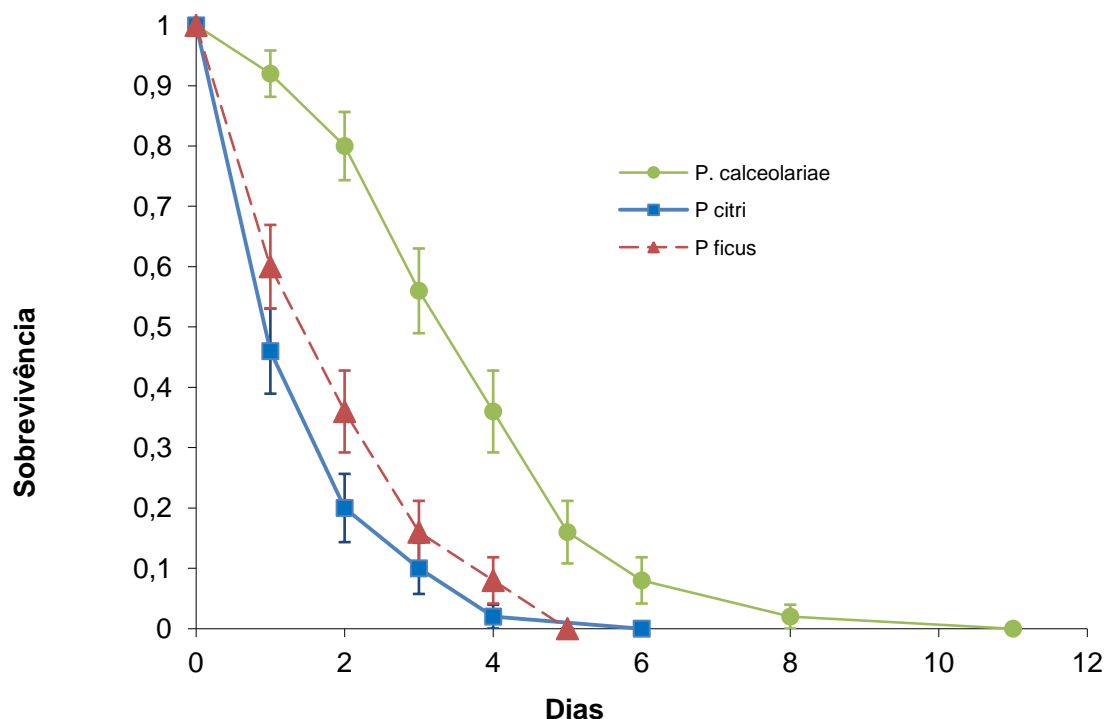


Figura 14- Curvas de sobrevivência (proporção) dos machos virgens das três espécies estudadas de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae): *Planococcus ficus* (Signoret), *Planococcus citri* (Risso) e *Pseudococcus calceolariae* (Maskell).

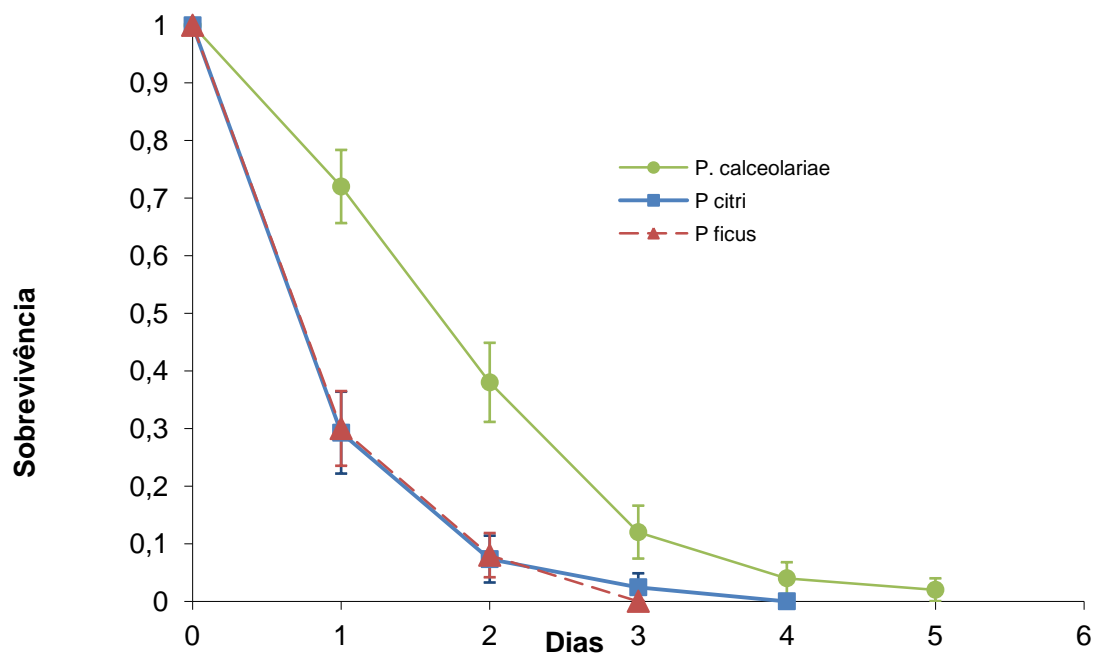


Figura 15-Curva de sobrevivência (proporção) dos machos acasalados das três espécies estudadas de cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae): *Planococcus ficus* (Signoret), *Planococcus citri* (Risso) e *Pseudococcus calceolariae* (Maskell).

