

Débora Samira Gongora Negrão

Contágio espacial resultante do risco de predação na
seleção de sítios de oviposição por mosquito

Predator-induced spatial contagion in mosquito
oviposition site selection

São Paulo
2019

Débora Samira Gongora Negrão

Contágio espacial resultante do risco de predação na
seleção de sítios de oviposição por mosquito

Predator-induced spatial contagion in mosquito
oviposition site selection

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Mestre em Ciências na Área de Ecologia de Ecossistemas Terrestres e Aquáticos.

Orientador: Dr. Luis Schiesari

São Paulo
2019

Ficha Catalográfica

Negrão, Débora Samira Gongora

Contágio espacial resultante do risco de predação na seleção de sítios de oviposição por mosquito

92p.

Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Ecologia.

1. Comunidades 2. Densidade de predadores 3. Dependência do contexto 4. Qualidade da mancha 5. Identidade do predador 6. Metacomunidades 7. Múltiplos predadores I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Ecologia.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Dr. Luis Schiesari
Orientador

DEDICATÓRIA

In memoriam

À minha amiga, Fernanda Simioni,
eu sinto a sua falta.

AMOR VIOLETA

O amor me fere é debaixo do braço,
de um vão entre as costelas.
Atinge meu coração é por esta via inclinada.
Eu ponho o amor no pilão com cinza
e grão de roxo e soco. Macero ele,
faço dele cataplasma
e ponho sobre a ferida.

Adélia Prado
(Bagagem. Rio de Janeiro: Record, 2011)

EPÍGRAFE

DAS PEDRAS
Ajuntei todas as pedras
que vieram sobre mim.
Levantei uma escada muito alta
e no alto subi.
Teci um tapete floreado
e no sonho me perdi.
Uma estrada,
um leito,
uma casa,
um companheiro.
Tudo de pedra.
Entre pedras
cresceu a minha poesia.
Minha vida...
Quebrando pedras
e plantando flores.
Entre pedras que me esmagavam
Levantei a pedra rude
dos meus versos.

Cora Carolina

(Meu livro de Cordel. São Paulo: Global Editora, 2012)

QUANDO CHORAR

(...) Mas nem sempre é necessário tornar-se
forte. Temos que respeitar a nossa fraqueza.

Clarice Lispector

(A descoberta do mundo. Rio de Janeiro: Rocco, 1999)

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudo concedida, sem a qual este trabalho não teria acontecido.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento da pesquisa (Projeto Temático 2015/18790-3; Luis Antonio Martinelli Pesquisador Responsável; Luis Schiesari e Janaina Carmo Pesquisadores Principais).

Ao Instituto Florestal, pela permissão (Processo SMA 009.593/2016) para conduzir pesquisa na Estação Ecológica de Santa Bárbara.

A todos os funcionários da Estação Ecológica de Santa Bárbara, por sempre me ajudarem em tudo que eu precisei.

Ao ICMBio, pela autorização de coleta (Autorização 17559).

Ao Programa de Pós-graduação em Ecologia da Universidade de São Paulo, pela excelência e grande oportunidade de desenvolver pesquisa.

À Escola de Artes, Ciências e Humanidades da USP (EACH), pelo apoio logístico.

Ao meu orientador, Luis Schiesari, pelo grande apoio e dedicação. Obrigada por sempre estar presente, por acompanhar todo o meu trabalho e por ter me ajudado no campo, principalmente durante a instalação do experimento que exigiu muito esforço. Obrigada por acreditar no meu trabalho e por tornar o meu mestrado possível. Para mim foi uma honra trabalhar com você.

À Helene Ueno, pelas sugestões, disposição e por transmitir muita calma. Obrigada por me ensinar sobre os mosquitos, por me ajudar a elaborar um protótipo de gaiola, por me ajudar no campo e pela imensa ajuda na condução do experimento realizado em laboratório. Eu não teria conseguido sem a sua ajuda e foi muito bom tê-la ao meu lado.

Ao Paulo Inácio Prado, pela ajuda na execução da análise de dados. Eu realmente não teria conseguido sem a sua disposição. Obrigada pela paciência e tempo dedicado.

À Melina Leite, por ter me ajudado a entender algumas análises, principalmente modelos mistos, e pelas sugestões.

Aos membros do comitê de acompanhamento, Glauco Machado e Tadeu Siqueira, pelas críticas, sugestões e por sempre demonstrarem apoio e me incentivarem das formas mais positivas a desenvolver este trabalho.

À Julianna Freires, por ter identificado o gênero dos indivíduos da família de Notonectidae que eu utilizei nos meus experimentos e ao Aristides Fernandes por ter identificado as espécies de culicídeos que colonizaram o meu experimento.

A todas as pessoas que pacientemente me ajudaram no campo tornando o meu trabalho possível e mais leve: Angélica Belilacqua, Gabriel Evora, Lorena Dobre, Samuel Menezes, Rafaela Martins e, em especial, ao João de Alencar, Thais Issii e Rodolfo Pelinson.

À Francisca Mendes da Escola de Artes, Ciências e Humanidades da USP, por ter autorizado a utilização do laboratório de prototipagem para costura das gaiolas do meu experimento, e às estagiárias do laboratório, Valéria dos Santos e Luciane dos Santos, por me ajudarem a utilizar a máquina de costura e a costurar algumas gaiolas.

À Vera Lima, por sempre esclarecer pacientemente todas as dúvidas sobre o Programa de Pós-graduação e pela solidariedade que muito amavelmente não me deixou desistir.

Aos técnicos, Geison Gueller e Lucas Beltrami, do laboratório de Ecologia e Evolução da EACH, pela disposição em ajudar e grande eficiência em todas as atividades.

A todos os motoristas da EACH que me acompanharam em algumas viagens ao campo e que sempre se prontificaram em me ajudar no que era possível.

Ao Pedro Manoel, por me ajudar no transporte do material biológico para identificação.

Ao técnico do IB-USP, Luis de Souza, pela disposição em ajudar.

Às monitoras de disciplinas do mestrado, Camila Beraldo e Carol Mendonça, por terem me ajudado quando eu pensei que estava muito difícil. Obrigada por me acalmarem dizendo que estava tudo bem e por me ajudarem a persistir.

À Thais Issii, pela eficiência e longas horas de trabalho. Eu não teria conseguido sem a sua ajuda e grande disposição diária, seja coletando larvas de mosquitos, modelando e costurando gaiolas ou carregando muitos galões de água ao longo da trilha.

À Bianca Valente, por tornar meus dias mais coloridos, pela amizade e acolhimento em São Paulo quando eu precisei.

Ao Rodolfo Pelinson, por me receber em sua casa quando eu cheguei a São Paulo, pela amizade, inúmeras caronas e auxílio no campo.

Aos professores que fizeram parte da minha trajetória no Colégio Municipal Parigot de Souza, Colégio Estadual Bartolomeu Mitre, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA) e Universidade de São Paulo (USP).

A todas as pessoas que me ajudaram de diferentes formas quando eu precisei: Admilson de Jesus, Ana Brandimarte, Bianca Vendramini, Glauco Machado, Isabel dos Santos, Márcio Martins, Paulo Inácio Prado, Renata Pardini, Roberto Shimizu, Rodrigo Cogni, Rozely dos Santos e Vera Lima.

Às minhas amigas de longa data, pessoas incríveis: Alejandra Dip, Fatima Penayo, Leila Roberti, Karine Camacho e Patrícia Weisbach, por acreditarem que eu era capaz de desenvolver este trabalho e por me lembrarem disso quando eu esquecia.

Finalizo com um agradecimento muito especial a toda minha família, principalmente, minha mãe e meu pai. Eu sei que a nossa vida sempre foi uma grande luta e que para eu chegar até aqui foram feitos muitos sacrifícios. Sem vocês esta dissertação não teria sido possível. Obrigada por me deixarem sonhar um futuro melhor para mim e para todos.

Obrigada por tudo!

ÍNDICE

RESUMO	10
ABSTRACT	11
INTRODUÇÃO.....	12
MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
Experimento de seleção de sítios de oviposição	21
Área de estudo	21
Seleção de predadores	22
Delineamento experimental.....	24
Preparação do experimento	27
Manutenção e monitoramento do experimento	28
Quantificação do risco de predação	30
Análise de dados	32
Contágio espacial.....	33
Quantificação do risco de predação	36
Contágio espacial vs. risco de predação	36
RESULTADOS	39
Contágio espacial.....	39
Risco de predação	45
Contágio espacial vs. risco de predação.....	47
DISCUSSÃO.....	49
Contágio espacial.....	49
Identidade do predador	50
Densidade do predador	53
Combinação de predadores	55
Risco de predação vs. contágio espacial	56
Identidade do predador	56
Densidade do predador	59
Combinação de predadores	63
Implicações do contágio espacial	65
Extensão do contágio espacial	68
CONCLUSÃO.....	70
REFERÊNCIAS	71

MATERIAL SUPLEMENTAR	79
Apêndice A: fotos das localidades	79
Apêndice B: planilha de dados e códigos para execução das análises	79
Apêndice C: gráficos exploratórios do experimento em campo de seleção de sítio de oviposição (Figuras S2-S6).....	80
Apêndice D: gráfico exploratório do experimento em laboratório para quantificar o risco de predação de larvas de mosquitos por regime de predação	86
Apêndice E: sumário estatístico do modelo mais plausível que descreveu a resposta de seleção de sítio de oviposição e contágio espacial por mosquitos	87
Apêndice F: análise dos resíduos do modelo mais plausível que descreveu a seleção de sítio de oviposição e contágio espacial por mosquitos	88
Apêndice G: representação das variáveis aleatórias incluídas no modelo que descreveu a seleção de sítio de oviposição e contágio espacial por mosquitos	89
Apêndice H: sumário do modelo mais plausível que quantificou o risco de predação das larvas de mosquitos	90
Apêndice I: análise dos resíduos do modelo mais plausível que quantificou o risco de predação das larvas de mosquitos	91
APÊNDICE J: cálculo do ponto de intersecção entre a reta do controle e as retas dos tratamentos de predação.....	92

RESUMO

A qualidade percebida pelos indivíduos de uma mancha de hábitat e, conseqüentemente, a dinâmica de colonização resultante da mancha, não depende apenas da sua qualidade individual percebida. Depende também, do contexto espacial onde a mancha se insere. Caso a qualidade percebida de uma mancha específica seja alterada pela qualidade das manchas que estão próximas, então, há contágio espacial. Já foi demonstrado que existe contágio na presença do predador (contágio negativo). Contudo, até o momento apenas uma pesquisa investigou sobre a extensão espacial do contágio negativo e não há pesquisas que tenham testado se o contágio espacial e a sua extensão são proporcionais ao risco de predação. Este trabalho integra um experimento de campo e um experimento de laboratório para verificar: a) se manchas com predadores são evitadas, b) se existe contágio negativo, c) e se a intensidade da evitação espacial e a extensão espacial do contágio são proporcionais ao risco de predação. O experimento de campo testou a seleção de sítio de oviposição por mosquitos do gênero *Culex* de forma a responder se havia evitação ao predador, contágio e, também, para reconhecer a extensão espacial do contágio em resposta a diferentes regimes de predação potenciais em refletir diferentes riscos de predação (controle, 1 libélula, 3 libélulas, 3 notonectídeos, 3 belostomatídeos e combinação de predadores, isto é, '1 libélula + 1 notonectídeo + 1 belostomatídeo'). No experimento de campo manchas aquáticas foram simuladas pela utilização de caixas plásticas (com água e nutrientes) instaladas ao longo de uma sequência de corpos d'água. A unidade experimental equivaleu a um conjunto de cinco caixas dispostas em transecto linear. Entre as cinco caixas apenas uma recebeu predadores, a que ocupou a posição 0 m, e todas as demais foram posicionadas em diferentes distâncias em relação à caixa com predador: 1 m, 2 m, 4 m e 8 m. O experimento de laboratório quantificou o risco de predação dos mesmos regimes de predação testados no campo. O risco de predação foi representado pelo cálculo da probabilidade de morte das larvas de mosquitos depois de um período de 16 h de exposição aos predadores. O experimento de campo de seleção de sítio de oviposição indicou a existência de contágio negativo na mesma intensidade em resposta a '3 libélulas', '3 notonectídeos' e 'combinação de predadores', mas os mosquitos não evitaram manchas com '1 libélula' e '3 belostomatídeos'. Não foi possível estimar a extensão do contágio espacial pelo fato de a maior parte dos modelos não lineares terem apresentado problemas de execução (modelos não lineares seriam necessários para identificar o ponto onde o contágio deixaria de existir). Por isso, a descrição das respostas dos mosquitos aos predadores foi feita utilizando um modelo linear. A intersecção entre a reta do controle e tratamentos de predação mostrou que o contágio deve se estender pelo menos entre 2 e 3 m. Identificou-se ampla variação no risco de predação quantificado em laboratório. O risco médio de morte foi maior para culicídeos expostos a '3 belostomatídeos', seguido da 'combinação de predadores', '3 libélulas', '1 libélula', '3 notonectídeos' e o 'controle'. Apesar de ter havido uma correlação positiva entre a intensidade da evitação espacial e o risco de predação tal correlação foi fraca. Principalmente porque '3 belostomatídeos' e '1 libélula' se desviaram do esperado. É possível que os belostomatídeos não tenham sido reconhecidos devido a algum tipo de camuflagem química e que apenas um indivíduo de libélula não tenha sido suficiente para gerar uma pista de predação que pudesse ser reconhecida pelos culicídeos. Portanto, este trabalho corrobora a existência do contágio negativo e indica que o risco de predação quantificado no laboratório não necessariamente repercutiu em respostas proporcionais de evitação ao predador e contágio negativo no experimento de campo.

Palavras-chave. comunidades, densidade de predadores, dependência do contexto, qualidade da mancha, identidade do predador, metacomunidades, múltiplos predadores.

ABSTRACT

The quality perceived by individuals of a habitat patches and, consequently, the colonization dynamics resulting of the patch, does not depend only of the individual quality that is perceived of the patch. It also depends of the spatial context where the patch is inserted. If the perceived quality of a specific patch is altered by the quality of the nearby patches, then, there is spatial contagion. It has already been shown that there is contagion in the presence of the predator (negative contagion). However, so far only a search has investigated the spatial extent of negative contagion and there is no research that has tested whether spatial contagion and its extent are proportional to the risk of predation. This work integrates a field experiment and a laboratory experiment to verify: a) if patch with predators is avoided, b) if there is negative contagion, c) and if the intensity of the spatial avoidance and spatial extent of contagion are proportional to the predation risk. The field experiment tested a selection of oviposition site by mosquitoes of the genus *Culex* in order to respond if there was avoidance to the predator, contagion and, also, to recognize the spatial extent of contagion in response to predation regimes at different predation risks (control, 1 dragonfly, 3 dragonflies, 3 notonectids, 3 giant water bugs and combination of predators, this is, '1 dragonfly + 1 notonectid + 1 giant waterbug'). In the field experiment aquatics patches were simulated by the use of plastic boxes (with water and nutrients) installed along a sequence of bodies of water. The experimental unit was equivalent to a set of five boxes arranged in linear transect. Among the five boxes only one box received predators, the box which occupied the position 0 m, and all others were positioned at different distances in relation to the box with predator: 1 m, 2 m, 4 m and 8 m. The laboratory experiment quantified the predation risk of the same predation regimes tested in the field. The risk of predation was represented by the calculation of the probability of death of mosquito larvae after a period of 16 h of exposure to predators. The oviposition site selection field experiment indicated negative contagion at the same intensity in response to '3 dragonflies', '3 notonectids' and 'combination of predators', but mosquitoes did not avoid patch with '1 dragonfly' and '3 giant water bugs'. It was not possible to estimate the extent of spatial contagion by the fact that most nonlinear models presented problems of execution (nonlinear models would be necessary to indicate the point where the contagion would cease to exist). Therefore, the description of the mosquitoes responses was made using a linear model. The intersection between a return control and predation treatments has shown that the contagion should extend at least between 2 and 3 m. Was identified a broad variation in the predation risk quantified in the laboratory. The mean probability of death was higher for culicids exposed to '3 giant water bugs', followed by 'combination of predators', '3 dragonflies', '1 dragonfly', '3 notonectids' and the 'control'. Although there was a positive correlation between the intensity of spatial avoidance and the predation risk such a correlation was weak. Mainly because '3 giant water bugs' and '1 dragonfly' deviated from expected. It is possible that the giant waterbugs have not been recognized due to some kind of chemical camouflage and that only an individual of a dragonfly was not able to generate a clue of predation that is recognized by the culicids. Therefore, this work corroborates the existence of negative contagion and shows that predation risk quantified in the laboratory does not necessarily reverberated proportional responses of avoidance to the predator and negative contagion in the field experiment.

Keywords. community, context dependence, density of predators, metacommunity, multiple predators, patch quality, predator identity.

INTRODUÇÃO

Indivíduos selecionam manchas de hábitat de maior qualidade para maximizar a sobrevivência e reprodução (Fretwell & Lucas 1970). Da perspectiva de um único indivíduo, a qualidade das manchas pode ser interpretada como a taxa per capita de crescimento da população, que é obtida frente à ocupação de manchas específicas (Johnson 2005, 2007). Dessa forma, a qualidade das manchas percebida pelos indivíduos pode ser descrita como “uma função complexa envolvendo a aptidão esperada, capacidade sensorial e algoritmo comportamental evolutivo ou de aprendizado” (Resetarits & Silberbush 2016). Nesse contexto, a seleção natural deverá favorecer os indivíduos que distinguem manchas de alta qualidade das manchas de baixa qualidade (Johnson 2005), sendo esta distinção percebida pelos indivíduos de forma inata, possuindo base genética devido a experiências de gerações anteriores, e/ou de forma aprendida, devido a experiências recentes dos próprios indivíduos (Hutto 1985; Stamps 2009).

É reconhecido que os indivíduos respondem a gradientes ambientais de recursos, como alimento (Heino *et al.* 2008; Schoolmaster 2013), de condições, como gradientes de temperatura e de precipitação (Grinnell 1917; Karr & Freemark 1983), além de responderem a interações intraespecíficas (Fretwell & Lucas 1970; Rosenzweig 1981; Morris 1987) e interespecíficas (Brown 1988, 1992). Por exemplo, os indivíduos tendem a evitar manchas com predadores (Binckley *et al.* 2003; Silberbush & Blaustein 2011; Staats *et al.* 2016) e buscam escapar da competição intraespecífica evitando manchas que tenham alta densidade de coespecíficos (Forsman *et al.* 2008). Os indivíduos também podem ter preferência por manchas que estejam livres de parasitas (Kiesecker & Skelly 2000) e por manchas que tenham nutrientes de alta qualidade (Riesch *et al.* 2007). Além disso, os indivíduos também podem selecionar determinadas manchas para evitar a dessecação (Saward-Arav *et al.* 2016) e terem preferência por manchas onde o substrato tenha cores específicas (Liu *et al.* 2014).

Sendo assim, os indivíduos não usam e não ocupam manchas de hábitat aleatoriamente no espaço geográfico, pelo contrário, eles são capazes de avaliar a qualidade das manchas disponíveis (Fretwell & Lucas 1970; Morris 2003) e de selecionar conjuntos de manchas onde eles possam realizar atividades específicas como forrageamento, descanso e oviposição (Stamps 2009). Entre as diversas atividades para as quais os indivíduos selecionam manchas, a escolha de manchas para oviposição acaba tendo forte impacto sobre a progênie (Fouqueray 2013). Ainda mais em espécies que não realizam cuidado parental ou nas quais os juvenis não se dispersam, já que o desenvolvimento dos estágios iniciais dos indivíduos acaba dependendo muito da qualidade das manchas de hábitat selecionadas pelas fêmeas (Kiflawi *et al.* 2003; Mitchell *et al.* 2015; Touchon & Worley 2015). Por isso, em animais ovíparos, a decisão das fêmeas de onde depositar os ovos é uma decisão importante, pois pode gerar consequências diretas sobre o desenvolvimento (Bonebrake *et al.* 2010), a sobrevivência (Masakado & Matsushima 2005) e até mesmo sobre o fenótipo da progênie (Bernardo 1996).

Assim, quando os indivíduos buscam por manchas eles avaliam um conjunto de pistas potenciais em refletir a qualidade relativa das manchas que eles encontram disponíveis (Fretwell & Lucas 1970; Stamps 2009). As pistas são estímulos que se originam de fatores bióticos e abióticos (Stamps 2009). A presença de predadores em manchas de hábitat é uma das principais pistas utilizadas por diferentes animais durante a avaliação da qualidade da mancha a ser colonizada (mosquitos: Vonesh & Blaustein 2010; Resetarits & Silberbush 2016; besouros: Resetarits & Binckley 2009, 2013; Resetarits 2018; anfíbios: Binckley, Resetarits, & Resetarits Jr. 2003; Resetarits 2005). O reconhecimento de predadores em ambientes aquáticos pode ocorrer, por exemplo, pela utilização de pistas visuais (Oliveira *et al.* 2017), pela vibração da água (Roberts 2017) e/ou pela percepção de pistas químicas (Angelon & Petranka 2002; Elert 2012; Eveland *et al.* 2016). As pistas químicas são denominadas de infoquímicos, que são substâncias químicas

micas que carregam informações e medeiam a interação entre dois indivíduos, gerando uma resposta adaptativa no receptor (Dicke & Grostal 2001). Especificamente, a pista química de predação é um infoquímico da categoria de cairomônios, que são informações químicas geradas por um indivíduo de uma espécie e recebidas por um indivíduo de outra espécie e que, frequentemente, acabam beneficiando o receptor, a presa, e prejudicando o emissor, o predador (Dicke & Grostal 2001). As pistas químicas podem ser não voláteis ou voláteis. Quando não voláteis, a percepção da qualidade de uma mancha deve acontecer pelo contato direto dos indivíduos com a mancha. Por exemplo, fêmeas de mosquitos podem avaliar a qualidade de uma mancha por meio de quimiorreceptores de contato presentes em seus tarsos e labelas da probóscide (Consoli & Oliveira 1994). Dessa forma, a identificação de pistas não voláteis acaba dependendo do contato direto dos mosquitos com as manchas, ou seja, com a água, já que o contexto aqui apresentado refere-se à avaliação de uma mancha aquática (Day 2016). Por outro lado, quando a pista é volátil ela é percebida quimicamente no ar sem a necessidade de que haja contato direto com a água (Silberbush & Blaustein 2008; Silberbush *et al.* 2010). Por exemplo, foi demonstrado em experimentos que os mosquitos são capazes de perceber a presença de predadores nas manchas apenas pelo reconhecimento de químicos voláteis no ar (Silberbush & Blaustein 2008; Silberbush *et al.* 2010). Não existem muitas informações na literatura sobre os constituintes químicos dos cairomônios responsáveis por gerar a pista de predação. Porém, um experimento identificou que o predador *Notonecta maculata* libera dois hidrocarbonetos, o *n*-heneicosano e o *n*-tricosano, químicos voláteis que repeliram a oviposição das fêmeas de *Culex longiareolata* em um experimento de seleção de sítios de oviposição (Silberbush *et al.* 2010).

A seleção de manchas de hábitat pelos indivíduos não é algo que depende apenas da qualidade intrínseca da mancha (Resetarits *et al.* 2005). Em outras palavras, a presença de predadores e/ou baixa disponibilidade de recursos não implica necessariamente

em forte evitação espacial, da mesma forma que a ausência de predadores e/ou a alta disponibilidade de recursos não implica necessariamente em forte atração espacial. Isso ocorre porque, além da qualidade intrínseca da mancha, importa como a qualidade da mancha é percebida pelos indivíduos colonizadores.

Surpreendentemente, a percepção que os indivíduos têm quanto à qualidade de uma mancha de hábitat pode ser alterada dependendo da qualidade que eles percebem das manchas vizinhas (Resetarits *et al.* 2005; Deans & Chalcraft 2017; Trekels & Vanschoenwinkel 2019). Consequentemente, a dinâmica de colonização das manchas de hábitat isoladas acaba não dependendo apenas da qualidade intrínseca percebida, mas, também, do contexto espacial no qual a mancha se insere (Resetarits *et al.* 2005; Wesner *et al.* 2012; Deans & Chalcraft 2017; Trekels & Vanschoenwinkel 2019). Quando a qualidade de uma mancha ou conjunto de manchas altera a percepção dos indivíduos quanto à qualidade de uma mancha específica dizemos que há contágio espacial (Resetarits 2005, 2018; Resetarits *et al.* 2005; Resetarits & Binckley 2009, 2014; Wesner *et al.* 2012, 2015; Resetarits & Silberbush 2016).

Sendo assim, manchas de hábitat que possuem alta qualidade podem ser percebidas pelos indivíduos como sendo de baixa qualidade simplesmente devido à proximidade a manchas de baixa qualidade (contágio negativo; *e.g.*, Resetarits 2005; Resetarits & Silberbush 2016; Trekels & Vanschoenwinkel 2019). O contrário também pode acontecer, isto é, manchas de baixa qualidade podem ser percebidas como sendo de alta qualidade devido à proximidade a manchas de alta qualidade (contágio positivo; *e.g.*, Hughey *et al.* 2012; Trekels & Vanschoenwinkel 2019).

No caso do contágio espacial que ocorre em resposta à presença de predadores em manchas de hábitat, não se sabe exatamente por que os indivíduos evitariam colonizar manchas sem predadores que se encontram próximas às manchas com predadores (Resetarits & Silberbush 2016). Existem pelos menos duas linhas de discussão. A pri-

meira, é que os indivíduos não conseguiriam distinguir manchas que estão muito próximas como manchas separadas ou distintas (Resetarits & Silberbush 2016). A segunda, é que os indivíduos seriam capazes de distinguir entre diferentes manchas, mas que evitariam ocupar manchas vizinhas às manchas com predadores para diminuir as chances de que o predador, frente a uma mudança ambiental, se desloque facilmente até a mancha onde eles estão (Resetarits & Silberbush 2016).

No contexto de investigação do contágio espacial, uma questão importante que foi levantada muito recentemente é sobre a extensão do contágio, ou seja, se é um fenômeno muito local ou se é um fenômeno que se estende ao longo das distâncias espaciais em nível de metacomunidades (Resetarits 2018). A primeira publicação que abordou esse assunto quantificou a extensão do contágio espacial avaliando a colonização de manchas de hábitat por besouros na presença de uma espécie de peixe. Os principais resultados mostraram que a presença de peixes (dois indivíduos por mancha) teve impacto sobre a abundância geral de besouros dentro de uma área com extensão de pelo menos 17 vezes a área da mancha que continha o predador. Adicionalmente, a extensão do contágio variou dependendo da espécie colonizadora, de zero até 30 vezes o tamanho da mancha com peixes (Resetarits 2018). Quantificar a extensão do contágio é importante para reconhecer o alcance espacial que a pista da qualidade de uma mancha pode ter no ambiente e o impacto do alcance espacial da pista sobre a montagem de comunidades e metacomunidades. Por exemplo, Resetarits (2018) encontrou que a existência do contágio espacial teve influência sobre a abundância geral de besouros, que mudou ao longo das distâncias testadas, sendo maior nas manchas de hábitat mais distantes dos predadores. Portanto, havendo contágio espacial as manchas que compõem metacomunidades podem mudar estruturalmente (*i.e.*, quanto ao número, composição e abundância das espécies) ao longo da distância da mancha de baixa qualidade (*e.g.*, com predadores) ou de alta qualidade (*e.g.*, sem predadores).

