

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA**

Tese de Doutorado

**INFLUÊNCIAS QUÍMICAS E FÍSICAS DO AMBIENTE NA OCUPAÇÃO DE
ABRIGOS ARTIFICIAIS POR ISÓPODOS TERRESTRES (ISOPODA,
ONISCIDEA)**

DIEGO COSTA KENNE

Porto Alegre, agosto de 2020

**INFLUÊNCIAS QUÍMICAS E FÍSICAS DO AMBIENTE NA OCUPAÇÃO DE
ABRIGOS ARTIFICIAIS POR ISÓPODOS TERRESTRES (ISOPODA,
ONISCIDEA)**

DIEGO COSTA KENNE

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia, do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências com ênfase em Ecologia.

Orientador

Prof. Dr. Geraldo Luiz Gonçalves Soares

Co-orientadora

Prof^a. Dra. Paula Beatriz de Araujo

Comissão Examinadora

Dra. Bruna Raquel Winck

Dra. Camila Timm Wood

Dra. Kelly Martinez Gomes

Porto Alegre, agosto de 2020

CIP - Catalogação na
Publicação

Kenne, Diego Costa
INFLUÊNCIAS QUÍMICAS E FÍSICAS DO AMBIENTE NA
OCUPAÇÃO DE ABRIGOS ARTIFICIAIS POR ISÓPODOS
TERRESTRES (ISOPODA, ONISCIDEA) / Diego Costa Kenne.
-- 2020.
239 f.
Orientador: Geraldo Luiz Gonçalves Soares.

Coorientadora: Paula Beatriz Araujo.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Instituto de Biociências, Programa de
Pós-Graduação em Ecologia, Porto Alegre, BR-RS, 2020.

1. Comportamento Animal. 2. Coloinzação e Seleção
de Habitats. 3. Isopoda. 4. Óleo Essencial. 5.
Flavonoide. I. Soares, Geraldo Luiz Gonçalves, orient.
II. Araujo, Paula Beatriz, coorient. III. Título.

*Dedico este trabalho ao meu "eu", Diego, de 6 anos de idade,
e ao meu avô, Cipriano (in memoriam).*

"Mais uma vez: NUNCA PERCA O ENTUSIASMO INFANTIL!!!"

Diego Kenne

AGRADECIMENTOS

À CAPES pela concessão da bolsa de pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e aos Departamentos de Botânica e de Zoologia do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pelas disciplinas que cursei, pela estruturação dos laboratórios nos quais trabalhei e por me fazerem sentir “onipresente” em três grandes áreas das Ciências Biológicas, associando os ensinamentos adquiridos em diversas questões da minha pesquisa de forma crítica e com interdisciplinaridade.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Geraldo, por ter aceitado me orientar em um momento em que eu já estava perdendo as esperanças de entrar para o doutorado. Agradeço pela confiança nessa segunda parceria de projeto, na qual “desenterramos” questões que ficaram em aberto do meu trabalho de conclusão curso da graduação quando me coorientou. Obrigado por ser um grande incentivador da minha curiosidade, pelas ideias “mirabolantes” de experimentos e pela liberdade de como me deixou conduzir a pesquisa durante o doutorado.

À minha coorientadora, Prof^ª. Dr^ª. Paula, pelos tantos anos de acompanhamento, aconselhamento e incentivo ao meu trabalho com tatuzinhos-de-jardim, desde a graduação. Obrigado por ter sido a minha “mãe acadêmica”, que acreditou no meu potencial, e por sempre me receber de “braços abertos” no laboratório onde cresci e amadureci como biólogo. Agradeço por ter me confiado oportunidades profissionais no período entre o mestrado e doutorado, época de grandes “altos e baixos” da minha vida como pesquisador. Sou muito grato por teres sido meu maior exemplo de profissional.

Ao pessoal que fez parte do Laboratório de Evolução, Ecologia Química e Quimiotaxonomia em algum momento: Ane, Rosana, Adriana, Aline e Dani, agradeço pelos muitos litros de chimarrão, playlists “bombantes”, dias inteiros de análises estatísticas e ajuda no campo. Sou também muito grato aos alunos de iniciação científica (IC's) que trabalharam comigo: Nikolas, Luis Henrique, Caroline, Isabella, Julia, Joaquim, Bibiana e Luis Gustavo. Obrigado por terem topado entrar nessa “aventura”, em muitos momentos foram o meu braço direito (e esquerdo!) nos

experimentos. Não conseguiria ter chegado aqui sem vocês. Os “tatuzeir@s” renderam ótimos frutos!

Ao pessoal do Laboratório de Carcinologia: Prof^a Mariana Terossi, Kelly, Felipe, Camila, Giovanna Cardoso, Tainã, Amanda, Augusto, Giovanna Reis, Karmine, Ana Paula, Mariana Marques, Victória, Giovanna Moreira, Pedro e Kimberly, pelas conversas inspiradoras, comilança, risadas, companheirismo, ajuda nos trabalhos de campos seguindo estritamente meus protocolos, “spoilers” de seriados da Netflix, discussões polêmicas, aquecimentos para as festas de final de semana, karaokês e por sempre tornarem o nosso ambiente de trabalho um dos mais engraçados, divertidos e incríveis de se fazer parte.

Aos meus amigos de todas as vertentes, que não vou citar nomes (são muitas pessoas, mesmo), por entenderem a minha ausência em vários eventos nos últimos meses, mesmo que virtualmente devido ao COVID-19. Obrigado pela grande torcida nas minhas conquistas adquiridas nessa trajetória, desde os tempos da graduação. Agradeço pelas palavras de conforto nos momentos em que precisei. Sou grato também a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para que eu concluísse esta etapa. À Família Preto, pelo interesse e curiosidade sobre o meu trabalho. Em especial ao Alisson, por ter sido parceiro, prestativo, e por ter me ajudado de várias formas na reta final do meu trabalho.

À minha família, meu grande porto seguro. Agradeço aos meus pais, Eloir e Julio, que sempre me incentivaram em todas as escolhas que fiz na vida. Sou grato por terem cultivado o “pequeno biólogo” que hoje cresceu e foi atrás do que sonhava, por ouvirem atentamente sobre o meu trabalho, questionando, dando ideias e, inclusive, ajudando em coletas de campo. Obrigado à minha avó Eroni, pelos clássicos cafés da tarde de final de semana, quando eu resumia todos os últimos feitos da tese para ela. Obrigado às minhas irmãs, Caroline e Natália, por serem atenciosas às explicações e conversas sobre seres vivos, espero ter servido de exemplo de alguma forma em suas vidas.

E por fim, agradeço a mim. Sou grato ao meu “eu” de sete anos atrás, que não desistiu de tentar entrar no doutorado, mesmo enfrentando várias adversidades e demorando três anos até conseguir, e ao meu “entusiasmo infantil” que sempre me

deu forças para seguir em diversos momentos, focando no lado positivo das situações.

RESUMO

Muitos são os fatores que regem as escolhas dos organismos no processo de seleção de habitats. A decisão de colonizar um espaço é o resultado da percepção que o indivíduo compila do cenário em que está inserido, o que reflete diretamente na distribuição das populações e comunidades. Em áreas degradadas, a ecologia da restauração elabora estratégias baseadas em aspectos da ecologia do movimento e da paisagem, investigando como recuperar a biodiversidade nesses locais. A técnica de nucleação é uma dessas alternativas, a qual consiste em disponibilizar abrigos artificiais nos espaços afetados, associados (ou não) a algum atrativo para grupos de fauna específica. Detritívoros são responsáveis pela maioria dos serviços ecossistêmicos do solo, além de potenciais colonizadores primários em áreas degradadas nos primeiros estágios de sucessão ecológica. A presente tese investigou a eficiência de combinações de elementos químicos e físicos do ambiente na dinâmica de ocupação de abrigos artificiais pela fauna edáfica, com foco nas respostas comportamentais de três grupos ecomorfológicos de isópodos terrestres (*runner*, *clinger* e *roller*). Foi necessária verificação da eficácia de métodos de marcação de isópodos, as quais permitissem o monitoramento e identificação de indivíduos em campo por recaptura. Nos Capítulos 1 e 2 foi possível observar a eficiência de esmalte de unha. O material exibiu durabilidade confiável de 15 dias e a sobrevivência dos animais ao processo de marcação variou de acordo com as características da cutícula de cada grupo ecomorfológico. O esmalte também não afetou a habilidade dos animais de ingerirem alimento, tão pouco no comportamento locomotor e de agregação em experimentos de laboratório. Os Capítulos 3 e 4 avaliaram o comportamento dos isópodos frente à metabólitos secundários vegetais: flavonoide rutina na alimentação (isolado em um alimento artificial), e óleo essencial de *Eucalyptus saligna* na sobrevivência e seleção de microhabitats. As três espécies de isópodos demonstraram maiores taxas de ingestão nos tratamentos com menores doses de rutina. A seleção de microhabitats em arenas e a sensibilidade ao óleo essencial também foi relacionada às características de cada grupo ecomorfológico de isópodo, com grande destaque para a importância do comportamento de agregação na sobrevivência e na escolha de abrigos expostos ao volátil. No Capítulo 5 foram utilizados os resultados metodológicos (Cap. 1 e 2) e de

avaliação dos parâmetros químicos e físicos (Cap. 2, 3 e 4) para o experimento em campo, combinando esses elementos a abrigos artificiais (papelão), observando os resultados tanto para isópodos como também para grupos mais abundantes de artrópodos de solo. Foram coletados 3457 indivíduos pertencentes a 18 grupos taxonômicos. Nas três áreas estudadas, as três espécies de isópodos ocuparam com maior frequência os abrigos com agregação pré-formadas de coespecíficos, o que corrobora com a eficiência da sinalização química e física em Oniscidea. Para outros grupos de fauna edáfica, na área 1 foi observada alta abundância de colêmbolos nas amostras de serapilheira (controle), aranhas ocorreram em maior número nos abrigos combinados à serapilheira artificial com exposição ao óleo essencial de *E. saligna* na área 2 e formigas foram encontradas em maior frequência nos abrigos sem aditivos na área 3. De modo geral, Araneae e Isopoda foram os principais colonizadores dos abrigos de papelão. A utilização da técnica de nucleação com esses materiais pode contribuir para experimentos de restauração que tenha enfoque em macrofauna de solo.

Palavras-chaves: Marcação-recaptura, papelão, flavonoide, óleo essencial, fauna edáfica.

Abstract

There are many factors that govern the choices of organisms in the process of habitat select. The decision to colonize a territory is the result of the individual's perception of the scenario in which it is inserted, and that directly reflects in the populations and communities distribution. In degraded areas, restoration ecology develops strategies based on aspects of movement and landscape ecology investigating how to recover biodiversity in these locations. The nucleation technique is one of these alternatives, which consists of providing artificial shelters in the impacted areas, associated (or not) with some attractive elements for specific fauna groups. Detritivores are responsible for most of the soil's ecosystem services, in addition to potential primary colonizers in degraded areas in the early stages of ecological succession. This thesis investigated the efficiency of combinations of chemical and physical elements of the environment in the occupation dynamics of artificial shelters by the edaphic fauna. It focused on three ecomorphological groups of terrestrial isopods (runner, clinger and roller), to observe each other's different behavioral responses. Verifying the effectiveness of marking methods was necessary, so that they allowed the monitoring and identification of isopods individuals by recapture in the field. In Chapters 1 and 2, the efficiency of nail polish was assessed through experiments. Besides highlighting the 15-day reliable durability of the material, it has also shown that the animals' survival within the marking process varied according to the cuticle characteristics of each ecomorphological group. Neither has the nail polish affected the animals' ability to ingest food, nor has it affected the locomotor and aggregation behavior in laboratory experiments. Chapters 3 and 4 evaluated the behavior of isopods against plant secondary metabolites: rutin flavonoid in feeding (isolated in an artificial food), and *Eucalyptus saligna* essential oil for survival and microhabitat selection. The three species of isopods demonstrated higher rates of ingestion in treatments with lower doses of rutin. The selection of microhabitats in arenas and the sensitivity to essential oil was also related to the characteristics of each isopod ecomorphological group, with great emphasis on the importance of aggregation behavior in survival and in the choice of shelters exposed to the volatile. In Chapter 5, the methodological results (Chap. 1 and 2) and the evaluation of the chemical and physical parameters

(Chap. 2, 3 and 4) were used for the experiment in the field, combining these elements with artificial shelters (cardboard). In the field, 3457 individuals belonging to 18 taxonomic groups were collected. In the three areas studied, the three species of isopods most frequently occupied shelters with pre-formed co-specific aggregations, which corroborates with the efficiency of intraspecific chemical and physical signaling. For other edaphic fauna groups, in area 1 a high abundance of collembola was observed in the litter samples (control), spiders occurred in greater numbers in shelters combined with artificial litter with exposure to *E. saligna* essential oil in area 2 and ants were found with higher frequency in shelters without additives in area 3. In general, Araneae and Isopoda were the main colonizers of cardboard shelters. The use of the nucleation technique with these materials can contribute to restoration experiments that focus on soil macrofauna.

Keywords: Marking-recapture, cardboard, flavonoid, essential oil, edaphic fauna

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	3
Interação indivíduo-espço.....	3
Interdisciplinaridade em Ecologia.....	3
Fauna de solo.....	5
Isópodos terrestres e seu papel no ambiente.....	6
Colonização de microhabitats.....	8
Objetivos da Tese.....	9
Capítulos da Tese.....	10
Referências.....	12
CAPÍTULO 1: <i>External marking on terrestrial isopods (Isopoda, Oniscidea): efficiency of materials and influence on feeding behavior</i>	18
Abstract.....	20
Introduction.....	21
Material and Methods.....	24
Results.....	27
Discussion.....	36
Acknowledgements.....	39
References.....	39
CAPÍTULO 2: <i>Influência de marcação com esmalte no comportamento gregário de isópodos terrestres (Isopoda, Oniscidea)</i>	45
Resumo.....	47
Introdução.....	48
Material & Métodos.....	51
Resultados.....	55
Discussão.....	68
Agradecimentos.....	72
Referências.....	72
CAPÍTULO 3: <i>Efeito de rotina no comportamento alimentar de isópodos terrestres (Isopoda, Oniscidea)</i>	78
Resumo.....	80
Introdução.....	81

Material & Métodos.....	85
Resultados.....	87
Discussão.....	96
Agradecimentos.....	100
Referências.....	100
CAPÍTULO 4: <i>Isópodos terrestres (Isopoda, Oniscidea) e óleo essencial de Eucalyptus saligna (Myrtaceae): aspectos sobre sobrevivência e seleção de abrigos.....</i>	107
Resumo.....	109
Introdução.....	110
Material & Métodos.....	114
Resultados.....	120
Discussão.....	139
Agradecimentos.....	145
Referências.....	145
CAPÍTULO 5: <i>Ocupação de abrigos artificiais por isópodos terrestres (Isopoda, Oniscidea) e interações com invertebrados edáficos.....</i>	153
Resumo.....	155
Introdução.....	156
Material & Métodos.....	160
Resultados.....	170
Discussão.....	207
Agradecimentos.....	215
Referências.....	215
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	224
Referências.....	228

INTRODUÇÃO GERAL

Interação indivíduo-espço

Muitos são os fatores que regem as decisões dos organismos na ocupação dos espaços. Em diferentes proporções, as condições externas e internas aos indivíduos determinam a magnitude da motivação para a sua mudança de localização e/ou permanência em um determinado local (Nathan et al. 2008, Gurarie et al. 2009). A decisão de ocupar (ou não) um habitat é o que resulta de toda percepção que ele compila do cenário em que está presente (Nathan et al. 2008).