## 5- Discussão

Os estudos levados a cabo por James (1937), El-Minshawy et al. (1974), Nelson-Rees (1959, 1960), Mathenge et al. (2009); Moreno et al. (1984), Tashiro & Moffitt (1968) e Silva et al. (submetido) e os resultados obtidos no presente trabalho indicam que a poligenia é uma característica comum do sistema de acasalamento dos machos para as várias espécies de cochonilha-algodão estudadas.

Neste trabalho, verificou-se que os machos de *P. citri* acasalaram em média com um maior número de fêmeas do que os de *P. calceolariae* e *P. ficus*, diferindo significativamente entre si, porém dentro de valores obtidos em estudos anteriores por Silva et al. (submetido).

Sabe-se que o sucesso reprodutivo dos machos pode ser determinado através do número de fêmeas fecundadas e pelo número de ovos fertilizados por cada macho (Arnaud, 1999). Porém, um maior número de fêmeas fecundadas não se traduz obrigatoriamente numa maior fecundidade. Neste trabalho, apesar dos machos de *P. calceolariae* terem acasalado com maior número de fêmeas do que os de *P. ficus*, as fêmeas por eles fecundadas apresentaram menor fecundidade.

Verifica-se que o número de fêmeas fecundadas pelas três espécies em estudo, ao longo do período de vida dos machos, foi tendencialmente decrescente. No entanto, relativamente ao número de ovos postos, este padrão não tem correspondência nas três espécies. No caso de *P. calceolariae*, a fecundidade média por fêmea foi idêntica ao longo do período de vida dos machos. Silva et al. (dados não publicados) sugeriram que o número de ovos postos por fêmea depende do número de fêmeas com que os machos que as fecundaram acasalaram anteriormente, o qual decresceu com a idade do macho. De acordo com estes autores, este facto indicia que o número de ovos postos depende da quantidade de esperma transferido para a fêmea, durante a cópula. É de esperar que a quantidade de esperma produzida por um macho seja limitada e que decresça ao longo da vida, em função do número de fêmeas que fecundou, uma vez que apresenta reservas energéticas que não são repostas ao longo da curta vida do macho, por não se alimentar, tal como verificado para alguns lepidópteros (King & Fischer, 2010).

Os resultados obtidos relativamente às duas espécies de *Planococcus* parecem suportar esta hipótese. Contudo, ao contrário do observado por Silva et al. (dados não publicados), relativamente a *P. calceolariae*, os resultados obtidos, neste trabalho, para esta espécie não evidenciaram uma redução da fecundidade ao longo do período de vida dos machos, sugerindo que a quantidade de esperma transferida não constitui, neste caso, factor limitante da fecundidade das fêmeas, mesmo para os machos com quatro dias de vida. Torna-se necessária a repetição dos ensaios sobre a capacidade reprodutiva dos

machos de *P. calceolariae*, para esclarecer a aparente inconsistência entre os dados obtidos no presente trabalho e os de Silva et al. (dados não publicados).

O facto de, tanto no caso de *P. citri*, como de *P. calceolariae*, os poucos machos que conseguiram sobreviver até ao quarto e quinto dia, respectivamente, não terem conseguido fecundar nenhuma fêmea pode ser explicado pelo esgotamento do esperma, ou da energia necessária ao acasalamento.

As diferenças de fecundidade intra- e inter-específicas não foram aparentemente derivadas de factores como o tamanho das fêmeas, como verificado para outras espécies de insectos, por Mathenge et al. (2009), Moran & Cobby (1979) e Volchansky et al. (1999), pois no presente trabalho as fêmeas utilizadas tinham a mesma idade, o mesmo tipo de alimento e o mesmo tamanho médio, adequado a cada espécie.

Tal como verificado por outros autores, para outras espécies de cochonilhas (e.g., Mathenge et al., 2009), os resultados evidenciam a existência de elevada variabilidade intra-específica do potencial reprodutivo dos machos das três espécies estudadas de cochonilhas-algodão.

Os valores de longevidade registados para os machos de *P. calceolariae*, *P. ficus* e de *P. citri* estão dentro do intervalo de valores (1 a 6 dias) reconhecido para outras espécies de cochonilha-algodão (e.g., Amarasekare et al., 2008; Chonget al., 2008; Razaket al., 1994).

Os resultados obtidos mostram claramente que quando os machos de *P. citri*, *P. ficus* e *P. calceolariae* podem acasalar *ad libitum*, ao longo do período de vida, a sua longevidade é reduzida em 25-50%, sugerindo que o acasalamento afecta negativamente a longevidade. Efeito semelhante foi observado noutras espécies de insectos de baixa longevidade, como *Drosophila* spp. (De Loof, 2010) e *Ceratitis capitata* (Papadopoulos et al., 2009). Os resultados sugerem a existência de “trade-off” (De Loof, 2010) entre reprodução e longevidade, nos machos de cochonilhas-algodão.