Os indivíduos tendem a evitar manchas de hábitat com predadores dependendo do risco de predação conferido a eles (Silberbush & Blaustein 2011; Segev *et al.* 2017). O risco de predação representa a probabilidade de os indivíduos serem mortos pelos seus predadores durante um intervalo de tempo (Lima & Dill 1990). A fonte de variação do risco de predação é diversa. O aumento da densidade de predadores, a identidade dos predadores (relacionada à espécie do predador) e a combinação de diferentes predadores (diferentes espécies de predadores) podem ser potenciais em expressar diferentes magnitudes do risco de predação (baixo risco até alto risco de predação).

O aumento do número de indivíduos (densidade) de um predador pode repercutir em um aumento na taxa de predação de presas (Eveleigh & Chant 1982). Já foi demonstrado em estudos de seleção de sítio de oviposição que *Culiseta longiareolata* preferiu ovipor em manchas de hábitat que possuíam menor densidade de *Notonecta maculata* (Silberbush & Blaustein 2011). Também já foi demonstrado que *Culex* preferiram ovipor em manchas com menor densidade de *Gambusia affinis*, sendo observado, inclusive, contágio espacial proporcional à densidade do predador na mancha e na localidade (*i.e.*, conjunto de manchas; veja Resetarits & Silberbush 2016).

Diferentes espécies de predadores podem gerar diferentes impactos sobre as comunidades, modificando, por exemplo, a abundância de presas (Chalcraft & Resetarits 2003) e a estrutura de comunidades (McPeeK 1998). Assim, predadores de diferentes espécies são potenciais em diferir no consumo de presas (Kweka *et al.* 2011; Morrison *et al.* 2016; Segev *et al.* 2017). Nesse contexto, a identidade do predador, quando relacionada especificamente à taxa de predação, pode ser descrita como o desempenho ou a voracidade do predador no consumo de presas por unidade de tempo. Como diferentes espécies de predadores podem diferir quanto à taxa de predação, consequentemente, as espécies podem refletir diferentes riscos de predação às presas. Conforme já foi demonstrado em experimento de seleção de sítio de oviposição por mosquitos do gênero

Culex que depositaram mais jangadas de ovos nas manchas de hábitat que tinham predadores menos vorazes (*i.e.*, menor taxa de predação) do que nas manchas que tinham predadores mais vorazes (*i.e.*, maior taxa de predação; Segev *et al.* 2017).

Quando a combinação de diferentes espécies de predadores aumenta a taxa de predação, em comparação com a taxa de predação isolada de cada espécie, se diz que há um padrão que emerge da combinação de diferentes predadores que maximiza a taxa de predação (Sih *et al.* 1998). A principal explicação de existir um padrão emergente é que predadores com diferentes tipos de estratégias de predação seriam capazes de aumentar as possibilidades de encontro das presas com seus predadores (Sih *et al.* 1998). Por exemplo, Soluk & Collins (1987) encontraram por meio da execução de um experimento que a mortalidade de *Ephemerella* na presença conjunta de *Cottus* e *Agnentina* aumentou em comparação com o efeito isolado dos predadores (apenas *Cottus* e apenas *Agnentina*). Uma possível explicação apresentada pelos autores para o aumento do risco de predação na presença de ambos os predadores é que quando *Agnentina* está presente no ambiente as larvas de *Ephemerella* passam a ocupar mais frequentemente regiões do substrato que são acessíveis a *Cottus* (Soluk & Collins 1987). Assim, a tentativa de escapar de um predador fez com que a presa se tornasse acessível a outro predador. Portanto, a combinação de diferentes predadores pode repercutir em maior risco de predação às presas. Consequentemente, tal risco de predação pode ser percebido pelos indivíduos durante a colonização de manchas de hábitat no ambiente. Por exemplo, um experimento de seleção de sítio de oviposição com dípteros mostrou que houve a deposição de menos desovas nas manchas de hábitat que possuíam maior riqueza de predadores (*i.e.*, número maior de espécies de predadores; Staats *et al.* 2016).

É mais provável que o comportamento de seleção de sítio de oviposição em resposta ao risco de predação aconteça quando, os animais possuem poucos eventos reprodutivos ao longo do ciclo de vida, os ovos de cada evento são depositados juntos em um

único sítio e a progênie fica vulnerável ao predador (Blaustein 1999). Mosquitos, como os do gênero *Culex*, atendem a esses critérios e são considerados bons modelos de estudo para testar hipóteses sobre a seleção de sítios de oviposição (Blaustein *et al.* 2004; Eveland *et al.* 2016; Resetarits & Silberbush 2016). Os mosquitos geralmente possuem ciclos gonotróficos que compreendem a procura de um hospedeiro para obtenção de sangue, digestão do sangue para maturação dos ovos e localização de um sítio adequado para oviposição (Charlwood *et al.* 1980). Ao término de cada ciclo gonotrófico um lote de ovos se desenvolve e um novo ciclo pode se iniciar caso ocorra outro repasto sanguíneo (Charlwood *et al.* 1980), sendo que ao ingerirem o sangue as fêmeas podem demorar de 5 a 8 dias para realizar um novo evento de oviposição (Salazar & Moncada 2004). Além dessas características, para proteger a progênie da predação, as fêmeas de *Culex* evitam ovipor em manchas que tenham predadores (Ohba *et al.* 2012; Andrade *et al.* 2016; Eveland *et al.* 2016), além de também já ter sido demonstrado padrões de contágio espacial em resposta à predação utilizando *Culex* como modelo de estudo (Resetarits & Silberbush 2016; Trekels & Vanschoenwinkel 2019).

Nesse contexto, a percepção que os mosquitos têm quanto ao risco de predação nos ambientes é um dos principais fatores que influencia nas escolhas das manchas para oviposição (Ohba *et al.* 2012; Eveland *et al.* 2016; Staats *et al.* 2016). Dessa forma, é esperado que as respostas comportamentais de seleção de sítios de oviposição por mosquitos, relacionadas à existência e à extensão do contágio espacial, variem dependendo da magnitude do risco de predação percebido pelos mosquitos. Uma forma de quantificar o risco de predação gerado por diferentes predadores (*i.e.*, risco de predação relacionado com a densidade de predadores, identidade de predadores e combinação de diferentes predadores) é por meio da realização de experimentos em laboratório que quantifiquem a taxa de consumo de presas pelos predadores.

Ainda não foram executados trabalhos que tenham testado a extensão do contágio espacial em resposta a diferentes regimes de predação potenciais em refletir diferentes magnitudes do risco de predação. Também não foram executados trabalhos que tenham testado a existência e extensão do contágio espacial integrando experimentos de campo, para obter as respostas de seleção de sítios de oviposição, com experimentos de laboratório, para a quantificação da magnitude do risco de predação, possibilitando a comparação das respostas de ambos os experimentos. Portanto, este trabalho integra um experimento de campo com um experimento de laboratório para testar a existência e extensão do contágio espacial em resposta ao risco de predação, descrito por diferentes regimes de predação, aqui representados pela densidade do predador, combinação de diferentes predadores e identidade do predador. Foram testadas as seguintes hipóteses:

(a). A seleção de sítio de oviposição ocorre quando há manchas de hábitat que diferem quanto à qualidade, no caso, presença de predadores. Assim, manchas de maior qualidade (sem predadores) são selecionadas em detrimento das manchas de menor qualidade (com predadores), (b). A percepção dos indivíduos quanto à qualidade de uma mancha não depende apenas da qualidade individual da mancha, mas, também, da qualidade das manchas adjacentes, havendo contágio espacial negativo. Isto é, manchas sem predador adjacentes a manchas com predador também são evitadas pelos colonizadores (c). Manchas que impõem maior risco de predação são evitadas em maior intensidade e/ou por maiores extensões espaciais do que as manchas que impõem menor risco de predação. As previsões para cada hipótese, na respectiva ordem são (veja Figura 1): (a). Manchas contendo predadores receberão menos desovas do que manchas desprovidas de predadores, (b). Manchas desprovidas de predadores próximas a manchas com predadores receberão menos desovas do que manchas desprovidas de predadores distantes de manchas com predadores, (c). A intensidade e/ou extensão do contágio espacial terá uma correlação positiva com o risco de predação.

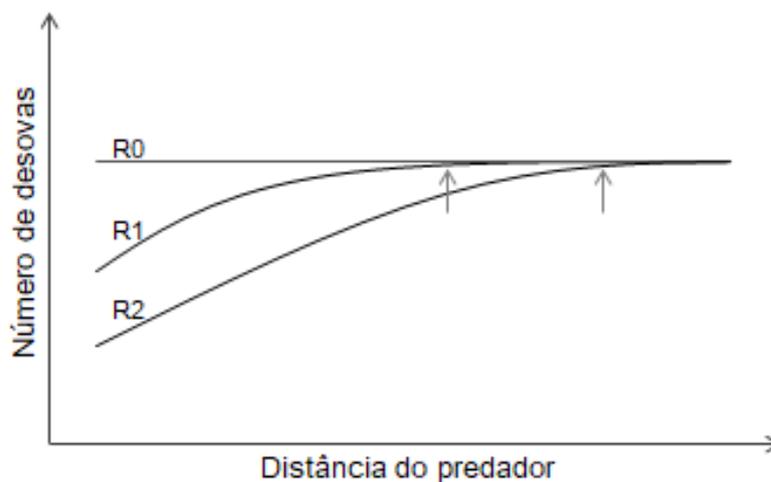


Figura 1. Previsões para a seleção de sítios de oviposição na presença do contágio espacial negativo induzido e proporcional ao risco de predação. Na presença de contágio espacial negativo manchas adjacentes à mancha contendo o predador recebem menos eventos de oviposição do que seria esperado para sua qualidade individual (sem interferência de outras manchas). A hipótese de trabalho é que o contágio espacial negativo é mais intenso e/ou mais extenso quanto maior o risco de predação ($R2 > R1$); as setas demarcam a extensão do contágio, indicando onde o contágio deixa de existir. Como referência é apresentada uma curva do número de eventos de oviposição em função da distância na ausência de contágio e/ou na ausência de predadores ($R0$). No gráfico, 'R' representa o risco de predação. Foram representados três diferentes magnitudes do risco de predação: ausência de risco ou risco zero ($R0$), baixo risco ($R1$) e alto risco ($R2$).

MATERIAIS E MÉTODOS

Experimento de seleção de sítios de oviposição

Área de estudo

O experimento de campo para testar a existência e extensão do contágio espacial na escolha de sítios de oviposição por *Culex* foi conduzido na Estação Ecológica de Santa Bárbara (22°48'59"S e 49°14'12"W), situada no município de Águas de Santa Bárbara, São Paulo, Brasil. De acordo com a classificação climática de Köppen-Geiger (atualizada por Peel *et al.* 2007) Santa Bárbara está em uma região de clima Cwa, ou seja, clima temperado com inverno seco e verão quente. Na Figura 2 são mostrados dados de precipitação e de temperatura média mensal durante o período de abril de 2017 a março de 2018 (dados obtidos na Estação Meteorológica da Estação Ecológica de Santa Bárbara). Conforme os dados, a temperatura média na Estação atingiu valores mais altos

entre dezembro e março (22,7 a 24,1 °C) e valores mais baixos entre maio e agosto (15,6 a 19,1 °C). Já a precipitação foi bem reduzida entre junho e setembro (1,3 a 90,1 mm), aumentando em outubro e se estendendo até maio (182,7 a 242,1 mm com uma queda em fevereiro: 65,3 mm). Dentro da Estação, que é constituída em sua maior parte por vegetação de Cerrado (Instituto Florestal 2011), a condução do experimento foi feita na área ao redor dos alojamentos. Essa área foi escolhida por ter extensão suficiente com características semelhantes, ambientes abertos adjacentes a corpos d'água, e de fácil acesso para a manutenção diária do experimento.

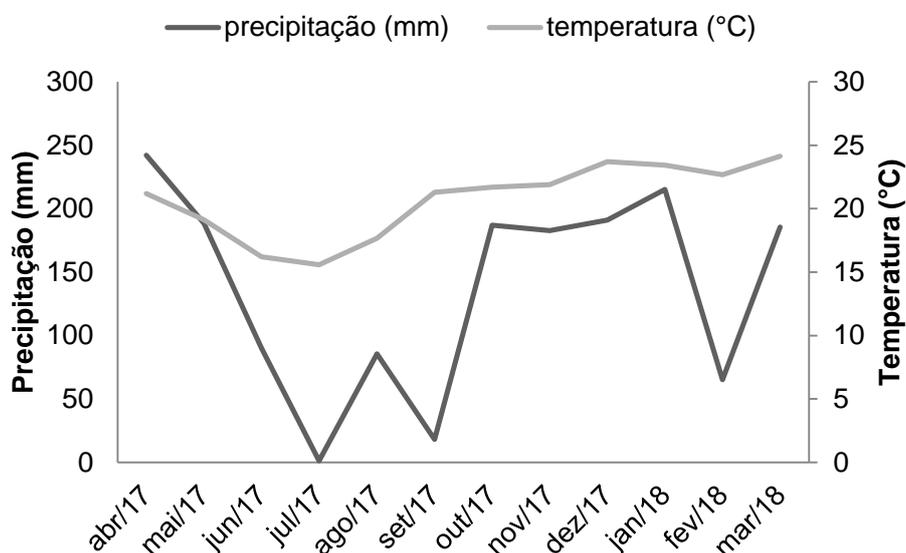


Figura 2. Variação da precipitação pluviométrica (mm) e da temperatura média mensal (°C) na Estação Ecológica de Águas de Santa Bárbara entre os meses de abril de 2017 e março de 2018. Os dados são da Estação Meteorológica que está localizada dentro da Estação Ecológica de Santa Bárbara. O experimento foi conduzido entre dezembro de 2017 e março de 2018. Ao longo do período de execução a precipitação total equivaleu a 191,1 mm em dezembro, 215,3 em janeiro, 65,3 em fevereiro e 185,6 em março. Já a temperatura média mensal equivaleu a 23,7 °C em dezembro, 23,4 °C em janeiro, 22,7 °C em fevereiro e 24,1 °C em março.

Seleção de predadores

Como as hipóteses (a), (b) e (c) seriam mais efetivamente testadas com a manipulação de uma ampla variação no risco de predação (desde alto risco até baixo risco), foi analisada a literatura disponível (*eg.*, Shaalan *et al.* 2007; Kweka *et al.* 2011) e conduzidos experimentos pilotos sobre a taxa de predação de larvas de culicídeos por pre-

adores presentes na área de estudo. A taxa de predação de larvas de culicídeos foi mensurada considerando predadores de libélulas (Anisoptera e Zygoptera), percevejos aquáticos (Notonectidae e Belostomatidae) e um peixe (*Phalloceros* sp.).

Um primeiro experimento piloto foi executado com três indivíduos de cada um dos predadores (Anisoptera, Belostomatidae, *Phalloceros* sp. e Zygoptera). Foram ofertadas 14 larvas de culicídeos por indivíduo de predador e o experimento durou 24 h. Anisoptera consumiu em média (\pm DP) $8,66 \pm 6,35$ larvas, Belostomatidae consumiram todas as larvas, *Phalloceros* sp. consumiu $5,33 \pm 5,50$ larvas e Zygoptera consumiu $8,33 \pm 0,57$ larvas. Já um segundo experimento piloto foi executado com duração de 12 h e considerando apenas predadores de Notonectidae e Belostomatidae. Foram utilizados quatro indivíduos de cada predador e ofertadas cinco larvas de culicídeos para cada indivíduo. Notonectidae consumiu em média (\pm DP) $1,25 \pm 0,5$ larvas e Belostomatidae consumiu todas as larvas. O peixe foi considerado um bom candidato porque outros trabalhos sobre contágio espacial na seleção de sítios de oviposição por *Culex* já haviam utilizado peixes como predadores nos experimentos (Resetarits & Silberbush 2016; Trekels & Vanschoenwinkel 2019). Dessa forma, foram selecionados três predadores: *Phalloceros* sp., *Belostoma* (Hemiptera: Belostomatidae) e *Martarega* (Hemiptera: Notonectidae). Entretanto, *Phalloceros* sp. se mostrou muito sensível às condições físicas dos recipientes experimentais (possivelmente devido ao baixo oxigênio dissolvido e/ou alta temperatura). Após iniciar o experimento de seleção de sítios de oviposição em dezembro de 2017, no primeiro dia de coleta das desovas, todos os peixes foram encontrados mortos nas caixas experimentais. Por isso, todos os peixes foram retirados das caixas experimentais e substituídos no mesmo dia por larvas da libélula de *Erythrodiplax* (Odonata: Libellulidae), abundantes no ambiente e de fácil coleta. As desovas coletadas no primeiro dia do experimento (em dezembro de 2017) nas caixas experimentais que continham o peixe *Phalloceros* sp. não foram consideradas.

Portanto, o experimento foi conduzido com três predadores considerados potenciais em refletir diferentes magnitudes do risco de predação aos mosquitos: *Belostoma* (Hemiptera: Belostomatidae), *Martarega* (Hemiptera: Notonectidae) e *Erythrodiplax* (Odonata: Libellulidae). As espécies pertencentes aos dois gêneros de hemípteros predadores consomem suas presas pela sucção do conteúdo corpóreo (Menke 1979; Streatams 1987). Belostomatidae possui estratégia de forrageio senta e espera e geralmente se ancora na vegetação aquática onde espera pela aproximação de suas presas (Menke 1979; observação pessoal). Notonectidae passa a maior parte do seu tempo nadando na coluna d'água (Ribeiro *et al.* 2014; observação pessoal) predando principalmente as presas que ocupam esse microhabitat (Klecka & Boukal 2012). Larvas de Libellulidae vivem em ambientes variados e são descritas como eficientes predadoras bentônicas senta e espera que possuem um lábio preênsil que se projeta para capturar suas presas (Neiss & Hamada 2014; Corbet 1962; observação pessoal).

Delineamento experimental

Para testar as hipóteses (a), (b) e (c) foi conduzido um experimento que teve como unidade experimental um conjunto de cinco caixas plásticas de cor preta. Optou-se por caixas pretas pela preferência das fêmeas de mosquitos na oviposição por recipientes mais escuros (Kumawat *et al.* 2014; Liu *et al.* 2014). Cada caixa representou uma mancha de hábitat aquático e cada conjunto de cinco manchas foi denominado de localidade (Figura S1 do Apêndice A), ou seja, uma área que contém mais de uma mancha de hábitat (de acordo com Resetarits & Silberbush 2016).

O experimento foi executado com um controle e cinco tratamentos de predação (1 libélula, 3 libélulas, 3 notonectídeos, 3 belostomatídeos e combinação de predadores '1 libélula + 1 notonectídeo + 1 belostomatídeo') elaborados com os predadores selecionados (libélula *Erythrodiplax*, notonectídeo *Martarega* e belostomatídeo *Belostoma*).

Mediante os tratamentos de predação definidos buscou-se maximizar a variação no risco de predação por meio da manipulação da densidade do predador (1 libélula vs. 3 libélulas), da identidade do predador (3 libélulas vs. 3 notonectídeos vs. 3 belostomatídeos) e da combinação de predadores (3 libélulas, 3 notonectídeos ou 3 belostomatídeos vs. 3 predadores diferentes: 1 libélula + 1 notonectídeo + 1 belostomatídeo).

A construção do experimento também exigiu manter diferentes distâncias entre quatro manchas sem predador em relação a uma mancha com predador. Assim, a disposição das manchas *in loco* foi feita de acordo com a distância do predador. Sendo que, em cada localidade, apenas uma mancha possuía predador (a que ocupou a posição de 0 m, Figura 3), e todas as demais foram posicionadas em diferentes distâncias em relação à mancha com predador (1 m, 2 m, 4 m e 8 m). No caso do controle, nenhuma mancha continha predador. Para acomodar os predadores, foram construídas gaiolas (12 cm x 16 cm x 25 cm) de arame encapado recobertas com tela preta de mosquiteiro (malha de 1.5 mm x 1.5 mm). Para garantir a estabilidade das gaiolas, foram colocadas duas lajotas (de 11 cm x 11 cm) empilhadas na base de cada gaiola. Todas as caixas simulando as manchas de hábitat mediam 63 cm x 46 cm x 26 cm (capacidade de 58 L) e, independentemente de terem ou não predadores, cada mancha recebeu três gaiolas.

Para definir a posição *in loco* dos tratamentos de predação, controle e respectivas réplicas, foi realizado um sorteio com 12 localidades previamente selecionadas, onde foram instaladas as unidades experimentais (Figura 4). Nas localidades as manchas foram dispostas em transectos lineares paralelos (de 20 a 31 m de distância) a uma sequência de corpos d'água constituídos por um riacho, um lago e uma represa, ambientes que presumivelmente serviriam como principais fontes de migrantes. Para que não houvesse interferência da pista de predação entre localidades, além das restrições logísticas impostas pela extensão e grau de cobertura ripária dos corpos d'água, a distância entre localidades variou aproximadamente de 50 a 150 m (Figura 3). Na instalação *in loco* das

manchas nas localidades sorteou-se a extremidade (à direita ou à esquerda) que a mancha com predador ocuparia (Figura 3).

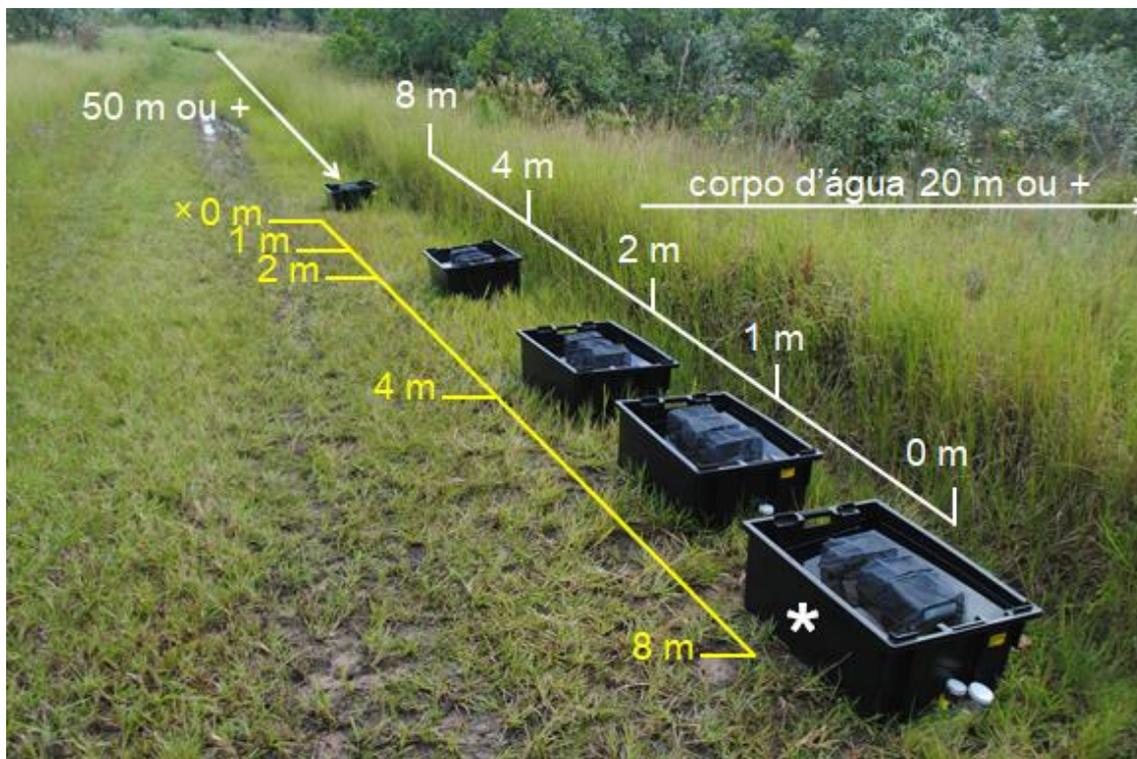


Figura 3. Disposição da unidade experimental. A posição da mancha contendo o predador (*) foi sorteada. Na imagem, a mancha com predador (0 m) está à direita de um observador (*), mas poderia estar à esquerda (x), o que mudaria a disposição das demais caixas. A distância mantida entre localidades foi de 50 a 150 m e a distância entre localidades e corpos d'água foi de 20 a 32 m.

Por conta do grande número de tratamentos de predação (5 + controle), seria logisticamente impossível atingir replicação simultânea adequada. Por isso, o experimento foi replicado em blocos temporais ao longo de quatro meses subsequentes: dezembro de 2017 e janeiro, fevereiro e março de 2018. Em cada bloco temporal, foram feitas duas réplicas de cada tratamento e controle por distância, sendo que cada um dos blocos temporais teve duração de 15 dias. No final, foram obtidas oito réplicas de cada tratamento de predação e do controle por distância (réplicas dependentes do bloco temporal “mês”, veja discussão no item “Análise de dados”).

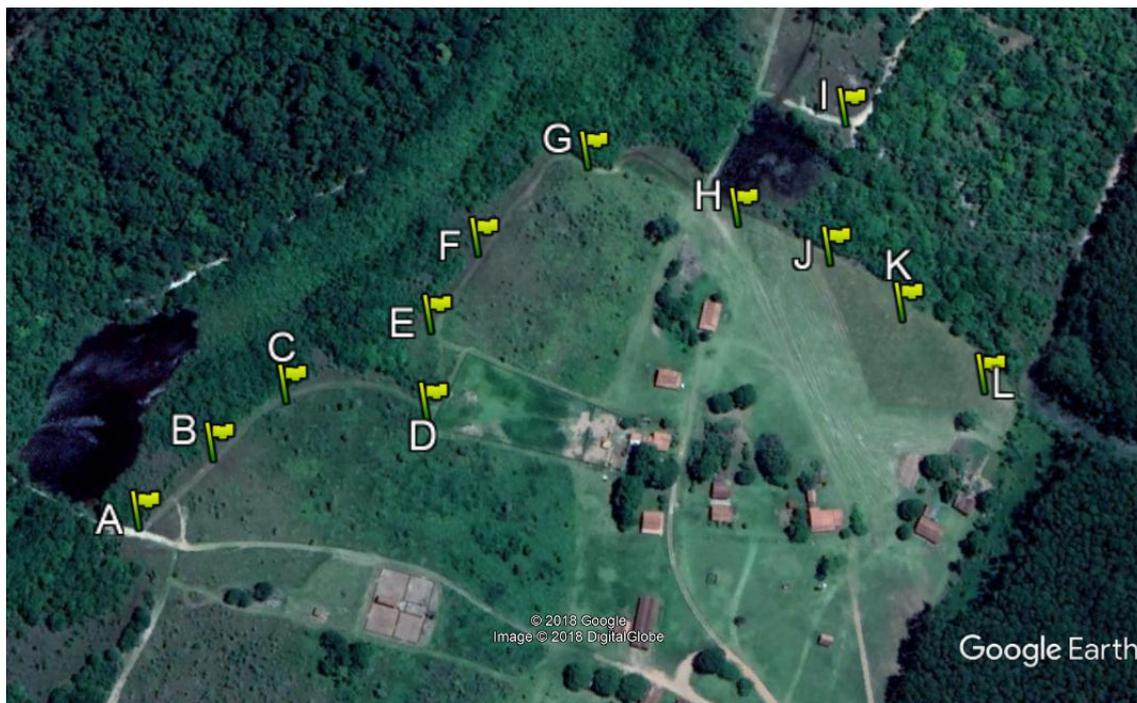


Figura 4. Localização geográfica das doze localidades onde foram instaladas as unidades experimentais (de A até L).