Os indivíduos definem sua área de vida através do reconhecimento gradativo do espaço em que estão inseridos, criando rotas de deslocamento para abrigos e/ou fontes de alimento (desenvolvendo a capacidade de navegação – condição interna) e identificando a presença/ausência de possíveis presas/predadores e/ou outros sinais químicos/físicos no local (condições do ambiente) (Holyoak et al. 2008, Revilla & Wiegand 2008, Rolandsen et al. 2016). Como resultado, todas essas etapas que compõem os mecanismos de deslocamento influenciam na estrutura de populações, comunidades e ecossistemas em escala espaço-temporal (Nathan et al. 2008, Gurarie et al. 2009, Thurfjell et al. 2014). Nesse âmbito, a ecologia do movimento descreve a dinâmica de antes, durante e depois do deslocamento, tendo em vista aspectos comportamentais e ambientais relacionados aos deslocamentos de forrageio, de dispersão e de migração, além de averiguar mecanismos de seleção de habitats e interações intra e interespecíficas (Nathan et al. 2008, Thurfjell et al. 2014).

Interdisciplinaridade em Ecologia

Para conhecer a relação ambiente-organismo, também é indispensável compreender o que define a base da ecologia da paisagem, no que se refere aos diferentes processos ecológicos que podem originar a heterogeneidade espacial em diferentes escalas (Dyck & Baguette 2005, Revilla & Wiegand 2008). Entender como

as características de determinadas áreas influenciam na composição das comunidades, bem como quais são os fatores que propiciam a estabilidade das interações locais que fazem a manutenção da dinâmica das populações ali presentes e quais são os recursos disponíveis que vão estimular a seleção desses habitats, são informações que elucidam modelos de predição de distribuição das espécies nos mais diversos ambientes (Hamilton et al. 2006, Revilla & Wiegand 2008, Yang et al. 2016). Deste modo, a interdisciplinaridade existente quando se descreve o movimento de animais e a sua interação com a paisagem também cooperam com a ecologia da conservação e da restauração (Yang et al. 2016).

O principal objetivo da ecologia da restauração é restabelecer os processos e a estrutura do ecossistema original, através de estratégias que garantam os sucessivos incrementos em biodiversidade nas paisagens degradadas (Kageyama & Gandara 2005). Além disso, os métodos adotados em planejamentos de restauração almejam a aceleração do processo de recuperação dessas áreas impactadas e de seus serviços ecossistêmicos (Dobson et al. 1997, Reis et al. 2010). Vários são os procedimentos de “intervenção” em espaços que sofreram algum tipo de impacto. Dentre eles, a técnica de nucleação se baseia na implantação de *hotspots* dentro das áreas degradadas, visando a interação com os possíveis remanescentes florestais do entorno e promovendo fluxos ecológicos (Longcore 2003, Reis et al. 2010). Os núcleos podem consistir no plantio de espécies arbóreas ou arbustivas, na transposição de solo, em implementação de banco de sementes e na instalação de abrigos artificiais para animais (Rodrigues & Gandolfi 2000, Beisiegel 2006, Bechara et al. 2007, Hodge et al. 2007, Podgaiski et al. 2007, Bechara et al. 2016).

O emprego da nucleação através da distribuição de abrigos artificiais promove “gatilhos ecológicos” (Bechara 2006, Reis et al 2007), o que condiciona locais propícios para a colonização de determinada fauna-foco (ou vários grupos de fauna), variando com as características dos materiais/artefatos utilizados (Reis et al. 2003, Hodge et al. 2007). A criação de microhabitats específicos pode desencadear a irradiação das espécies pioneiras nesse espaço como um todo, estabelecendo um melhor *fitness* para as populações correspondentes (Reis et al. 2003). Abrigos artificiais associados a algum atrativo, como acúmulo de material orgânico (serapilheira), por exemplo, podem intensificar a ocupação desses

microhabitats por organismos decompositores. Por consequência, a fragmentação desse material estimula a produção de matéria orgânica e, potencialmente, esses organismos realizam seu serviço ecossistêmico auxiliando na recuperação de solos degradados (Reis et al. 2003).

Fauna de solo

Nas últimas décadas, visto as intensas atividades do uso da terra pelo homem, a preocupação com a degradação dos solos tem crescido, recebendo mais destaque entre as pesquisas (Bolger et al. 2000, Quadros 2010, Menta 2012). O desmatamento e manejo de espaços agrícolas com monoculturas têm alterado de forma significativa as características químicas, físicas e biológicas do solo (Khan et al. 2000, Carneiro et al. 2008). Essas atividades antrópicas influenciam diretamente na diversidade da fauna edáfica (Quadros 2010), a qual é responsável por diversos processos-chave da degradação da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes, sendo também os principais componentes das cadeias tróficas do solo (Jeffery et al. 2010, Calderón-Cortés et al. 2011, Menta 2012, Lehmitz et al. 2012). Todas as atividades desempenhadas pelos organismos de solo são essenciais para a recuperação de áreas degradadas (Waid 1999). Além disso, os indivíduos da fauna edáfica são potenciais colonizadores primários em áreas que estão em algum estágio preliminar de sucessão ou restauração ecológica, logo após o estabelecimento de vegetação pioneira (Broza & Izhaki 1997, Hågvar et al. 2009, Courtney et al. 2010, Hågvar 2010, Bråten et al. 2012, Lehmitz et al. 2012). A micro-, meso- e a macrofauna edáfica atuam na formação, na microestrutura e na fertilidade do solo (Brussaard 1998, Wanner & Dunger 2002,). Por consequência dessa atividade, acabam modificando ou criando novos ambientes para as próximas espécies colonizadoras (Brussaard 1998, Wanner & Dunger 2002).

A alta diversidade da fauna de solo reflete na sua ampla plasticidade em relação às suas estratégias alimentares, apresentando espécies herbívoras, onívoras e carnívoras (predadores) (Brussaard 1998, Menta 2012). Além disso, os organismos edáficos são capazes de mudar de hábito alimentar dependendo das fontes disponíveis, o que possibilita indivíduos herbívoros ou carnívoros passarem

a ingerir resíduos orgânicos e, conseqüentemente, atuarem como detritívoros (Menta 2012). Dentre a fauna detritívora que atua na decomposição da matéria orgânica e na ciclagem de nutrientes do solo estão os isópodos terrestres (Isopoda, Oniscidea) (Zimmer et al. 2003, Quadros & Araujo 2008, Wood et al. 2012).

Isópodos terrestres e seu papel no ambiente

Isópodos são considerados modelos de artrópodos macrodecompositores devido a sua fisiologia, morfologia, comportamento e respostas ecológicas a diferentes mudanças climáticas em diversos ambientes (Davis & Sutton 1977, Dixie et al. 2015). Além disso, esses animais podem tolerar altos níveis de metais pesados, e por isso têm sido indicados em estudos como organismos bioindicadores, mostrando-se chave para monitoramento e planejamento ambiental (Hendrickx et al. 2003, Hassall et al. 2005, Quadros 2010, Podgaiski et al. 2011).

Os isópodos terrestres participam nos primeiros níveis tróficos de muitas cadeias alimentares, sendo predados por formigas, aranhas, sapos, salamandras, lagartos, aves e alguns mamíferos (Warburg et al. 1984, Harding & Sutton 1985, Whitaker et al. 1986, Deslippe et al., 1996, Pollard et al. 1995, Linzey et al. 1998). São encontrados se abrigando embaixo de rochas, troncos caídos e fendas, se orientando pelas características físicas do ambiente, principalmente através do contato tátil com o substrato (Cloudsley-Thompson 1958, Anselme 2013). Também há registro da utilização da percepção visual e olfativa para distinguir os tipos de serapilheira disponíveis no ambiente (Gunnarsson 1987, Zimmer et al. 1996). Além disso, sabe-se que isópodos respondem a estímulos emitidos por voláteis de microorganismos (Zimmer et al. 1996) e, principalmente, ao feromônio de agregação de coespecíficos, liberados nas fezes (Takeda 1984). Através dessas evidências químicas no ambiente os isópodos iniciam um aglomerado de indivíduos, o qual oferece manutenção da regulação hídrica, aumento de encontros de potenciais parceiros para reprodução e diminuição do risco de predação (Hornung & Warburg 1996, Broly et al. 2012, 2013). Outra característica relevante desse comportamento se dá no fato de que a agregação é um dos mais básicos pré-requisitos para a vida cooperativa, no qual se compartilha informações sobre a

qualidade dos recursos do ambiente (Deneubourg et al. 2002, Valone & Templeton 2002, Devigne et al. 2011).

Quanto à preferência alimentar de isópodos, sabe-se que ela é influenciada pelas características dos resíduos vegetais, no que diz respeito aos componentes físicos e químicos de defesa da planta ainda presentes na serapilheira (metabólitos secundários), bem como ao nível de colonização por microorganismos e ao estágio de decomposição das folhas (Cotrufo et al. 1998, Zimmer 2002, Gunnarsson 1987, Boelter et al. 2009, Wood et al. 2012). Dentre esses compostos secundários vegetais estão os flavonoides e óleos essenciais, cuja composição varia nas diversas famílias de plantas, e desempenham a função primordial de defesa contra herbivoria e patógenos (Canhoto & Graça 1999, Randlkofer et al. 2010). Além dos isópodos, vários outros grupos da biota de solo são influenciados pelos metabólitos secundários vegetais, em diferentes escalas (Randlkofer et al. 2010).

A seleção de abrigo por isópodos terrestres depende da heterogeneidade do cenário natural e da disponibilidade de microhabitats em diferentes proporções de “estabilidade” para as populações e comunidades (Szlavec, 1995). Para isso, os isópodos necessitam explorar o ambiente. Pela teoria do “forrageamento ótimo”, os indivíduos maximizam as estratégias de exploração do espaço e de ganho energético através de *trade-offs* entre os custos e benefícios da busca pela fonte atrativa (alimento, abrigo/refúgio, parceiros para reprodução, etc.) (Rushton & Hassal 1983, Pyke 1984, Wallis De Vries et al. 1999, Hassall et al. 2002). Além disso, a sinalização química intraespecífica no ambiente, como a presença de pistas do feromônio de agregação em microhabitats (presença de fezes) indicam potenciais locais com fonte alimentar adequada e/ou de abrigos seguros (Hassall & Tuck 2007, Farr 1978).

De acordo com comportamento antipredatório, decorrentes de suas “capacidades” morfológicas, os isópodos terrestres são classificados em seis grupos ecomorfológicos (*sensu* Schmalfuss 1984). Dentre os três mais comuns, as espécies conhecidas como *rollers* apresentam habilidade volucional (tomam a forma de uma esfera), o que protege a sua região ventral contra variações ambientais, além de possuírem a cutícula do exoesqueleto espessa, antenas curtas e corpo robusto. Já os *clingers* são isópodos mais achatados dorso-ventralmente, e conseguem proteger

sua região mais delicada (ventre) de predadores e contra a perda de água para o ambiente aderindo ao substrato com firmeza através de suas pernas. Por fim, *runners*, em relação aos grupos anteriores, possuem a cutícula mais fina e as antenas mais longas, os que lhes confere maior sensibilidade às alterações do ambiente, e em situações de perigo partem em retirada com agilidade (Schmalfuss 1984, Hornung 2011, Csonka et al. 2013).

Diversos aspectos da história de vida dos isópodos terrestres são estudados na Europa (Zimmer et al. 2003, Dias et al. 2005, Tuck & Hassall 2005, Robinson et al. 2011, Broly et al. 2013, Hornung et al. 2015, Csonka et al. 2018, Leclercq-Dransart et al. 2019). No Brasil, o tema vem se tornando promissor com espécies neotropicais nas últimas duas décadas no Laboratório de Carcinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) (Araujo & Bond-Buckup 2005, Quadros et al. 2009, Sokolowicz & Araujo 2013, Bugs et al. 2014, Kenne & Araujo 2015). Embora os isópodos sejam considerados animais com pouca capacidade dispersiva (Lemos de Castro 1971), Hopkin et al. (1986) e Bayley et al. (1997) ressaltam que eles podem ser promissores como uma ferramenta de bioindicação através do monitoramento do seu comportamento locomotor no ambiente terrestre, relacionando o movimento de deslocamento como mecanismo de ligação entre o estresse individual e populacional. Além disso, características físicas (distribuição de abrigos, presença de coespecíficos) e químicas (feromônios, metabólitos secundários vegetais) do ambiente influenciam diretamente o processo de colonização por isópodos terrestres, assim como têm grande importância no seu processo de sucessão ecológica (Walker & Moral 2003).

Colonização de microhabitats

O monitoramento do processo de ocupação de microhabitats favoráveis por artrópodos detritívoros é um evento que precisa ser mais bem compreendido, considerando influências físicas e químicas do ambiente. Em geral, os estudos que envolvem restauração ecológica e estabelecimento de espécies pioneiras utilizam anelídeos, raramente milípedes e mais raramente ainda isópodos terrestres como modelos. A maior parte desses trabalhos aborda espécies de isópodos da região

paleártica (Snyder & Hendrix 2008). Neste contexto, a importância da caracterização da dinâmica de seleção de microhabitats por isópodos terrestres se justifica em entender quais fatores físicos e químicos na natureza motivam a sua dispersão, bem como conhecer quais são os fatores mais influentes na escolha, trajetória e tempo necessário para que os indivíduos (e, por consequência, populações e comunidades) possam se estabelecer e colonizar novos ambientes, além de evidenciar a fauna edáfica associada a todo o processo de colonização. O avanço da elucidação dessas particularidades de todo esse evento fornece informações para complementação de planejamento de programas de restauração ambiental em áreas com solo empobrecido, ou que tenham sofrido com perda de biodiversidade de fauna terrestre de artrópodos detritívoros e decompositores por efeitos antrópicos. Também é importante ressaltar a inexistência de trabalhos abordando esse tema com fauna de isópodos terrestres neotropicais em Mata Atlântica brasileira.