A energia disponível e não renovável, nos machos de cochonilha-algodão, será distribuída entre os diferentes tipos de actividade dos machos, como voo, localização de fêmeas, e acasalamento. É de esperar, pois, que a sua longevidade seja afectada pela maior ou menor quantidade de reservas energéticas alocadas a cada uma destas actividades, nomeadamente o acasalamento e produção de esperma. Assim, se um macho no seu primeiro dia de vida não encontra fêmeas para acasalar, poderá utilizar a energia poupada prolongando o seu período de vida, de forma a possibilitar a reprodução, que não conseguiu garantir no primeiro dia de vida. Pelo contrário, para um macho que tenha sido bem sucedido no primeiro dia, acasalando com várias fêmeas, a longevidade assume menos importância, uma vez que já garantiu alguma reprodução.

Analisando ao nível da espécie, verifica-se que o factor acasalamento afectou de forma semelhante a longevidade dos machos das duas espécies de *Planococcus* em comparação

com *P. calceolariae*, sugerindo diferentes tipos de comportamento em função do género (*Planococcus* versus *Pseudococcus*).

O facto da longevidade dos machos de *P. calceolariae* ter sido mais elevada, do que a das outras duas espécies em estudo, pode dever-se ao seu maior tamanho, que corresponderá a maior quantidade de reservas energéticas. No entanto, o acasalamento nesta espécie afectou de forma mais marcada a longevidade dos machos, do que nas duas espécies de *Planococcus*. Este maior impacto na longevidade dos machos de *P. calceolariae* resulta provavelmente do maior número médio de fêmeas fecundadas por estes machos, a que corresponderá maior gasto energético.

Este estudo constitui um ponto de partida para novos estudos, nomeadamente o efeito sobre a longevidade de outros processos energeticamente dispendiosos para os machos de cochonilhas-algodão, como o voo e a resposta a fontes de feromonas, essenciais na localização das fêmeas. Deste modo, poder-se-á estimar o impacto de táticas como a confusão sexual na sobrevivência dos machos.

## 6- Conclusão

O potencial reprodutivo dos machos de *P. citri*, *P. ficus* e *P. calceolariae* diferiu ligeiramente entre si no que respeita ao número de fêmeas fecundadas. Contudo, a fecundidade das fêmeas fertilizadas pelos machos de *P. citri* foi cerca de duas a três vezes maior do que a registada nas fêmeas fecundadas por machos de *P. ficus* e *P. calceolariae*, respectivamente.

Os machos de *P. calceolariae* apresentaram um padrão temporal de sobrevivência marcadamente diferente do das duas espécies de *Planococcus*, traduzindo-se numa maior longevidade.

A realização de acasalamentos sucessivos ao longo do período de vida reduziu em 25% a 50% a longevidade dos machos das três espécies estudadas de cochonilhas-algodão, sugerindo a existência de “trade-off” entre reprodução e longevidade.

## 7-Referências bibliográficas

Amarasekare KG, Mannion CM, Osborne, LS (2008) Life History of *Paracoccus marginatus* (Hemiptera: Pseudococcidae) on Four Host Plant Species Under Laboratory Conditions. *Envir. Entomol.* 37: 630-635.

Antignus Y, Lapidot M, Cohen S (2001) Interference with Ultraviolet Vision of Insects to Impede Insect Pests and Insect-Borne Plant Viruses. *Virus-Insect-Plant Interac.* 17: 331-350.

Antunes RP (2005) Bases para o desenvolvimento de uma tática de combate biotécnica de "atração e morte" relativamente à cochonilha-algodão dos citrinos: Influência da cor na actividade do voo dos machos e ritmo circadiano. Relatório de trabalho final de curso de Engenharia Agronómica, UTL/ISA, Lisboa.

Bailey R, Changa N, Laia P, Hsu T (2010) Life table of cycad scale, *Aulacaspis yasumatsui* (Hemiptera: Diaspididae), reared on Cycas in Taiwan. *J. Asia-Pacific Entomol.* 13: 183-187.

Bierl-Leonhardt BA, Moreno DA, Swartz M, Fargerland J & Plimmer JR (1981) Isolation, identification and syntheses of the sex pheromone of the citrus mealybug vectors (Hemiptera: Coccidae and Pseudococcidae) of cocoa swollen shoot disease in Ghana. *Bull. Entomol. Res.* 7: 435-448.

Bodenheimer FS (1951) Citrus entomology in the Middle East with special references to Egypt, Iran, Irak, Palestine, Syria, Turkey. Dr. W. Junk Publishers, The Hage. Jerusalem.

Campos L (2008) Efeito dos factores de natureza visual na localização de fontes de feromona pelos machos de cochonilha-algodão dos citrinos, (Risso). Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Agronómica, UTL/ISA, Lisboa.

Carvalho JP (1986) Introdução à entomologia agrícola. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa.

Carvalho JP (1988) Programa de entomologia para a citricultura do Algarve. Prog. Invest. Concurso Invest. Coord., INIA/EAN, Oeiras.

Chong J, Oetting RD, Van Iersel MW (2003) Temperature Effects on the Development, Survival, and Reproduction of the Madeira Mealybug, *Phenacoccus madeirensis* Green (Hemiptera: Pseudococcidae), on *Chrysanthemum*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 96:539-543.