Preparação do experimento

Predadores foram coletados nos mesmos corpos d'água da área de estudo de um a três dias antes do início de cada bloco temporal e mantidos em recipientes individuais contendo entre 150 a 200 ml de água. O comprimento médio (\pm DP) dos predadores utilizados foi $18,52 \pm 0,64$ mm para *Belostoma*, $6,21 \pm 0,52$ mm para *Martarega* e $14,40 \pm 1,67$ mm para *Erythrodiplax*. Cada predador foi alimentado a cada um ou dois dias preferencialmente com três larvas de *Culex*. Na falta de *Culex*, foram ofertadas três larvas de Zygoptera. Na preparação do experimento, a instalação das manchas *in loco* ocorreu enchendo cada uma com 42 L de água de poço e 2 L de infusão à base de alfafa (*Medicago sativa*), equivalendo a uma concentração de infusão de alfafa de 4,6% da solução total de 44 L. Essa infusão, foi preparada depositando-se em três caixas plásticas fechadas e expostas ao sol 400 g de alfafa e 50 L de água de poço (total de 150 L). Ao final de sete dias a solução resultante foi peneirada para aplicação.

A infusão foi aplicada em todas as manchas de hábitat para simular um ambiente com nutrientes necessários para colonização. O uso de infusão é frequente em estudos que monitoram a proliferação de mosquitos (Miyazaki *et al.* 2009; Oliveira & Muis 2014), pois fêmeas grávidas de mosquitos são geralmente atraídas por químicos voláteis produzidos a partir da decomposição da matéria orgânica pela ação de bactérias (Ponnusamy *et al.* 2015). Estudos de monitoramento da proliferação de mosquitos geralmente utilizam a infusão em uma concentração de 10% (Reiter *et al.* 1991; Nunes *et al.* 2011) ou mais (Miyazaki *et al.* 2009; Oliveira & Muis 2014) justamente porque esses trabalhos intensificam a atratividade das fêmeas de mosquitos para aumentar a captura de ovos (Reiter *et al.* 1991). A concentração da infusão na solução utilizada em campo foi abaixo do que geralmente é utilizado nos estudos de monitoramento de mosquitos, porque não era desejado que houvesse uma adição de nutrientes que viesse a se sobrepôr à pista de predação (Lima & Dill 1990).

Manutenção e monitoramento do experimento

Para garantir a presença contínua da pista de predação nas manchas, a cada quatro dias e, portanto, durante três vezes ao longo de cada bloco temporal, todos os predadores do experimento foram substituídos por indivíduos mantidos em laboratório e previamente alimentados (em dezembro, predadores foram substituídos apenas quando morriam). Além disso, a verificação dos predadores também foi feita diariamente e predadores porventura encontrados mortos foram substituídos no mesmo dia. Outra estratégia adotada para garantir a pista de predação e maximizá-la foi adicionar em toda a substituição de predador a água do recipiente onde os indivíduos estavam condicionados e eram alimentados, justamente porque a natureza da pista é diversa, como química volátil produzida pelo predador em si (Silberbush & Blaustein 2008) ou relacionada com o ato da predação em si, como injúria de larvas de mosquitos (Ferrari *et al.* 2007). Para

que as desovas de um dia não interferissem na oviposição das desovas do dia seguinte, as desovas foram coletadas diariamente, salvo nos dias em que choveu ou que foi necessário realizar outras atividades como reposição e alimentação de predadores no estoque mantido em laboratório. Em cada bloco temporal, a coleta das desovas não foi feita no máximo em dois dias dos quinze dias de experimento.

Além das desovas de mosquitos do gênero *Culex*, também foram identificadas e coletadas nas caixas experimentais as desovas de dois gêneros da família de Chironomidae: *Chironomus* e *Goeldichironomus*. A coleta das oviposições de Chironomidae foi feita para evitar qualquer interferência sobre as respostas de *Culex* e, também, pelo interesse de analisar os dados de Chironomidae em outro estudo. Para evitar quaisquer pistas que eventualmente viessem a confundir o que estava sendo testado, foram retirados diariamente das manchas insetos mortos e insetos aquáticos invasores. De forma a retirar mais eficientemente os invasores e, também, controlar eventual proliferação de larvas de mosquitos nas manchas, ao longo de cada bloco temporal, foram executadas duas filtrações da água de cada caixa experimental através de uma rede de zooplâncton com malha de tamanho de 300 µm. A cada filtração, a água foi armazenada em uma caixa de transferência e devolvida ao término do procedimento para a caixa fixa do experimento, sendo a caixa de transferência lavada com 1 L de água antes de realizar a próxima filtração d'água. Para obter informações de quais espécies de mosquitos estavam ovipondo nas manchas de hábitat, foram cultivadas algumas das desovas coletadas nas manchas, sendo as larvas alimentadas com ração para peixes *TetraMin* (45% proteína; Melle, Alemanha) até atingirem o quarto instar larval. Em alguns casos, foram obtidos os indivíduos adultos de *Culex*. As desovas, os predadores e o material proveniente das filtrações foram identificados e preservados em álcool 70%.

Quantificação do risco de predação

De forma a obter uma métrica contínua e objetiva do risco de predação foi conduzido um experimento em laboratório para quantificar a probabilidade de morte das larvas de culicídeos expostas a um controle e tratamentos de predação manipulados no campo (1 libélula, 3 libélulas, 3 notonectídeos, 3 belostomatídeos e combinação de predadores). Neste experimento foram utilizadas larvas de *Aedes aegypti* ao invés de larvas de *Culex* porque *A. aegypti* é rotineiramente criada em laboratórios de entomologia médica. Assim, foi possível obter com facilidade um grande número de ovos de *A. aegypti* para criação das larvas em laboratório. *A. aegypti* e *Culex* fazem parte da mesma família, Culicidae, e as suas larvas possuem tamanho corpóreo similar. Além disso, as larvas também usam o hábitat de forma similar, pois dependem da respiração do ar atmosférico e isso faz com que elas frequentem a superfície aquática com certa assiduidade (Forattini 2002). Os predadores utilizados no experimento de laboratório foram coletados na Estação Ecológica de Águas de Santa Bárbara em 12 e 18 de outubro de 2018. Predadores foram transportados até o laboratório da Escola de Artes, Ciências e Humanidades da Universidade de São Paulo onde foram mantidos alimentados com larvas de *Aedes aegypti*. O comprimento médio (\pm DP) dos predadores utilizados foi de $18,58 \pm 0,98$ mm para *Belostoma*, de $5,95 \pm 0,39$ mm para *Martarega* e de $15,54 \pm 0,81$ para *Erythrodiplax*. Como indicativo de que os predadores estavam em boas condições, foram utilizados apenas os indivíduos que tinham se alimentando normalmente durante o período de manutenção. Para padronizar o nível de fome, antes de iniciar o experimento, em 22 de outubro, os predadores permaneceram em jejum durante 36 h.

O controle e tratamentos de predação foram replicados cinco vezes. O experimento foi conduzido no laboratório mantendo a temperatura ambiente entre 22 °C e 23 °C. Predadores foram colocados em aquários (40 cm x 30 cm x 37 cm) que continham água até a altura de 10 cm e seis lajotas na base (de 11 cm x 11 cm). As lajotas foram

colocadas para criar uma área de atrito que permitisse o deslocamento dos predadores bentônicos, principalmente das libélulas. Três das seis lajotas foram amarradas (cada uma) a 4,5 m de fitas de náilon (13,5 m de náilon por aquário) para simular macrófitas. O objetivo foi de propiciar um ambiente de refúgio e descanso para predadores e presas, tornando o aquário mais próximo ao ambiente natural (Figura 5). Para que os predadores tivessem um período de reconhecimento do ambiente, eles foram colocados nos aquários 1 h antes de iniciar o experimento. Após esse período, cada aquário recebeu 160 larvas de *A. aegypti* do terceiro e quarto instar de desenvolvimento e, então, as larvas permaneceram 16 h em contato direto com os predadores (das 18 h do dia 22 até as 10 h do dia 23 de outubro de 2018). Para garantir que o fotoperíodo não viesse a interferir na atividade de alguns dos predadores (por exemplo, predadores mais ativos durante o dia do que à noite ou vice-versa), o experimento foi feito considerando um ciclo de 8 h de luz e 8 h de escuro. Na finalização do experimento, cada aquário foi esvaziado filtrando a água em rede de zooplâncton com malha de tamanho de 300 µm e contando o número de larvas vivas e mortas. Larvas vivas foram devidamente sacrificadas após a contagem. Existia a preocupação de que, no tratamento ‘combinação de predadores’, os belostomatídeos viessem a consumir os notonectídeos e as libélulas. Por isso, após 4 h de iniciar o experimento, todos os aquários foram checados para verificar se todos os predadores estavam vivos. Foi encontrado um notonectídeo consumido (apenas a carcaça do animal) em uma das réplicas do tratamento da ‘combinação de predadores’ e a decisão foi de substituir o indivíduo consumido por outro que estava no estoque. Uma segunda inspeção foi feita após o período de 14 h do início do experimento e foi encontrado um notonectídeo consumido em uma das réplicas do tratamento da ‘combinação de predadores’ e outro morto em uma das réplicas do tratamento ‘3 notonectídeos’. Nesse caso, não ocorreu a substituição dos predadores porque o experimento seria finalizado em 2 h e foi considerado que colocar outros indivíduos com níveis de fome diferen-

tes poderia interferir nos resultados do experimento. Os demais predadores permaneceram vivos até a finalização do experimento.

Para descrever o risco de predação utilizou-se a probabilidade de morte (proporção de larvas mortas) ao invés da probabilidade estrita de consumo (proporção de larvas consumidas). Adotou-se tal procedimento porque os experimentos (de campo e laboratório) ocorreram considerando um controle. Por isso, decidiu-se que a melhor representação do risco de predação seria expressar o número de larvas mortas em cada tratamento de predação e no controle, já que não há consumo de larvas no controle. Portanto, o controle foi utilizado para ter um referencial que permitisse saber quantas larvas morrerem quando o risco de predação é igual à zero. Sendo assim, o número de larvas mortas aqui descrito representou o número de larvas que são consumidas e/ou que morreram naturalmente ou devido a outras causas.



Figura 5. a. Disposição dos aquários no laboratório. b. Arranjo experimental mostrando os aquários com lajotas amarradas em fitas de náilon simulando macrófitas.

Análise de dados

As análises foram executadas utilizando o programa R versão 3.5.0 (R Core Team 2018) para ajustar modelos pela máxima verossimilhança com as funções “glm”, (no caso de modelos lineares generalizados), e “glmer” (modelo lineares generalizados com efeitos aleatórios), ambas do pacote lme4 versão 1.1-21 (Bates *et al.* 2015). Todas as análises foram feitas seguindo a abordagem de seleção de modelos, utilizando o Critério de Informação de Akaike (AIC), que considera o log da máxima verossimilhança e o

número de parâmetros estimados pelo modelo, penalizando modelos complexos (Burnham & Anderson 2002). Dessa forma, foi calculado o valor do AIC de cada modelo ajustado e com isso selecionado o modelo com menor AIC, considerado como o melhor modelo entre os modelos candidatos ((Burnham & Anderson 2002). O suporte do melhor modelo em relação ao conjunto de modelos é definido pela diferença entre os valores de AIC ($\Delta_i = AIC_i - AIC_{min}$) ((Burnham & Anderson 2002). Na seleção de modelos, o melhor modelo entre os concorrentes é o que possui $\Delta_i \equiv \Delta_{min} \equiv 0$, sendo a partir disso feita a diferença de AIC do melhor modelo (AIC_{min}) em relação a todos os outros modelos que foram ajustados (AIC_i) (Burnham & Anderson 2002). Foi adotada a indicação feita por Burnham & Anderson (2002), segundo a qual modelos com $\Delta_i \leq 2$ devem ser considerados igualmente plausíveis. Já os modelos com Δ_i entre 4 e 7 possuem consideravelmente menos suporte empírico entre os modelos testados, e os com $\Delta_i > 10$ não possuem nenhum suporte. Também foi considerado na avaliação dos modelos o cálculo dos pesos relativos de Akaike (w_i), que representa o peso de evidência do modelo selecionado em relação aos modelos testados, dado a probabilidade relativa de o modelo selecionado ser o melhor entre os modelos considerados (Burnham & Anderson 2002). Todos os modelos foram ajustados utilizando uma correção do valor do AIC para amostras pequenas pelo cálculo do valor do AICc (Burnham & Anderson 2002). No Apêndice B são disponibilizados os dados e os códigos para que seja possível executar todas as análises que foram realizadas e que serão descritas nos itens seguintes.

Contágio espacial

Para testar as hipóteses (a), (b) e (c), primeiro foi obtida a resposta de contágio espacial relacionada com cada regime de predação por meio do experimento de seleção de sítios de oviposição no campo. Especificamente, sobre a hipótese (c), que versa sobre a extensão do contágio espacial, primeiro foram ajustados modelos não lineares 'nls'

(mínimos quadrados não lineares) para representar o padrão teórico esperado da resposta de oviposição com perfil assintótico (veja a Figura 1). Os modelos não lineares foram ajustados utilizando três funções: Michaelis-Menten, Assintótica exponencial e Logística com quatro parâmetros. Devido à variação observada nos dados (Figuras S2-S6 do Apêndice C) foram construídos modelos para cada tratamento de predação e controle por distância em combinação com cada bloco temporal e localidade. Dessa forma, foram construídos 144 modelos, dos quais, apenas 22 executaram e não retornaram mensagens de erros. Em seguida, foram construídos modelos para cada tratamento de predação e controle por distância em combinação com cada bloco temporal, um total de 72 modelos, dos quais, apenas 12 não retornaram mensagens de erros. Portanto, a maior parte dos modelos executados (84%) tiveram problemas de execução com mensagens de erros, possivelmente devido à variação nas respostas de oviposição em decorrência das localidades e blocos temporais (Figuras S2-6 do Apêndice C).

Considerando que poucos modelos executaram normalmente foi decidido descrever os dados utilizando modelos lineares, que são mais conservadores e possibilitam capturar padrões mais gerais das respostas observadas. Na execução dos modelos lineares foram considerados como preditores fixos: 1) a variável categórica do regime de predação (de seis níveis: controle, 1 libélula, 3 libélulas, 3 notonectídeos, 3 belostomatídeos e combinação de predadores), 2) a variável contínua da distância (0, 1, 2, 4 e 8 m) e a 3) variável de interação entre o regime de predação e distância. Adicionalmente, foi considerado um conjunto de variáveis aleatórias que poderiam estar relacionadas com a variação observada nas respostas, conforme gráficos exploratórios dos dados (Figuras S2-6 do Apêndice C). Como foram incluídas variáveis aleatórias, foi necessário ajustar modelos lineares generalizados mistos ‘glmer’. A distribuição utilizada para ajustar os modelos foi a Poisson, já que a variável resposta (*i.e.*, o número de jangadas) é uma contagem (Bolker 2007). As variáveis aleatórias incluídas no ajuste dos modelos des-

creveram que: 1) o intercepto da resposta varia dependendo do bloco temporal, 2) o intercepto da resposta varia dependendo da localidade, 3) a inclinação da resposta varia dependendo da interação entre distância e bloco temporal, 4) a inclinação da resposta varia dependendo da interação entre distância e localidade, 5) a inclinação da resposta varia dependendo da interação entre regime de predação e bloco temporal, e que 6) o intercepto da resposta varia dependendo da relação entre localidade e bloco temporal. A seleção de modelos mistos seguiu o protocolo proposto por Zuur *et al.* (2009), primeiro selecionando a parte aleatória do modelo e depois a parte fixa.

Na seleção das variáveis aleatórias, todos os modelos ajustados contiveram todas as variáveis fixas mais todas as combinações possíveis das seis variáveis aleatórias. Porém, foi mantida em todos os modelos alguma variável aleatória que representasse o bloco temporal. Porque o bloco temporal é uma variável que faz parte do delineamento experimental, já que as oito réplicas obtidas são dependentes do bloco temporal, existindo duas réplicas de cada combinação do regime de predação por distância em cada bloco temporal. Sendo assim, foram construídos 27 modelos para a realização da seleção das variáveis aleatórias por AICc. Os modelos que retornaram mensagens de ‘ajuste singular’ não foram considerados na etapa de seleção de modelos por AICc. Pois, a mensagem de ‘ajuste singular’ pode indicar que os modelos são muito complexos e que possuem pouco poder (Bates *et al.* 2015).

Em seguida, foi feita a seleção das variáveis fixas, ajustando modelos com as variáveis aleatórias selecionadas, alterando apenas a combinação das variáveis fixas. Na seleção das variáveis fixas também foi incluído um modelo que descreveu um cenário sem nenhum efeito, para representar uma resposta que não dependia nem do risco de predação e nem da distância. Com isso, foi selecionado o modelo mais plausível (entre cinco modelos), conforme os dados coletados e modelos testados. A avaliação do ajuste

final do modelo mais plausível foi executada pela inspeção dos resíduos do modelo utilizando o pacote DHARMA (Hartig 2018).

Quantificação do risco de predação

Para quantificar o risco de predação foram ajustados modelos com a distribuição binomial, pois a variável resposta representa a proporção de larvas que morrem após um período de exposição aos predadores (Bolker 2007). Uma vez que houve variação no número de larvas mortas entre os aquários (Figura S7 do Apêndice D), a seleção de modelos foi feita utilizando modelos mistos ‘glmer’ incluindo os aquários como uma variável aleatória (para indicar a existência de variação no intercepto da resposta dependendo do aquário) e com modelos ‘glm’ sem a inclusão da variável aleatória (aquário). Portanto, no total, foram construídos quatro modelos, sendo a variável preditora categórica representada pelo regime de predação com seis níveis: 1) controle, 2) 1 libélula, 3) 3 libélulas, 4) 3 notonectídeos, 5) 3 belostomatídeos e 6) combinação de predadores. Já a variável resposta foi representada pelo risco de predação, descrita pela probabilidade de morte das larvas após 16 h de exposição aos predadores. Entre os quatro modelos testados dois descreveram cenários sem efeitos, em que o risco de predação não dependeria do regime de predação testado. A avaliação do ajuste do modelo mais plausível ocorreu pela inspeção dos resíduos utilizando o pacote DHARMA (Hartig 2018).

Contágio espacial vs. risco de predação

Não foi possível estimar a extensão do contágio espacial já que não foi possível utilizar modelos não lineares. Por isso, na hipótese (c) não foi possível testar a relação entre a extensão do contágio espacial e o risco de predação. Assim, testou-se apenas a relação entre a intensidade da evitação espacial e o risco de predação. Nesse caso, a intensidade da evitação espacial foi descrita pelo modelo linear do contágio, utilizando o coeficiente angular de cada regime de predação testado no experimento de campo de

seleção de sítio de oviposição (controle, 1 libélula, 3 libélulas, 3 notonectídeos, 3 belomatídeos e combinação de predadores). Portanto, a intensidade da evitação espacial, descrita pelo coeficiente angular, foi utilizada para representar o grau de evitação espacial dos mosquitos aos predadores ao longo das distâncias testadas. Existe a possibilidade de que coeficientes angulares indicando intensidades diferentes de evitação espacial reflitam em extensões de contágio semelhantes (Figura 6).

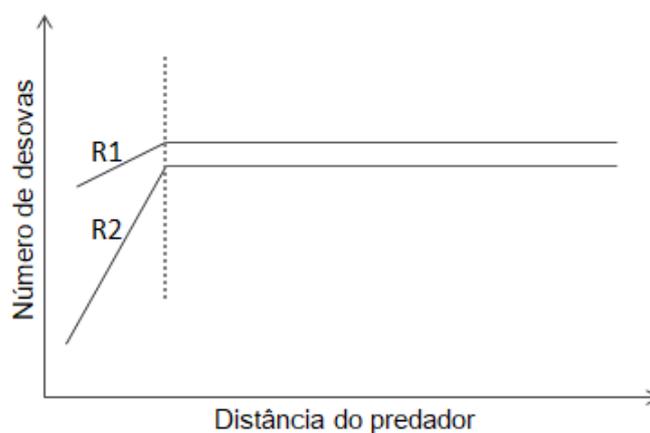


Figura 6. Representação da interpretação do coeficiente angular do modelo linear do contágio espacial. A imagem mostra que uma intensidade menor de evitação à mancha com predador (coeficiente angular R1) poderia resultar em um contágio com extensão espacial semelhante ao gerado por uma intensidade maior de evitação espacial (coeficiente angular R2). Linha tracejada demarca o ponto onde o contágio espacial deixa de existir.

Pois, tudo dependerá da taxa de variação prevista pelo modelo e do número de jangadas de ovos previsto pelo modelo em 0 m (onde não há predador). Aqui, para exemplo, será considerado um cenário hipotético em que o ponto onde o contágio espacial deixa de existir possui um total ~ 100 jangadas de ovos. Se o número de jangadas de ovos em 0 m do ‘tratamento A’ for igual a 50 jangadas de ovos e a taxa de variação por distância (a cada 1 m) prevista pelo modelo for igual a 5 jangadas de ovos, então, seriam necessários 10 m para atingir o ponto onde o contágio deixa de existir. Já se o número de jangadas de ovos em 0 m do ‘tratamento B’ for igual a 80 jangadas de ovos e a taxa de variação for igual a 2 jangadas de ovos por distância, então, seriam necessário 10 m para atingir o ponto onde o contágio deixa de existir. Consequentemente, ambos

os tratamentos teriam a mesma extensão do contágio espacial (10 m). Porém, a intensidade da evitação espacial seria maior para o ‘tratamento A’ (5 jangadas de ovos por distância). Por isso, o coeficiente angular não fornece informação sobre a extensão do contágio, mas, sim, sobre a intensidade da evitação espacial dos mosquitos aos predadores. Por sua vez, o risco de predação foi descrito pela probabilidade de morte das larvas de mosquitos quantificada no experimento de laboratório (na função de ligação ‘logit’ do modelo binomial) dos mesmos regimes de predação testados no experimento de seleção de sítio de oviposição em campo. Modelos descritos por uma equação linear, dado à relação entre variáveis preditoras e variáveis respostas, possuem um intercepto e uma inclinação da reta (*i.e.*, coeficiente angular). O intercepto é o valor da função quando $x = 0$. Já o coeficiente angular é a taxa de variação representada pela mudança que é observada em y dividida pela mudança que é observada em x (Gotelli & Ellison, 2011). Na descrição do contágio espacial utilizando a equação linear o intercepto descreveu o número de jangadas de ovos depositadas na caixa da posição 0 m (caixa que contém o predador). Já o coeficiente angular descreveu a taxa constante de variação do número de jangadas de ovos com a distância. Um coeficiente angular positivo indicaria que o número de jangadas aumenta com o aumento da distância ao predador. Por outro lado, um coeficiente angular negativo indicaria que o número de jangadas aumenta na direção contrária ao esperado, ou seja, na direção da caixa que possui o predador.

Para quantificar o grau de associação entre a intensidade da evitação espacial e o risco de predação foi feita a análise de correlação de Pearson (r). O coeficiente de Pearson foi utilizado para verificar se o risco de predação é proporcional à intensidade da evitação (*i.e.*, se um aumento no risco de predação repercute em um aumento na intensidade do contágio espacial). O coeficiente de correlação de Pearson (r) varia de -1 a 1. O sinal indica que há de uma associação positiva ou negativa entre duas variáveis e o valor do coeficiente (r) indica a força da associação entre as variáveis (Cohen 1988).

Segundo Cohen (1988), um $r = 0$ indica que não há associação linear entre as variáveis, um $r = 0,1$ indica um efeito fraco entre as variáveis, um $r = 0,3$ indica um efeito moderado entre as variáveis e um $r = 0,5$ indica um efeito forte entre as variáveis. No contexto deste trabalho, espera-se obter um r positivo, pois indicaria que o aumento do risco de predação resulta no aumento da intensidade da evitação espacial. Uma correlação negativa não é esperada, pois indicaria uma relação inversa, ou seja, que um aumento no risco de predação resulta em uma redução na intensidade da evitação.

RESULTADOS

Contágio espacial

Pelo menos quatro espécies de *Culex* (*C. bidens*, *C. coronator*, *C. corniger* e *C. lygrus*) depositaram jangadas de ovos nas caixas experimentais, perfazendo, entre todos os quatro blocos temporais, um total de 9.516 jangadas (2.553 depositadas em dezembro, 1.619 em janeiro, 2.679 em fevereiro e 2.665 em março). A obtenção de um modelo para descrever a seleção de sítio de oviposição e contágio espacial foi feita em duas etapas, primeiro selecionando a parte aleatória do modelo e depois a parte fixa. Na seleção da parte aleatória houve empate entre dois modelos muito semelhantes (md24.it e md21.it; Tabela 1). Os modelos empatados compartilham as variáveis ‘interação entre distância e localidade’ e ‘intercepto resultante da relação entre bloco e localidade’. Mas, um deles inclui adicionalmente um efeito aleatório do ‘bloco’ (md21.it) enquanto outro um efeito aleatório da interação entre ‘distância e bloco’ (md24.it; Tabela 1). Como na seleção da parte aleatória houve empate entre dois modelos, optou-se por conduzir duas análises independentes para a obtenção do modelo final (uma com estrutura aleatória md24.it e outra com estrutura aleatória md21.it; Tabela 1). Em ambas as análises executadas o modelo selecionado teve como variáveis preditoras fixas o regime de predação, a distância e a interação entre regime de predação e distância. Considerando que as va-

riáveis fixas não mudaram entre os modelos selecionados e como as variáveis aleatórias são semelhantes entre os modelos, optou-se por descrever os resultados considerando o modelo que teve o menor valor de AICc (Tabela 1; sumário estatístico do modelo selecionado 'md24.it' está no Apêndice E). A avaliação dos resíduos do modelo com menor AICc mostrou que não existem desvios importantes entre o que foi calculado pelo modelo e o que foi observado (Figura S8 do Apêndice F). Dessa forma, o modelo selecionado representa um bom descritor dos dados analisados.

A parte fixa o modelo selecionado revelou que o número de jangadas de ovos variou dependendo do regime de predação, da distância e da interação entre regime de predação e distância (Tabela 1). Nesse sentido, o modelo indicou, conforme esperado, que o número de jangadas de ovos por distância variou dependendo do regime de predação testado (Tabela 2 e Figura 7). No controle não foi identificado nenhum padrão de variação no número de jangadas de ovos ao longo dos 8 m testados (Tabela 2 e Figura 7). O intervalo de confiança (IC 95%) indicou que o controle não diferiu dos tratamentos '1 libélula' e '3 belostomatídeos' (houve sobreposição entre os intervalos), mas que o controle diferiu dos tratamentos '3 libélulas', '3 notonectídeos' e 'combinação de predadores' (Tabela 2). O controle e os tratamentos '1 libélula' e '3 libélulas' tiveram coeficientes angulares negativos, porém sem efeitos aparentes (os intervalos de confiança incluíram o zero; Tabela 2). A ausência de evitação dos mosquitos a '1 libélula' e '3 belostomatídeos' pôde ser facilmente percebida pelo fato de os coeficientes angulares, que refletiram a intensidade da evitação espacial, terem sido negativos (Tabela 2). Coeficientes angulares negativos poderiam indicar um aumento no número de jangadas de ovos na direção do predador. Porém, os coeficientes não tiveram efeitos significativos. Portanto, os tratamentos '1 libélula' e '3 belostomatídeos' não geraram nem evitação nem atração aos predadores (assim como no controle).