Objetivos da Tese

Com base nas informações supramencionadas, a presente tese teve como objetivo investigar a eficiência de combinações de elementos químicos e físicos do ambiente na dinâmica de ocupação de abrigos artificiais pela fauna edáfica, com foco nos isópodos terrestres, observando as diferentes respostas comportamentais de três grupos ecomorfológicos de oniscídeos (*runner*, *clinger* e *roller*). Para isso, foi necessária verificação da eficácia de metodologias de marcação de isópodos terrestres, as quais permitissem o monitoramento e identificação de indivíduos em campo por recaptura, sem influenciar na sobrevivência, no comportamento alimentar, na locomoção e na agregação (Southwood & Henderson 2000, Hagler & Jackson 2001). Além disso, o presente trabalho também almejou investigar o efeito de distintas doses de óleo essencial de *Eucalyptus saligna* Sm. (Myrtaceae) na sobrevivência dos isópodos, bem como na atratividade/repelência de abrigos para esses indivíduos. Da mesma forma, foram testadas diferentes concentrações do flavonoide rutina em um alimento artificial para a observação da influência no comportamento alimentar dos isópodos.

Em campo, esperou-se que as três espécies de isópodos ocupassem em maior frequência os abrigos que comportavam evidência física de formação de agregação de coespecíficos, bem como evitassem os locais com metabólitos secundários vegetais concentrados.

Capítulos da Tese

Esta tese é composta por cinco capítulos, e cada um deles gerou um artigo científico para publicação em periódicos. Em todos foram utilizados, pelo menos, três espécies de isópodos terrestres de três grupos ecomorfológicos diferentes, comparando o comportamento dos indivíduos relacionando a um (ou mais) determinado parâmetro.

Capítulo 1

No primeiro capítulo é descrito como foram testados dois materiais para estudos de marcação e recaptura com isópodos terrestres. A durabilidade dos materiais e a mortalidade dos animais frente ao acréscimo semanal de marcas foram os fatores de decisão sobre qual material seria o mais eficiente para o estudo posterior em campo. Além disso, depois de decidido qual foi o melhor material também foi investigada a possível influência na ingestão de alimento.

Capítulo 2

Utilizando o mesmo material considerado apropriado para estudos de marcação-recaptura em isópodos terrestres, o segundo artigo aborda também outros tipos de possíveis interferências das marcações no comportamento dos tatuzinhos-de-jardim, na habilidade de locomoção e na dinâmica de agregação.

Capítulo 3

Neste capítulo o foco foi a sinalização química de metabólitos secundários vegetais no desempenho alimentar dos isópodos terrestres. Os indivíduos das três espécies de oniscídeos foram expostos a um alimento artificial contendo diferentes concentrações de rutina. A quantidade de alimento ingerido e as mudanças de biomassa nos animais foram registradas no intuito de inferir uma faixa de

concentração de rotina preferencial pelos animais para posterior associação com os abrigos artificiais no experimento em campo.

Capítulo 4

Foi observada a percepção e sobrevivência de isópodos terrestres frente a distintas doses de óleo essencial de *E. saligna* neste capítulo. Em diferentes situações, os isópodos foram testados com o volátil: individualmente e em grupo, com e sem acesso a uma fonte alimentar e em seleção de abrigos, em diferentes arenas. Os resultados forneceram parâmetros para a associação de mais um elemento aos abrigos artificiais no experimento em campo do último capítulo.

Capítulo 5

No capítulo final foi observado o deslocamento em campo dos isópodos em uma matriz com abrigos artificiais, utilizando a técnica de marcação para o monitoramento da locomoção. Os abrigos continham elementos de atração ou repelência. Tais elementos utilizados são provenientes da combinação dos resultados dos capítulos anteriores da tese. Aqui foi possível observar a fauna associada à colonização dos microhabitats juntamente com oniscídeos, relacionando a presença e ausência de grupos funcionais da fauna edáfica às diferentes combinações de abrigos artificiais.

Referências

- Anselme, P. 2013. Preference for rich, random tactile stimulation in woodlice (*Porcellio scaber*). *Learning and Motivation*, 44: 326–336.
- Araujo, PB & Bond-Buckup, G. 2005. Population structure and reproductive biology of *Atlantoscia floridana* (van Name, 1940) (Crustacea, Isopoda, Oniscidea) in southern Brazil. *Acta Oecologica*, 28: 289–298.
- Bayley, M; Baatrup, E & Bjerregaard, P. 1997. Woodlouse locomotor behavior in the assessment of clean and contaminated field sites. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16(11): 2309–2314.
- Bechara, FC. 2006. Ecological restoration demonstrative units using nucleation techniques: seasonal semideciduous forest, Brazilian savanna and coastal plain vegetation. (Ph.D. Thesis). Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 248p.
- Bechara, FC; Campos Filho, EM; Barretto, KD; Gabriel, VA; Antunes, AZ & Reis, A. 2007. Unidades demonstrativas de restauração ecológica através de técnicas nucleadoras de biodiversidade. *Revista Brasileira de Biociências*, 5: 9–11.
- Bechara, FC; Dickens, SJ; Farrer, EC; Larios, L; Spotswood, EN; Mariotte, P & Suding, KN. 2016. Neotropical rainforest restoration: comparing passive, plantation and nucleation approaches. *Biodiversity and Conservation*, 25(11): 2021–2034.
- Beisiegel, BM. 2006. Shelter availability and use by mammals and birds in an Atlantic forest area. *Biota Neotropica*, 6: 1–16.
- Boelter, JF; Quadros, AF & Araujo, PB. 2009. The feeding rates and preferences of a Neotropical terrestrial isopod (Oniscidea). *Nauplius*, 17: 107–113.
- Bolger, DT; Suarez, AV; Crooks, KR; Morrison, SA & Case, TJ. 2000. Arthropods in urban habitat fragments in southern California: area, age, and edge effects. *Ecological Applications*, 10: 1230–1248.
- Bråten, AT; Flø, D; Hågvær, S; Hanssen, O; Mong, CE & Aakra, K. 2012. Primary succession of surface active beetles and spiders in an Alpine Glacier Foreland, Central South Norway. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 44: 2–15.
- Broly, P; Deneubourg, J-L & Devigne, C. 2013. Benefits of aggregation in woodlice: a factor in the terrestrialization process? *Insectes Sociaux*, 60: 419–435.
- Broly, P; Mullier, R; Deneubourg, J & Devigne, C. 2012. Aggregation in woodlice: social interaction and density effects. *ZooKeys*, 176: 133–144.
- Broza, M & Izhaki, I. 1997. Post-fire arthropod assemblages in Mediterranean forest soils in Israel. *International Journal of Wildland Fire*, 7(4): 317–325.
- Brussaard, L. 1998. Soil fauna, guilds, functional groups and ecosystem processes. *Applied Soil Ecology*, 9: 123–135.
- Bugs PS, Araujo PB, Mendonça-Júnior MS & Ott R. 2014. Diversity and population characteristics of terrestrial isopods (Crustacea, Oniscidea) across three forest environments in southern Brazil. *Iheringia Série Zoologia*, 104(3): 334–340.
- Calderón-Cortés, N; Quesada, M & Escalera-Vázquez, LH. 2011. Insects as stem engineers: interactions mediated by the twig-girdler *Oncideres albomarginata chamela* enhance arthropod diversity. *PLoS ONE*, 6(4): e19083.

- Canhoto, CM & Graça, MAS. 1999. Leaf barriers to fungal colonization and shredders (*Tipula lateralis*) consumption of decomposing *Eucalyptus globulus*. *Microbial Ecology*, 37:163–172.
- Carneiro, MAC; Siqueira, JO; Moreira, FMS & Soares, ALL. 2008. Carbono orgânico, nitrogênio total, biomassa e atividade microbiana do solo em duas cronosssequências de reabilitação após a mineração de bauxita. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, 32: 621–632.
- Cloudsley-Thompson, JL. 1958. Spiders, scorpions, centipedes, and mites: The ecology and natural history of woodlice, myriapods, and arachnids. *Pergamon Press*, New York.
- Cotrufo, MF; Briones, MJI & Ineson, P. 1998. Elevated CO₂ affects field decomposition rate and palatability of tree leaf litter: importance of changes in substrate quality. *Soil Biology Biochemistry*, 30(12): 1565–1571.
- Courtney, R; O’neill, N; Harrington, T & Breen, J. 2010. Macro-arthropod succession in grassland growing on bauxite residue. *Ecological Engineering*, 36: 1666–1671.
- Csonka, D; Halasy, K; Buczkó, K & Hornung, E. 2018. Morphological traits – desiccation resistance – habitat characteristics: A possible key for distribution in woodlice (Isopoda, Oniscidea). *Zookeys*, 801: 481–499.
- Csonka, D; Halasy, K; Szabó, P; Mrak, P; Štrus, J & Hornung, E. 2013. Eco-morphological studies on pleopodal lungs and cuticle in *Armadillidium* species (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). *Arthropod Structure and Development*, 42: 229–35.
- Davis, RC & Sutton SL. 1977. Spatial distribution and niche separation of woodlice and millipedes in a dune grassland ecosystem. *Ecological Bulletins*, 25: 45–55
- Deneubourg, J; Lioni, A & Detrain, C. 2002. Dynamics of aggregation and emergence of cooperation. *Biological Bulletin*, 202: 262–267.
- Deslippe, R; Jelinski, L & Eisner, T. 1996. Defense by use of a proteinaceous glue: woodlice vs. ants. *Zoology*, 99: 205–210.
- Devigne, C; Broly, P & Deneubourg, J-L. 2011. Individual preferences and social interactions determine the aggregation of woodlice. *PLoS ONE*, 6(2): e17389.
- Dias, N; Sprung, M & Hassall, M. 2005. The abundance and life histories of terrestrial isopods in a salt marsh of the Ria Formosa lagoon system, southern Portugal. *Marine Biology*, 147: 1343–1352.
- Dixie, B; White, H & Hassall, M. 2015. Effects of microclimate on behavioural and life history traits of terrestrial isopods: implications for responses to climate change. *ZooKeys*, 515: 145–157.
- Dobson; AP; Bradshaw, AD & Baker, AJM. 1997. Hopes for the Future: Restoration Ecology and Conservation Biology. *Science*, 277: 515–522.
- Dyck, HV & Baguette, M. 2005. Dispersal behaviour in fragmented landscapes: routine or special movements? *Basic and Applied Ecology*, 6: 535–545.
- Farr, JA. 1978. Orientation and social behavior in the supralittoral isopod *Ligia exotica* (Crustacea: Oniscoidea). *Bulletin of Marine Science*, 28: 659–666.
- Gunnarsson, T. 1987. Selective feeding on a maple leaf by *Oniscus asellus* (Isopoda). *Pedobiologia*, 30: 161–165.

- Gurarie, E; Andrews, RD & Laidre, KL. 2009. A novel method for identifying behavioural changes in animal movement data. *Ecology Letters*, 12: 395–408.
- Hagler, JR & Jackson, CG. 2001. Methods for Marking Insects: Current techniques and future prospects. *Annual Review of Entomology*, 46: 511–543.
- Hågvar, S. 2010. Primary succession of springtails (Collembola) in a Norwegian Glacier Foreland. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 42(4): 422–429.
- Hågvar, S; Solhøy, T & Mong, CE. 2009. Primary succession of soil mites (Acari) in a Norwegian Glacier Foreland, with Emphasis on Oribatid Species. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 41(2): 219–227.
- Hamilton, GS; Mather, PB & Wilson, JC. 2006. Habitat heterogeneity influences connectivity in a spatially structured pest population. *Journal of Applied Ecology*, 43: 219–226.
- Harding, PT & Sutton SL. 1985. Woodlice in Britain and Ireland: Distribution and Habitat. *Institute of Terrestrial Ecology*, Huntingdon, 151.
- Hassall, M & Tuck, JM. 2007. Sheltering behavior of terrestrial isopods in grasslands. *Invertebrate Biology*, 126: 46–56.
- Hassall, M; Tuck, JM; Smith, DW; Gilroy, JJ & Addinson, RK. 2002. Effects of spatial heterogeneity on feeding behaviour of *Porcellio scaber* (Isopoda: Oniscidea). *European Journal of Soil Biology*, 28: 53–57.
- Hassall, M; Zimmer, M & Loureiro, S. 2005. Questions and possible new directions for research into the biology of terrestrial isopods. *European Journal of Soil Biology*, 41: 57–61.
- Hendrickx, F; Maelfait, J; De Mayer, A; Tack, F & Verloo, M. 2003. Storage mediums affect metal concentration in woodlice (Isopoda). *Environmental Pollution*, 121: 87–93.
- Hodge, S; Vink, CJ, Banks, JC & Bowie, MH. 2007. The use of tree-mounted artificial shelters to investigate arboreal spider communities in New Zealand nature reserves. *Journal of Arachnology*, 35: 129–136.
- Holyoak, M; Casagrandi, R; Nathan, R; Revillard, E & Spiegel, O. 2008. Trends and missing parts in the study of movement ecology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(49): 19060–19065.
- Hopkin, SP; Hardisty, GN & Martin, MH. 1986. The woodlouse *Porcellio scaber* as a 'biological indicator' of zinc, cadmium, lead and copper pollution. *Environmental Pollution Series B - Chemical and Physical*, 11: 271–290.
- Hornung, E & Warburg, MR. 1996. Intra-habitat distribution of terrestrial isopods. *European Journal of Soil Biology*, 32: 179–185.
- Hornung, E. 2011. Evolutionary adaptation of oniscidean isopods to terrestrial life: Structure, physiology and behavior. *Terrestrial Arthropod Reviews*, 4: 95–130.
- Hornung, E; Szlavecz, K & Dombos, M. 2015. Demography of some non-native isopods (Crustacea, Isopoda, Oniscidea) in a Mid-Atlantic forest, USA. *Zookeys*, 515: 127–143.
- Jeffery, S; Gardi, C; Jones, A; Montanarella, L; Marmo, L; Miko, L; Ritz, K; Peres, G; Römbke, J & Putten, WH van der. 2010. European atlas of soil biodiversity. *Luxembourg: Publications Office of the European Union*.
- Kageyama, PY & Gandara, FB. 2005. Resultados do programa de restauração com espécies arbóreas nativas do convênio ESALQ/USP e CESP. *In: Galvão, APM*