Chong J, Roda A, Mannion C (2008) Life History of the Mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* (Hemiptera: Pseudococcidae), at Constant Temperatures. *Environ. Entomol.* 37: 323-332.

Daane K, Bentley W, Walton V, Malakar-Kuenen E, Millar J, Ingels J, Weber E, Gispert C (2006) New controls investigated for vine mealybug. *Calif. Agric.* 60: 31-38.

De Loof A (2010) Longevity and aging in insects: Is reproduction costly; cheap; beneficial or irrelevant? A critical evaluation of the "trade-off" concept. *Journ. Ins. Phys.* 57:1-11.

El-Minshawy AM, Karam HH, El-Sawaf, SK (1974) Biological studies on the long tailed mealybug, *Pseudococcus longispinus* (Targ.-Tozz.) (Homoptera: Pseudococcidae). *Bull. Entomol. Soc. Entomol.* 58: 385-391.



- Foster SP, Harris MO (1997) Behavioral manipulation methods for insect pest-management. *Annu. Rev. Entomol.* 42:123-124.
- Franco JC (1997) Contribuição para a protecção integrada em citrinos: caso das cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae). Tese de Douturamento em Engenharia Agronómica, UTL/ISA, Lisboa.
- Franco J, Silva EB, Carvalho JP (2000) Cochonilhas-algodão (Hemiptera, Pseudococcidae) associadas ao citrinos em Portugal. ISA PRESS, Lisboa.
- Godinho M (2001) A cochonilha-algodão da vinha, importância, identidade específica e biologia. Relatório de trabalho de fim de curso da Licenciatura em Engenharia Agronómica, UTL/ISA, Lisboa.
- Grawitz N & Willson C (1968) A sex feromone from the citrus mealybug. *J. Econ. Entomol.* 47: 174-176.
- Gray HE (1954) The development of the citrus mealbug. *J. Econ. Entomol.* 47:174-176.
- Harmer A, Radhakrishnan P (2006) Remating inhibition in female Queensland fruit flies: Effects and correlates sperm Storage. *J. Insect Phys.* 41: 705-710.
- Hinkens DM, McElfresh JS, Millar JG (2001) Identification and synthesis of the sex pheromone of vine mealybug, *Planococcus ficus*. *Tetra. Lett.* 42:1619-1621.
- James HC (1937) Sex ratios and the status of the male Pseudococcinae (Hem, Coccidae). *Bull. Entomol. Res* 28: 429-461.
- Katsoyannos P (1996) Integrated insect pest management for citrus in northern mediterranean countries. Benaki Phytopathol Institute, Athens.
- King BH, Fischer CR (2010) Male mating history: effects on female sexual responsiveness and reproductive success in the parasitoid wasp *Spalangia endius*. *Behav. Ecol. Soc.* 64: 607-615.
- Kotiaho JS, Simmons LW (2003) Longevity cost of reproduction for males but no longevity cost of mating or courtship for females in the male-dimorphic dung beetle *Onthophagus binodis*. *J. Insect Physiol.* 49,(9): 817-822.
- Lemos R (2006) Bases para o desenvolvimento de uma técnica biotécnica de "atração e morte" relativamente à cochonilha-algodão da vinha: influencia da côr na actividade do vôo dos machos e ritmo circadiano. Relatório do trabalho de fim de curso de Engenharia Agronómica, UTL/ISA, Lisboa.
- Mathenge CW, Holford P, Hoffmann JH, Spooner-Hart R, Beattie GAC, Zimmermann HG (2009) The biology of *Dactylopius tomentosus* (Hemiptera: Dactylopiidae). *Bull. Entomol. Res.* 99: 551-559
- Misra A (1931) On the internal anatomy of the male lac insect, *Laccifer lacca* Kerr (Homoptera, Coccidae). *Proc. Zool. Soc. London* 101: 1359-1381.

Moran VC, Cobby BS (1979) On the life history and fecundity of the cochineal insect, *Dactylopius austrinus* De Lotto (Homoptera: Dactylopiidae), a biocontrol agent for the cactus *Opuntia aurantiaca*. Bull. Entomol. Res. 69:629-636

Moreno DS, Fargerlund J, Ewart WH (1984) Citrus mealybug (Homoptera: Pseudococcidae): behavior of males response to sex pheromone in laboratory and field. Ann. Entomol. Soc. Amer. 77: 32-38.

Mouco J (2006) Bases para o desenvolvimento de uma tática biotécnica de atração e morte para cochonilhas-algodão. Relatório do Trabalho de Fim de Curso de Engenharia Agronómica, UTL/ISA, Lisboa.

Mourato C (2010) Capacidade reprodutiva dos machos da cochonilha-algodão, (Risso) (Hemiptera, Pseudococcidae). Projecto final de fim de curso Biologia, UTL/ISA, Lisboa.

Nelson-Rees WA (1959) Triple coitus in the mealybug, (Risso). Nature 183:479.

Nelson-Rees WA (1960) A study of sex predetermination in the mealybug, (Risso). J. Exp. Zool. 144: 111-137.

Papadopoulos NT, Liedo P, Mäller H, Wang, JM & Carey JR (2009) Cost of reproduction in male medflies: The primacy of sexual courting in extreme longevity reduction. J. Insect Phys. 56: 283-287.