Já os tratamentos que diferiram do controle tiveram coeficientes angulares positivos, mostrando que o número de jangadas de ovos aumentou com a distância aos predadores. Portanto, a análise executada indicou que para os tratamentos ‘3 libélulas’, ‘3 notonectídeos’ e ‘combinação de predadores’ houve seleção de sítio de oviposição e, também, contágio espacial. O tratamento ‘combinação de predadores’ teve o maior coeficiente angular (0,0544), seguido de ‘3 libélulas’ (0,0382) e ‘3 notonectídeos’ (0,0313; Tabela 2). Sendo assim, a diferença no número de jangadas de ovos entre 0 e 8 m para o tratamento ‘combinação de predadores’ foi igual a 16 jangadas, para ‘3 libélulas’ foi igual a 11 jangadas e para ‘3 notonectídeos’ igual a 9 jangadas (Tabela 2). Apesar de o coeficiente angular do tratamento ‘combinação de predadores’ ser o maior entre os tratamentos (3 libélulas e 3 notonectídeos) houve sobreposição entre os intervalos de confiança (Tabela 2). Portanto, estatisticamente o efeito dos tratamentos (3 libélulas, 3 notonectídeos e combinação de predadores) foi igual (Figura 7).

Para finalizar a interpretação do modelo selecionado cabe uma interpretação da parte aleatória que compôs o modelo. As variáveis aleatórias incluídas no modelo final indicaram que há uma variação maior no intercepto (*i.e.*, número total de jangadas de ovos) intra bloco (intercepto da relação entre localidade e bloco) do que na inclinação, número total de jangadas de ovos por ‘distância e bloco’ e ‘distância e localidade’ (veja o sumário estatístico no Apêndice E). Isso significa que há uma variação no número de jangadas de ovos que é dependente do bloco temporal (mês) e da localidade e que gera uma mudança no intercepto da resposta (número de jangadas de ovos por distância e regime de predação; Figura S9 do Apêndice G). Já a variação relacionada com a inclinação significa que há uma variação no número de jangadas de ovos que está dependendo da interação entre as variáveis ‘distância e localidade’ e ‘distância e bloco’ e que gera uma mudança na inclinação da resposta (número de jangadas de ovos por distância e regime de predação; Figura S9 do Apêndice G).

Tabela 1. Seleção da parte aleatória e fixa dos modelos avaliando os fatores que influenciaram o número de jangadas de ovos de *Culex* por caixa no experimento de campo. Os modelos mais plausíveis, assinalados com um asterisco (*) possuem $\Delta i \leq 2$. Também são apresentados os valores do log da máxima verossimilhança (logLik), o número de parâmetros estimados pelos modelos (K) e os pesos relativos de evidência de cada modelo em relação ao conjunto de modelos testados (w_i).

<i>Seleção das variáveis aleatórias do modelo</i>					
Descrição dos modelos	logLik	AICc	$\Delta AICc$	K	Pesos (w_i)
*Md24.it: glmer (número de jangadas ~ regime de predação + distância + regime de predação : distância [variáveis fixas] + relação entre bloco e localidade + distância : bloco + distância : localidade [variáveis aleatórias])	-1009,4	2060,2	0,0	19	0,7011
*Md21.it: glmer (número de jangadas ~ regime de predação + distância + regime de predação : distância + relação entre bloco e localidade + distância : localidade + bloco)	-1012,7	2062,1	1,9	17	0,2667
Md9.it: glmer (número de jangadas ~ regime de predação + distância + regime de predação : distância + relação entre bloco e localidade + distância : bloco)	-1016,7	2067,8	7,6	16	0,0155
Md3.it: glmer (número de jangadas ~ regime de predação + distância + regime de predação : distância + relação entre bloco e localidade + bloco)	-1019,7	2069,2	9,0	14	0,0080
Md14.it: glmer (número de jangadas ~ regime de predação + distância + regime de predação : distância + localidade + relação entre bloco e localidade + distância : bloco)	-1016,6	2069,9	9,7	17	0,0055
Md12.it: glmer (número de jangadas ~ regime de predação + distância + regime de predação : distância + localidade + relação entre bloco e localidade + bloco)	-1019,5	2071,2	11,0	15	0,0029
Md27.it: glmer (número de jangadas ~ regime de predação + distância + regime de predação : distância + relação entre bloco e localidade)	-1023,7	2075,1	14,9	13	<0,001
Md18.it: glmer (número de jangadas ~ regime de predação + distância + regime de predação : distância + distância : localidade + bloco)	-1211,4	2457,2	397,0	16	<0,001
Md17.it: glmer (número de jangadas ~ regime de predação + distância + regime de predação : distância + distância : localidade + distância : bloco)	-1209,0	2457,2	397,0	18	<0,001
Md2.it: glmer (número de jangadas ~ regime de predação + distância + regime de predação : distância + bloco + localidade)	-1217,1	2464,1	403,9	14	<0,001
Md7.it: glmer (número de jangadas ~ regime de predação + distância + regime de predação : distância + localidade + distância : bloco)	-1215,0	2464,5	404,3	16	<0,001
Md4.it: glmer (número de jangadas ~ regime de predação + distância + regime de predação : distância + distância : bloco)	-1388,8	2809,8	749,5	15	<0,001

(continua)

Descrição dos modelos	logLik	AICc	ΔAICc	K	Pesos (w_i)
Md1.it: glmer (número de jangadas ~ regime de predação + distância + regime de predação : distância + bloco)	-1391,2	2810,0	749,8	13	<0,001
<i>Seleção das variáveis fixas do modelo md24.it</i>					
Descrição dos modelos	logLik	AICc	ΔAICc	K	Pesos (w_i)
*Md24.it: glmer (número de jangadas ~ regime de predação + distância + regime de predação : distância [variáveis fixas] + relação entre bloco e localidade + distância : bloco + distância : localidade [variáveis aleatórias]) → modelo completo	-1009,4	2060,2	0,0	19	1
Md24.f2: glmer (número de jangadas ~ distância + relação entre bloco e localidade + distância : bloco + distância : localidade) → modelo sem efeito do regime de predação e interação entre distância e regime de predação	-1049,4	2117,5	57,3	9	<0,001
Md24.f3: glmer (número de jangadas ~ regime de predação + distância + relação entre bloco e localidade + distância : bloco + distância : localidade) → modelo sem efeito da interação entre regime de predação e distância	-1047,1	2124,0	63,8	14	<0,001
Md24.f4: glmer (número de jangadas ~ 1 + relação entre bloco e localidade + bloco + localidade) → modelo sem efeito do regime de predação, distância e interação entre regime de predação e distância	-1067,6	2143,4	83,2	4	<0,001
Md24.f1: glmer (número de jangadas ~ regime de predação + relação entre bloco e localidade + bloco + localidade) → modelo sem efeito da distância e da interação entre regime de predação e distância	-1065,5	2149,8	89,6	9	<0,001
<i>Seleção das variáveis fixas do modelo md21.it</i>					
Descrição dos modelos	logLik	AICc	ΔAICc	K	Pesos (w_i)
*Md21.it: glmer (número de jangadas ~ regime de predação + distância + regime de predação : distância [variáveis fixas] + distância : localidade + relação entre bloco e localidade + bloco [variáveis aleatórias]) → modelo completo	-1012,7	2062,1	0,0	17	1
Md21.f2: glmer (número de jangadas ~ distância + distância : localidade + relação entre localidade e bloco + bloco)	-1052,1	2118,7	56,5	7	<0,001
Md21.f3: glmer (número de oviposição ~ regime de predação + distância + relação entre bloco e localidade + bloco)	-1050,0	2125,4	63,3	12	<0,001
Md21.f4: glmer (número de jangadas ~ 1 + localidade + relação entre localidade e bloco + bloco)	-1067,6	2143,4	81,2	4	<0,001
Md21.f1: glmer (número de jangadas ~ regime de predação + localidade + relação entre localidade e bloco + bloco)	-1065,5	2149,8	87,7	9	<0,001

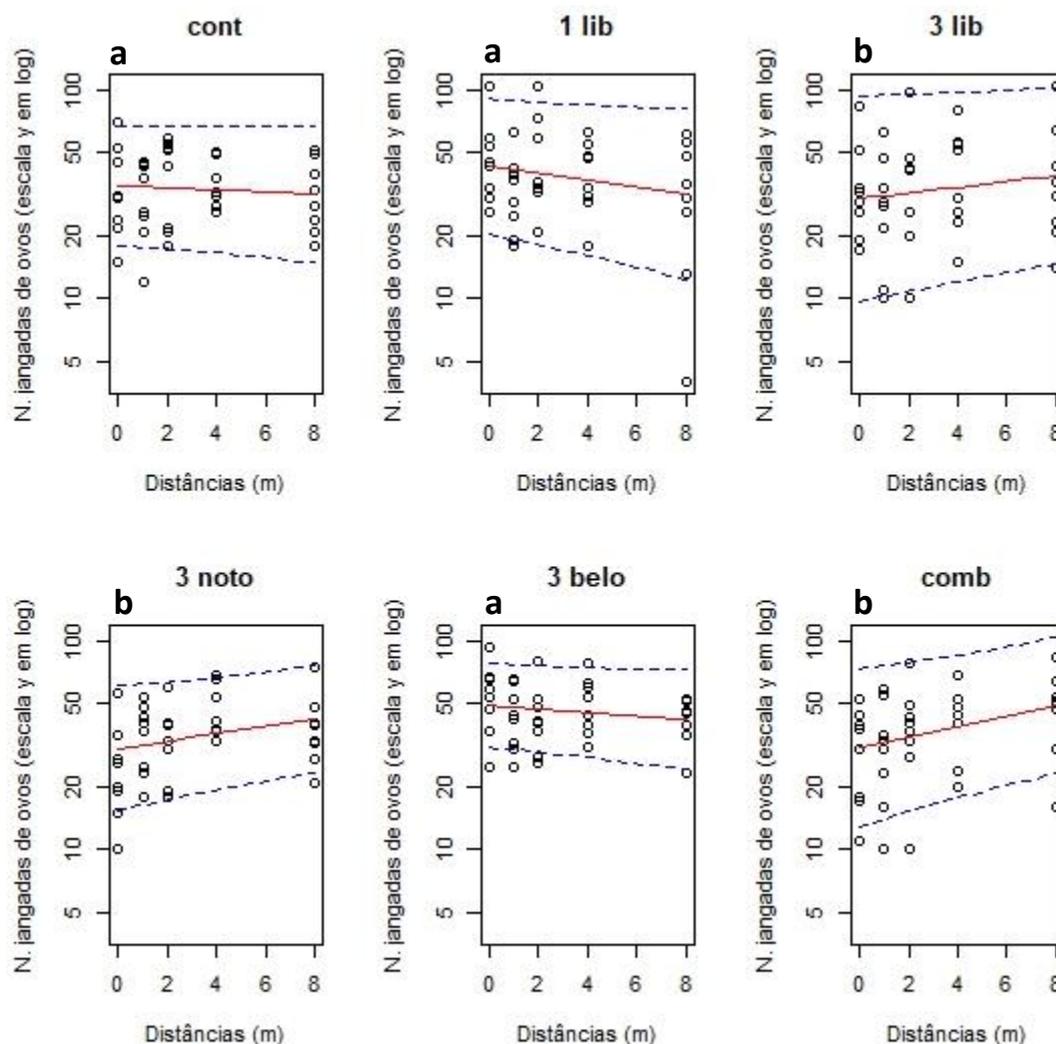


Figura 7. Número de jangadas de ovos de *Culex* previsto por distância e regime de predação (cont = controle, 1 lib = 1 libélula, 3 lib = 3 libélulas, 3 noto = 3 notonectídeos, 3 belo = 3 belostomatídeos e comb = combinação de predadores). Linhas tracejadas demarcam ± 2 desvios padrão das médias calculadas e representam a variação resultante das variáveis aleatórias ao redor do efeito fixo (linha contínua). Letras iguais representam os regimes de predação que tiveram sobreposição dos intervalos de confiança calculados do modelo (IC 95%) que foram apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Número de jangadas de ovos de *Culex* por regime de predação previsto nas distâncias 0 e 8 m. Também são apresentados os coeficientes angulares (da interação entre distância e regime de predação) e o intervalo de confiança (IC 95%).

Regime de predação	Coefficiente angular	Número de jangadas (0 m)	Número de jangadas (8 m)	IC 2,5%	IC 97,5%
Controle	-0,0098	34,9228	32,2884	-0,0368	0,0172
1 libélula	-0,0307	43,0861	33,6932	-0,0485	0,0066
3 libélulas	0,0382	30,3519	41,2329	0,0199	0,0762
3 notonectídeos	0,0313	30,6109	39,5530	0,0097	0,0724
3 belostomatídeos	-0,0234	47,7064	39,5530	-0,0431	0,0159
combinação de predadores	0,0544	30,2848	46,8155	0,0360	0,0924

Risco de predação

O modelo mais plausível revelou que a probabilidade de morte das larvas de culicídeos depende do regime de predação e que existe uma variação na resposta (*i.e.*, probabilidade de morte) relacionada com a variável aleatória ‘aquário’ (Tabela 3; sumário estatístico do modelo no Apêndice H). A avaliação dos resíduos do modelo selecionado mostrou que não existem desvios importantes entre o calculado e o observado, indicando que o modelo selecionado é um bom descritor dos dados analisados (Figura S10 do Apêndice I). Considerando o conjunto das cinco réplicas a soma do número de larvas de *Aedes aegypti* mortas e/ou consumidas no final do experimento para o controle foi igual a 4 larvas, para ‘1 libélula’ igual a 198 larvas, para ‘3 libélulas’ igual a 374 larvas, para ‘3 notonectídeos’ igual a 156 larvas, para ‘3 belostomatídeos’ igual a 690 larvas e para ‘combinação de predadores’ igual a 568 larvas. Foi identificada uma ampla variação na probabilidade de morte das larvas entre os regimes de predação. A probabilidade média de morte foi maior para *Aedes aegypti* expostos a ‘3 belostomatídeos’ (0,86), seguido da ‘combinação de predadores’ (0,71), ‘3 libélulas’ (0,46), ‘1 libélula’ (0,24), ‘3 notonectídeos’ (0,19) e o controle (0,004) (Figura 8). Entre todos os regimes de predação testados o tratamento ‘3 libélulas’ teve uma grande variação na probabilidade de morte das larvas, possuindo um intervalo de dois desvios padrão da média com limite inferior de 0,11 e limite superior de 0,82. No controle apenas quatro larvas de mosquitos morreram até a finalização do experimento, ficando evidente a alta sobrevivência das larvas na ausência de predadores. Portanto, o controle, de modo inegável, diferiu de todos os tratamentos de predação quanto à probabilidade de morte das larvas, o que também foi comprovado pelo intervalo de confiança do controle que não se sobrepôs com nenhum intervalo de confiança (IC 95%) dos tratamentos de predação (Tabela 4). O intervalo de confiança (IC 95%) de ‘3 libélulas’ se sobrepôs com os intervalos de confiança de ‘1 libélula’, ‘3 notonectídeos’, ‘3 belostomatídeos’ e ‘combinação

de predadores’, indicando que ‘3 libélulas’ diferiu apenas do controle, sendo estatisticamente igual a todos demais tratamentos (Tabela 4 e Figura 8). Não houve sobreposição dos intervalos de confiança (IC 95%) de ‘3 belostomatídeos’ e ‘combinação de predadores’ com os intervalos de confiança de ‘1 libélula’ e ‘3 notonectídeos’ (Tabela 4). Portanto, infere-se que tanto ‘3 belostomatídeos’ quanto a ‘combinação de predadores’ diferiram estatisticamente de ‘1 libélula’ e ‘3 notonectídeos’ (Figura 8).

Tabela 3. Seleção do modelo do risco de predação de larvas de *Aedes aegypti* no experimento de laboratório. O modelo mais plausível está assinalado com um asterisco (*). Também são apresentados os valores do log da máxima verossimilhança (logLik), o número de parâmetros estimados pelos modelos (K) e os pesos relativos de evidência de cada modelo em relação ao conjunto de modelos testados (w_i).

Descrição dos modelos	logLik	AICc	Δ AICc	K	Pesos (w_i)
*md1: glmer (probabilidade de morte das larvas ~ regime de predação [variável fixa] + aquário [variável aleatória]) → modelo completo	-108,3	235,6	0,0	7	1
md2: glm (probabilidade de morte das larvas ~ 1 + aquário) → modelo sem efeito do risco de predação	-149,9	304,3	68,7	2	<0,001
md3: glm (probabilidade de morte das larvas ~ regime de predação) → modelo sem efeito da variável aleatória ‘aquário’	-196,7	355,1	119,4	6	<0,001
md4: glm (probabilidade de morte das larvas ~ 1) → modelo sem nenhum efeito	-1204,0	2410,2	2174,5	1	<0,001

Tabela 4. Probabilidade de morte das larvas de *Aedes aegypti* (para cada regime de predação) na função de ligação do modelo com distribuição binomial (logit) e o intervalo de confiança correspondente (IC 95%).

Regime de predação	Probabilidade de morte (logit)	IC 2,5%	IC 97,5%
controle	-5.4251	-6,6828	-4,4456
1 libélula	4.2772	3,1805	5,6139
3 libélulas	5.2749	4,1809	6,6100
3 notonectídeos	3.9811	2,8823	5,3195
3 belostomatídeos	7.3803	6,2752	8,7296
combinação de predadores	6.3572	5,2624	7,6947

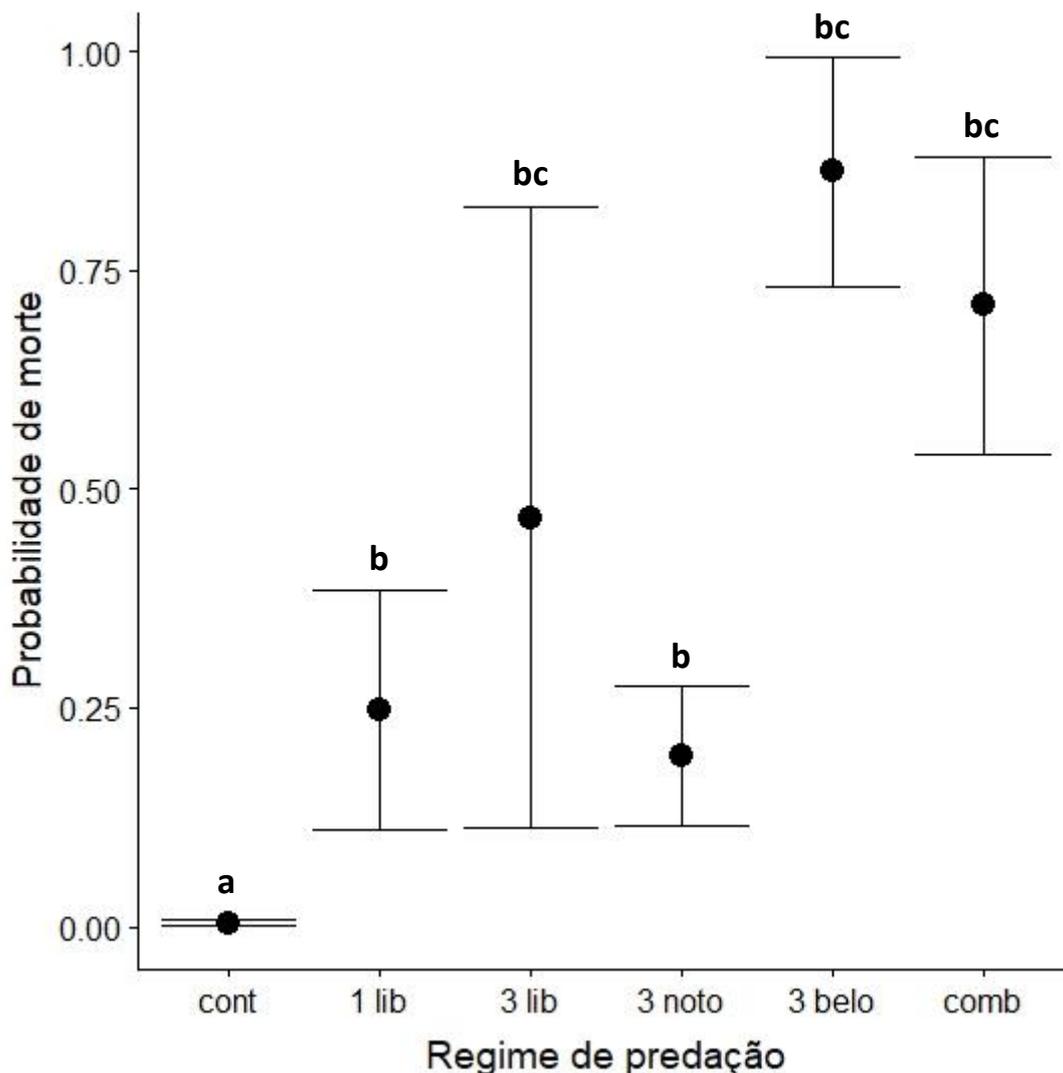


Figura 8. Probabilidade de morte das larvas de *Aedes aegypti* (na escala de 0 a 1) por regime de predação (cont = controle, 1 lib = 1 libélula, 3 lib = 3 libélulas, 3 noto = 3 notonectídeos, 3 belo = 3 belostomatídeos e comb = combinação de predadores). Os círculos representam a probabilidade média de morte das larvas. As barras demarcam ± 2 desvios padrão das médias calculadas e representam a variação resultante da variável aleatória ao redor do efeito fixo (círculos). Letras iguais representam os tratamentos de predação que tiveram sobreposição dos intervalos de confiança calculados do modelo (IC 95%) que foram apresentados na Tabela 4.

Contágio espacial vs. risco de predação

A análise de correlação de Pearson entre o risco de predação (representado pela probabilidade de morte das larvas) e a intensidade da evitação espacial (representada pelos coeficientes angulares que descreveram a evitação dos mosquitos aos predadores) equivaleu a um $r = 0,20$. Dessa forma, a análise mostrou que apesar de o valor do coefi-

ciente de Pearson ser positivo a correlação entre as variáveis foi fraca. Note, por exemplo, que apesar de o tratamento ‘3 belostomatídeos’ ter resultado na maior probabilidade de morte das larvas os mosquitos não evitaram as manchas com ‘3 belostomatídeos’ (Figura 9). Da mesma forma, apesar de o risco de predação conferido por ‘1 libélula’ ser semelhante ao risco de predação conferido por ‘3 notonectídeos’ apenas o tratamento de ‘3 notonectídeos’ gerou padrão de contágio espacial, sendo que as manchas com ‘1 libélula’ nem ao menos foram evitadas pelos mosquitos (Figura 9).

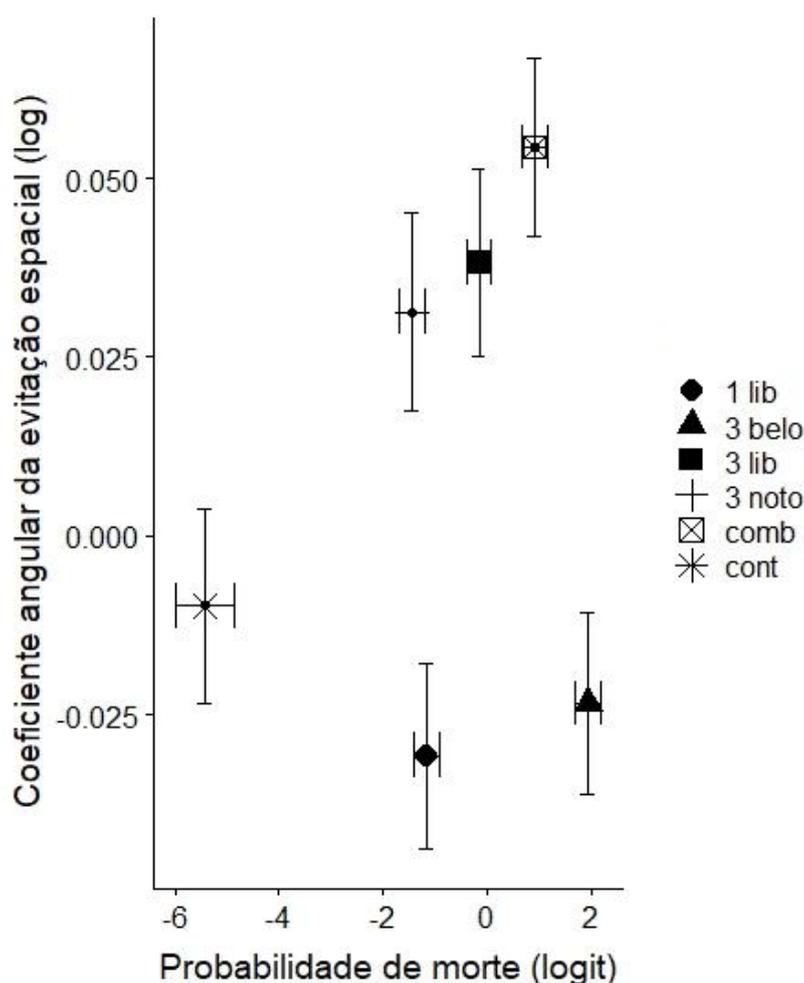


Figura 9. Intensidade da evitação espacial (eixo y) por risco de predação (probabilidade de morte, eixo x) de cada regime de predação (cont = controle, 1 lib = 1 libélula, 3 lib = 3 libélulas, 3 noto = 3 *notonectídeos*, 3 belo = 3 *belostomatídeos* e comb = combinação de predadores). As barras verticais representam os erros padrão do modelo que quantificou o risco de predação das larvas de *Aedes aegypti*. Já as barras horizontais são os erros padrão do modelo que descreveu a seleção de sítio de oviposição por *Culex*. Os dados (coeficiente angular, probabilidade de morte e respectivos erros padrão) foram plotados nas devidas funções de ligação: ‘log’ para o modelo com distribuição de Poisson e ‘logit’ para o modelo com distribuição binomial.

DISCUSSÃO

A seleção de manchas de hábitat ocorre quando os indivíduos avaliam a qualidade relativa das manchas disponíveis e selecionam as manchas que possuem maior qualidade (Fretwell & Lucas 1970). Já o contágio espacial é caracterizado pela interferência que a qualidade percebida pelos indivíduos de uma mancha tem sobre a qualidade percebida pelos indivíduos de outra mancha (Resetarits *et al.*, 2005). A existência de seleção de manchas, por exemplo, evitação às manchas com predador, é requisito para que exista contágio espacial. Mas, pode existir seleção de manchas de hábitat, ou seja, apenas evitação às manchas com predador, sem existir contágio. Dado que, há a possibilidade de a qualidade de uma mancha impactar apenas a sua própria colonização, isto é, de não interferir na colonização das manchas vizinhas. Houve seleção de sítio de oviposição porque os mosquitos evitaram as manchas que tinham ‘3 libélulas’, ‘3 notonectídeos’ e ‘combinação de predadores’. Por sua vez, a evitação aos predadores gerou contágio espacial negativo. Mas, os mosquitos não evitaram manchas com ‘1 libélula’ e nem manchas com ‘3 belostomatídeos. O tratamento ‘3 belostomatídeos’ conferiu alto risco de predação às larvas de mosquitos. Apesar do alto risco conferido, manchas com belostomatídeos nem se quer foram evitadas pelos mosquitos. Já ‘1 libélula’ teve um risco de predação que foi estatisticamente igual ao risco conferido por ‘3 libélulas’ e ‘3 notonectídeos’. A questão é que ‘3 libélulas’ e ‘3 notonectídeos’ geraram contágio negativo, mas manchas com ‘1 libélula’ nem se quer foram evitadas pelos mosquitos.