- & Porfírio-da-Silva, V (eds.) Restauração florestal: fundamentos e estudos de caso. *Colombo: Embrapa*, 47–58.
- Kenne, DC & Araujo, PB. 2015. *Balloniscus glaber* (Crustacea, Isopoda, Balloniscidae), a habitat specialist species in a disturbed area of Brazil. *Iheringia, Série Zoologia*, 105: 430–438.
- Khan, AG; Kuek, C; Chaudhry, TM; Khoo, CS & Hayes, WJ. 2000. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere*, 41: 197–207.
- Leclercq-Dransart, J; Pernin, C; Demuynck, S; Grumiaux, F; Lemièrre, S & Leprêtre, A. 2019. Isopod physiological and behavioral responses to wet and drier conditions: an experimental study with four species in the context of global warming. *European Journal of Soil Biology*, 90: 22–30.
- Lehmitz, R; Russell, D; Hohberg, K; Christian, A & Xylander, WER. 2012. Active dispersal of oribatid mites into young soils. *Applied Soil Ecology*, 55: 10–19.
- Lemos de Castro A. 1971. Isópodos terrestres introduzidos no Brasil (Isopoda, Oniscoidea). *Boletim do Museu Nacional, Nova Série, Zoologia*, 282: 1–14.
- Linzey, D; Deel, A; Adams, J & Linzey, J. 1998. Spring and summer foods of *Bufo marinus* (Amphibia: Bufonidae) and *Eleutherodactylus johnstonei* (Amphibia: Leptodactylidae) in Bermuda. *Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society*, 114: 125–136.
- Longcore, T. 2003. Terrestrial arthropods as indicators of ecological restoration success in coastal sage scrub (California, U.S.A.). *Restoration Ecology*, 11: 397–409.
- Menta, C. 2012. Soil Fauna Diversity - Function, Soil Degradation, Biological Indices, Soil Restoration. *Biodiversity Conservation and Utilization in a Diverse World*, Gbolagade Akeem Lameed, IntechOpen.
- Nathan, R; Getz, WM; Revilla, E; Holyoak, M; Kadmonr; Saltz, D & Smouse, PE. 2008. A movement ecology paradigm for unifying organismal movement research. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(49): 19052–19059.
- Podgaiski, LR; Ott, R & Ganade, G. 2007. Ocupação de microhábitats artificiais por invertebrados de solo em um fragmento florestal no sul do Brasil. *Neotropical Biology and Conservation*, 2(2): 71–79.
- Podgaiski, LR; Quadros, AF; Araujo, PB & Rodrigues, GG. 2011. Neotropical woodlice (Isopoda) colonizing leaf-litter of pioneer plants in a coal residue disposal environment. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, 35: 743–750.
- Pollard, S., Jackson, R., Van-Olphen, A., Robertson, M., 1995. Does *Dysdera crocata* (Araneae Dysderidae) prefer woodlice as prey? *Ethol. Ecol. Evol.* 7, 271–275.
- Pyke, GH. 1984. Optimal foraging theory: a critical review. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 15: 523–575.
- Quadros, AF & Araujo, PB. 2008. An assemblage of terrestrial isopods (Crustacea) in southern Brazil and their contribution to leaf litter processing. *Revista brasileira de Zoologia*, 25: 58–66.
- Quadros, AF. 2010. Os isópodos terrestres são boas ferramentas para monitorar e restaurar áreas impactadas por metais pesados no Brasil? *Oecologia Australis*, 14: 569–583.
- Quadros, AF; Caubet, Y & Araujo, PB. 2009. Life history comparison of two terrestrial isopods in relation to habitat specialization. *Acta Oecologica*, 35: 243–249.

- Randlkofer, B; Obermaier, E; Hilker, M & Meiners, T. 2010. Vegetation complexity - The influence of plant species diversity and plant structures on plant chemical complexity and arthropods. *Basic and Applied Ecology*, 11: 383–395.
- Reis, A & Tres, DR. 2007. Nucleação: integração das comunidades naturais com a paisagem. *In: Fundação Cargill, ed. Manejo ambiental e restauração de áreas degradadas: Cargill, São Paulo, SP, 28–55.*
- Reis, A; Bechara, FC & Tres, DR. 2010. Nucleation in tropical ecological restoration. *Scientia Agricola*, 67(2): 244–250.
- Reis, A; Bechara, FC; Espindola, MB; Vieira, NK & Lopes, L. 2003. Restoration of damaged land areas: using nucleation to improve successional processes. *Natureza & Conservação*, 1: 85–92.
- Revilla, E & Wiegand, T. 2008. Individual movement behavior, matrix heterogeneity, and the dynamics of spatially structured populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(49): 19120–19125.
- Robinson, BG; Larsen, KW & Kerr, HJ. 2011. Natal experience and conspecifics influence the settling behaviour of the juvenile terrestrial isopod *Armadillidium vulgare*. *Canadian Journal of Zoology*, 89: 661–667.
- Rodrigues, RR & Gandolfi, S. 2000. Conceitos, tendências e ações para a recuperação de florestas ciliares. *In: Rodrigues, RR & Leitão Filho, HF (eds.) Matas ciliares: conservação e recuperação. FAPESP, São Paulo, SP, p. 241–243.*
- Rolandsen, CM; Solberg, EJ; Sæther, B-E; Moorter, BV; Herfindal, I & Bjørneraas, K. 2016. On fitness and partial migration in a large herbivore – migratory moose have higher reproductive performance than residents. *Oikos*, 126: 547–555.
- Rushton, P & Hassall, M. 1983. Food and feeding rates of the terrestrial isopod *Armadillidium vulgare* (Latreille). *Oecologia*, 57: 257–261.
- Schmalzfuss, H. 1984. Eco-morphological strategies in terrestrial isopods. *In: Sutton, SL & Holdich, DM (eds.) The Biology of Terrestrial Isopods. The Zoological Society of London. Clarendon Press, 49–63.*
- Snyder, BA & Hendrix, PF. 2008. Current and potential roles of soil macroinvertebrates (earthworms, millipedes and isopods) in ecological restoration. *Restoration Ecology*, 16: 629–636.
- Sokolowicz, CC & Araujo, PB. 2013. Reproductive pattern of the Neotropical terrestrial isopod *Benthana cairensis* (Isopoda: Philosciidae). *Journal of Crustacean Biology*, 33: 210–217.
- Southwood, TRE & Henderson, PA. 2000. Ecological Methods (3rd edition). *Blackwell Science Ltd, Oxford, 576.*
- Szlavec, K. 1995. Diversity and spatial community structure of terrestrial isopods (Isopoda, Oniscidea) in a mosaic of plant assemblage. *In: Alikan, MA (eds.) Terrestrial Isopod Biology: Crustacean Issues, Rotterdam, 97–107.*
- Takeda, N. 1984. The aggregation phenomenon in terrestrial isopods. *In: Sutton, SL & Holdich, DM (eds.) The Biology of Terrestrial Isopods: Symposium of the Zoological Society of London, Clarendon, Oxford. Clarendon Press, Oxford, UK, 53: 381–404.*
- Thurfjell, H; Ciuti, S & Boyce, MS. 2014. Applications of step-selection functions in ecology and conservation. *Movement Ecology*, 2: 4.
- Tuck, JM & HASSALL, M. 2005. Locating food in a spatially heterogeneous environment: implications for fitness of the macrodecomposer

- Armadillidium vulgare* (Isopoda: Oniscidea). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 58: 545–551.
- Valone, T & Templeton, J. 2002. Public information for the assessment of quality: a widespread social phenomenon. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences*, 357: 1549–1557.
- Waid, JS. 1999. Does soil biodiversity depend upon metabiotic activity and influences? *Applied Soil Ecology*, 13(2): 151–158.
- Walker, LR & Moral, R. 2003. Primary succession and ecosystem rehabilitation. *Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom*.
- Wallis De Vries, MF; Laca, EA & Demment, MW. 1999. The importance of scale of patchiness for selectivity in grazing herbivores. *Oecologia*, 121: 355–363.
- Wanner, M & Dunger, W. 2002. Primary immigration and succession of soil organisms on reclaimed opencast coal mining areas in eastern Germany. *European Journal of Soil Biology*, 38: 137–143.
- Warburg, MR; Linsenmair, KE & Bercovitz, K. 1984. The effect of climate on the distribution and abundance of isopods. *In: Sutton, SL & Holdich, D (eds.) The Biology of Terrestrial Isopods. Oxford University Press, Oxford*, 339–367.
- Whitaker, J; Maser, C; Storm, R & Beatty, J. 1986. Food habits of clouded salamanders *Aneides ferreus* in Curry County, Oregon, USA (Amphibia, Caudata, Plethodontidae). *Great Basin Naturalist*, 46: 228–240.
- Wood, CT; Schlindwein, CCD; Soares, GLG & Araujo, PB. 2012. Feeding rates of *Balloniscus sellowii* (Crustacea, Isopoda, Oniscidea): the effect of leaf litter decomposition and its relation to the phenolic and flavonoid content. *ZooKeys*, 176: 231–245.
- Yang, LH; Ostrovsky, D; Rogers, MC & Welker, JM. 2016. Intra-population variation in the natal origins and wing morphology of overwintering western monarch butterflies *Danaus plexippus*. *Ecography*, 39: 998–1007.
- Zimmer, M. 2002. Nutrition in terrestrial isopods (Isopoda: Oniscidea): an evolutionary ecological approach. *Biological Reviews*, 77: 455–493.
- Zimmer, M; Kautz, G & Topp, W. 1996. Olfaction in terrestrial isopods (Crustacea: Oniscidea): responses of *Porcellio scaber* to the odour of litter. *European Journal of Soil Biology*, 32: 141–147.
- Zimmer, M; Kautz, G & Topp, W. 2003. Leaf litter-colonized microbiota: supplementary food source or indicator of food quality for *Porcellio scaber* (Isopoda: Oniscidea)? *European Journal of Soil Biology*, 39: 209–216.

CAPÍTULO 1

**External marking on terrestrial isopods (Isopoda, Oniscidea):
efficiency of materials and influence on feeding behavior**

**External marking on terrestrial isopods (Isopoda, Oniscidea):
efficiency of materials and influence on feeding behavior**

Diego Costa Kenne^{1,2,3*}, Paula Beatriz Araujo² & Geraldo Luiz Gonçalves Soares^{1,3}

¹ Programa de Pós-graduação em Ecologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, RS, Brazil.

² Laboratório de Carcinologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, RS, Brazil.

³ Laboratório de Ecologia Química e Quimiotaxonomia, Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, RS, Brazil.

*(DCK): diegokenne@gmail.com. orcid.org/0000-0003-1530-2637

(PBA): pabearaujo@gmail.com. orcid.org/0000-0002-7587-3936

(GLGS): glgsoares@gmail.com. orcid.org/0000-0002-8976-1935

*Corresponding author

Running Head: External marking on terrestrial isopods.

Kenne DC, Araujo PB & Soares GLG. 2019. External marking of terrestrial isopods (Isopoda, Oniscidea): efficiency of materials and influence on feeding behavior. Nauplius, 27: e2019018.

Abstract

Many monitoring studies use marking techniques to obtain dispersal data on individuals. Marking procedures may influence the vital activities of the terrestrial isopods, such as feeding behavior. The objective of this study was to identify the efficiency of different materials for external marking of woodlice and the influence on their feeding performance. Cyanoacrylate glue + glitter and nail polish were used as separate marking materials on three species: *Balloniscus glaber*, *Benthana picta* and *Armadillidium vulgare*. The material efficiency was compared using Kaplan-Meier curves and Log-Rank analysis. Individuals were fed with leaf discs of *Machaerium stipitatum* for feeding performance trials, and consumption rates were compared using ANOVA ($\alpha < 0.05$). There was no difference in durability between the materials used for external markings, except between marked and unmarked *Benthana* specimens when the observation period exceeded 15 days (Log-Rank=8.446, $p=0.015$). Nail polish was considered more suitable for feeding experiments. Statistical differences in consumption rates were observed only between the marked individual treatments of *Benthana* (ANOVA, $F=7.5440$, $p=0.0002$). These results indicate that external marking does not affect the feeding habits of the animals and suggest that this technique can be used to monitor dispersal of terrestrial isopods in field conditions for approximately 15 days.

Keywords: woodlice, consumption rates, material efficiency, Kaplan-Meier curve, nail polish

INTRODUCTION

Animal marking techniques are widely used in monitoring research, such as in density and population size studies, through the recognition of marked individuals in recapture events (Suzuki et al., 2010; Drag et al., 2011). This method is also used in animal dispersal observations, via periodic inspections of hotspots or by active searching for marked individuals in natural environments (Nazni et al., 2005; Hamer et al., 2014). Researchers can also employ marking technique for the evaluation of survivorship aspects and growth rate studies following the behavior of a specific animal by regular observations of this same specimen exposed to different conditions (Muir and Kay, 1998; Rose et al., 2018). In biological control, species conservation and animal physiology experiments, this technique is also useful for differentiating individuals that have undergone an a prior process of distinct treatment (i.e., exposure to volatiles or drugs) and then they go through the observation process all together in the same area (i.e., arenas or chambers) (Baguette et al., 2000; Horton et al., 2009; Groner et al., 2018).

There are a considerable number of marking and recapture techniques for invertebrates and vertebrates, such as internal and external dyes, mutilation and amputation, radio-telemetry, fluorescent powder, water-based and oil-based paints and labels (Hagler and Jackson, 2001). According to Hagler and Jackson (2001) the durability of the mark is considered the main aspect of a technique for the material to be considered “efficient”. Failure to attach the material to the cuticle surface of some arthropods may compromise long- term studies (i.e., more than one intermoult period for crustaceans) (Walker and Wineriter, 1981; Frisch and Hobbs, 2006; Hagler and Jackson, 2001). In addition, the mark can also be removed by the animal itself, due to chemical constituents of the cuticle (Lok et al., 1975), abrasion with elements present in the environment (Tuf et al., 2013), grooming behavior (Wojcik et al., 2000), or even by simple loss through the molting process (Willows, 1987).

Depending on the goal to be achieved, these methods can show both positive and negative points. Sometimes though the researchers fail to describe or analyze the influence of marking techniques on animal behavior (Hagler and Jackson, 2001; De Souza et al., 2012; Drahokoupilová and Tuf, 2012). For vertebrates, for example, toe clipping may compromise the animal’s locomotor ability, as well as their foraging behavior

(Schmidt and Schwarzkopf, 2010; Petit et al., 2012). The use of colored materials in invertebrates can increase their visibility to predators and, consequently, their survivorship rate after the marking procedure (Janks and Barker, 2013). In addition, excessive marking can alter the individuals' vital activities and it can imply misrepresentation of the data and distort the analyses (Pardo et al., 1996; Döge et al., 2009; Lucía et al., 2018). However, in consonance with Southwood and Henderson (2000), the animals' survivorship and behavior should not be affected by the marking process for the technique to be considered plausible and reliable.