Prieto J (2010) A hipótese de poliandria em cochonilhas-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae). Projecto final de fim de curso Biologia, UTL/ISA, Lisboa.

Qin Z, Wu J, Bao-li Q, Shunxiang R, Shaukat A (2011) Effects of host plant on the development, survivorship and reproduction of *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley (Hemiptera: Pseudococcidae). Crop Prot. 30: 1124-1128.

Razak TA, Ananthi DV & Jayanti R (1994) Biology of the sugarcane mealybug, *Dysmicoccus carens* Williams (Hemiptera: Pseudococcidae), *Dysmicoccus carens* Williams (Homoptera: Pseudococcidae). J. Entomol. Res. 18:169-174.

Rotundo G, Tremblay E (1976) Osservazioni sull' attività di vollo dei maschi di *Pseudococcus calceolariae* (Mask) (Homoptera: Coccidae). Boll. Lab. Agrar. F. Silvestri. 33:108-112.

Sanz C (2010) Duração da receptividade de fêmeas de cochonilha-algodão (Hemiptera: Pseudococcidae) e a sua relação com a hipótese de poliandria- Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Agronomica, UTL/ISA, Lisboa.

Sliva EB (1991) A hipótese de partenogénese nas cochonilhas Pseudococcidae dos citrinos: Estudo em ambiente controlado. Relatório de trabalho final de Licenciatura de Engenharia Agronómica, UTL/ISA, Lisboa.

Silva EB (2008) Relatório de Bolsa de Pós- Doutorado: 1º triénio 2006-2008.

Silva EB, Branco M, Mendel Z, Franco J. Mating behavior and performance of two cosmopolitan mealybug species (Hemiptera: Pseudococcidae). J. Insect Behav. (submetido).

Silva EB, Mouco J, Antunes R, Mendel Z & Franco J. (2009) Mate location and sexual maturity of adult male mealybugs: narrow window of opportunity in a short lifetime. In: IOBC/WPRS Working Group on "Pheromones and other semiochemicals in Integrated Production", Lund (Sweden) 9-14 September 2007. IOBC wrps Bulletin, 41:3-9.

Tashiro H & Moffitt C (1968) Reproduction in the California red scale, *Aonidiella aurantii*. II. Mating behaviour and postinsemination female changes. Ann. Entomol. Soc. Amer. 61: 1014-1020.

Thornhill R, Alcock J (2001) The Evolution Insect Mating Systems. Lincon: iUniverse.com, Inc.

Unelius CR, El-Sayed AM, Twidle A, Mitchell V, Bunn B, Zaviezo T, Flores MF, Bell V, Bergmann J (2011) The absolute configuration of the sex pheromone of the citrophilous mealybug, *Pseudococcus calceolariae*. J. Chem. Ecol. 37: 166-172.

Vennila S, Deshmukh A, Pinjarkar D, Agarwal M, Ramamurthy V, Joshi S, Kranthi KR, Bambawal OM (2010) Biology of the mealybug, *Phenacoccus solenopsis* on cotton in the laboratory. J. Insect Sci. 10: 1-9.

Volchansky CR, Hoffmann JH, Zimmermann HG (1999) Host-plant affinities of two biotypes of *Dactylopius opuntiae* (Homoptera: Dactylopiidae): enhanced prospects for biological control of *Opuntia stricta* (Cactaceae) in South Africa. J. Appl. Ecol. 36: 85-91.

Waterworth RA, Wrigth IM, Millar GJ (2011) Reproductive Biology of Three Cosmopolitan Mealybug (Hemiptera:Pseudococcidae) Species, *Pseudococcus longispinus*, *Pseudococcus viburni* and *Planococcus ficus*. Ann. Entomol. Soc. Amer. 104: 259-260.

Yan J, Isman M (1986) Environmental factors limiting emergence and longevity of male California red scale (Homoptera:Diaspididae). Envir. Entomol. 15: 971-975.

# **Anexos**

Anexo 1- Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de fêmeas fecundadas por espécie.

### Descriptive Statistics

Dependent Variable: Nfemales

Espécie	Mean	Std. Deviation	N
Pca	9,57	4,257	729
Pci	10,59	4,190	441
Pfi	8,58	5,340	339
Total	9,65	4,559	1509

### Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

Dependent Variable: Nfemales

F	df1	df2	Sig.
19,453	2	1506	,000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Espécie

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Nfemales

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	786,950 <sup>a</sup>	2	393,475	19,395	,000
Intercept	125392,808	1	125392,808	6180,687	,000
Espécie	786,950	2	393,475	19,395	,000
Error	30553,492	1506	20,288		
Total	171788,000	1509			
Corrected Total	31340,443	1508			

a. R Squared = ,025 (Adjusted R Squared = ,024)

Anexo 1 (cont.) - Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de fêmeas fecundadas por espécie.