Contágio espacial

O contágio espacial ocorre quando o contexto espacial impacta a qualidade percebida das manchas de hábitat (Resetarits *et al.* 2005). Havendo contágio, espera-se que manchas de alta qualidade sejam evitadas pelos colonizadores simplesmente por estarem próximas a manchas de baixa qualidade (contágio negativo; Resetarits & Silber-

bush 2016), ou ainda que manchas de baixa qualidade sejam atraentes para colonizadores simplesmente por estarem próximas a manchas de alta qualidade (contágio positivo; Hughey *et al.* 2012). Neste trabalho, foi identificado contágio negativo porque o aumento da distância da mancha que tinha predador repercutiu em um aumento no número de jangadas de ovos nas manchas sem predador. Assim, tal padrão mostrou que tanto manchas de hábitat com predadores quanto manchas sem predadores adjacentes às manchas com predadores foram evitadas em algum grau pelos mosquitos. Para esta discussão, os trabalhos que tenham testado apenas a evitação dos indivíduos à mancha com predador (*i.e.*, sem testar a existência de contágio negativo) serão reconhecidos como ‘trabalho que testou apenas a evitação dos indivíduos à mancha com predador’. Já os trabalhos dentro do contexto de investigação do contágio negativo (*i.e.*, evitação à mancha com predador e, também, evitação às manchas sem predador que se encontram próximas da mancha onde o predador está presente) serão reconhecidos como ‘trabalho que testou a existência de contágio negativo’.

Identidade do predador

A identidade dos predadores testados no experimento de seleção de sítio de oviposição repercutiu em respostas diferentes dos mosquitos. Somente o tratamento ‘3 belostomatídeos’ não foi evitado pelos mosquitos. Não foram encontrados trabalhos que tenham testado apenas a evitação de colonizadores a presença dos belostomatídeos nas manchas de hábitat e nem trabalhos que tenham testado a existência de contágio negativo. Uma explicação para o padrão encontrado é que existe a possibilidade de os mosquitos não terem sido capazes de reconhecer os belostomatídeos nas manchas (como será discutido em ‘Risco de predação vs. contágio espacial). Já ‘3 notonectídeos’ e ‘3 libélulas’ repercutiram em contágio negativo. Mas, o efeito de ambos os tratamentos não diferiu, indicando que libélulas e notonectídeos são predadores que podem acabar refletindo

em respostas semelhantes de contágio no ambiente natural. Já foram executados muitos experimentos de seleção de sítio de oviposição testando se mosquitos evitam ovipor em manchas de hábitat com notonectídeos (Eitam *et al.* 2002; Eitam & Blaustein 2004; Blaustein *et al.* 2005; Arav & Blaustein 2006; Silberbush & Blaustein 2008, 2011; Silberbush *et al.* 2010). Os trabalhos citados comprovaram que os mosquitos são capazes de perceber a presença dos notonectídeos nas manchas. Pois, o número de desovas nas manchas de hábitat onde os notonectídeos estavam ausentes foi maior do que o número de desovas nas manchas que tinham predadores. Não foram encontrados trabalhos na literatura que tenham testado se há contágio espacial em resposta a presença dos notonectídeos nas manchas. Sendo assim, este trabalho corrobora os trabalhos já publicados, mostrando que notonectídeos são evitados pelos mosquitos e, também, demonstra experimentalmente que os notonectídeos podem gerar padrões nos ambientes naturais que venham a refletir o contágio negativo.

Com libélulas foram encontrados trabalhos de seleção de sítio de oviposição testando a evitação de mosquitos às manchas com libélulas (Stav *et al.* 1999, 2000; Staats *et al.* 2016) e dois trabalhos que testaram a existência de contágio negativo (Wesner *et al.* 2012, 2015). Entre os trabalhos que testaram a evitação ao predador, Staats *et al.* (2016) mostrou que *Culex* spp. evitou manchas com três indivíduos de *Celithemis epoinina* (Anisoptera), mas não evitou manchas que tinha a presença de três indivíduos de *Enallagma* spp. (Zygoptera). Já os trabalhos de Stav *et al.* (1999, 2000) mostraram que *Culiseta longiareolata* evitaram manchas de hábitat onde duas libélulas (*Anax imperator*) estavam presentes. Porém, não houve evitação as manchas com libélulas quando as libélulas estavam confinadas em estruturas cilíndricas de plástico com tela de mosquiteiro na superfície superior do cilindro, ou seja, houve evitação as manchas com libélulas apenas quando elas estavam livres nas caixas experimentais (Stav *et al.* 2000). É importante destacar que o experimento de Stav *et al.* (1999) foi feito apenas com libélulas

las livres nas caixas experimentais e os mosquitos evitaram os predadores. Por isso, um dos argumentos desenvolvidos pelos autores para explicar a ausência de seleção de sítio de oviposição em Stav *et al.* (2000) foi que a pista da presença dos predadores poderia não ter se difundido muito bem através da estrutura cilíndrica utilizada para acomodar os predadores (veja o trabalho de Stav *et al.* 2000). No presente trabalho, os predadores foram mantidos nas caixas experimentais dentro de gaiolas (um indivíduo por gaiola). Principalmente, para evitar uma interação prejudicial entre os indivíduos, já que poderiam cometer canibalismo, e para facilitar a checagem diária dos predadores nas caixas. As gaiolas foram totalmente revestidas com tela de mosquiteiro justamente para facilitar a difusão da pista de predação. Contudo, pela descrição feita no trabalho de Stav *et al.* (2000) apenas uma área do cilindro foi revestida com tela de mosquiteiro, o que pode ter dificultado a difusão da pista de predação no meio aquático.

Como a presente pesquisa outras pesquisas também já indicaram que as libélulas podem gerar contágio negativo (Wesner *et al.* 2012, 2015). Wesner *et al.* (2012) executaram um experimento de seleção de sítio de oviposição por Chironomidae utilizando como predadores o peixe (*Salmo trutta*) e a libélula (*Ophiogomphus severus*). Os resultados mostraram contágio negativo em resposta a *O. severus* (~ 50 libélulas), *S. trutta* (2 peixes) e a combinação de ambos os predadores (1 peixe mais ~ 25 libélulas). Chironomidae evitaram da mesma forma (na mesma intensidade) todos os tratamentos de predação. Porém, não houve evitação ao predador e nem contágio negativo para os casos em que Chironomidae eram construtores de casulo. A explicação biológica feita no estudo é que os Chironomidae construtores de casulo ficam mais protegidos da predação (Wesner *et al.* 2012). Já no trabalho de Wesner *et al.* (2015) a proposta foi de avaliar se Chironomidae evitavam manchas com predadores em uma escala mais fina de 1 m. O experimento de Wesner *et al.* (2015), assim como Wesner *et al.* (2012), testou três tratamentos de predação: apenas peixe (2 indivíduos de *Salmo trutta*), apenas libélula (12

indivíduos de *Ophiogomphus severus*) e a combinação dos predadores (1 peixe + 6 libélulas). Porém, no trabalho de Wesner *et al.* (2015) o experimento foi conduzido sem considerar o conjunto de manchas controle no desenho experimental. Segundo os autores (Wesner *et al.* 2015) os quironomídeos poderiam ter evitado igualmente manchas com predadores e manchas sem predadores adjacentes à mancha com predadores (em Wesner *et al.* 2012), porque no ambiente haviam manchas controle (uma mancha sem predador adjacente a outra mancha sem predador) que acabavam recebendo maior oviposição. Por isso, foi elaborado um experimento para testar se na ausência de manchas controle os indivíduos teriam preferência pela mancha sem predador adjacente à mancha com predador (Wesner *et al.* 2015). Caso na ausência do controle fosse demonstrado que quironomídeos preferiam a mancha sem predador adjacente à mancha com predador, poderia ser demonstrado que quironomídeos seriam capazes de realizar respostas mais finas (de 1 m) na ausência de manchas controle no ambiente (que estavam a 5 m das manchas com predador). Contudo, os resultados mostraram que não houve diferença na oviposição entre a mancha com predador e a mancha sem predador adjacente à mancha com predador. A argumentação do trabalho foi que não houve preferência por nenhuma das manchas porque na ausência de manchas controle os indivíduos continuaram evitando igualmente a mancha sem predador adjacente à mancha com predador. Isto é, que o padrão observado representaria uma resposta de contágio espacial (para mais detalhes veja Wesner *et al.* 2012).

Densidade do predador

Neste trabalho, o aumento da densidade de libélulas determinou a existência de seleção de sítio de oviposição pelos mosquitos em resposta a presença das libélulas nas manchas. Pois, os mosquitos não evitaram as manchas que tinham ‘1 libélula’. Já, quando as manchas tinham ‘3 libélulas’ os mosquitos evitaram as manchas havendo inclusi-

ve contágio espacial negativo. É possível que apenas um único indivíduo de libélula não tenha sido suficiente para gerar uma pista da presença da libélula na mancha que pudesse ser reconhecida pelos mosquitos (como será discutido em ‘Risco de predação vs. contágio espacial’). Não foram encontrados trabalhos que tenham avaliado diferentes densidades de libélulas. Mas, existe um trabalho que avaliou a evitação de *Culiseta longiareolata* ao predador *Notonecta maculata* (Notonectidae) em diferentes densidades: 0, 1 e 4 indivíduos (Silberbush & Blaustein 2011). Nesse trabalho foi demonstrado que o número de desovas foi maior nas manchas sem predador e que houve uma redução no número de desovas nas manchas com densidades 1 e 4 do predador, sendo mais intensa a redução das desovas na presença de 4 notonectídeos (Silberbush & Blaustein 2011).

Além disso, o trabalho de Resetarits & Silberbush (2016) mostrou um padrão bastante interesse relacionado com o número de predadores testados (*i.e.*, relação com a densidade de predadores). O experimento de Resetarits & Silberbush (2016) incluiu localidades (conjunto de 3 manchas) que diferiram apenas quanto ao número de indivíduos de peixes (com 0, 1 e 2 indivíduos de *Gambusia affinis*). O trabalho mostrou, surpreendentemente, que o número de jangadas de ovos de *Culex* aumentou com a redução do número de peixes nas localidades. Portanto, a localidade sem predador recebeu o maior número de jangadas, a localidade com 1 peixe recebeu um número de jangadas intermediário e a localidade com 2 peixes recebeu o menor número de jangadas. Apesar dos trabalhos apresentados indicarem que o aumento na densidade de predadores é potencial em gerar evitação (Silberbush & Blaustein 2011) e contágio negativo (Resetarits & Silberbush 2016), no presente trabalho foi demonstrado que para as libélulas testadas (*Erythrodiplax*) foram necessários três indivíduos para que pudesse ocorrer evitação às manchas com libélulas e contágio negativo.

Combinação de predadores

O aumento da combinação de predadores (1 libélula + 1 notonectídeo + 1 belostomatídeo) pareceu ter um efeito mais forte do que o efeito isolado dos predadores ‘3 libélulas’ e ‘3 notonectídeos’ (evidentemente mais forte do que ‘3 belostomatídeos’ já que os mosquitos não evitaram manchas com belostomatídeos). Pois, o coeficiente angular da ‘combinação de predadores’ foi maior entre todos os tratamentos. Contudo, ocorreu sobreposição entre os intervalos de confiança dos três tratamentos (3 libélulas, 3 notonectídeos e combinação de predadores) indicando que estatisticamente eles não diferiram. Staats *et al.* (2016) mostrou por meio de um trabalho avaliando a seleção de sítio de oviposição por dípteros (*Culex* spp. + *Anopheles* spp. + Chironomidae) que o aumento da riqueza de predadores (combinação de predadores) fez com que os colonizadores evitassem mais fortemente as manchas. Pois, dípteros depositaram mais desovas nas manchas com três *Celithemis eponina* (libélula Anisoptera), três *Enallagma* spp. (libélula Zygoptera) e três *Procambarus* spp. (crustáceo) em comparação com as manchas que tinham a combinação dos três predadores (1 Anisoptera + 1 Zygoptera + 1 crustáceo). Mas, quando as respostas de oviposição foram avaliadas separadamente, ou seja, para Chironomidae e para mosquitos (*Culex* spp. + *Anopheles* spp.) o aumento da combinação de predadores não resultou em um padrão consistente de redução no número de desovas em comparação aos efeitos isolados dos predadores (veja detalhes em Staats *et al.* 2016). No trabalho de Wesner *et al.* (2012), já descrito anteriormente, foi demonstrado que o aumento da combinação de diferentes predadores (peixe + libélula) gerou a mesma resposta de contágio negativo por Chironomidae que havia sido gerada por apenas dois peixes e por apenas duas libélulas. Nesse contexto, pelo menos para os predadores avaliados no presente estudo (libélula + notonectídeo + belostomatídeo) e conjunto de trabalhos citados (Wesner *et al.* 2012; Staats *et al.* 2016), o efeito da com-

binção de predadores não repercute, necessariamente, em maior intensidade de evitação aos predadores e contágio negativo.

Risco de predação vs. contágio espacial

O trabalho de Segev *et al.* (2017) testou a relação entre risco de predação e resposta de seleção de sítio de oviposição de *Culex* a três espécies de peixes (*Barbus paludinosus*, *Pseudocrenilabrus philander* e *Gambusia affinis*). Para isso, foi feito um experimento de taxa de predação de larvas de mosquitos em laboratório e um experimento de campo de seleção de sítio de oviposição (o contágio espacial não foi avaliado). Os resultados mostraram que a intensidade de evitação pelos mosquitos às manchas de hábitat (experimento em campo testando apenas a evitação dos mosquitos as manchas com peixes) refletiu a magnitude do risco de predação (experimento em laboratório de taxa de predação). No presente trabalho, não foi observada tal correspondência entre o risco de predação quantificado no laboratório e as decisões de oposição feitas pelos mosquitos no ambiente. Houve uma correlação positiva entre a intensidade da evitação espacial e o risco de predação. No entanto, nota-se claramente que essa correlação positiva é fraca e espúria, uma vez que tratamentos que impuseram riscos de predação similares estiveram relacionados a respostas comportamentais marcadamente diferentes.

Identidade do predador

Entre os tratamentos que caracterizam a identidade do predador o consumo (estrito) per capita (por indivíduo de predador) de larvas de mosquito para ‘3 libélulas’ foi de 24 larvas (353 larvas por 15 libélulas), para ‘3 notonectídeos’ foi de 9 larvas (140 larvas por 15 notonectídeos) e para ‘3 belostomatídeos’ foi de 45 larvas (684 larvas por 15 belostomatídeos). Apesar de ‘3 libélulas’ em comparação com ‘3 notonectídeos’ ser potencial em consumir um número maior de larvas de mosquitos, no experimento de seleção de sítio de oviposição em campo ‘3 libélulas’ e ‘3 notonectídeos’ geraram a

mesma resposta de contágio negativo. Já os belostomatídeos foram potenciais em consumir mais larvas de mosquito do que libélulas e notonectídeos. O trabalho de Saha *et al.* (2007) também mostrou que os belostomatídeos são potenciais em consumir mais larvas de mosquitos do que os notonectídeos. Apesar disso, os belostomatídeos não geraram nem ao menos uma resposta de evitação dos mosquitos às manchas onde os belostomatídeos estavam. O caso das libélulas vs. notonectídeos pode ser explicado. Primeiro, pelo fato de que estatisticamente libélulas não diferiram dos notonectídeos quanto ao consumo de larvas de mosquito, ou seja, o padrão obtido foi que ambos predadores conferiram um risco de predação similar. Por sua vez, tal risco de predação gerou contágio positivo similar, conforme esperado. Segundo, mesmo que libélulas sejam potenciais em gerar maior risco de predação do que notonectídeos, a questão é que diferentes predadores nem sempre acabam gerando respostas de evitação em diferentes intensidades. Como indicaram os resultados de Wesner *et al.* (2012, 2015) e de Staats *et al.* (2016). Pois, mesmo que os autores tenham testado em suas pesquisas predadores bastante diferentes: libélulas (Arthropoda) e peixes (Vertebrata), as respostas de seleção de sítio de oviposição por mosquitos e Chironomidae entre libélulas e peixes não diferiram (Wesner *et al.* 2012, 2015; Staats *et al.* 2016).

Agora, o que chama muito atenção são os resultados relacionados com ‘3 belostomatídeos’. Pois, caso a intensidade da evitação ao predador aumentasse com o aumento do risco de predação seria esperado que as manchas onde os belostomatídeos estivessem fossem ao menos evitadas pelos mosquitos. Nesse contexto, a primeira questão que surge é por que os belostomatídeos não geraram respostas de seleção de sítio de oviposição? Ainda mais, considerando o fato de que o tratamento ‘3 belostomatídeos’ foi o que no total consumiu mais larvas de mosquitos e conferiu, pelo menos em média, maior risco de predação entre todos os regimes de predação testados. Predadores e presas podem coevoluir mediante interação que envolve uma corrida armamentista (Dietl &

Kelley 2002). Consequentemente, as presas podem responder evolutivamente aos seus predadores e os predadores podem responder evolutivamente às suas presas (Dietl & Kelley 2002). Nesse sentido, a seleção natural deve atuar mediante interações estabelecidas entre predadores e presas (Dietl & Kelley 2002).

Por exemplo, o peixe *Aphredoderus sayanus* têm sido descrito como um predador que não está sendo evitado por besouros (Resetarits & Binckley 2013; Resetarits & Pintar 2016) e anfíbios (Binckley *et al.* 2003; Resetarits & Binckley 2013) durante a colonização de manchas de hábitat. A discussão que tem sido feita é de que *Aphredoderus sayanus* é capaz de se camuflar quimicamente de forma que as suas presas não consigam percebê-lo no ambiente (Resetarits & Binckley 2013). No trabalho de Eveland *et al.* (2016). *Culex restuans* evitou manchas com *Gambusia affinis* e manchas com *Notophthalmus viridescens louisianensis*. Porém, não houve seleção de sítio de oviposição na presença de *Lepomis cyanellus*. Eveland *et al.* (2016) também consideraram a possibilidade do peixe *Lepomis cyanellus* poder se camuflar quimicamente, pelo fato de ter sido o único predador que não foi evitado por *Culex restuans*.

Caso um predador específico no ambiente natural exerça pressão sobre a população de uma espécie de presa, reduzindo-a e, mesmo assim, não haja resposta por parte da presa, de forma que a presa não venha a evitar manchas de hábitat onde o predador está, então, há a possibilidade de que o predador não esteja sendo percebido pela presa. Sendo o predador não percebido ele poderia estar em vantagem em relação à presa. Portanto, no contexto da corrida armamentista é possível que os belostomatídeos não estejam sendo percebidos pelos mosquitos no ambiente natural mesmo que sejam predadores que tenham um grande impacto na população de mosquitos, como indicou o experimento em laboratório do presente trabalho, entre outros trabalhos já publicados (Pereira & Melo 1998; Saha *et al.* 2007; Gurumoorthy *et al.* 2013).

Como descrito anteriormente, no trabalho de Eveland *et al.* (2016) não houve seleção de sítio de oviposição por *Culex restuans* na presença de *Lepomis cyanellus* (Eveland *et al.* 2016). Uma segunda linha de argumentação discutida pelos autores é da possibilidade de *Lepomis cyanellus* não exercer grande pressão sobre as populações de larvas de mosquitos. Eveland *et al.* (2016) não executaram um experimento de taxa de predação. Porém, no presente trabalho, foi realizado um experimento de taxa de predação em laboratório que mostrou os belostomatídeos como um dos predadores mais vorazes (em média o mais voraz). Então, não parece ser o caso de os belostomatídeos não exercerem pressão sobre as populações de mosquitos. Portanto, parece mais provável que os belostomatídeos realmente não estejam sendo reconhecidos pelos mosquitos no ambiente natural. É possível listar os pontos que reforçam a ideia de que talvez os belostomatídeos não estejam sendo reconhecidos: 1) os belostomatídeos são encontrados no ambiente natural coexistindo com larvas de mosquitos (conforme observação pessoal e Fischer & Schweigmann 2008), 2) trabalhos de taxa de predação indicaram que eles são potenciais em consumir larvas de mosquitos e, inclusive, eles são indicados como predadores potenciais para ações de controle biológico (Pereira & Melo 1998; Saha *et al.* 2007; Gurumoorthy *et al.* 2013), e 4) experimentos de preferência alimentar indicaram que os belostomatídeos mostram preferência em consumir larvas de mosquitos, experimentos executados ofertando: larvas de culicídeos, Anisoptera, Zygoptera, efemerópteros e girinos (Victor & Ugwoke 1987), e larvas de *Culex quinquefasciatus* e de quironomídeos (*Tendipes* sp.) e desova do peixe *Catla catla* (Hazarika & Goswami 2012).

Densidade do predador

O risco médio de predação aumentou com o aumento da densidade de libélulas. No tratamento '3 libélulas' foi observada grande variação na taxa de predação (probabilidade de morte ampliou de 0,24 a 0,67). Explicações para a variação observada podem estar relacionadas com o estresse e condição física individual das larvas de libélulas. O

consumo (estrito) per capita (por indivíduo) do tratamento de ‘1 libélula’ foi de 37 larvas de mosquitos (196 larvas por 5 libélulas). Já de ‘3 libélulas’ o consumo per capita foi de 24 larvas (353 larvas por 15 libélulas). Por isso, no total, ‘3 libélulas’ consumiram mais larvas. Porém, o consumo per capita de larvas de mosquitos foi maior em ‘1 libélula’. Olhando mais atentamente os dados (dado a variação no consumo de larvas em ‘3 libélulas’), em duas das cinco réplicas houve um baixo consumo de larvas de mosquitos (33 e 48 larvas consumidas). Dessa forma, o cálculo do consumo per capita, considerando apenas as réplicas de maior consumo (101, 92, 79 larvas consumidas), resultou em um consumo per capita de 30 larvas (272 larvas por 9 libélulas).

Porém, mesmo assim, o consumo per capita de ‘3 libélulas’ (30 larvas) ainda foi menor do que de ‘1 libélula’ (37 larvas). É descrito que o número de presas consumidas por unidade de tempo pelos predadores pode ser função não linear negativa da densidade de predadores (Eveleigh & Chant 1982) e esse tipo de relação já foi observada para libélulas e larvas de culicídeos (Weterings *et al.* 2015). Portanto, o aumento não proporcional no consumo per capita de *Aedes aegypti* por libélulas observada no experimento (‘1 libélula’ com consumo per capita de 37 larvas vs. ‘3 libélulas’ com consumo per capita de 24 larvas) é condizente tanto com expectativas teóricas e estudos empíricos. Apesar da variação no consumo de larvas relacionada com ‘3 libélulas’, o padrão encontrado foi que estatisticamente o consumo de larvas entre ‘1 e 3’ libélulas não diferiu. Além disso, é importante destacar aqui que o risco de predação gerado por ‘1 libélula’, incontestavelmente, também não diferiu do risco de predação de ‘3 notonectídeos’. Os mosquitos não evitaram as manchas com ‘1 libélula’, mas as manchas com ‘3 notonectídeos’ e ‘3 libélulas’ foram potenciais, inclusive, em gerar uma resposta de contágio negativo. Nesse cenário, a questão que surge é: por que os mosquitos nem ao menos evitaram as manchas de hábitat com ‘1 libélula’ já que ‘1 libélula’ teve um risco de predação que não diferiu de 3 notonectídeos e 3 libélulas?

Uma forma de responder a pergunta é considerando a possibilidade de que um único indivíduo de libélula não tenha sido suficiente para gerar a pista da presença do predador no ambiente. A pista de predação (ou a pista do predador) pode estar relacionada com uma pista química que é emitida pelo predador em si (Silberbush & Blaustein 2008; Silberbush *et al.* 2010) e/ou com uma pista química estritamente relacionada com o consumo de presas pelo predador (Ferrari *et al.* 2007). Caso a pista da presença do predador seja maximizada pela combinação de diferentes pistas (*e.g.*, pista do predador + pista do consumo de presas) pode ser que um único indivíduo de libélula não tenha sido suficiente para gerar uma pista que pudesse ser reconhecida pelos mosquitos. Por exemplo, a pista da predação resultante do consumo de larvas de mosquitos pode ser semelhante entre ‘1 libélula’, ‘3 notonectídeos’ e ‘3 libélulas’ (dado o consumo de larvas ser semelhante). Mas, a pista do predador em si, (do indivíduo da libélula), pode ser mais fraca ou pode até mesmo não existir. A possibilidade de a combinação de várias pistas maximizar a percepção dos mosquitos quanto à presença dos predadores foi discutido do trabalho de Silberbush & Blaustein (2008). Os autores descreveram que as respostas dos mosquitos aos notonectídeos poderiam ser mais intensas caso houvesse a combinação da pista química do predador com a pista química do consumo de presas pelo predador (Silberbush & Blaustein 2008). Neste trabalho, as duas pistas estiveram presentes (a do predador em si, já que os predadores foram mantidos nas caixas experimentais ao longo do experimento, e a pista relacionada estritamente com a predação, já que a água onde os predadores eram alimentados também foi adicionada nas caixas experimentais). A questão aqui, é que a pista química gerada estritamente pela presença do predador, no caso de ‘1 libélula’ (ou até mesmo outros tipos de pistas que pudessem ser utilizadas pelos mosquitos para identificar o predador) pode ser mais fraca do que a pista química gerada estritamente por ‘3 notonectídeos’ e ‘3 libélulas’.

Entre os estudos (descritos no item ‘Contágio espacial’) que utilizaram libélulas em experimentos de seleção de sítio de oviposição foi testada a resposta dos colonizadores a presença de 2 até ~ 50 larvas de libélulas nas manchas de hábitat. Especificamente, nos trabalhos que utilizaram menos libélulas (2 indivíduos), a espécie utilizada foi *Anax imperator* (nos dois trabalhos; Stav *et al.* 1999, 2000) com comprimento médio de 2,01 cm (Stav *et al.* 1999) e 0,8 cm (Stav *et al.* 2000) em caixas experimentais com 57 L (Stav *et al.* 1999) e 43 L (Stav *et al.* 2000).

No presente estudo o gênero de libélula testado foi outro (*Erythrodiplax*) com larvas de comprimento médio de 1,44 cm e em caixas experimentais com 47 L. Mesmo que entre uma ou duas libélulas não pareça existir tanta diferença é mais provável que para *Erythrodiplax* seja necessário pelo menos mais do que uma única libélula para gerar algum tipo de pista no ambiente que possa ser reconhecida pelos mosquitos. Também é importante considerar as diferenças entre os gêneros de libélulas. Por exemplo, não se sabe se uma libélula de *Anax* teria sido suficiente para que os mosquitos as reconhecessem nas manchas experimentais. Também não é possível saber se mais um indivíduo de *Erythrodiplax* (ou seja, dois indivíduos) teria sido suficiente para que os mosquitos evitassem ovipor nas manchas (já que não foram encontrados trabalhos específicos de seleção de sítio de oviposição com *Erythrodiplax*). Portanto, é possível afirmar, diante dos resultados obtidos, que para que houvesse uma resposta de evitação dos mosquitos às manchas com libélulas foram necessárias três libélulas. Outra questão que pode ser apontada é que mesmo que ‘1 libélula’ tenha resultado em um risco de predação semelhante ao de ‘3 notonectídeos’ não é garantia que no ambiente natural tais pistas do risco de predação de diferentes predadores sejam reconhecidas de forma semelhante pelos mosquitos. Pois, o risco de predação quantificado em laboratório possibilita reconhecer a probabilidade de morte das larvas ao longo de um período de tempo na presença dos predadores. Porém, tal probabilidade, não dá acesso completo e irrevogá-

vel sobre como ocorre o reconhecimento das pistas de predação relacionadas com diferentes predadores no ambiente natural. Assim, libélulas podem ser reconhecidas de uma forma e os notonectídeos de outra forma e, não necessariamente, seus riscos de predação quantificados em laboratório sejam suficientes para descrever como de fato os mosquitos percebem a presença dos predadores no ambiente natural.