Most animal tracking studies aim at home range mapping and to infer migration routes of vertebrates (Luschi, 2013; Gnanadesikan et al., 2017; Child et al., 2019). They usually discuss patterns of locomotion of predators and other organisms at the top of the food web (Phillips et al., 2004; Morgan et al., 2009; Pérez et al., 2018). Generally, this information is linked with dispersion data about their prey, since these prey animals (smaller vertebrates and invertebrates) act as movement motivators of predators (Austin et al., 2004; Block et al., 2011; Gnanadesikan et al., 2017). Some of these preys participate in the first trophic levels of many food chains, serving as a link between producer organisms and primary consumers (Bridgeland et al., 2010; Wu et al., 2014), like woodlice.

Woodlice are among the terrestrial arthropods with special notoriety, due to their mechanical fragmentation activity in the leaf litter and soil organic matter (Zimmer, 2006; Frouz et al., 2008; Wood et al., 2012). They therefore play an important role, with other detritivores, since they work together in soil nutrient cycles (Caseiro et al., 2000; Quadros and Araujo, 2008). Observing terrestrial isopod movement in natural environments is a difficult process because of their small body size and how quickly some species shelter in refuges with difficult access (Paoletti and Hassall, 1999; Hassall and Tuck, 2007). Oniscidean isopod species are classified into ecomorphological types according to their anti-predatory strategies, which reflect their morphology (i.e., cuticle thickness, antennae and leg length), behavior and habitat use (Schmalfuss, 1984; Csonka et al., 2013). The three most common surface-active ecomorphological groups are: (1) runners, which have long legs and antennae and move quickly; (2) rollers, which have the thickest cuticle and are able to roll up into a ball to protect their ventral parts, and (3)

clingers, which have short and strong legs and they can press down firmly to the substratum (Schmalfuss, 1984, Hornung, 2011; Csonka et al., 2013).

Although isopods are considered to have low dispersive capacity (Lemos de Castro, 1971), some authors understand that woodlice food selection is driven by direct locomotion to a food source (Zidar et al., 2002; Gerlach et al., 2014). Monitoring isopod dispersal on a local scale is of paramount importance for the understanding of the relationships between the detritivores and the fauna and/or flora (food source) associated with the colonization process and the edaphic community establishment (Purger et al., 2007; Quadros, 2010).

Although some studies do not recommend the use of external marking on woodlice (Drahokoupilová and Tuf, 2012; Tuf et al., 2013), there are still many questions regarding intra-moult period observations, mortality rates, behavioral differences between ecomorphological groups and durability of the marks in terrestrial isopods. Thus, there were two objectives of this present study utilizing a runner, a roller and a clinger isopod species: 1) to test materials for external marking; and 2) to observe possible influences of this process on the feeding performance of woodlice, since this is an essential behavior in an animal's life. We hypothesized that the most efficient material will be the one with the highest frequency of weekly-marked animals remaining at the end of the 28-day experiment. We expected distinct responses from each different ecomorphological group of isopods based on the thickness of their cuticles in the material efficiency tests. For example, rollers should be more resistant to both materials tested, runners should be negatively affected by them and clingers should show intermediate sensitivity. Additionally, we hypothesize that the best material will not interfere in the ability of the isopod to ingest food and consumptions rates will be similar for the three tested ecomorphological groups, as well as between the treatments (number of marks on each animal).

MATERIAL AND METHODS

Woodlice species

Three terrestrial isopods species from three distinct ecomorphological groups (*sensu* Schmalfuss, 1984) were used for both experiments: *Balloniscus glaber* Araujo and Zardo, 1995 (Balloniscidae), an endemic clinger species from the state of Rio Grande do Sul and Santa Catarina, Brazil, associated with Atlantic Forest fragments (Quadros et al., 2009; Kenne and Araujo, 2015; Wood et al., 2017; Campos-Filho et al., 2018); *Benthana picta* (Brandt, 1833) (Philosciidae), a runner species from the state of Espírito Santo to Rio Grande do Sul in Brazil and also recorded in Paraguay (Campos-Filho et al., 2015); and *Armadillidium vulgare* (Latreille, 1804) (Armadillidiidae), our roller model, a Mediterranean species with a global distribution and commonly associated with anthropogenic areas (Paoletti and Hassal, 1999). To avoid ambiguity regarding species names they will be referred to by their genus denomination.

The *Balloniscus* and *Armadillidium* specimens were collected from a secondary forest in Porto Alegre city, state of Rio Grande do Sul (RS), Brazil (30°12'30"S, 51°10'12"W); and the *Benthana* specimens were collected at the Henrique Luiz Roesler Park in the municipality of Novo Hamburgo, RS, Brazil (29°41'15"S, 51°06'35"W). Additional specimens of *Armadillidium* were collected at 'Campus do Vale' at Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) (30°04'07"S, 51°07'10"W). The animals were taken to the 'Laboratório de Carcinologia' (UFRGS) and kept in a controlled temperature and photoperiod room (18 ± 1°C and 12:12 hr, respectively). The collection of the animals occurred several times, in order to supply enough specimens for the experiments. The largest body size woodlice were selected for both tests. After experiments, all specimens were returned to their original natural areas.

External marking materials

Two types of materials were used for the efficiency (durability) evaluation: cyanoacrylate glue (LOCTITE™ Super Bonder Power Flex Gel Control) mixed with silver glitter, and nail polish (Risqué™). These two materials were easy to handle and were

chosen due to their superior adhesion to the animals' cuticle, as observed in previous pilot experiments.

Experiment 1: Materials' efficiency

For each isopod species we used five (*Armadillidium*, N = 150) or three (*Balloniscus*, N = 45; *Benthana*, N = 69) individuals per experimental unit (EU) (a circular plastic container, 8 cm in diameter and 4.5 cm in height) in order to maintain the minimum aggregation required for animal stability (Broly et al., 2012). Each EU contained a shelter (a piece of 1 × 2 cm folded polypropylene paper), a moist cotton ball for internal moisture maintenance and leaf discs (1 cm in diameter) of *Machaerium stipitatum* (DC) Vogel (Fabaceae). This plant species is considered a good food source to feed to isopods (Quadros et al., 2014).

All terrestrial isopods in two-thirds of the total number of EU's of each species were marked every seven days, one-third with nail polish and one-third with glue + glitter. The external marking procedure consisted of the application of a small drop of the material with a very small pointed brush, initially on the cephalothorax and later on the subsequent pereonites (Fig. 1). The remaining one third were considered the control treatment and the isopods were only handled and underwent the same marking process, but with distilled water. Before the animals were returned to the EU's after this step, they were left in a Petri dish (13cm in diameter) for approximately 5 minutes to dry the marking material on their cuticle. The observation period lasted 28 days.

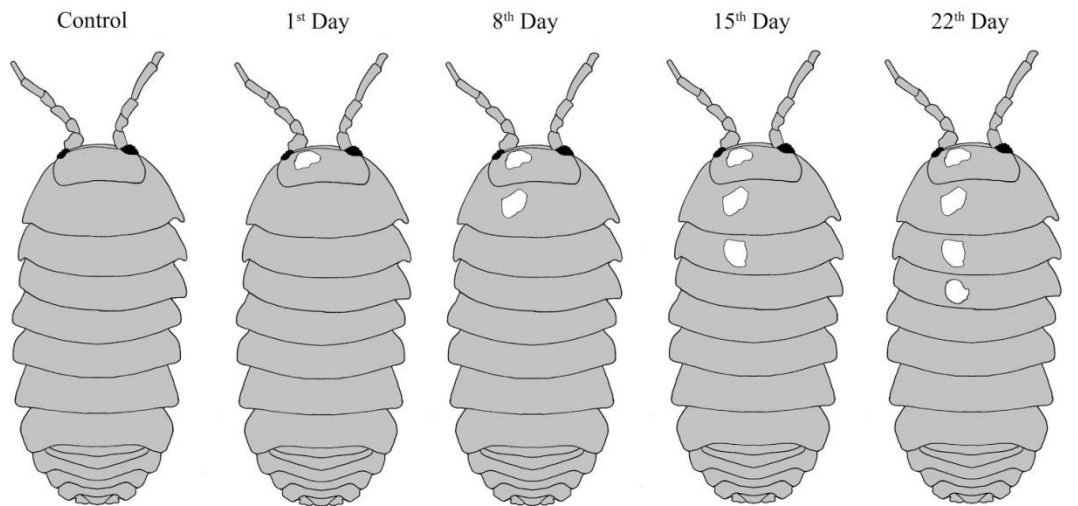


Figure 1. Woodlice (*Armadillidium vulgare*) external marking process during the 28 days of experiment.

Animals that showed any incidence of marking material inefficiency (i.e., death or a non-durable marking event) were removed from the EU's. In these cases, the circumstance of death and the number of days the individuals had survived in the experiment were registered. The material durability was demonstrated through Kaplan-Meier curves and Log-Rank (Mantel-Cox) analysis ($\alpha < 0.05$). The mortality rates were calculated weekly, observing the remaining number of animals in each event of marking.

Experiment 2: Influence on feeding performance

For the feeding activity test, we selected the material which we observed the lowest mortality during the efficiency trials. New individuals of each species, who did not participate in Experiment 1, were fed with carrots in order to empty their digestive tract of any previous food source (Wood et al., 2012). This is observed through the presence of orange fecal pellets in the EU. Intermoult animals of both sexes were used in the experiment, except for ovigerous females (Wood et al., 2012). After this, each animal received either one, two, three, four or no (unmarked = control treatment) external marks and was placed individually in EU's (5 cm in diameter and 2.5 cm in height). Each EU contained three *M. stipitatum* leaf discs (1 cm in diameter) and a wet cotton ball. All leaf discs were previously dried for 48 hours at 60°C, weighed (mg) and then re-hydrated before being offered to the animals (Boelter et al., 2009).

The oniscidean isopods were weighed at the beginning, at every one or two day interval, and at the end of the experiment. For *Armadillidium* (50 individuals) and *Benthana* (47 individuals) the experiment lasted 10 days. For *Balloniscus* (32 individuals) it lasted seven days. The remaining plant material was dried and weighed at the end of the experiment. In order to obtain the autogenic mass loss percentage of the leaves, leaf disks were weighed from EU's without woodlice (Wood et al., 2012). The relative consumption was calculated according to the adapted formula from Waldbauer (1968):

$$RC = [(M_{if} - M_{af}) - M_{ff}] / M_{isop} \times \text{day}$$

where (RC) is the Relative Consumption, (M_{if}) the initial food (three leaf discs) mass (mg), (M_{af}) the food autogenic mass loss (mg), (M_{ff}) the final food mass (mg) and (M_{isop}) the mean isopod mass (mg). Relative consumption was compared between treatments using ANOVA, and post-hoc Tukey test ($\alpha < 0.05$).

RESULTS

Experiment 1

The durability of the marks for the two materials used on the three oniscidean species showed no statistical difference, except for the occurrence of a significant higher frequency of remaining animals in the *Benthana* control group (Log-Rank: *Armadillidium* = 4.830, $p = 0.089$; *Balloniscus* = 3.706, $p = 0.157$; *Benthana* = 8.446, $p = 0.015$). At least until the 15th day of observation all species showed more than 50% survival of total individuals with the marks, and this fact indicates that the animals can tolerate three external marking events on a weekly frequency (Figs. 2–4). *Armadillidium* showed the highest proportion of live animals bearing all marks reaching the 28th day, following by *Balloniscus* and then *Benthana* (Tab. 1).

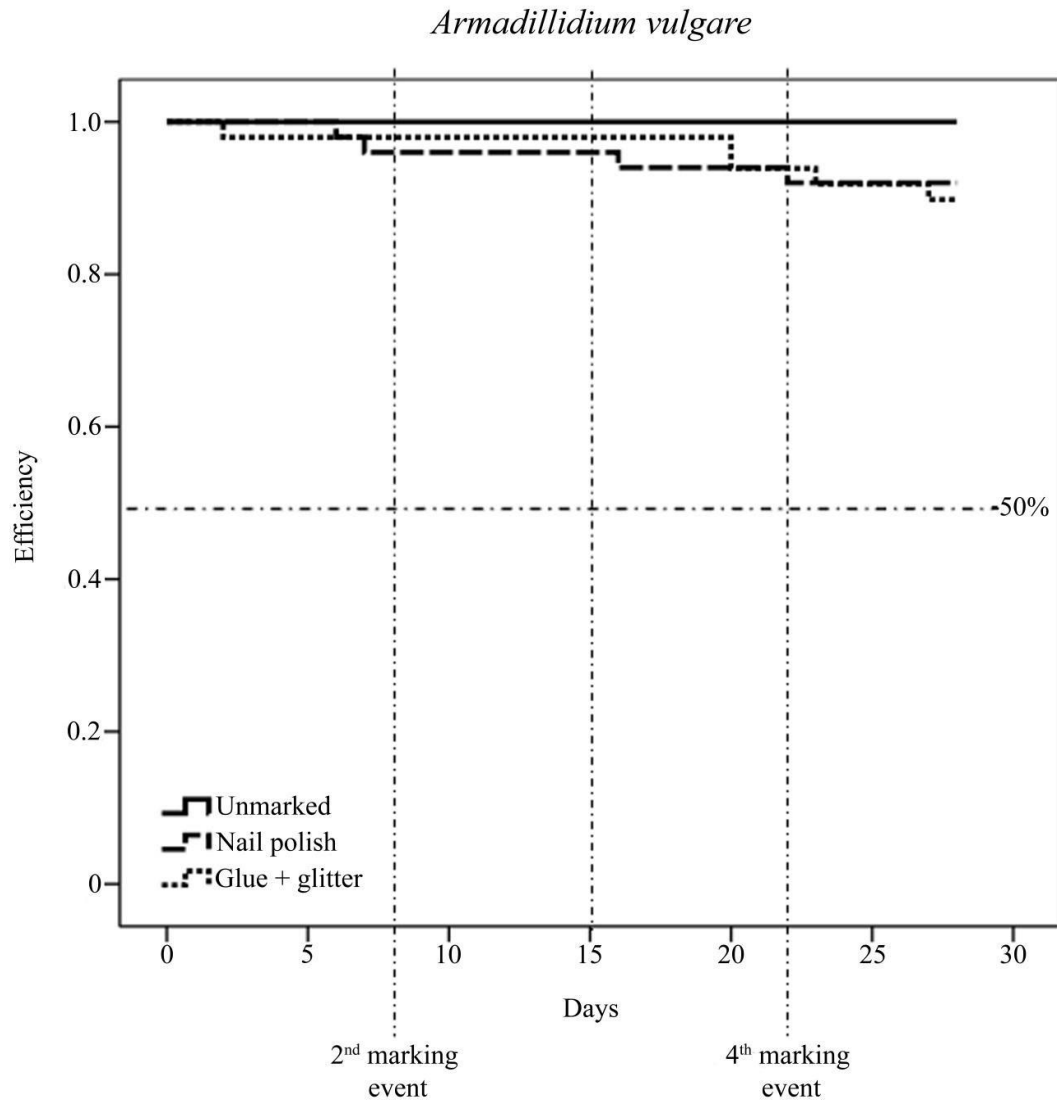


Figure 2. Kaplan-Meier curves for the external marking efficiency (durability) of the two materials tested on *Armadillidium vulgare* for 28 days of observation. Vertical dotted lines indicate the second, third and the fourth event of external marking (8th, 15th and 22th days, respectively). Horizontal dotted line delimits the 50% of remaining marked individuals.