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Nfemales

(I) Espécie	(J) Espécie			
		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Tukey HSD	Pca Pci	-1,02*	,272	,001
	Pfi	,99*	,296	,002
	Pci Pca	1,02*	,272	,001
	Pfi	2,02*	,325	,000
	Pfi Pca	-,99*	,296	,002
	Pci	-2,02*	,325	,000

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 20,288.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

**Anexo 1.1** - Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de fêmeas fecundadas da espécie *Planococcus citri*.

**Descriptive Statistics**

Dependent Variable: Nfemales

Daymale	Mean	Std. Deviation	N
1	10,79	4,389	337
2	10,15	3,173	102
3	,50	,707	2
Total	10,59	4,190	441

**Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>**

Dependent Variable: Nfemales

F	df1	df2	Sig.
12,463	2	438	,000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+ Daymale

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Nfemales

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	237,009 <sup>a</sup>	2	118,505	6,931	,001
Intercept	896,147	1	896,147	52,409	,000
Daymale	237,009	2	118,505	6,931	,001
Error	7489,336	438	17,099		
Total	57222,000	441			
Corrected Total	7726,345	440			

a. R Squared = ,031 (Adjusted R Squared = ,026)

**Anexo 1.1 (cont.)** - Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de fêmeas fecundadas da espécie *Planococcus citri*.

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Nfemales

	(I) Daymale	(J) Daymale	Mean	Std. Error	Sig.
			Difference (I-J)		
Tukey HSD	1	2	,64	,467	,355
		3	10,29*	2,933	,001
	2	1	-,64	,467	,355
		3	9,65*	2,952	,003
	3	1	-10,29*	2,933	,001
		2	-9,65*	2,952	,003

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error)= 17,099.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.



**Anexo 1.2** - Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de fêmeas fecundadas da espécie *Planococcus ficus*.

### Descriptive Statistics

Dependent Variable: Nfemales

Daymale	Mean	Std. Deviation	N
1	8,29	4,735	257
2	10,29	6,913	72
3	3,60	1,647	10
Total	8,58	5,340	339

### Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

Dependent Variable: Nfemales

F	df1	df2	Sig.
29,187	2	336	,000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+ Daymale

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Nfemales

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	480,291 <sup>a</sup>	2	240,145	8,812	,000
Intercept	4178,194	1	4178,194	153,322	,000
Daymale	480,291	2	240,145	8,812	,000
Error	9156,388	336	27,251		
Total	34582,000	339			
Corrected Total	9636,678	338			

a. R Squared = ,050 (Adjusted R Squared = ,044)

**Anexo 1.2 (cont.)** - Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de fêmeas fecundadas da espécie *Planococcus ficus*.

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Nfemales

(I) Daymale	(J) Daymale	Mean Difference (I-J)		
		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Tukey HSD	1 2	-2,00*	,696	,012
	1 3	4,69*	1,683	,015
	2 1	2,00*	,696	,012
	2 3	6,69*	1,762	,001
	3 1	-4,69*	1,683	,015
	3 2	-6,69*	1,762	,001

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 27,251.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

**Anexo 1.3** - Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de fêmeas fecundadas *Pseudococcus calceolariae*.

**Descriptive Statistics**

Dependent Variable: Nfemales

Daymale	Mean	Std. Deviation	N
1	10,42	3,428	434
2	7,87	4,241	174
3	9,56	6,185	91
4	7,68	4,056	28
5	,00	,000	2
Total	9,57	4,257	729

**Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>**

Dependent Variable: Nfemales

F	df1	df2	Sig.
32,462	4	724	,000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Daymale

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Nfemales

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1103,994 <sup>a</sup>	4	275,998	16,533	,000
Intercept	2275,668	1	2275,668	136,316	,000
Daymale	1103,994	4	275,998	16,533	,000
Error	12086,475	724	16,694		
Total	79984,000	729			
Corrected Total	13190,469	728			

a. R Squared = ,084 (Adjusted R Squared = ,079)

**Anexo 1.3 (cont)** - Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de fêmeas fecundadas da espécie *Pseudococcus calceolariae*.

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Nfemales

(I)					
Daymale			Mean Difference		
e	(J) Daymale		(I-J)	Std. Error	Sig.
Tukey HSD	1	2	2,56 <sup>*</sup>	,367	,000
		3	,86	,471	,355
		4	2,75 <sup>*</sup>	,797	,005
		5	10,42 <sup>*</sup>	2,896	,003
	2	1	-2,56 <sup>*</sup>	,367	,000
		3	-1,69 <sup>*</sup>	,529	,012
		4	,19	,832	,999
		5	7,87	2,906	,054
	3	1	-,86	,471	,355
		2	1,69 <sup>*</sup>	,529	,012
		4	1,88	,883	,208
		5	9,56 <sup>*</sup>	2,921	,010
	4	1	-2,75 <sup>*</sup>	,797	,005
		2	-,19	,832	,999
		3	-1,88	,883	,208
		5	7,68	2,991	,078
	5	1	-10,42 <sup>*</sup>	2,896	,003
		2	-7,87	2,906	,054
		3	-9,56 <sup>*</sup>	2,921	,010
		4	-7,68	2,991	,078

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 16,694.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

**Anexo 2-** Resultados do programa SPSS correspondentes ao número ovos fertilizados por macho.

### Descriptive Statistics

Dependent Variable: Neggs

Espécie	Mean	Std. Deviation	N
Pca	121,92	86,453	729
Pci	318,26	160,414	441
Pfi	173,67	130,807	339
Total	190,93	148,532	1509

### Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

Dependent Variable: Neggs

F	df1	df2	Sig.
87,284	2	1506	,000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Espécie

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Neggs

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1,072E7	2	5361167,393	358,096	,000
Intercept	5,719E7	1	5,719E7	3819,766	,000
Espécie	1,072E7	2	5361167,393	358,096	,000
Error	2,255E7	1506	14971,314		
Total	8,828E7	1509			
Corrected Total	3,327E7	1508			

a. R Squared = ,322 (Adjusted R Squared = ,321)

**Anexo 2 (cont.)-** Resultados do programa SPSS correspondentes ao número ovos fertilizados por macho.

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Neggs

(I) Espèce					
(J) Espèce			Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Tukey HSD	Pca	Pci	-196,34*	7,381	,000
		Pfi	-51,74*	8,044	,000
	Pci	Pca	196,34*	7,381	,000
		Pfi	144,59*	8,838	,000
	Pfi	Pca	51,74*	8,044	,000
		Pci	-144,59*	8,838	,000

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error)= 14971,314.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

**Anexos 2.1-** Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de ovos fertilizados por macho da espécie *Planococcus citri*.

#### Descriptive Statistics

##### Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

Dependent Variable: Neggs

F	df1	df2	Sig.
,177	2	438	,838

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Daymale

Dependent Variable: Neggs

Daymale	Mean	Std. Deviation	N
1	317,31	160,512	337
2	324,39	159,206	102
3	166,00	234,759	2
Total	318,26	160,414	441

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Neggs

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	50506,793 <sup>a</sup>	2	25253,396	,981	,376
Intercept	1272264,157	1	1272264,157	49,437	,000
Daymale	50506,793	2	25253,396	,981	,376
Error	1,127E7	438	25734,827		
Total	5,599E7	441			
Corrected Total	1,132E7	440			

a. R Squared = ,004 (Adjusted R Squared = ,000)

**Anexos 2.1 (cont.)**- Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de ovos fertilizados por macho da espécie *Planococcus citri*.

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Neggs

	(I) Daymale	(J) Daymale			
			Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Tukey HSD	1	2	-7,08	18,129	,919
		3	151,31	113,771	,379
	2	1	7,08	18,129	,919
		3	158,39	114,541	,351
	3	1	-151,31	113,771	,379
		2	-158,39	114,541	,351

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error)= 25734,827.



**Anexos 2.2-** Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de ovos fertilizados por macho da espécie *Planococcus ficus*.

### Descriptive Statistics

Dependent Variable: Neggs

Daymale	Mean	Std. Deviation	N
1	189,10	132,088	257
2	129,47	117,327	72
3	95,30	92,040	10
Total	173,67	130,807	339

### Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

Dependent Variable: Neggs

F	df1	df2	Sig.
2,401	2	336	,092

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Daymale

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Neggs

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	263232,721 <sup>a</sup>	2	131616,360	8,011	,000
Intercept	1454305,059	1	1454305,059	88,522	,000
Daymale	263232,721	2	131616,360	8,011	,000
Error	5520074,613	336	16428,793		
Total	1,601E7	339			
Corrected Total	5783307,333	338			

a. R Squared = ,046 (Adjusted R Squared = ,040)

**Anexos 2.2 (cont.)**- Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de ovos fertilizados por macho da espécie *Planococcus ficus*.

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Neggs

	(I) Daymale	(J) Daymale			
			Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Tukey HSD	1	2	59,63*	17,091	,002
		3	93,80	41,313	,061
	2	1	-59,63*	17,091	,002
		3	34,17	43,256	,709
	3	1	-93,80	41,313	,061
		2	-34,17	43,256	,709

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error)= 16428,793.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

**Anexos 2.3-** Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de ovos fertilizados por macho da espécie *Pseudococcus calceolariae*.

### Descriptive Statistics

Dependent Variable: Neggs

Daymale	Mean	Std. Deviation	N
1	113,89	86,764	434
2	125,82	79,323	174
3	147,49	90,033	91
4	147,82	91,248	28
5	,00	,000	2
Total	121,92	86,453	729

### Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

Dependent Variable: Neggs

F	df1	df2	Sig.
1,848	4	724	,118

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Daymale

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Neggs

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	138630,757 <sup>a</sup>	4	34657,689	4,732	,006
Intercept	515999,099	1	515999,099	70,454	,000
Daymale	138630,757	4	34657,689	4,732	,001
Error	5302500,094	724	7323,895		
Total	1,628E7	729			
Corrected Total	5441130,850	728			

a. R Squared = ,025 (Adjusted R Squared = ,020)

**Anexos 2.3-** Resultados do programa SPSS correspondentes ao número de ovos fertilizados por macho da espécie *Pseudococcus calceolariae*.

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Neggs

(I)					
			Mean Difference		
Daymale		e (J) Daymale	(I-J)	Std. Error	Sig.
Tukey HSD	1	2	-11,92	7,879	,529
		3	-33,60*	9,867	,006
		4	-33,93	16,687	,251
		5	113,89	60,653	,330
	2	1	11,92	7,879	,529
		3	-21,68	11,071	,288
		4	-22,01	17,426	,714
		5	125,82	60,861	,236
	3	1	33,60*	9,867	,006
		2	21,68	11,071	,288
		4	-,33	18,495	1,000
		5	147,49	61,175	,113
	4	1	33,93	16,687	,251
		2	22,01	17,426	,714
		3	-,33	18,495	1,000
		5	147,82	62,638	,128
	5	1	-113,89	60,653	,330
		2	-125,82	60,861	,236
		3	-147,49	61,175	,113
		4	-147,82	62,638	,128

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 7323,895.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

**Anexo 3-** Resultados do programa SPSS correspondentes à longevidade dos machos virgens e acasalados de *Planococcus citri*, *Planococcus ficus* e *Pseudococcus calceolariae*.