Avaliando os resultados obtidos apenas entre os tratamentos das libélulas, é importante destacar que, em média, o risco de predação de ‘3 libélulas’ foi maior do que ‘1 libélula’. Portanto, a resposta de contágio negativo gerado por ‘3 libélulas’ pode ter acontecido porque a presença de três indivíduos nas manchas de hábitat pode ter gerado um aumento da pista química de predação (do consumo de presas) e/ou um aumento da pista química da presença das libélulas nas manchas, ou seja, da pista química de três indivíduos de libélulas, que poderia ser mais forte do que apenas ‘1 libélula’.

Combinação de predadores

O experimento em laboratório indicou que não há um padrão emergente relacionado com o risco de predação no tratamento da combinação dos três predadores (libélula + notonectídeo + belostomatídeo). Não há padrão emergente porque a ‘combinação de predadores’ não diferiu estatisticamente de ‘3 libélulas’ e ‘3 belostomatídeos’. Estatisticamente, a ‘combinação de predadores’ apenas diferiu de ‘3 notonectídeos’. Como destacado por Sih *et al.* (1988) um padrão emergente seria observado caso a combinação de diferentes predadores resultasse em uma taxa de predação maior do que a taxa de predação de cada espécie de predador separadamente (mantendo a mesma abundância: 3 libélulas, 3 notonectídeos e 3 belostomatídeos). Apesar de os tratamentos (3 libélulas, 3 notonectídeos e 3 belostomatídeos) não terem diferido estatisticamente, em média, o risco de predação foi maior para ‘3 belostomatídeos’. Neste trabalho, foi quantificado quanto consome um único indivíduo de libélula, mas não foi quantificado quanto con-

some um único indivíduo de belostomatídeo e nem quanto consome um único indivíduo de notonectídeo. Foi descrito no trabalho de Saha *et al.* (2007) que em 24 h um indivíduo de belostomatídeo da espécie *Diplonychus rusticus* consumiu até 87 larvas de *Culex quinquefasciatus* e a espécie *D. annulatus* consumiu até 122 larvas de mosquitos.

Portanto, o potencial máximo de consumo de belostomatídeos (pelo menos para as espécies de *Diplonychus*) foi entre 87 e 122 larvas de mosquitos. No caso do notonectídeo (*Anisops bouvieri*) um único indivíduo consumiu em 24 h até 34 larvas de *Culex quinquefasciatus* (Saha *et al.* 2007). Já, neste trabalho, o consumo (estrito) em 16 h por ‘1 libélula’ variou entre 21 e 50 larvas de mosquitos. Na ‘combinação de predadores’ o consumo total de larvas variou entre 88 a 130 larvas. Portanto, entre os três indivíduos da ‘combinação de predadores’ (libélula, notonectídeo e belostomatídeo) o indivíduo de belostomatídeo é potencial em ter consumido o maior número de larvas do total de larvas consumidas. Pois, belostomatídeos tiveram o maior consumo per capita (45 larvas) entre libélulas (9 larvas) e notonectídeos (24 larvas). Além disso, conforme Saha *et al.* (2007), avaliando o consumo por indivíduo (para belostomatídeo e notonectídeo), os belostomatídeos foram os que consumiram mais larvas (até 87 e 122 larvas) do que notonectídeos (até 34 larvas) e libélulas (até 50 larvas, resultado deste trabalho).

A resposta dos mosquitos ao tratamento da ‘combinação de predadores’ resultou em contágio negativo. Então, a pergunta é: o que fez com que a ‘combinação de predadores’ ocasionasse seleção de sítio de oviposição? Pois, entre os três indivíduos que compuseram a ‘combinação de predadores’, um deles era o belostomatídeo (sendo que ‘3 belostomatídeos’ não repercutiu nem em evitação dos mosquitos as manchas onde eles estavam) e outro indivíduo era a libélula (sendo que ‘1 libélula’ não repercutiu nem em evitação dos mosquitos às manchas onde ela estava). Nesse contexto, o efeito do contágio negativo resultante da ‘combinação de predadores’ seria uma resposta apenas à presença da libélula e do notonectídeo nas manchas de habitats?

Dado que ‘3 belostomatídeos’ não resultou em nenhum tipo de resposta de seleção de sítio de oviposição pelos mosquitos, o mais provável é que a evitação dos mosquitos ao tratamento ‘combinação de predadores’ (libélula + notonectídeo + belostomatídeo) tenha sido gerada apenas pela presença da libélula e do notonectídeo. Se três indivíduos de belostomatídeos não foram evitados pelos mosquitos porque são capazes de se camuflar quimicamente ou por qualquer outro motivo, então, não há quaisquer outras evidências para acreditar que os mosquitos tenham evitado manchas de hábitat devido à presença conjunta dos três predadores (libélula + notonectídeo + belostomatídeo). Portanto, é mais provável que os mosquitos tenham respondido a presença do notonectídeo e da libélula. Pois, foram predadores que geraram respostas de contágio negativo nos tratamentos individuais de cada predador (3 libélulas e 3 notonectídeos). Dessa forma, é mais provável que a libélula gere algum tipo de pista, assim como o notonectídeo, e que o efeito conjunto de suas pistas seja suficiente para fazer com que os predadores sejam reconhecidos nas manchas e evitados pelos mosquitos.

Implicações do contágio espacial

Existem dois trabalhos com *Culex* no contexto do contágio negativo (gerado por peixes; Resetarits & Silberbush 2016; Trekels & Vanschoenwinkel 2019). Ambos os trabalhos demonstraram que houve uma redução no número de jangadas de ovos nas manchas de hábitat sem predadores que estavam próximas às manchas com predadores. Além de *Culex* respostas de contágio negativo também já foram descritas em outros trabalhos que tiveram como colonizadores os Chironomidae (Wesner *et al.* 2012, 2015) besouros (Resetarits & Binckley 2009, 2014; Resetarits 2018) e anfíbios (Resetarits 2005). A pista do risco de predação percebida pelos colonizadores pode fazer com que determinadas espécies deixem de ocorrer ou tenham baixa abundância nas manchas de hábitat onde a pista está presente. Por exemplo, recentemente Resetarits (2018) quanti-

ficou a extensão do contágio espacial em resposta a uma espécie de peixe (*Lepomis macrochirus*) predadora de besouros aquáticos. No estudo de Resetarits (2018) a distância teve um efeito significativo sobre o número médio de besouros. Pois, dependendo da espécie de besouro que colonizou as manchas de hábitat o número médio de besouros aumentou com o aumento da distância da mancha que tinha o predador. Nesse contexto, a principal implicação do contágio é na estrutura (*i.e.*, número, composição e abundância das espécies) de comunidades e metacomunidades. Considerando que a pista de predação é potencial em fazer com que manchas que de alta qualidade também sejam evitadas, a implicação, portanto, do contágio espacial, não é apenas no âmbito de uma comunidade isolada. Mas, sim, no âmbito de várias comunidades que juntas formam metacomunidades (Resetarits *et al.* 2005; Resetarits & Silberbush 2016).

As comunidades são constituídas pelos “indivíduos de todas as espécies que interagem dentro de uma única mancha ou área local do hábitat” (Leibold *et al.* 2004). Já as metacomunidades podem ser definidas como “um conjunto de comunidades locais que estão ligadas pela dispersão de múltiplas espécies que estão interagindo” (Wilson 1992 *apud* Leibold *et al.* 2004). Portanto, nos estudos experimentais de contágio espacial que simulam manchas aquáticas cada mancha (cada caixa experimental) representa uma comunidade. Assim, no desenho experimental deste trabalho foram simuladas cinco comunidades que juntas formaram uma metacomunidade. Tem sido demonstrado que a seleção de manchas de hábitat influencia na montagem de metacomunidades, pois, é capaz de fazer com que as espécies acabem interagindo mesmo que elas não estejam coexistindo localmente, ou seja, mesmo que não estejam ocupando a mesma comunidade (Resetarits & Silberbush, 2016). Assim, as espécies podem interagir respondendo a presença umas das outras sem que haja o encontro face a face entre elas. As interações sem existir o encontro face a face entre as espécies são denominadas de interações fantasmas (Resetarits *et al.* 2005). O mais interessante da interação fantasma é quando tal intera-

ção se estende espacialmente. Ou seja, quando a presença de um predador em uma mancha é capaz de fazer com que manchas que são de alta qualidade, que poderiam ser colonizadas pelos indivíduos sem repercutir em efeitos negativos da presença do predador, acabem sendo evitadas pelos colonizadores (Resetarits & Silberbush 2016). Mais interessante ainda, em um contexto de manchas aquáticas, é a possibilidade de as interações fantasmas ocorrerem em resposta a uma pista química que é volátil e que pode ser quimicamente percebida no ar pelos colonizadores. Assim, dependendo do alcance espacial da pista, os indivíduos poderiam perceber a presença dos predadores no ambiente mesmo que eles não estejam próximos da mancha onde o predador está. Um exemplo são os mosquitos (*Culiseta longiareolata*) que podem reconhecer a pista química volátil gerada pelo predador (*Notonecta maculata*) no ar, ou seja, eles não precisam necessariamente tocar a água para reconhecer a presença do predador (Silberbush & Blaustein 2008).

No contexto dos colonizadores aqui estudados é possível fazer uma reflexão do impacto da evitação dos mosquitos às manchas com predadores. Os mosquitos dependem de habitats aquáticos para completar as fases iniciais de desenvolvimento e eles são capazes de colonizar diversos habitats, como corpos d'água permanentes e temporários de tamanhos variados (Becker *et al.* 2010). Portanto, nos primeiros estágios de desenvolvimento as larvas de mosquitos compõem as comunidades aquáticas (Fang 2010). As larvas se alimentam de folhas em decomposição, detritos orgânicos e microrganismos e, ao mesmo tempo, servem de alimento para diversas espécies (Fang 2010), estabelecendo, assim, diversas interações. Assim, as decisões de seleção de sítio de oviposição feitas pelas fêmeas de mosquitos frente à presença de predadores em manchas podem determinar a ocorrência e abundância das fases imaturas de mosquitos nas manchas aquáticas. Portanto, tais decisões das fêmeas de mosquitos de onde depositar os ovos é potencial em gerar impactos sobre a estrutura de comunidades e metacomunidades.

Qual seria o impacto do contágio negativo sobre populações de mosquitos mediante as respostas a ‘3 libélulas, ‘3 notonectídeos’ e ‘combinação de predadores’? Avaliando o efeito da presença do predador nas manchas tem-se que para ‘3 notonectídeos’ o aumento previsto pelo modelo selecionado do número de jangadas de ovos entre 0 e 8 m foi igual a 9 jangadas de ovos. Como cada jangada de ovos de *Culex* pode ter até aproximadamente 350 ovos (Vianna *et al.* 1996) um total de 3.150 mosquitos adultos poderia emergir no ambiente. A razão entre machos e fêmeas que emerge de uma jangada de ovos de *Culex* é perto de 1:1 (Zequi & Lopes 2012). Então, se pelo menos a metade dos mosquitos for fêmea (1.575) e conseguir ovipor pelo menos mais uma jangada de ovos, a segunda geração poderia resultar em 551.250 indivíduos e uma terceira geração em 96.468.750 indivíduos. Seguindo o mesmo raciocínio, para ‘3 libélulas’ o aumento previsto do número de jangadas de ovos entre 0 e 8 m foi igual a 11 jangadas de ovos. Então, a primeira geração poderia resultar em 3.850 indivíduos, a segunda geração em 676.750 indivíduos e a terceira geração em 117.906.250 indivíduos. Já para ‘combinação de predadores’ o aumento do número de ovos previsto entre 0 e 8 m foi de 16 jangadas de ovos. Então, a primeira geração poderia resultar em 5.600 indivíduos, a segunda geração em 980.000 e a terceira geração em 171.500.000 indivíduos. Considerando que o ciclo de vida de culicídeos é relativamente curto (uma média de 30 dias para *Culex*, Vianna *et al.* 1996), em aproximadamente 135 dias haveria a emergência de um número de indivíduos que parece ser importante para a persistência das populações de mosquitos no ambiente natural.

Extensão do contágio espacial

Não foi possível estimar a extensão do contágio espacial pelo fato de ter sido utilizado um modelo linear que estimou uma taxa de variação constante do número de jangadas de ovos ao longo das distâncias. Neste trabalho, a definição das distâncias foi

feita em \log_2 (0, 1, 2, 4 e 8 m). Assim, se tivessem sido utilizadas mais caixas para cobrir mais distâncias intermediárias, principalmente entre 4 e 8 m, talvez teria sido possível melhorar o ajuste dos modelos não lineares e obter uma estimativa da extensão do contágio espacial. Pois, o fato de ter mais dados, mesmo cobrindo a mesma distância de 8 m poderia melhorar a execução dos modelos não lineares.

Uma possibilidade que ainda está sendo avaliada para quantificar a extensão do contágio espacial é de considerar o ponto de interseção entre a reta do controle e a reta dos tratamentos do regime de predação. Como o controle representa o padrão de oviposição na ausência dos predadores, então, espera-se que o intercepto do controle tenha mais jangadas de ovos do que o intercepto de cada tratamento de predação. Assim, o controle poderia representar o ponto onde o número de jangadas de ovos se estabilizaria. Dessa forma, o ponto de interseção entre as retas do controle e tratamentos poderia demarcar até qual distância o contágio espacial teria efeito.

Os cálculos dos pontos de interseção entre as retas foram executados (Tabela S1-S2 do Apêndice E), mas ainda não foram feitas interpretações finais sobre os pontos de interseção entre as retas. Entre os tratamentos que geraram contágio espacial as distâncias onde as retas do controle e tratamentos de predação se intersectaram foi entre 2 e 3 m (2,91 m para '3 libélulas', 3,20 m para '3 notonectídeos' e 2,20 m para a 'combinação de predadores') e nessas distâncias o número de jangadas de ovos foi igual a ~ 33 e 34 (Tabela S1-S2 do Apêndice E). Entre os tratamentos que geraram respostas de contágio a 'combinação de predadores' teve o maior coeficiente angular (0,054446) e '3 notonectídeos' teve o menor coeficiente angular (0,031302). Porém, o ponto de interseção entre a reta do controle e a reta da 'combinação de predadores' ocorreu em 2,22 m. Já o ponto de interseção do controle com '3 notonectídeos' ocorreu em 3,21 m (Tabela S1-S2 do Apêndice E). O intercepto do controle foi igual a 34 jangadas e ambos os interceptos de '3 notonectídeos' e 'combinação de predadores' foi igual a 30 jangadas.

Então, dado que a taxa de variação calculada para '3 notonectídeos' é menor, acaba sendo necessário uma distância maior para atingir a assíntota. Portanto, ainda não há consenso sobre a correspondência entre o coeficiente angular e ponto de intersecção entre as retas para determinar a extensão do contágio, já que um coeficiente angular menor resultou em uma maior extensão do contágio. Mas, é razoável afirmar é que pelo menos até ~ 2 e 3 m o contágio ainda deve existir.

CONCLUSÃO

Neste estudo, os mosquitos evitaram ocupar as manchas onde os predadores estavam presentes na mesma intensidade, mas as manchas com '3 belostomatídeos' e '1 libélula' não foram evitadas pelos mosquitos. Também foi evidenciado que entre os tratamentos de predação que foram testados não houve uma resposta proporcional entre o risco de predação quantificado em laboratório e a intensidade da evitação dos mosquitos aos predadores no campo. Pois, os predadores que geraram riscos de predação similares não geraram respostas proporcionais no experimento de campo de seleção de sítio de oviposição. Por exemplo, entre os predadores testados, indivíduos de *Belostoma* repercutiram em alto consumo de larvas no experimento em laboratório. Porém, os mosquitos, surpreendentemente, não evitaram manchas de hábitat com belostomatídeos no experimento de seleção de sítio de oviposição realizado no campo, indicando que talvez exista algum tipo de camuflagem química do predador no ambiente. Sendo assim, as decisões dos mosquitos podem depender de características mais finas relacionadas com a forma como os mosquitos percebem a pista da presença do predador nas manchas e de hábitat e de possíveis estratégias dos predadores, como a camuflagem química. Considerando que foi utilizado um modelo linear para descrever as decisões de seleção de sítio de oviposição isso acabou dificultando a determinação da extensão do contágio negativo. Apesar disso, cálculos entre a intersecção das retas do controle e dos trata-

mentos de predação de ‘3 libélulas’, ‘3 notonectídeos’ e ‘combinação de predadores’ indicam que a extensão do contágio negativo deve ter pelo menos entre 2 e 3 m. Outra questão interessante apontada por este estudo é que a evitação dos mosquitos às manchas com predadores pode refletir em uma estratégia importante para a manutenção das populações de mosquitos nos ambientes naturais. Pois, o número de indivíduos que emergiriam da mancha de hábitat espacialmente mais distante da mancha com predador parece ser potencial em gerar implicações sobre a manutenção das populações de mosquitos. A utilização dos dados obtidos nesta pesquisa para simular mudanças nas populações dos mosquitos ao longo do tempo poderia ajudar a entender melhor o impacto das decisões dos mosquitos dado a presença dos predadores nas manchas. Este trabalho corrobora as descrições feitas na literatura de que os mosquitos (*Culex*) são capazes de avaliar a qualidade das manchas nos ambientes naturais, destaca a existência do contágio negativo e de suas implicações sobre as populações de mosquitos.

REFERÊNCIAS

As referências foram formatadas de acordo com as normas da revista *Ecology Letters*:

<https://onlinelibrary.wiley.com/page/journal/14610248/homepage/ForAuthors.html#tips10>

- Andrade, M.R., Albeny-Simões, D., Breaux, J.A., Juliano, S.A. & Lima, E. (2016). Are behavioural responses to predation cues linked across life cycle stages? *Ecol. Entomol.*, 42, 77–85.
- Angelon, K.A. & Petranka, J.W. (2002). Chemicals of predatory mosquitofish (*Gambusia affinis*) influence selection of oviposition site by *Culex* mosquitoes. *J. of Chem. Ecol.*, 28, 797–806.
- Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Madon, M., Dahl, C., *et al.* (2010). Biology of Mosquitoes. In: *Mosquitoes and Their Control*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 9–24.
- Bernardo, J. (1996). Maternal Effects in Animal Ecology. *Amer. Zool.*, 36, 83–105.
- Binckley, C.A., Resetarits, W.J. & Resetarits Jr., W.J. (2003). Functional equivalence of non-lethal effects: generalized fish avoidance determines distribution of gray treefrog, *Hyla chrysoscelis*, larvae. *Oikos*, 102, 623–629.

- 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 Processes: Modern Perspectives* (ed. Wasser, S.). Kluwer, Dordrecht, pp. 441–456.
- 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.
- Bolker, B. (2007). *Ecological Models and Data in R*. Princeton University Press, pp. 139-188.
- Bonebrake, T.C., Boggs, C.L., McNally, J.M., Ranganathan, J. & Ehrlich, P.R. (2010). Oviposition behavior and offspring performance in herbivorous insects: consequences of climatic and habitat heterogeneity. *Oikos*, 119, 927–934.
- Brown, J.S. (1988). Patch use as an indicator of habitat preference, predation risk, and competition. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 22, 37–47.
- Brown, J.S. (1992). Patch use under predation risk: 1. Models and predictions. *Ann. Zool. Fenn.*, 29, 301–309.
- Burnham, K.P. & Anderson, D.R. (2002). *Model selection and multimodel inference: A practical*. Second Edi. Springer Berlin Heidelberg, New York, pp. 49-96.
- Chalcraft, D.R. & Resetarits, W.J. (2003). Predator Identity and Ecological Impacts: Functional Redundancy or Functional Diversity? *Ecology*, 84, 2407–2418.
- Charlwood, D., Rafael, J.A. & Wilkes, T.J. (1980). Métodos de determinar a idade fisiológica em Diptera de importância médica. Uma revisão com especial referência aos vetores de doenças na América do Sul. *Acta Amaz.*, 10, 311–333.
- Consoli, R.A.G.B. & Oliveira, R.L. de. (1994). *Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil*. Fiocruz, Rio de Janeiro, pp. 39-56.
- Corbet, P.S. (1962). *A biology of dragonflies aspects of Zoology*. H. F. & g. Witherby LTD, London, pp. 47-90.
- Day, J.F. (2016). Mosquito oviposition behavior and vector control. *Insects*, 7, 1–22.
- Deans, R.A. & Chalcraft, D.R. (2017). Matrix context and patch quality jointly determine diversity in a landscape-scale experiment. *Oikos*, 126, 874–887.
- Dicke, M. & Grostal, P. (2001). Chemical detection of natural enemies by arthropods: An ecological perspective. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 32, 1–23.
- Dietl, G.P. & Kelley, P.H. (2002). The fossil record of predator-prey arms races: coevolution and escalation hypotheses. *Paleontol. Soc. Pap.*, 8, 353–374.

- Elert, E. von. (2012). Information conveyed by chemical cues. In: *Chemical ecology in aquatic systems* (eds. Brönmark, C. & Hansson, L.-A.). Oxford University Press, New York, pp. 19–38.
- Eveland, L.L., Bohenek, J.R., Silberbush, A. & Resetarits Jr., W.J. (2016). Detection of fish and newt kairomones by ovipositing mosquitoes. In: *Chemical Signals in Vertebrates 13* (ed. Schulte, B.A. *et al.*). Springer International Publishing Switzerland, pp. 229–244.
- Eveleigh, S. & Chant, D.A. (1982). Experimental studies on acarine predator-prey interactions: the effects of predator density on prey consumption, predator searching efficiency, and the functional response to prey density (Acarina: Phytoseiidae). *Can. J. Zool.*, 60, 611–628.
- Fang, J. (2010). A world without mosquitoes. *Nature*, 466, 432–434.
- Ferrari, M.C.O., Messier, F. & Chivers, D.P. (2007). Variable predation risk and the dynamic nature of mosquito antipredator responses to chemical alarm cues. *Chemoecology*, 17, 223–229.
- Forattini, O. P. (2012). *Culicidologia Médica*. vol. 2: Identificação, Biologia, Epidemiologia. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, pp. 51-96.
- Forsman, J.T., Hjernquist, M.B., Taipale, J. & Gustafsson, L. (2008). Competitor density cues for habitat quality facilitating habitat selection and investment decisions. *Behav. Ecol.*, 19, 539–545.
- Fouqueray, T. (2013). Maternal effects modulate offspring development and population dynamics in the wild. *Biosci. Master Rev.*, 1–7.
- Fretwell, S.D. & Lucas, H.L. (1970). On territorial behavior and other factors influencing habitat distribution in birds. *Acta Biotheor.*, 19, 16–36.
- Gotelli, N. J. (2011). *Princípios de estatística em ecologia*. Artmed, Porto Alegre, pp. 258-304.
- Grinnell, J. (1917). The Niche-Relationships of the California Thrasher. *Auk*, 34, 427–433.
- Hartig, F. (2019). *DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level/Mixed) Regression Models*. R package version 0.2.3. Available at: <https://CRAN.R-project.org/package=DHARMA>
- Heino, M., Parvinen, K. & Dieckmann, U. (2008). Evolution of foraging strategies on resource gradients. *Evol. Ecol. Res.*, 10, 1131–1156.

- Hughey, M.C., McCoy, M.W., Vonesh, J.R. & Warkentin, K.M. (2012). Spatial contagion drives colonization and recruitment of frogflies on clutches of red-eyed treefrogs. *Biol. Lett.*, 8, 887–889.
- Hutto, R.L. (1985). Habitat selection by Nonbreeding, migratory land birds. In: *Habitat Selection in Birds* (ed. Cody, M.). Academic Press, Inc., pp. 455–476.
- Instituto Florestal. (2011). *Estação Ecológica de Santa Bárbara: Plano de Manejo*. Secretaria do Meio Ambiente.
- Johnson, M.D. (2005). Habitat quality: a brief review for wildlife biologists. *Trans. W. Sect. Wildl. Soc.*, 41, 31–41.
- Johnson, M.D. (2007). Measuring Habitat Quality: A Review. *Condor*, 109, 489–504.
- Karr, J.R. & Freemark, K.E. (1983). Habitat Selection and Environmental Gradients: Dynamics in the “Stable” Tropics. *Ecology*, 64, 1481–1494.
- Kiesecker, J.M. & Skelly, D.K. (2000). Choice of oviposition site by gray treefrogs: the role of potential parasitic infection. *Ecology*, 81, 2939–2943.
- Kiflawi, M., Blaustein, L. & Mangel, M. (2003). Oviposition habitat selection by the mosquito *Culiseta longiareolata* in response to risk of predation and conspecific larval density. *Ecol. Entomol.*, 28, 168–173.
- Kweka, E.J., Zhou, G., Iii, T.M.G., Afrane, Y., Nyindo, M. & Githeko, A.K. (2011). Predation efficiency of *Anopheles gambiae* larvae by aquatic predators in western Kenya highlands. *Parasit. Vectors*, 128, 1–7.
- Lima, S.L. & Dill, M. (1990). Behavioral decisions made under the risk of predation: a review and prospectus. *Can. J. Zool.*, 68, 619–640.
- Liu, Y.L., Zhai, X.Z., Oluwafemi, A.R. & Zhang, H.Y. (2014). Influence of Substrate Color on Oviposition Behavior, Egg Hatchability, and Substance of Egg Origin in the Mosquito *Anopheles sinensis* (Wiedemann) (Diptera: Culicidae). *Neotrop. Entomol.*, 43, 483–487.
- Masakado, K. & Matsushima, N. (2005). The choice of oviposition site and the effects of density and oviposition timing on survivorship in *Rana japonica*. *Ecol Res*, 20, 81–86.
- McPeeK, M.A. (1998). The consequences of changing the top predator in a food web: a comparative experimental approach. *Ecol. Mon*, 68, 1–23.
- Mitchell, T.S., Maciel, J.A. & Janzen, F.J. (2015). Maternal effects influence phenotypes and survival during early life stages in an aquatic turtle. *Funct. Ecol.*, 29, 268–276.

- Miyazaki, R.D., Ribeiro, A.L.M., Pignatti, M.G., Campelo, J.H. & Pignati, M. (2009). Monitoramento do mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), por meio de ovitrampas no Campus da Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, Estado de Mato Grosso. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 42, 392–397.
- Morris, D.W. (1987). Spatial scale and the cost of density-dependent habitat selection. *Evol. Ecol.*, 1, 379–388.
- Morris, D.W. (2003). Toward an ecological synthesis: A case for habitat selection. *Oecologia*, 136, 1–13.
- Morrison, W.R., Mathews, C.R. & Leskey, T.C. (2016). Frequency, efficiency, and physical characteristics of predation by generalist predators of brown marmorated stink bug (Hemiptera: Pentatomidae) eggs. *Biol. Control*, 97, 120–130.
- Neiss, U.G. & Hamada, N. (2014). Ordem Odonata. In: *Insetos aquáticos na Amazônia brasileira: taxonomia, biologia e ecologia* (eds Hamada, N., Nessimian, J.L. & Querino, R.B.). Editora do INPA, Manaus, pp. 217-282.
- Ohba, S.Y., Ohtsuka, M., Sunahara, T., Sonoda, Y., Kawashima, E. & Takagi, M. (2012). Differential responses to predator cues between two mosquito species breeding in different habitats. *Ecol. Entomol.*, 37, 410–418.
- Oliveira, T.A., Idalencio, R., Kalichak, F., dos Santos Rosa, J.G., Koakoski, G., de Abreu, M.S., *et al.* (2017). Stress responses to conspecific visual cues of predation risk in zebrafish. *PeerJ*, 5, 1-12.
- Oliveira, T.E.S. de & Muis, C.R. de. (2014). Análise da flutuação das populações de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em uma escola de Cuiabá-MT. *Rev. Eletrônica em Gestão, Educ. e Tecnol. Ambient. - REGET*, 18, 178–186.
- Peel, M.C., Finlayson, B.L. & McMahon, T.A. (2007). Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrol. Earth Syst. Sci.*, 11, 1633–1644.
- R Core Team (2018). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available at: URL <https://www.R-project.org/>.
- Reiter, P., Amador, M.A. & Nelson, A.U.I. (1991). Enhancement of the CDC ovitrap with hay infusions for daily monitoring of *Aedes aegypti* populations. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 7, 52–55.
- Resetarits, W.J. (2005). Habitat selection behaviour links local and regional scales in aquatic systems. *Ecol. Lett.*, 8, 480–486.