Balloniscus glaber

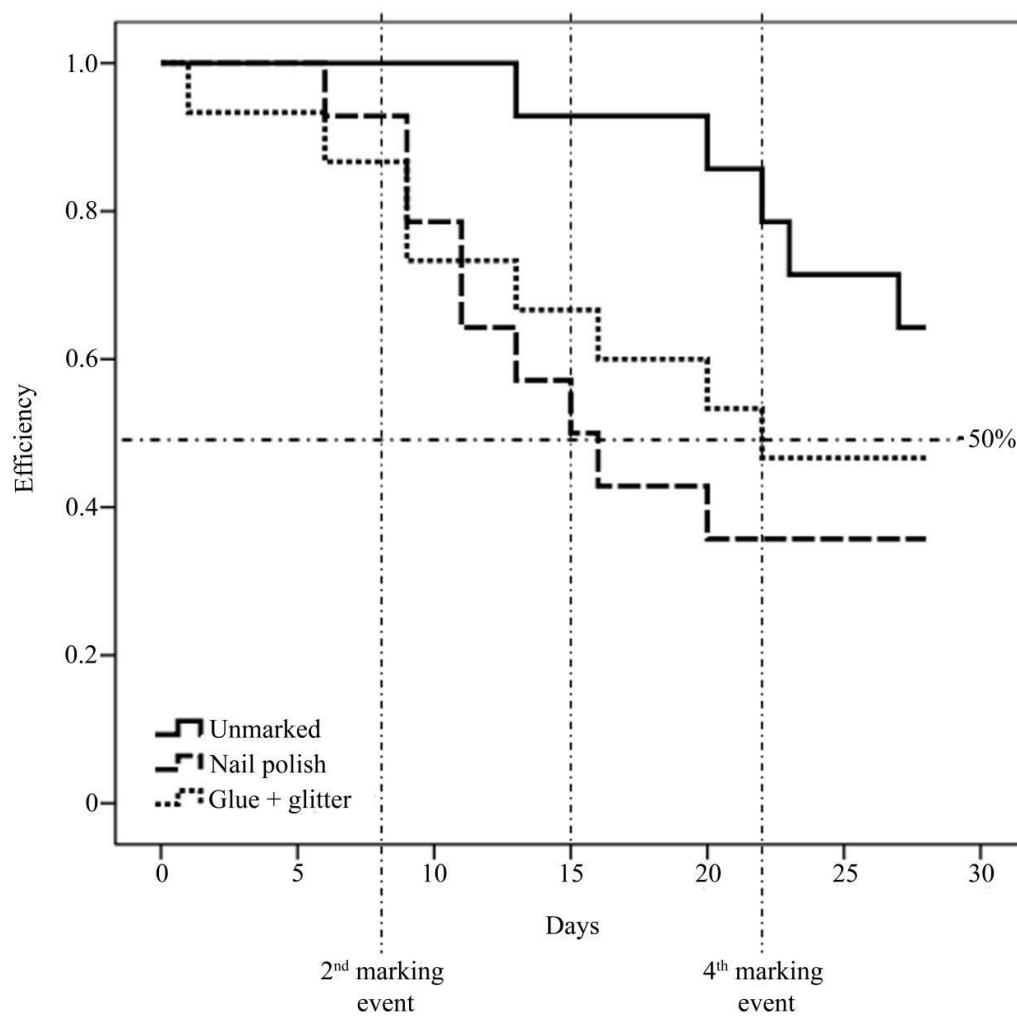


Figure 3. Kaplan-Meier curves for the external marking efficiency (durability) of the two materials tested on *Balloniscus glaber* for 28 days of observation. Vertical dotted lines indicate the second, third and the fourth event of external marking (8th, 15th and 22th days, respectively). Horizontal dotted line delimits the 50% of remaining marked individuals.

Benthana picta

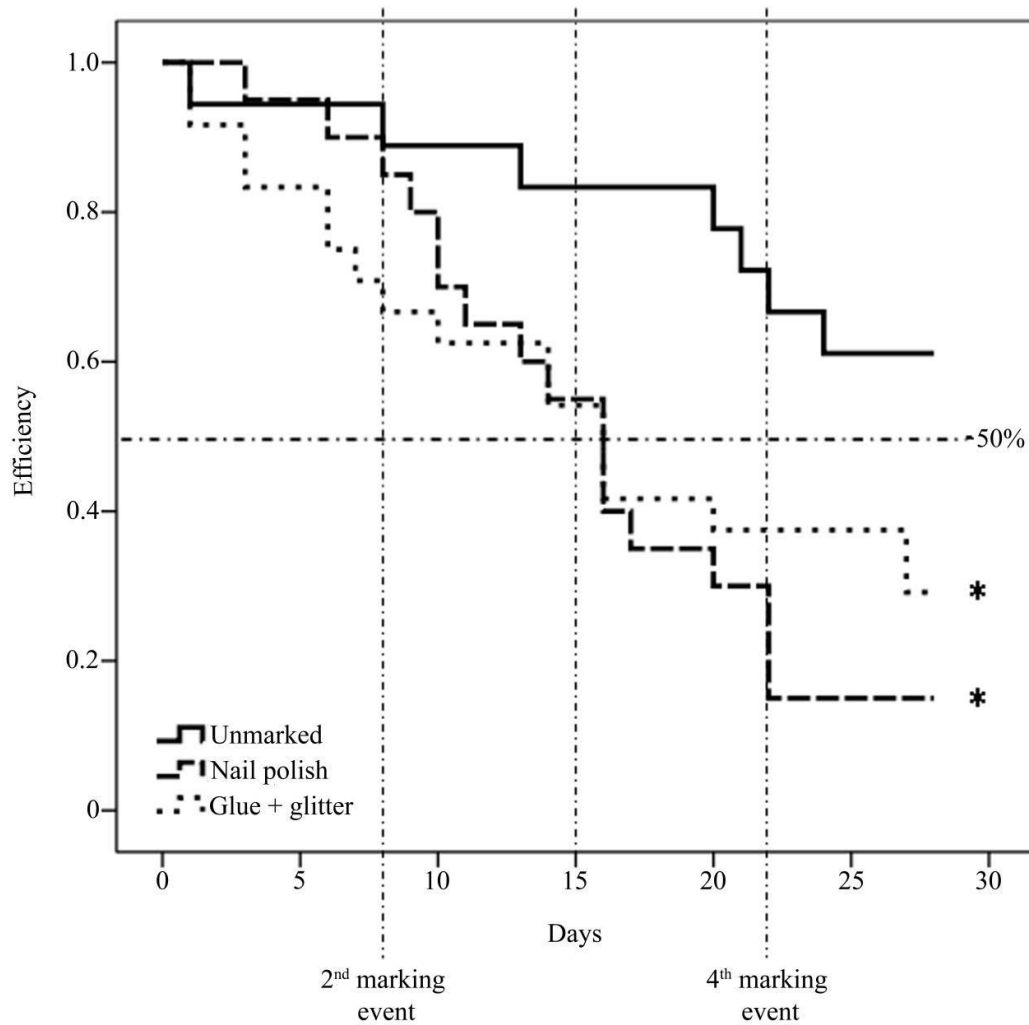


Figure 4. Kaplan-Meier curves for the external marking efficiency (durability) of the two materials tested on *Benthana picta* for 28 days of observation. Vertical dotted lines indicate the second, third and the fourth event of external marking (8th, 15th and 22th days, respectively). Horizontal dotted line delimits the 50% of remaining marked individuals. *show statistical significance.

TABLE 1. Percentage of the remaining animal bearing all four marks in the end of 28 days of experiments.

Material	Armadillidium	Balloniscus	Benthana
Nail polish	92.0%	35.7%	15.0%
Glue + glitter	89.8%	46.7%	29.2%
Unmarked	100.0%	64.3%	61.1%
Total	93.9%	48.8%	33.9%

The following events were observed during the experiment: lost mark (nail polish or glue+glitter drops in the EU), lost mark on exuvia (marks intact on old exoskeleton), natural death, death during ecdysis (dead woodlice partially attached to the old exoskeleton), cannibalism (dead individuals with no cephalothorax and/or pleon, probably consumed by the other animals in the same EU) and presumed drowning (dead animals trapped in the cotton ball). The drowning and cannibalism occurrences were not considered for efficiency comparison between materials. They most likely had no direct relation to the external marking process or with the material composition used in this process.

Armadillidium showed the lowest mortality rates in all treatments, regardless of the events of marking. Unexpectedly, unmarked *Balloniscus* exhibited a crescent mortality rate during the experiment, while the nail polish treatment fell to 0% mortality after the third event. The highest mortality rate was observed in *Benthana* for the last week of experiment (33.3%, nail polish treatment) (Fig. 5).

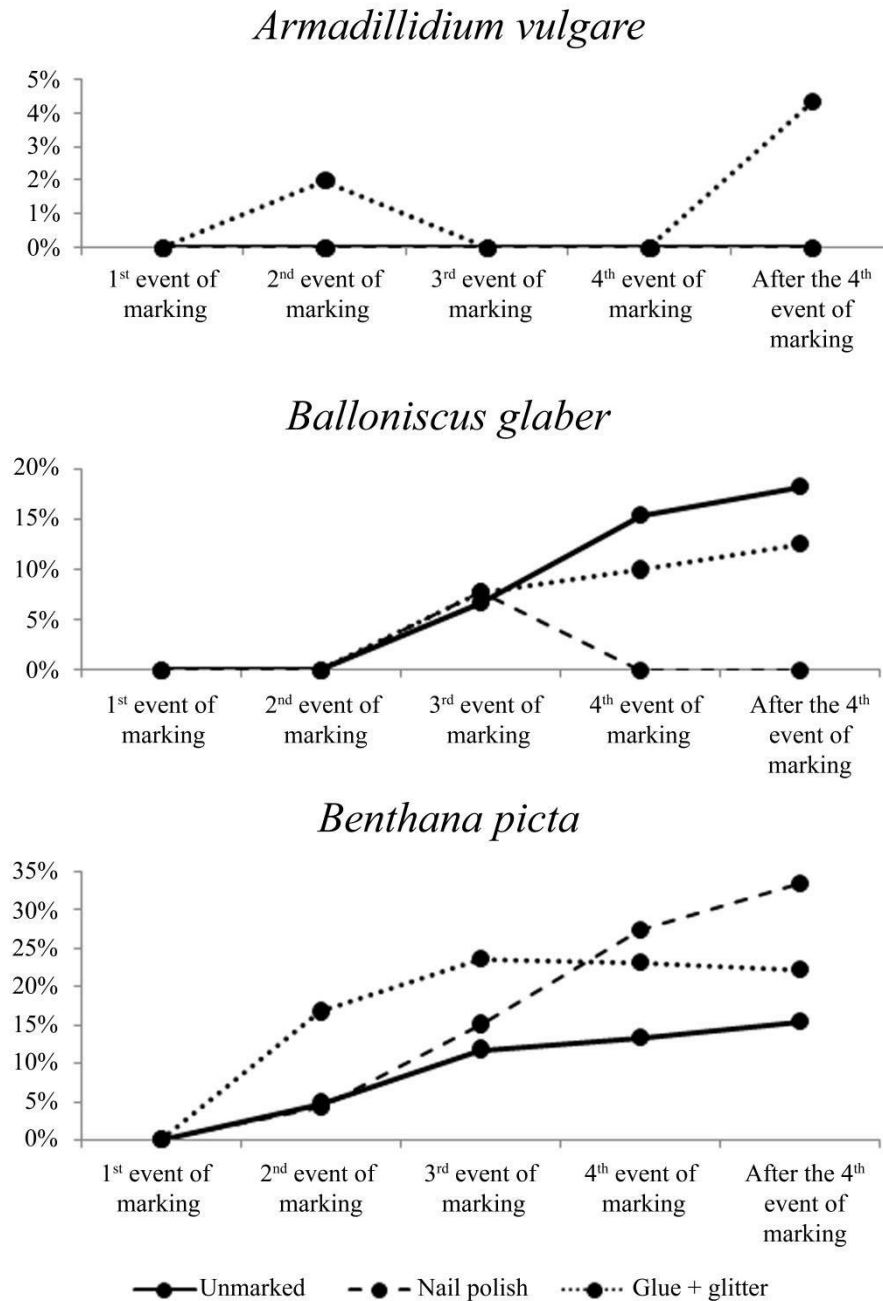


Figure 5. Mortality rates for the three woodlice species, unmarked and marked with nail polish and glue + glitter. The events of marking corresponding to the 1st, 8th, 15th, 22nd and 28th day, respectively.

Although glue+glitter exhibited a higher durability but not significant for *Balloniscus* and indicated statistically different for *Benthana*, this material combination was the only one where we observed death incidents during the ecdysis process (Fig. 6). Thus, nail polish was elected for the feeding behavior experiments. Animal death during ecdysis process (a crucial arthropod event) indicates a greater risk for oniscidean survivorship and for the efficient use of these materials in field studies.