**Independent Samples Test**

Pci		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means	
		F	Sig.	t	df
Longevidade	Equal variances assumed	7,961	,006	2,242	93
	Equal variances not assumed			2,419	89,902

**Independent Samples Test**

Pfi		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means	
		F	Sig.	t	df
Longevidade	Equal variances assumed	16,654	,000	3,778	106
	Equal variances not assumed			3,945	88,047

**Independent Samples Test**

Pca		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means	
		F	Sig.	t	df
Longevidade	Equal variances assumed	19,592	,000	6,650	111
	Equal variances not assumed			7,158	92,671

**Anexo 4-** Resultados do programa SPSS correspondentes à longevidade dos machos cochonilha-algodão virgens.

**Between-Subjects Factors**

		N
EspécieB	Pca	63
	Pci	55
	Pfi	58

**Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>**

Dependent Variable: NDiasMachoVirgemB

F	df1	df2	Sig.
14,725	2	173	,000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+ EspécieB

**Descriptive Statistics**

Dependent Variable: NDiasMachoVirgemB

EspécieB	Mean	Std. Deviation	N
Pca	4,68	2,313	63
Pci	1,93	1,200	55
Pfi	2,16	1,240	58
Total	2,99	2,111	176

**Anexo 4 (cont.)**- Resultados do programa SPSS correspondentes à longevidade dos machos cochonilha-algodão virgens.

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: NDiasMachoVirgemB

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	283,014 <sup>a</sup>	2	141,507	49,261	,000
Intercept	1497,673	1	1497,673	521,361	,000
EspécieB	283,014	2	141,507	49,261	,000
Error	496,963	173	2,873		
Total	2352,000	176			
Corrected Total	779,977	175			

a. R Squared = ,363 (Adjusted R Squared = ,355)

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: NDiasMachoVirgemB

(I)					
EspécieB (J) EspécieB			Mean		
			Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Tukey HSD	Pca	Pci	2,76*	,313	,000
		Pfi	2,53*	,308	,000
	Pci	Pca	-2,76*	,313	,000
		Pfi	-,23	,319	,755
	Pfi	Pca	-2,53*	,308	,000
		Pci	,23	,319	,755

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 2,873.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

**Anexo 5-** Resultados do programa SPSS correspondentes à longevidade dos machos de cochonilha-algodão acasalados.

**Between-Subjects Factors**

		N
Espécie	Pca	50
	Pci	40
	Pfi	50

**Descriptive Statistics**

Dependent Variable: NDiasMachoAcasal

Espécie	Mean	Std. Deviation	N
Pca	2,32	1,096	50
Pci	1,45	,714	40
Pfi	1,42	,642	50
Total	1,75	,945	140

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: NDiasMachoAcasal

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	25,290 <sup>a</sup>	2	12,645	17,506	,000
Intercept	414,402	1	414,402	573,697	,000
Espécie	25,290	2	12,645	17,506	,000
Error	98,960	137	,722		
Total	553,000	140			
Corrected Total	124,250	139			

a. R Squared = ,204 (Adjusted R Squared = ,192)



**Anexo 5 (cont.)**- Resultados do programa SPSS correspondentes à longevidade dos machos de cochoilha-algodão acasalados.

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: NDiasMachoAcasal

(I) Espécie	(J) Espécie			
		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Tukey HSD	Pca Pci	,87*	,180	,000
	Pfi	,90*	,170	,000
	Pci Pca	-,87*	,180	,000
	Pfi	,03	,180	,985
	Pfi Pca	-,90*	,170	,000
	Pci	-,03	,180	,985

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error)= ,722.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

**Anexo 6-** Resultados do programa SPSS correspondentes à longevidade dos machos de cochonilha-algodão virgens e acasalados.

**Means and Medians for Survival Time**

state	Meana				Median			
	Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval		Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound			Lower Bound	Upper Bound
mate	1,773	,126	1,526	2,021	1,000	-	-	-
Virgem	2,673	,146	2,387	2,960	2,000	,210	1,588	2,412
Overall	2,237	,100	2,040	2,434	2,000	,117	1,770	2,230

**Overall Comparisons**

	Chi-Square	df	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	29,652	1	,000

**Means and Medians for Survival Time**

species	Meana				Median			
	Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval		Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound			Lower Bound	Upper Bound
Pca	3,250	,223	2,814	3,686	3,000	,189	2,629	3,371
Pci	1,615	,102	1,415	1,816	1,000	-	-	-
Pfi	1,790	,109	1,577	2,003	1,000	-	-	-
Overall	2,237	,100	2,040	2,434	2,000	,117	1,770	2,230

**Overall Comparisons**

	Chi-Square	df	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	59,648	2	,000