- Resetarits, W.J. (2018). Giving predators a wide berth: quantifying behavioral predator shadows in colonizing aquatic beetles. *Oecologia*, 186, 415–424.
- Resetarits, W.J. & Binckley, C.A. (2009). Spatial contagion of predation risk affects colonization dynamics in experimental aquatic landscapes. *Ecology*, 90, 869–876.
- Resetarits, W.J. & Binckley, C.A. (2013). Is the Pirate Really a Ghost? Evidence for Generalized Chemical Camouflage in an Aquatic Predator, Pirate Perch *Aphredoderus sayanus*. *Am. Nat.*, 181, 690–699.
- Resetarits, W.J. & Binckley, C.A. (2014). Species responses of colonising beetles to variation in patch quality, number, and context in experimental aquatic landscapes. *Ecol. Entomol.*, 39, 226–235.
- Resetarits, W.J., Binckley, C.A. & Chalcraft, D.R. (2005). Habitat selection, species interactions, and processes of community assembly in complex landscapes: a metacommunity perspective. In: *Metacommunities: spatial dynamics and ecological communities* (eds. Holyoak, M., Leibold, M.A. & Holt, R.D.). pp. 16.1-16.35.
- Resetarits, W.J. & Silberbush, A. (2016). Local contagion and regional compression: habitat selection drives spatially explicit, multiscale dynamics of colonisation in experimental metacommunities. *Ecol. Lett.*, 19, 191–200.
- Ribeiro, J.R.I., Moreira, F.F.F., Barbosa, J.F., Alecrim, V.P. & Rodrigues, D.D. (2014). Ordem Hemiptera. In: *Insetos aquáticos na Amazônia brasileira: taxonimia, biologia e ecologia* (eds. Hamada, N., Nessimian, J.L. & Querino, R.B.). Editora do INPA, Manaus, pp. 313-334.
- Riesch, R., Clifton, J., Fisher, J., Forney, A., Geurin, E., Kuzmic, A., *et al.* (2007). The Role of Habitat Type and Nutrient Quality on Invertebrate Dispersal and Diversity. *Proc. Oklahoma Acad. Sci.*, 87, 89–94.
- Roberts, D. (2017). Mosquito larvae can detect water vibration patterns from a nearby predator. *Bull. Entomol. Res.*, 1–7.
- Rosenzweig, M.L. (1981). A Theory of Habitat Selection. *Ecology*, 62, 327–335.
- Salazar, M.J. & Moncada, L.I. (2004). Ciclo de vida de *Culex quinquefasciatus* Say, 1826 (Diptera: Culicidae) bajo condiciones no controladas en Bogotá. *Biomédica*, 24, 385–392.

- Saward-Arav, D., Sadeh, A., Mangel, M., Templeton, A.R. & Blaustein, L. (2016). Oviposition responses of two mosquito species to pool size and predator presence: varying trade-offs between desiccation and predation risks. *Isr. J. Ecol. Evol.*, 9801, 1–6.
- Schoolmaster, D.R. (2013). Resource competition and coexistence in heterogeneous metacommunities: many-species coexistence is unlikely to be facilitated by spatial variation in resources. *PeerJ*, 1, 1–13.
- Segev, O., Verster, R. & Weldon, C. (2017). Testing the link between perceived and actual risk of predation: mosquito oviposition site selection and egg predation by native and introduced fish. *J. Appl. Ecol.*, 54, 854–861.
- Shaalan, E.A., Canyon, D.V., Muller, R., Wagdy, M., Younes, F., Abdel-wahab, H., *et al.* (2007). A mosquito predator survey in Townsville, Australia, and an assessment of *Diplonychus* sp. and *Anisops* sp. predatorial capacity against *Culex annulirostris* mosquito immatures. *J. Vector Ecol.*, 32, 16–21.
- Silberbush, A. & Blaustein, L. (2008). Oviposition habitat selection by a mosquito in response to a predator: Are predator-released kairomones air-borne cues? *Source J. Vector Ecol.*, 33, 208–211.
- Silberbush, A. & Blaustein, L. (2011). Mosquito females quantify risk of predation to their progeny when selecting an oviposition site. *Funct. Ecol.*, 25, 1091–1095.
- Silberbush, A., Markman, S., Efraim, L., Bar, E., Cohen, J.E. & Blaustein, L. (2010). Predator-released hydrocarbons repel oviposition by a mosquito. *Ecol. Lett.*, 13, 1129–1138.
- Staats, E.G., Agosta, S.J. & Vonesh, J.R. (2016). Predator diversity reduces habitat colonization by mosquitoes and midges. *Biol. Lett.*, 12, 4–7.
- Stamps, J.A. (2009). Habitat Selection. In: *The Princeton Guide to Ecology* (ed. Levint, S.A.). In the United Kingdom: Princeton University Press, New Jersey, pp. 38–44.
- 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. *J. Vector Ecol.*, 25, 190–202.
- Stav, G., Blaustein, L. & Margalith, J. (1999). Experimental evidence for predation risk sensitive oviposition by a mosquito, *Culiseta longiareolata*. *Ecol. Entomol.*, 24, 202–207.

- Touchon, J.C. & Worley, J.L. (2015). Oviposition site choice under conflicting risks demonstrates that aquatic predators drive terrestrial egg-laying. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.*, 282, 1–7.
- Trekels, H. & Vanschoenwinkel, B. (2019). Both local presence and regional distribution of predator cues modulate prey colonisation in pond landscapes. *Ecol. Lett.*, 22, 89–97.
- Vonesh, J.R. & Blaustein, L. (2010). Predator-induced shifts in mosquito oviposition site selection: a meta-analysis and implications for vector control. *Isr. J. Ecol. Evol.*, 56, 263–279.
- Wesner, J.S., Billman, E.J. & Belk, M.C. (2012). Multiple predators indirectly alter community assembly across ecological boundaries. *Ecology*, 93, 1674–1682.
- Wesner, J.S., Meyers, P., Billman, E.J. & Belk, M.C. (2015). Habitat selection and consumption across a landscape of multiple predators. *Ecol. Evol.*, 5, 121–129.
- Zequi, J.A.C. & Lopes, J. (2012). Development of the immature stages of *Culex* (*Culex*) *saltanensis* Dyar (Diptera, Culicidae) under laboratory conditions. *Rev. Bras. Entomol.*, 56, 106–110.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Apêndice A: fotos das localidades

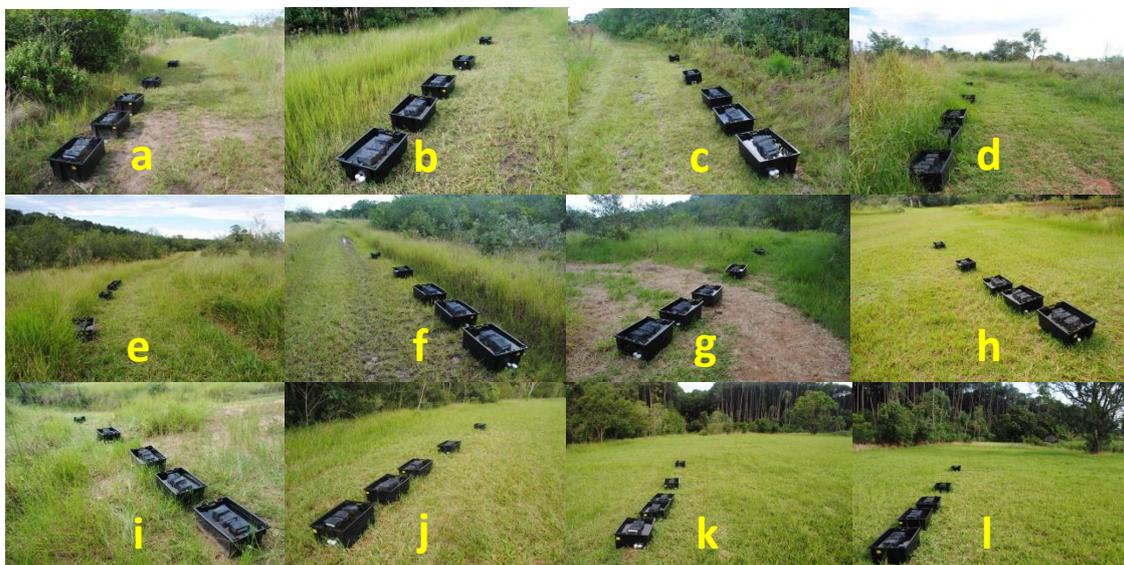


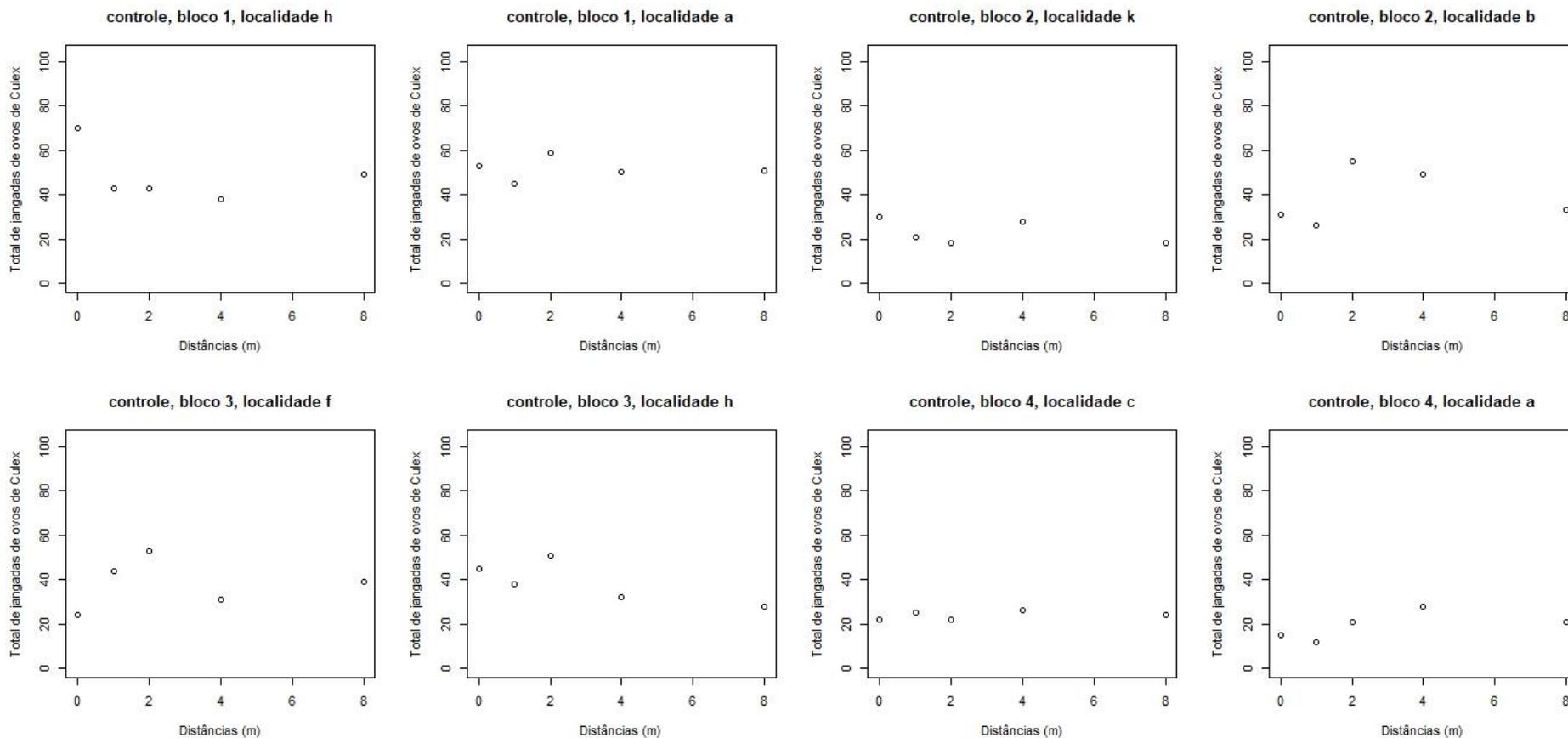
Figura S1. As doze localidades (de a até l) onde foram instaladas as unidades experimentais (conjuntos de cinco caixas). Fotos: Rodolfo Pelinson.

Apêndice B: planilha de dados e códigos para execução das análises

1. *Análise do contágio espacial*: planilha de dados (arquivos: desovas_contagio.txt e em formato .xlsx), códigos para execução dos modelos não lineares 'nls' (arquivos: modelos_ao_lineares.R e em formato .txt), código para execução da análise de contágio espacial (arquivos: selecao.oviposicao_contagio.espacial.R e em formato .txt), arquivo RHISTORY (.Rhistory) e R Workspace (.RData). 2. *Análise para quantificar o risco de predação e para verificar a relação entre contágio espacial e risco de predação*: planilha de dados (arquivos: predacao.txt e em formato .xlsx), códigos da análise para quantificar o risco de predação e análise da correlação de Pearson entre a intensidade da evitação espacial e o risco de predação (arquivos: risco.predacao_contagio.espacial.R e em formato .txt), arquivo RHISTORY (.Rhistory) e R Workspace (.RData).

Acesse os dados e códigos para execução de todas as análises em:

<http://ecologia.ib.usp.br/index.php/jquery-demo-menu/teses-a-dissertacoes/12-pos-graduacao/65-dissertacaodebora>

Apêndice C: gráficos exploratórios do experimento em campo de seleção de sítio de oviposição (Figuras S2-S6)**Figura S2.** Número total de jangadas de ovos de *Culex* depositadas a diferentes distâncias (0, 1, 2, 4, 8 m) na ausência de predadores (controle).

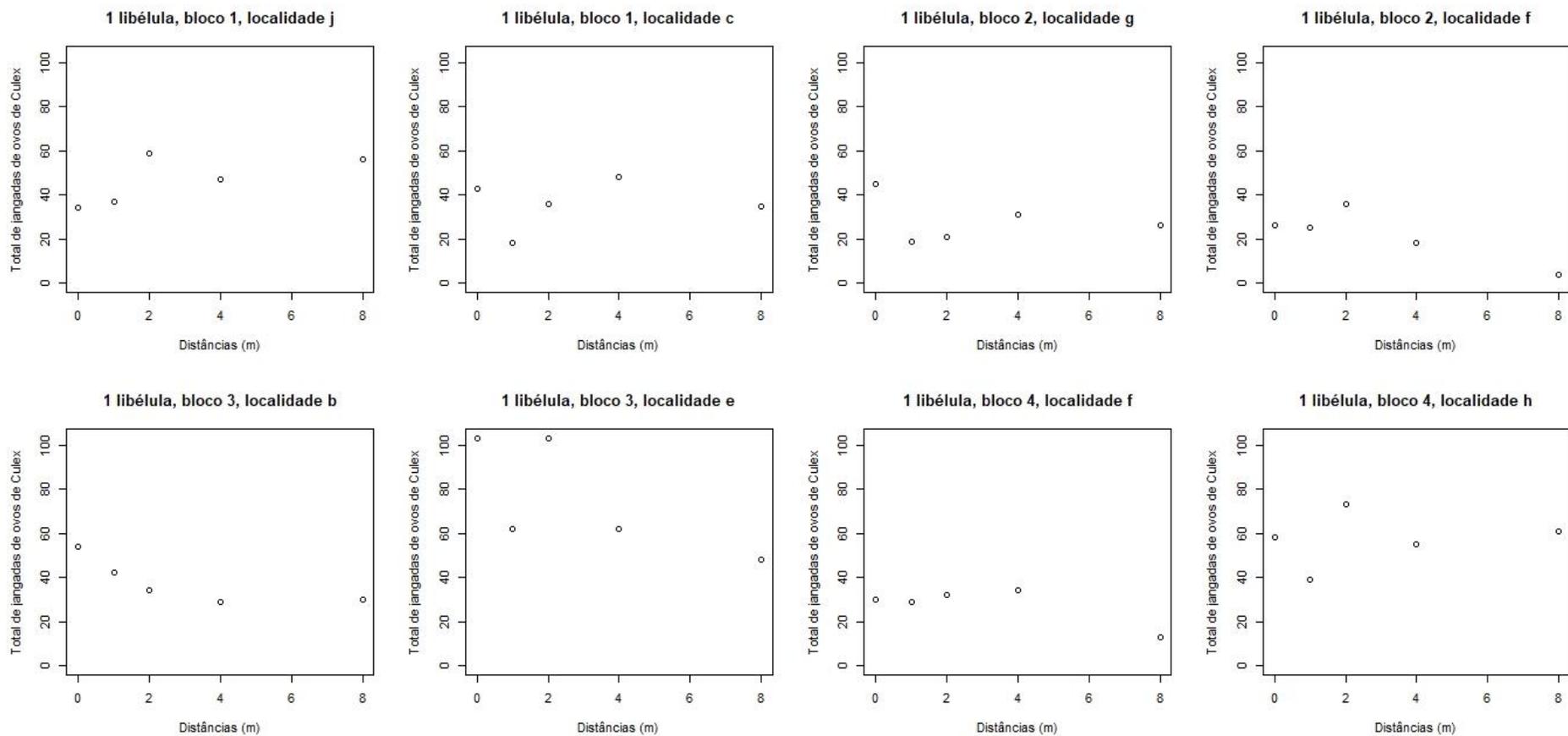


Figura S3. Número total de jangadas de ovos de *Culex* depositadas a diferentes distâncias (0, 1, 2, 4, 8 m) de ‘1 libélula’.

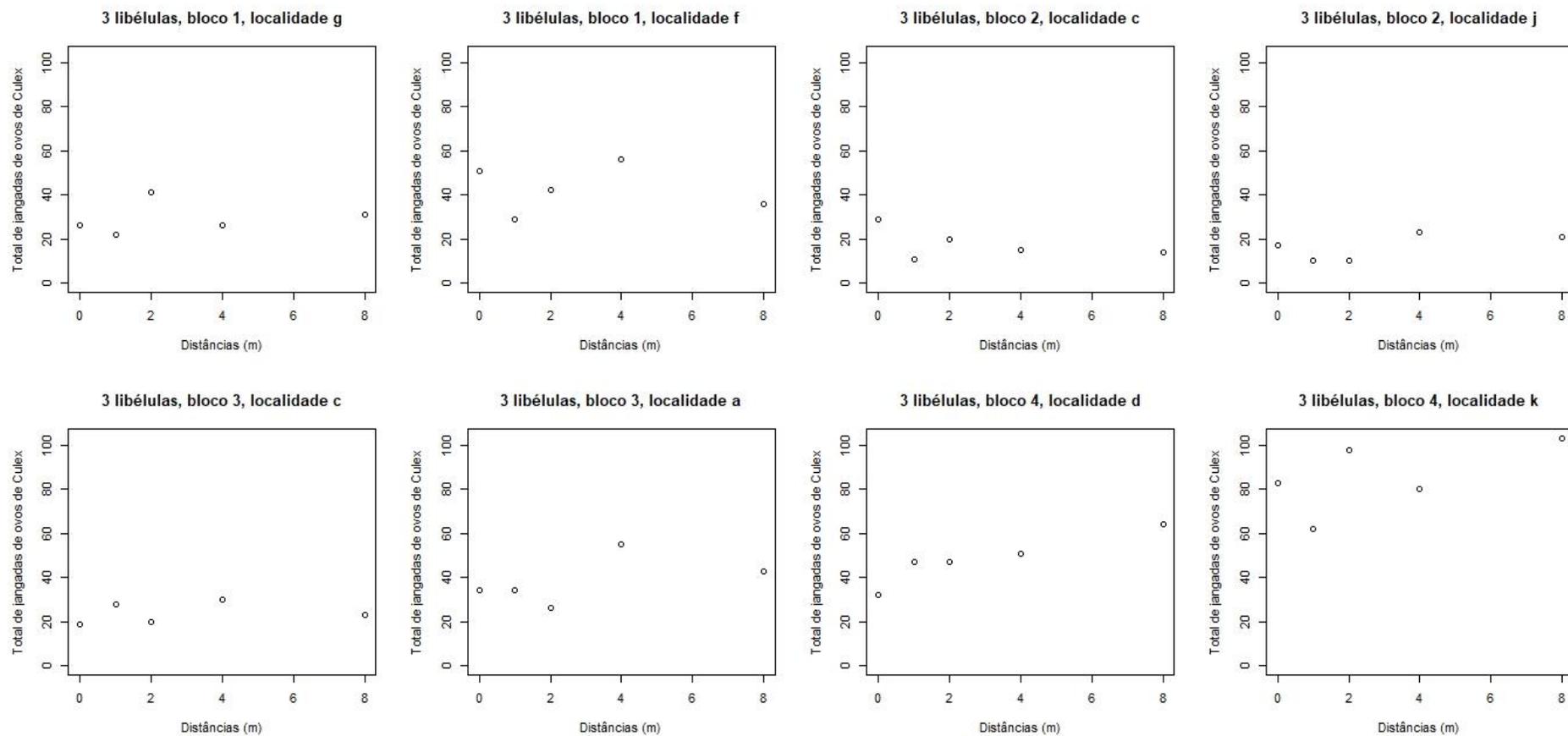


Figura S4. Número total de jangadas de ovos de *Culex* depositadas a diferentes distâncias (0, 1, 2, 4, 8 m) de ‘3 libélulas’.

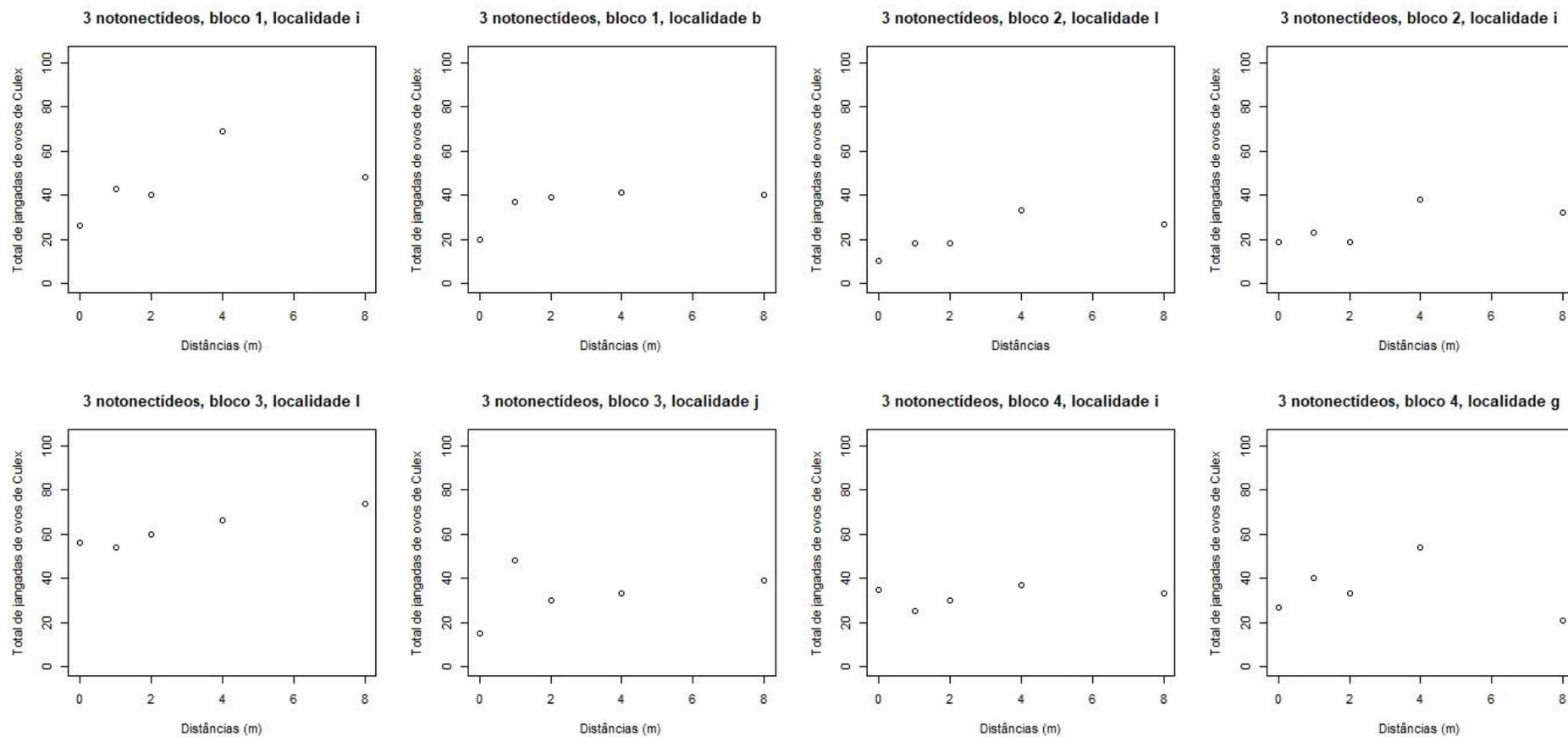


Figura S4. Número total de jangadas de ovos de *Culex* depositadas a diferentes distâncias (0, 1, 2, 4, 8 m) de ‘3 notonectídeos’.