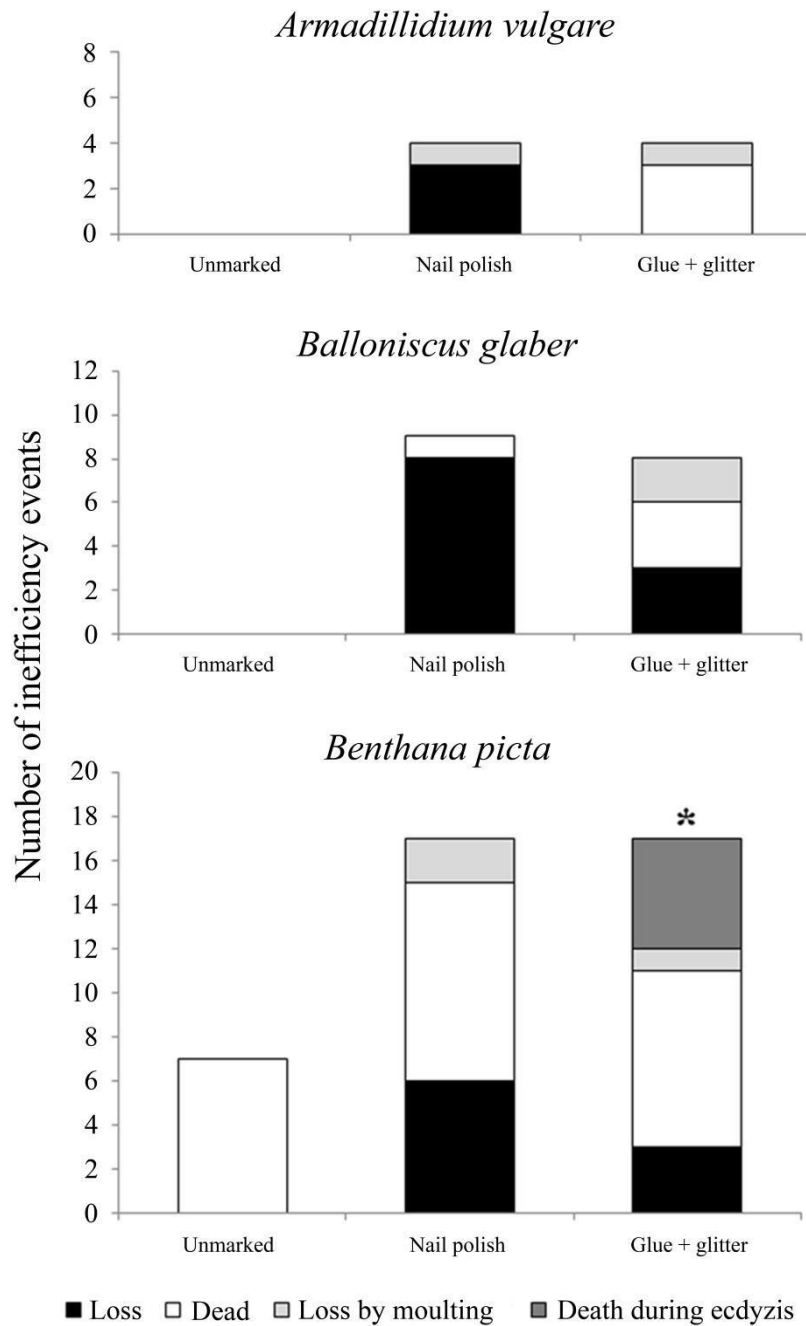


Figure 6. Number of inefficiency events during the 28 days experimental observation on three terrestrial isopods marked with glue + glitter, nail polish and the unmarked treatment. *shows death event during ecdysis.

Experiment 2

The highest consumption of *M. stipitatum* leaves was observed in *Armadillidium* and *Balloniscus* control treatments (0.518 mg/mg*day and 0.816 mg/mg*day,

respectively), and in the four-mark treatment for *Benthana* (1.015 mg/mg*day). There was no difference in the mean relative consumption of *M. stipitatum* leaf discs between treatments with marked and unmarked animals in the *Armadillidium* and *Balloniscus* experiments (ANOVA, $F_{Armadillidium} = 1.8496$, $p = 0.1351$; $F_{Balloniscus} = 0.8160$, $p = 0.5279$) (Figs. 7, 8). *Benthana*, on the other hand, showed a distinction in the mean relative consumption of the leaf discs, only in the four-marks treatment when compared between marked animal treatments (ANOVA, $F_{Benthana} = 7.5440$, $p = 0.0002$) (Fig. 9).

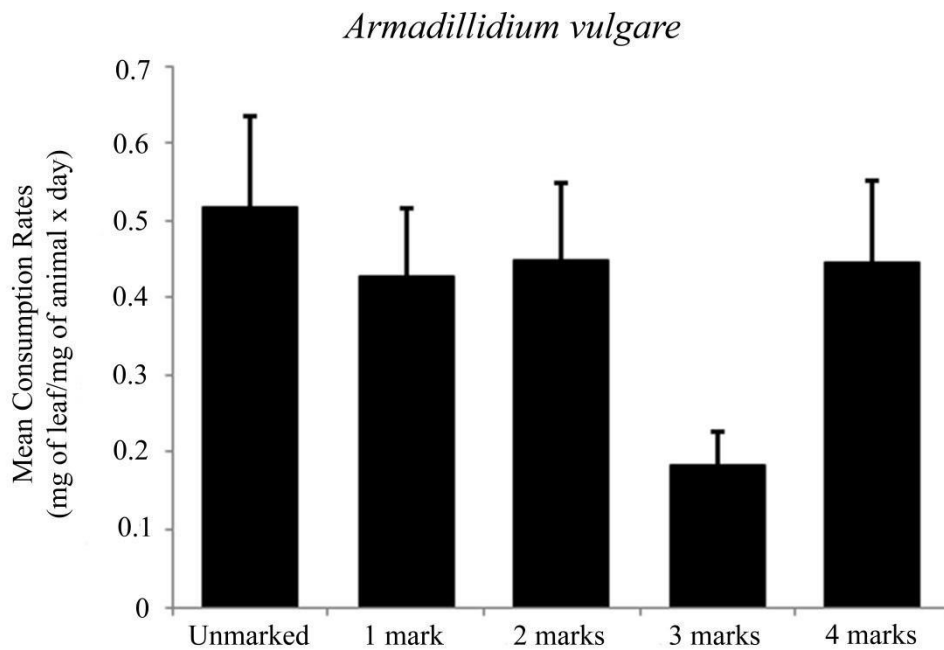


Figure 7. Mean relative consumption of *Armadillidium vulgare* fed with three leaf disks of *M. stipitatum* during 10 days of experiment. Each treatment corresponding to the number of nail polish external marks on animals' cuticle (zero – unmarked, one, two, three and four). Vertical bars indicate standard error.

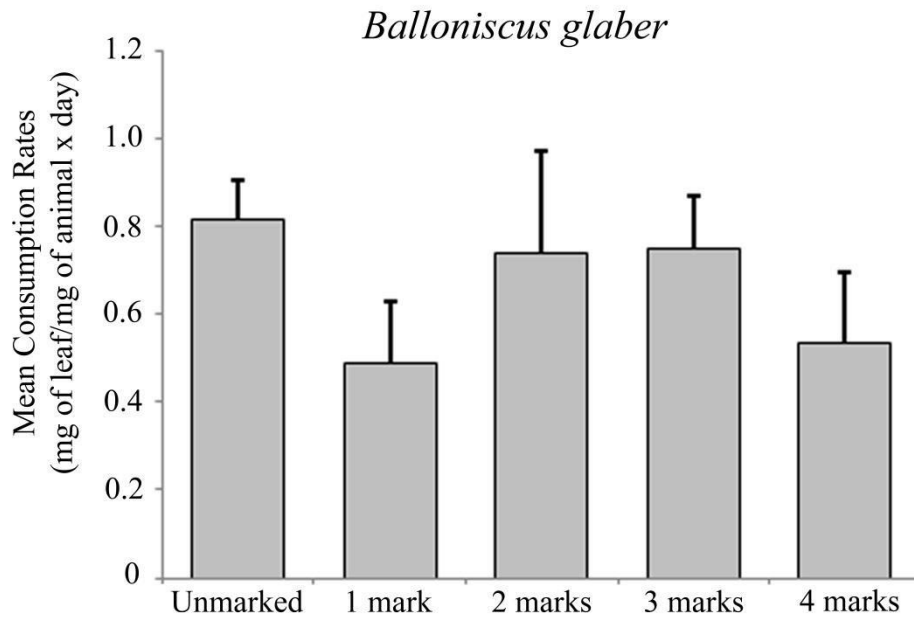


Figure 8. Mean relative consumption of *Balloniscus glaber* fed with three leaf disks of *M. stipitatum* during seven days of experiment. Each treatment corresponding to the number of nail polish external marks on animals' cuticle (zero – unmarked, one, two, three and four). Vertical bars indicate standard error.

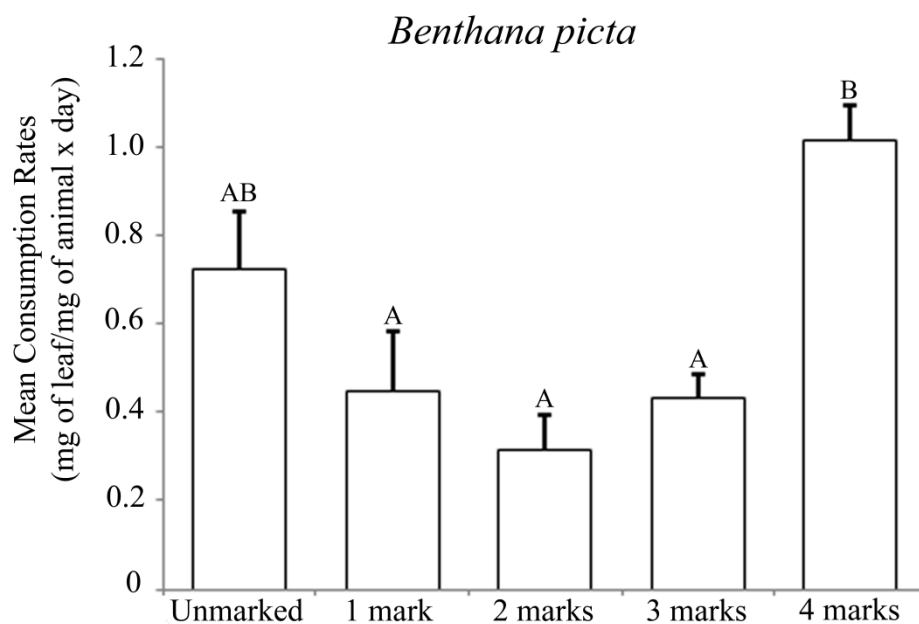


Figure 9. Mean relative consumption of *Benthana picta* fed with three leaf disks of *M. stipitatum* during 10 days of experiment. Each treatment corresponding to the number of nail polish external marks on animals' cuticle (zero – unmarked, one, two, three and four). Vertical bars indicate standard error. Different letters above the bars show statistical difference through analysis of variance (ANOVA) and *post-hoc* Tukey's test ($\alpha < 0.05$).

DISCUSSION

Both materials used herein followed most basic premises of viable techniques for marking and recapture studies (Southwood and Henderson, 2000; Wang et al., 2010). They are easy to apply and the materials have low cost. Even though glue+glitter has made the ecdysis difficult, it showed no significant influence on the mortality rates for almost all isopods species tested in this work. Studies with aeglid crabs, beetles, stink bugs, *Limulus* and scorpions report the use of cyanoacrylate glue, and none of them have mentioned any effect on mortality rates (Bueno et al., 2007; Backlund et al., 2008; Lee et al., 2013; Bibbs et al., 2014).

Regarding the nail polish, it did not negatively interfere in the animals feeding activity. Its efficiency, durability and ease of application are also commented with freshwater crustaceans, spiders, beetles and stink bugs (Parmenter et al., 1989; Dreyer and Baumgartner, 1997; Zambonato et al., 2010; Ramalho et al., 2010). Castillo and Kight (2005) used nail polish in prey-predation behavioral experiments with two terrestrial isopods species, and they do not report any external marking influence in relation to the parameters analyzed. Recently, Leclercq-Dransart et al. (2019) performed the same technique in physiology experiments with four woodlice species. They also did not describe any negative aspects about nail polish's external marks. However, Drahoukoupilová and Tuf (2012) and Tuf et al. (2013) do not recommend nail polish for external marks on woodlice because their results indicated high mortality rates through the marking process. In addition, the authors also observed low nail polish durability. Our results showed there is little relation between death and the external marking procedure, since dead animals also were observed in the unmarked treatments. Besides, we emphasized that nail polish did not affect ecdysis success and the woodlice survivorship during this process. Nail polish's durability observed in the present study was longer than cited by Drahoukoupilová and Tuf (2012) (9 days) and some individuals reached 28 days with the external mark, as observed by Tuf et al. (2013).

According to our observations, direct marking on the woodlice cuticle may have influenced the woodlice survivorship and the mark's adhesion due to particular characteristics of each oniscidean ecomorphological group, regardless the material used. Unlike what is described for other terrestrial arthropods (Roer et al., 2015), the woodlice

cuticle thickness varies among different groups, and this characteristic provides to rollers, runners and clingers' species distinct permeability degrees (Greenaway and Warburg, 1998; Csonka et al., 2013; Broly et al., 2015; Wood et al., 2017; Khemaissia et al., 2018). *Armadillidium* showed low sensitivity to external marking and higher frequency of marked individuals until the end of the 28 days experiment. This can be explained as a result of their cuticle characteristics: thickness, low permeability and low water loss (Broly et al., 2015; Nako et al., 2018; Csonka et al., 2018). *Armadillidium* can increase its resistance to desiccation in dry microhabitats or when exposed to high temperatures (Csonka et al., 2018) and additionally, as we observed, to the possible nail polish toxicity.

The *Benthana* species has a delicate, lighter and flexible cuticle, which can be highly affected by fluctuation in temperature and humidity and less tolerance to environmental changes, as described for another runner species, *Atlantoscia floridana* (Van Name, 1940) (Araujo and Bond-Buckup, 2005; Sokolowicz and Araujo, 2013; Wood et al., 2017, Csonka et al., 2018). The high permeability and thinnest cuticle compared to the species we tested in the present study may explain the higher number of death events and higher frequency in cases of mark loss. Even though we observed individuals trapped in the old exoskeleton only when they were marked with glue+glitter, *Benthana* was the most fragile to both external marking materials.

As described by Wood et al. (2017), the *Balloniscus*' cuticle has lighter thickness in comparison to the *Armadillidium* one and it has many curved scales. In relation to runner species, clingers demand a tougher cuticle because the individuals need to adhere to the substrate to protect their soft parts from predators (Wood et al., 2017). In the present study, material's external marking efficiency on *Balloniscus*' cuticle was intermediate when compared with the other two species. This result is supported by the clinger's intermediary cuticle attributes between rollers and runners discussed above.

Taking into consideration that the bigger the woodlouse the longer the intermoult interval (Lawlor, 1976), we selected the largest animals for both tests. This strategy was adopted to avoid the chances of the loss of the mark after ecdysis (Frisch and Hobbs, 2006; Bueno et al., 2007; Zambonato et al., 2010; Tuf et al., 2013). Even attempting to minimize the effect in case of ecdysis, the information about the animal

location, for example, may be not totally lost. The exuvia still maintains the last marking data, as we observed, and it can be found in the field if the animal monitoring studies use periodic trap observations. However, this will be that individual's last dispersion record. Thus, we recommend the use of nail polish only on the biggest adult animals and implement the marking as soon as possible after the ecdysis. Intermoult period has a crucial role in this process.