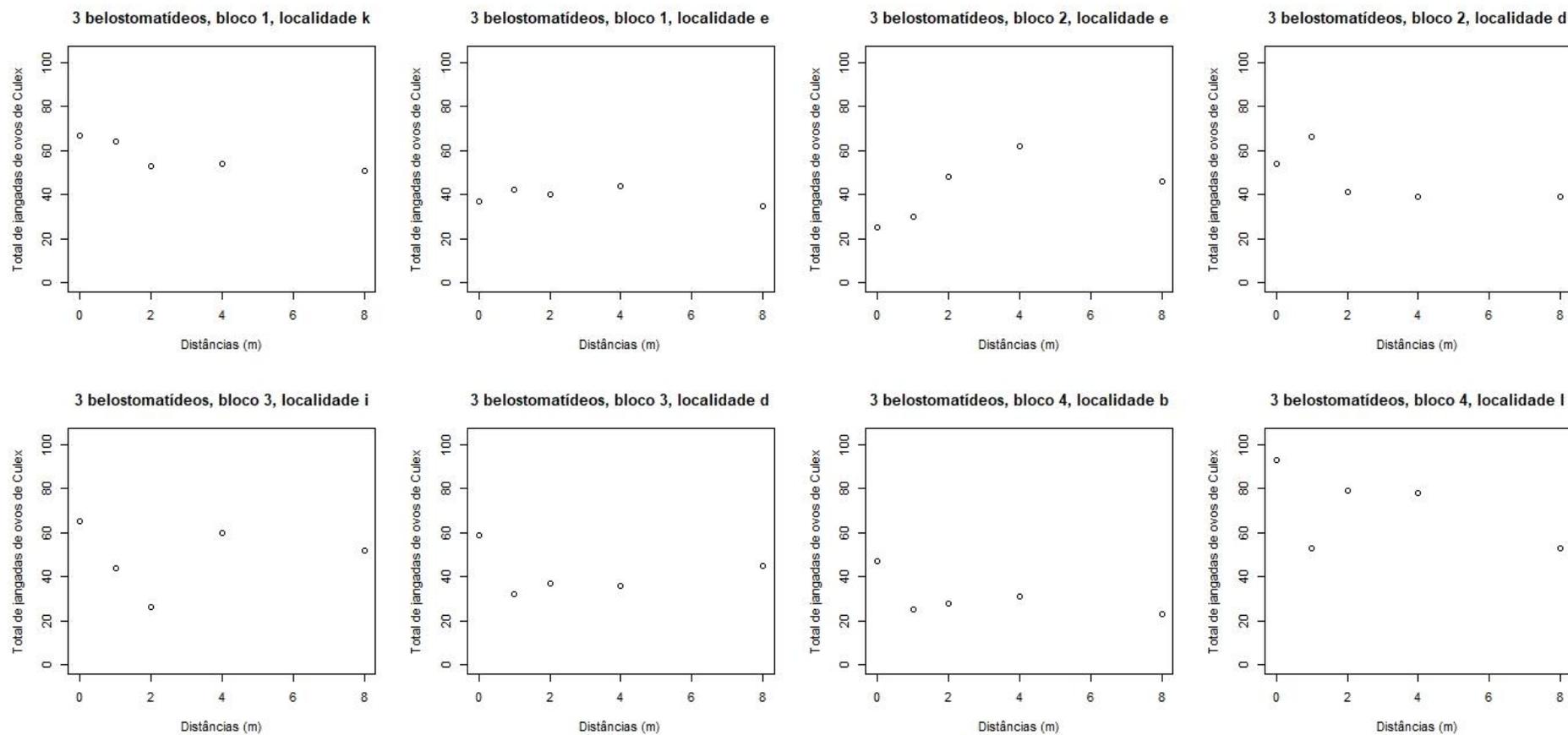


Figura S5. Número total de jangadas de ovos de *Culex* depositadas a diferentes distâncias (0, 1, 2, 4, 8 m) de ‘3 belostomatídeos’.

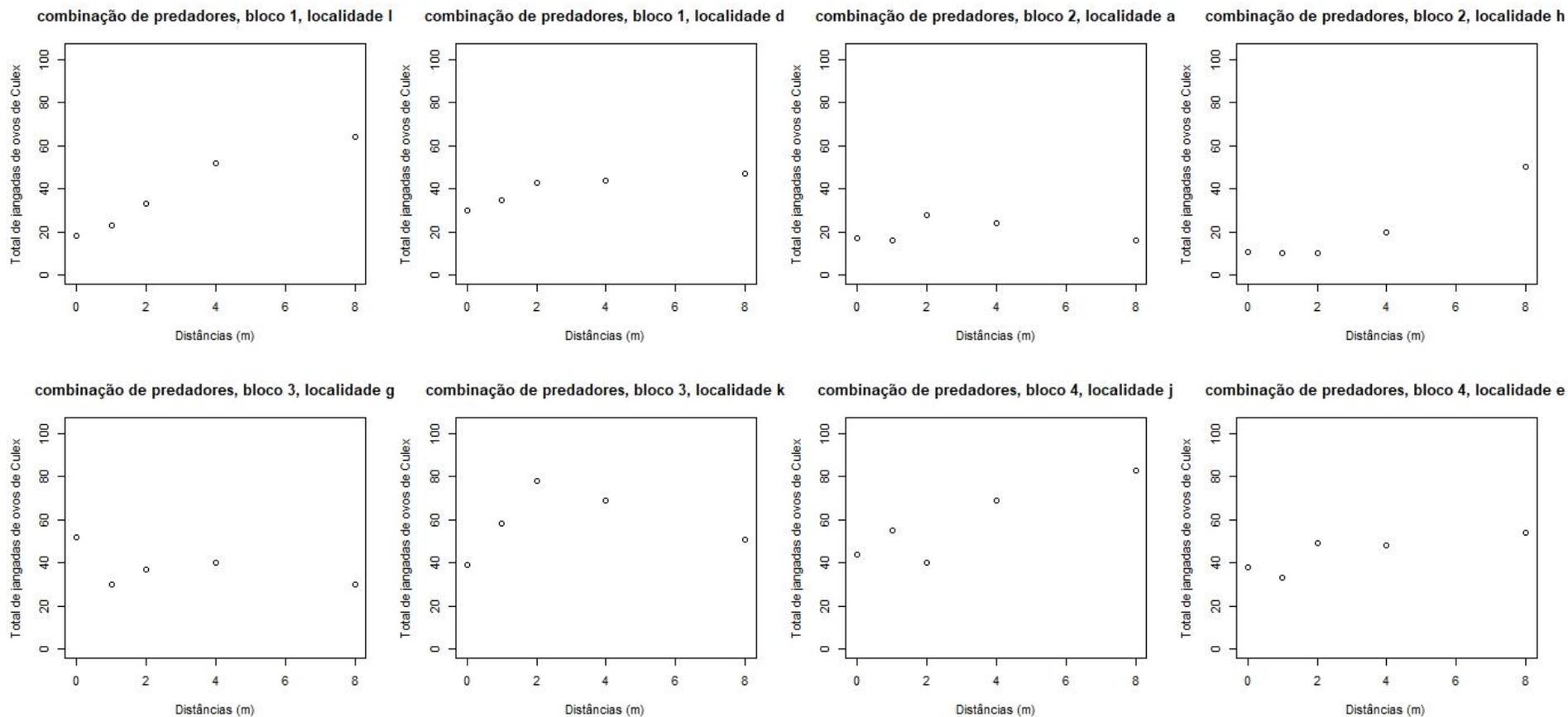


Figura S6. Número total de jangadas de ovos de *Culex* depositadas a diferentes distâncias (0, 1, 2, 4, 8 m) de uma combinação de três predadores (a libélula, o notonectídeo e o belostomatídeo).

Apêndice D: gráfico exploratório do experimento em laboratório para quantificar o risco de predação de larvas de mosquitos por regime de predação

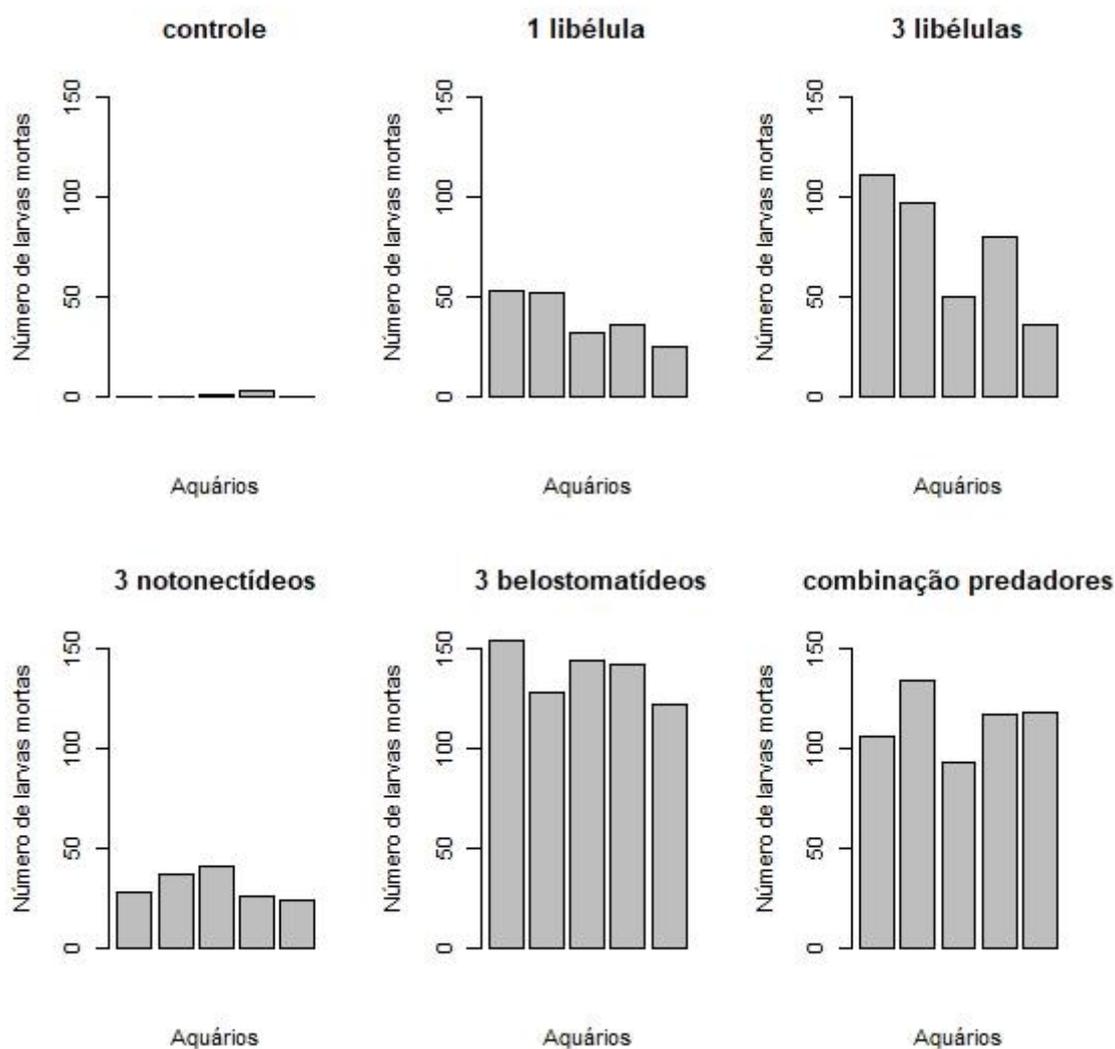


Figura S7. Gráfico mostrando a variação no número de larvas vivas por aquário (cada barra representa um aquário) e regime de predação testado (controle, 1 libélula, 3 libélulas, 3 notonectídeos, 3 belostomatídeos e combinação de predadores). É possível observar, por exemplo, que no tratamento ‘3 libélulas’ há uma variação (que parece importante) no número de larvas mortas entre os cinco aquários, variando de 36 a 111 larvas mortas. Por isso, os aquários foram incluídos nos modelos como uma variável aleatória.

Apêndice E: sumário estatístico do modelo mais plausível que descreveu a resposta de seleção de sítio de oviposição e contágio espacial por mosquitos

```
# Summary md24.it

summary(md24.it)

## Generalized linear mixed model fit by maximum likelihood (Laplace
## Approximation) [glmerMod]
## Family: poisson ( log )
## Formula: oviculex ~ regimepred + distancia + regimepred:distancia + (1 |
## loc.blo) + (distancia | bloco) + (distancia | localidade)
## Data: desovas
## Control:
## glmerControl(optimizer = "bobyqa", optCtrl = list(maxfun = 5e+06))
##
##      AIC      BIC   logLik deviance df.resid
##  2056.8  2122.9 -1009.4  2018.8     221
##
## Scaled residuals:
##      Min       1Q   Median       3Q      Max
## -3.4673 -1.0310 -0.1032  0.9251  3.5620
##
## Random effects:
## Groups      Name                Variance Std.Dev. Corr
## loc.blo     (Intercept)  0.0872693 0.29541
## localidade (Intercept)  0.0083487 0.09137
##             distancia    0.0004553 0.02134 -0.23
## bloco       (Intercept)  0.0495224 0.22254
##             distancia    0.0001549 0.01245 -0.69
## Number of obs: 240, groups:  loc.blo, 48; localidade, 12; bloco, 4
##
## Fixed effects:
##
##              Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
## (Intercept)      3.553153   0.164375  21.616 < 2e-16 ***
## regimepred1 lib    0.209997   0.160892   1.305 0.191822
## regimepred3 lib   -0.140365   0.162996  -0.861 0.389150
## regimepred3 noto  -0.131802   0.172128  -0.766 0.443842
## regimepred3 belo   0.311871   0.186657   1.671 0.094757 .
## regimepredcomb   -0.142530   0.172615  -0.826 0.408968
## distancia        -0.009804   0.013791  -0.711 0.477136
## regimepred1 lib:distancia -0.020934   0.014067  -1.488 0.136720
## regimepred3 lib:distancia  0.048103   0.014371   3.347 0.000816 ***
## regimepred3 noto:distancia 0.041106   0.016014   2.567 0.010261 *
## regimepred3 belo:distancia -0.013624   0.015087  -0.903 0.366527
## regimepredcomb:distancia  0.064251   0.014376   4.469 7.84e-06 ***
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Apêndice F: análise dos resíduos do modelo mais plausível que descreveu a seleção de sítio de oviposição e contágio espacial por mosquitos

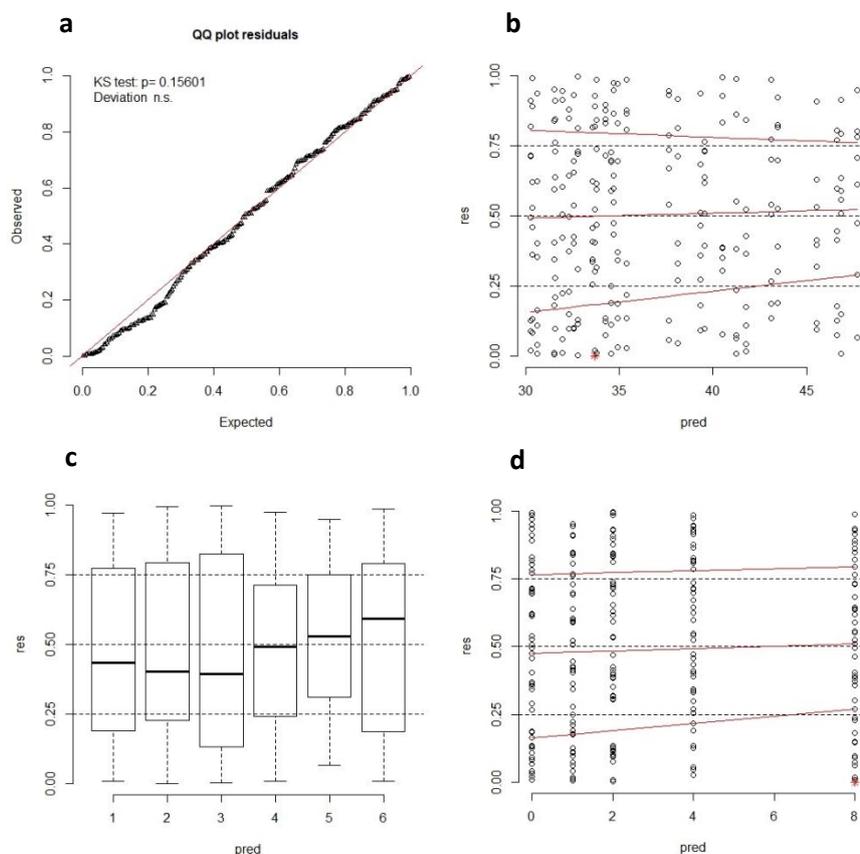


Figura S8. **a.** A verificação visual quantil-quantil e o teste de Kolmogorov-Smirnov ($p=0,15$) indicam que os resíduos quantílicos possuem distribuição uniforme. **b.** Desvios gerais do modelo selecionado na direção y por quantil, 0,25, 0,50, 0,75. **c.** Desvios dos resíduos relacionados com o preditor ‘regime de predação’. **d.** Desvios dos resíduos relacionados com o preditor ‘distância’. A distribuição dos resíduos apresentados em *boxplot* (para o fator ‘regime de predação’) é uniforme quando as caixas do *boxplot* vão de 0,25 a 0,75 e apresentam a linha da mediana em 0,5. Para o preditor da ‘distância’ (**d**; variável utilizada no modelo como variável contínua) e gráfico geral (**b**; modelo completo incluindo todas as variáveis) foram feitas regressões quantílicas que aparecem como linhas contínuas quantílicas nos gráficos nos quantis que vão de 0,25 a 0,75. A distribuição dos resíduos é uniforme quando as linhas são horizontais nos valores dos quantis. Em todos os casos alguns desvios são esperados e devem aumentar em amostras pequenas (Hartig 2019). As inspeções realizadas mostram que não há desvios importantes entre o que foi observado e o que foi calculado pelo modelo, indicando que o modelo é um bom descritor dos dados.

Referência

Hartig, F. (2019). *DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level/ Mixed) Regression Models*. R package version 0.2.3. Available at: <https://CRAN.R-project.org/package=DHARMA>

Apêndice G: representação das variáveis aleatórias incluídas no modelo que descreveu a seleção de sítio de oviposição e contágio espacial por mosquitos

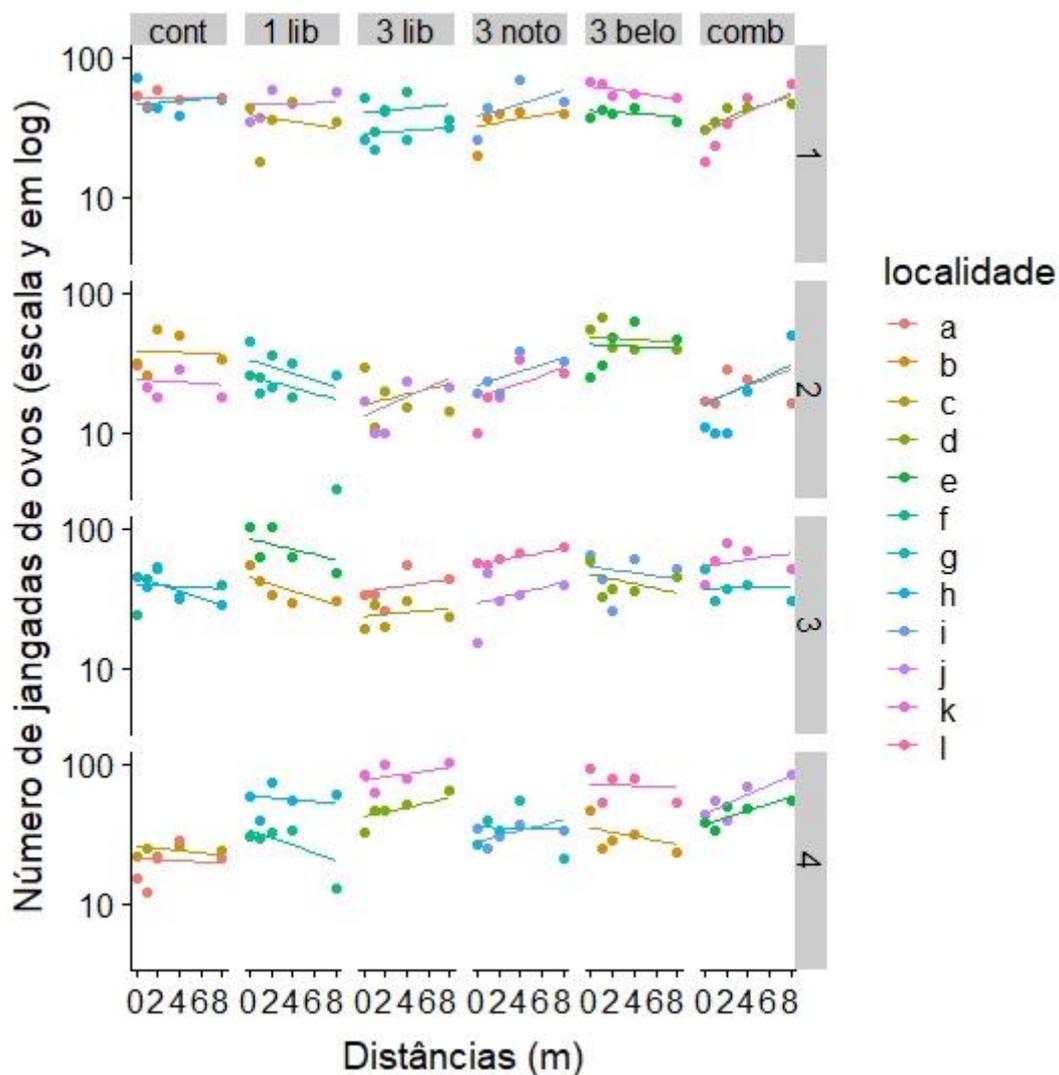


Figura S9. Variação no número de jangadas de ovos por distância para cada combinação de bloco temporal (1 = dezembro, 2 = janeiro, 3 = fevereiro e 4 = março), localidade (a até l) e regime de predação (cont = controle, 1 lib = 1 libélula, 3 lib = 3 libélulas, 3 noto = 3 notonectídeos, 3 belo = 3 belostomatídeos e comb = combinação de predadores).

Apêndice H: sumário do modelo mais plausível que quantificou o risco de predação das larvas de mosquitos

```
## Summary m1

summary(m1) # mdl modelo mais plausível
## Generalized linear mixed model fit by maximum likelihood (Laplace
## Approximation) [glmerMod]
## Family: binomial ( logit )
## Formula: cbind(larvas_mortas + consumidas, larvas_vivas) ~
regimepred + (1 | aquario)
## Data: predacao
##
##      AIC      BIC   logLik deviance df.resid
##  230.5    240.4  -108.3   216.5      23
##
## Scaled residuals:
##      Min       1Q   Median       3Q      Max
## -0.77808 -0.37452 -0.00753  0.25039  1.77781
##
## Random effects:
## Groups Name          Variance Std.Dev.
## aquario (Intercept) 0.2519   0.5019
## Number of obs: 30, groups: aquario, 30
##
## Fixed effects:
##              Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
## (Intercept)    -5.4251     0.5572  -9.736 < 2e-16 ***
## regimepred1 lib    4.2772     0.6064   7.054 1.74e-12 ***
## regimepred3 lib    5.2749     0.6053   8.715 < 2e-16 ***
## regimepred3 noto   3.9811     0.6074   6.554 5.59e-11 ***
## regimepred3 belo   7.3803     0.6124  12.051 < 2e-16 ***
## regimepredcomb    6.3572     0.6063  10.486 < 2e-16 ***
##
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Apêndice I: análise dos resíduos do modelo mais plausível que quantificou o risco de predação das larvas de mosquitos

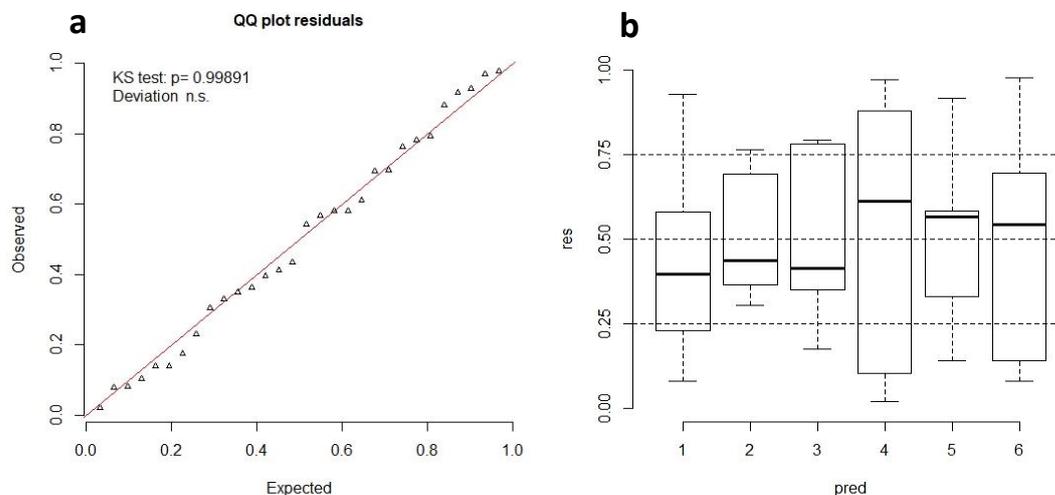


Figura S10. a. A verificação visual quantil-quantil e o teste de Kolmogorov-Smirnov ($p=0,15$) indicam que os resíduos quantílicos possuem distribuição uniforme. **b.** Desvios gerais do modelo selecionado na direção y por quantil, 0,25, 0,50, 0,75. A distribuição dos resíduos apresentados em *boxplot* (para o fator ‘regime de predação’) é uniforme quando as caixas do *boxplot* vão de 0,25 a 0,75 e apresentam a linha da mediana em 0,5. Em todos os casos alguns desvios são esperados e devem aumentar em amostras pequenas (Hartig 2019). As inspeções realizadas mostram que não há desvios importantes entre o que foi observado e o que foi calculado pelo modelo, indicando que o modelo é um bom descritor dos dados.

Referência

Hartig, F. (2019). *DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level/ Mixed) Regression Models*. R package version 0.2.3. Available at: <https://CRAN.R-project.org/package=DHARMA>

APÊNDICE J: cálculo do ponto de intersecção entre a reta do controle e as retas dos tratamentos de predação

Tabela S1. Para cada regime de predação é apresentado o intercepto (β_0) e o coeficiente angular (β_1) calculado pelo modelo mais plausível que descreveu as respostas de seleção de sítio de oviposição feitas pelos mosquitos no experimento executado no campo. Também é apresentada a equação da reta por regime de predação, o cálculo para obter o ponto de intersecção entre as retas (feito igualando a reta do controle com cada uma das retas dos tratamentos de predação) e o ponto de intersecção entre as retas em metros.

Regime de predação	β_0	β_1	Equação da reta por regime de predação	Ponto de intersecção: equação do controle = equação dos tratamentos de predação	Ponto de intersecção entre retas (m)
controle	3,553140	-0,009804	$\ln(y) = 3,553140 + (-0,009804)x$	---	---
1 libélula	3,763201	-0,030738	$\ln(y) = 3,763201 + (-0,030738)x$	$3,553140 + (-0,009804)x = 3,763201 + (-0,030738)x$	10,034444
3 libélulas	3,412862	0,038297	$\ln(y) = 3,412862 + (0,038297)x$	$3,553140 + (-0,009804)x = 3,412862 + (0,038297)x$	2,916322
3 notonectídeos	3,421356	0,031302	$\ln(y) = 3,421356 + (0,031302)x$	$3,553140 + (-0,009804)x = 3,421356 + (0,031302)x$	3,205955
3 belostomatídeos	3,865066	-0,023428	$\ln(y) = 3,865066 + (-0,023428)x$	$3,553140 + (-0,009804)x = 3,865066 + (-0,023428)x$	22,89533
combinação de predadores	3,410648	0,054446	$\ln(y) = 3,410648 + (0,054446)x$	$3,553140 + (-0,009804)x = 3,410648 + (0,054446)x$	2,217774

Tabela S2. Para cada regime de predação é apresentado o total de jangadas de ovos previsto pela equação linear do modelo mais plausível quando $x = 0$, $x = 8$ e quando $x =$ ao ponto de intersecção entre as retas (apresentado na Tabela S1).

Regime de predação	Equações	Número de desovas em $x = 0$	Número de desovas em $x = 8$	Número de desovas em $x =$ ponto de intersecção
controle	$\ln(y) = 3,553140 + (-0,009804)x$	34,9228	32,2884	-
1 libélula	$\ln(y) = 3,763201 + (-0,030738)x$	43,08612	33,69323	31,065075
3 libélulas	$\ln(y) = 3,412862 + (0,038297)x$	30,35199	41,23296	33,93843
3 notonectídeos	$\ln(y) = 3,421356 + (0,031302)x$	30,6109	39,55302	33,84222
3 belostomatídeos	$\ln(y) = 3,865066 + (-0,023428)x$	47,70642	39,55302	27,90132
combinação de predadores	$\ln(y) = 3,410648 + (0,054446)x$	30,28486	46,81558	34,17167