There is little quantitative information about marking techniques' effects on feeding activity of invertebrates. In general, the studies discuss some qualitative data along with other behavioral approaches (Kobelt et al., 2009; Drahokoupilová and Tuf, 2011, 2012; De Souza et al., 2012; Wells and Sebens, 2017). A great number of studies that use marking techniques only report their main application for distinct treatments identification in experiments (Rieske and Raffa, 1990; Loreto et al., 2009; Perry et al., 2017; Leclercq-Dransart et al., 2019). Bueno et al. (2007) observed marked and unmarked aeglid crabs in baited traps, which means the animals were attracted to food in spite of the external marking process. In a study with another detritivore, the millipede *Glomeris tetrasticha* Brandt, 1833, the authors observed unmarked animals feeding more often than the marked individuals (Drahokoupilová and Tuf, 2011). They also compared other behavioral parameters, and it was suggested this marking technique could provide biased or false results (Drahokoupilová and Tuf, 2011). Drahokoupilová and Tuf (2012) recorded a decrease in the feeding activity of marked terrestrial isopods compared to unmarked animals. Our data showed the marked and unmarked woodlice feeding similarly, quantitatively. Only four-marked *Benthana* exhibited higher mean relative consumption of *M. stipitatum* leaf discs than the other marked animal treatments. This probably indicates the three oniscidean species are not deprived of the ability to feed, since none of them showed significant statistical difference in comparison to control treatments (unmarked woodlice).

Considering our results, the external marking did not show negative influence on feeding activity of the terrestrial isopods and this method using nail polish can be effective for mark-recapture and monitoring studies in the field, taking into account the whole species intermoult period and other behavioral aspects. More studies about these topics are being conducted to enhance these techniques.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for granting scholarship to DCK, fellowship to PBA and GLGS, Instituto de Biociências of UFRGS for the assistance, colleagues from Laboratório de Carcinologia and Laboratório de Ecologia Química e Quimiotaxonomia (Leqtax) for the help on performing the experiments and Augusto F. Huber for editing the image of marked animals.

REFERENCES

- Araujo, P.B. and Bond-Buckup, G. 2005. Population structure and reproductive biology of *Atlantoscia floridana* (van Name, 1940) (Crustacea, Isopoda, Oniscidea) in southern Brazil. *Acta Oecologica*, 28: 289–298.
- Austin, D.; Bowen, W.D. and McMillan, J.I. 2004. Intraspecific variation in movement patterns: modeling individual behaviour in a large marine predator. *Oikos*, 105: 15–30.
- Backlund, D.C.; Marrone, G.M.; Williams, C.K. and Tilmon, K. 2008. Population estimate of the endangered American Burying Beetle, *Nicrophorus americanus* Olivier (Coleoptera: Silphidae) in South Dakota. *The Coleopterists Bulletin*, 62: 9–15.
- Baguette, M.; Petit, S. and Queva, F. 2000. Population spatial structure and migration of three the same habitat butterfly species within network: consequences for conservation. *Journal of Applied Ecology*, 37: 100–108.
- Bibbs, C.S.; Bengston, S.E. and Dawn, H.G. 2014. Exploration of refuge preference in the Arizona Bark Scorpion (Scorpiones: Buthidae). *Environmental Entomology*, 43: 1345–1353.
- Boelter, J.F.; Quadros, A.F. and Araujo, P.B. 2009. The feeding rates and preferences of a Neotropical terrestrial isopod (Oniscidea). *Nauplius*, 17: 107–113.
- Block, B.A.; Jonsen, I.D.; Jorgensen, S.J.; Winship, A.J.; Shaffer, S.A.; Bograd, S.J.; Hazen, E.L.; Foley, D.G.; Breed, G.A.; Harrison, A.L.; Ganong, J.E.; Swithenbank, A.; Castleton, M.; Dewar, H.; Mate, B.R.; Shillinger, G.L.; Schaefer, K.M.; Benson, S.R.; Weise, M.J.; Henry, R.W. and Costa, D.P. 2011. Tracking apex marine predator movements in a dynamic ocean. *Nature*, 475: 86–90.
- Bridgeland, W.T.; Beier, P.; Kolb, T. and Whitham, T.G. 2010. A conditional trophic cascade: birds benefit faster growing trees with strong links between predators and plants. *Ecology*, 91: 73–84.
- Broly, P.; Devigne, C. and Deneubourg, J. 2015. Body shape in terrestrial isopods: A morphological mechanism to resist desiccation? *Journal of Morphology*, 276: 1283–1289.
- Broly, P.; Mullier, R.; Deneubourg, J. and Devigne, C. 2012. Aggregation in woodlice: social interaction and density effects. *ZooKeys*, 176: 133–144.
- Bueno, S.L.S.; Shimizu, R.M. and Da Rocha, S.S. 2007. Estimating the population size of *Aegla franca* (Crustacea: Decapoda: Anomura) by mark-recapture technique from an isolated section of Barro Preto stream, county of Claraval, state of Minas Gerais, southeastern Brazil. *Journal of Crustacean Biology*, 27: 553–559.

- Campos-Filho, I.S.; Cardoso, G.M. and Aguiar, J.O. 2018. Catalogue of terrestrial isopods (Crustacea, Isopoda, Oniscidea) from Brazil: an update with some considerations. *Nauplius*, 26: e2018038.
- Campos-Filho, I.S.; Taiti, S. and Araujo, P.B. 2015. Taxonomic revision of the genus *Benthana* Budde-Lund, 1908 (Isopoda: Oniscidea: Philosciidae). *Zootaxa*, 4022: 1–73.
- Caseiro, I.; Santos, S.; Sousa, J.P.; Nogueira, A.J.A. and Soares, A.M.V.M. 2000. Optimization of culture conditions of *Porcellio dilatatus* (Crustacea, Isopoda) for laboratory test development. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 47: 285–291.
- Castillo, M.E. and Kight, S. 2005. Response of terrestrial isopods, *Armadillidium vulgare* and *Porcellio laevis* (Isopoda: Oniscidea) to the ant *Tetramorium caespitum*: Morphology, behavior and reproductive success. *Invertebrate Reproduction and Development*, 47: 183–190.
- Child, M.F.; Selier, S.A.; Radloff, F.G.; Taylor, W.A.; Hoffmann, M.; Nel, L.; Power, R.J.; Birss, C.; Okes, N.C.; Peel, M.J.; Mallon, D. and Davies-Mostert, H. 2019. A framework to measure the wildness of managed large vertebrate populations. *Conservation Biology*, 33: 1106–1119.
- Csonka, D.; Halasy, K.; Buczkó, K. and Hornung, E. 2018. Morphological traits – desiccation resistance – habitat characteristics: A possible key for distribution in woodlice (Isopoda, Oniscidea). *Zookeys*, 801: 481–499.
- Csonka, D.; Halasy, K.; Szabó, P.; Mrak, P.; Štrus, J. and Hornung, E. 2013. Eco-morphological studies on pleopodal lungs and cuticle in *Armadillidium* species (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). *Arthropod Structure and Development*, 42: 229–35.
- De Souza, A.R.; Ribeiro, B.; José, N. and Prezoto, F. 2012. Paint marking social wasps: An evaluation of behavioral effects and toxicity. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 144: 244–247.
- Döge, J.S.; Hochmüller, C.J.C.; Valente, V.L.S. and Tidon, R. 2009. Potential use of marker pen ink as a marking method for drosophilids. *Drosophila Information Service*, 92: 123–126.
- Drag, L.; Hauck, D.; Pokluda, P.; Zimmermann, K. and Cizek, L. 2011. Demography and dispersal ability of a threatened Saproxyllic beetle: A mark-recapture study of the *Rosalia* Longicorn (*Rosalia alpina*). *PLoS ONE*, 6: e21345.
- Drahokoupilová, T. and Tuf, I.H. 2011. Behaviour of pill millipedes can be affected by external marking. *International Journal of Myriapodology*, 6: 51–60.
- Drahokoupilová, T. and Tuf, I.H. 2012. The effect of external marking on the behaviour of the common pill woodlouse *Armadillidium vulgare*. *Zookeys*, 176, 145–154.
- Dreyer, H. and Baumgartner, J. 1997. Adult movement and dynamics of *Clavigralla tomentosicollis* (Heteroptera: Coreidae) populations in Cowpea Fields of Benin, West Africa. *Journal of Economic Entomology*, 90: 421–426.
- Frisch, A.J. and Hobbs, J.P.A. 2006. Long-term retention of internal elastomer tags in a wild population of painted crayfish (*Panulirus versicolor* [Latreille]) on the Great Barrier Reef. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 339: 104–110.
- Frouz, J.; Lobinske, R.; Kalcik, J. and Ali, A. 2008. Effects of the exotic Crustacean, *Armadillidium vulgare* (Isopoda), and other macrofauna on organic matter dynamics in soil microcosms in a hardwood Forest in Central Florida. *Florida Entomologist*, 91: 328–331.

- Dreyer, H. and Baumgartner, J. 1997. Adult movement and dynamics of *Clavigralla tomentosicollis* (Heteroptera: Coreidae) populations in Cowpea Fields of Benin, West Africa. *Journal of Economic Entomology*, 90: 421–426.
- Gerlach, A.; Russell, D.J.; Jaeschker, B. and Rombke, J. 2014. Feeding preferences of native terrestrial isopod species (Oniscidea, Isopoda) for native and introduced leaf litter. *Applied Soil Ecology*, 83: 95–100.
- Gnanadesikan, G.E.; Pearse, W.D. and Shaw, A.K. 2017. Evolution of mammalian migrations for refuge, breeding, and food. *Ecology and Evolution*, 7: 5891–5900.
- Greenaway, P. and Warburg, M.R. 1998. Water fluxes in terrestrial isopods. *Israel Journal of Entomology*, 44: 473–486.
- Groner, M.L.; Shields, J.D.; Landers, D.F.; Swenarton, J. and Hoenig, J.M. 2018. Rising temperatures, molting phenology, and epizootic shell disease in the American Lobster. *The American Naturalist*, 192: E163–E177. doi:10.1086/699478.
- Hagler, J.R. and Jackson, C.G. 2001. Methods for Marking Insects: Current techniques and future prospects. *Annual Review of Entomology*, 46: 511–543.
- Hamer, G.L.; Anderson, T.K.; Donovan, D.J.; Brawn, J.D.; Krebs, B.L.; Gardner, A.M.; Ruiz, M.O.; Brown, W.M.; Kitron, U.D.; Newman, C.M.; Goldberg, T.L. and Walker, E.D. 2014. Dispersal of adult *Culex* mosquitoes in an urban West Nile virus hotspot: A mark-capture study incorporating stable isotope enrichment of natural larval habitats. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8: 6–12.
- Hassall, M. and Tuck, J.M. 2007. Sheltering behavior of terrestrial isopods in grasslands. *Invertebrate Biology*, 126: 46–56.
- Hornung, E. 2011. Evolutionary adaptation of oniscidean isopods to terrestrial life: Structure, physiology and behavior. *Terrestrial Arthropod Reviews*, 4: 95–130.
- Horton, D.R.; Jones, V.P. and Unruh, T.R. 2009. Use of a new immunomarking method to assess movement by generalist predators between a cover crop and tree canopy in a pear orchard. *American Entomologist*, 55: 49–56.
- Janks, M.R. and Barker, N.P. 2013. Using mark-recapture to provide population census data for use in Red Listing of invertebrates: The rare terrestrial snail *Prestonella bowkeri* as a case study. *Biodiversity and Conservation*, 22: 1609–1621.
- Kenne, D.C. and Araujo, P.B. 2015. *Balloniscus glaber* (Crustacea, Isopoda, Balloniscidae), a habitat specialist species in a disturbed area of Brazil. *Iheringia, Série Zoologia*, 105: 430–438.
- Khemaissia, H.; Raimond, M.; Ayari, A.; Jelassi, R.; Souty-Grosset, C. and Nasri-Ammar, K. 2018. Cuticular differences of the exoskeleton relative to habitat preferences among three terrestrial isopods. *Biologia*, 73: 447–483.
- Kobelt, A.J.; Yen, A.L. and Kitching, M. 2009. Laboratory validation of rubidium marking of herbivorous insects and their predators. *Australian Journal of Entomology*, 48: 204–209.
- Lawlor, L.R. 1976. Molting, growth and reproductive strategies in the terrestrial isopod, *Armadillidium vulgare*. *Ecology*, 57: 1179–1194.
- Leclercq-Dransart, J.; Pernin, C.; Demuyneck, S.; Grumiaux, F.; Lemièrre, S. and Leprêtre, A. 2019. Isopod physiological and behavioral responses to wet and drier conditions: an experimental study with four species in the context of global warming. *European Journal of Soil Biology*, 90: 22–30.
- Lee, D.; Wright, S.E.; Boiteau, G.; Vincent, C. and Leskey, T.C. 2013. Effectiveness of glues for harmonic radar tag attachment on *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae) and their impact on adult survivorship and mobility. *Environmental Entomology*, 42: 515–523.

- Lemos de Castro, A. 1971. Isópodos terrestres introduzidos no Brasil (Isopoda, Oniscoidea). Boletim Museu Nacional Rio de Janeiro, 282: 1–14.
- Lok, J.B.; Cupp, E.W. and Blomquist, G.J. 1975. Cuticular lipids of the imported fire ants, *Solenopsis invicta* and *Richteri james*. Insect Biochemistry, 5: 821–829.
- Loreto, R.G.; Desouza, O. and Elliot, S.L. 2009. Colored glue as a tool to mark termites (*Cornitermes cumulans*; Isoptera. Termitidae) for ecological and behavioral studies. Sociobiology, 54: 351–360.
- Lucía, M.; Ricardo, P.A. and Stella, Z.M. 2018. Dispersión de adultos de *Piezodorus guildinii* (Hemiptera: Pentatomidae) entre cultivos de soja y de alfalfa. Agrociencia Uruguay, 22: 1–10.
- Luschi, P. 2013. Long-distance animal migrations in the oceanic environment: orientation and navigation correlates. ISRN Zoology, Article ID 631839.
- Morgan, S.A.; Hansen, C.M.; Ross, J.G.; Hickling, G.J.; Ogilvie, S.C.; Paterson, A.M.; 2009. Urban cat (*Felis catus*) movement and predation activity associated with a wetland reserve in New Zealand. Wildlife Research, 36, 574–580.
- Muir, L.E. and Kay, B.H. 1998. *Aedes aegypti* survival and dispersal estimated by mark-release-recapture in northern Australia. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 58: 277– 282.
- Nako, J.; Lee, N.S. and Wright, J.C. 2018. Water vapor absorption allows for volume expansion during molting in *Armadillidium vulgare* and *Porcellio dilatatus* (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). ZooKeys, 801: 459–479.
- Nazni, W.A.; Luke, H.; Wan Rozita, W.M.; Abdullah, A.G.; Sa'diyah, I.; Azahari, A.H.; Zamree, I.; Tan, S.B.; Lee, H.L. and Sofian, M.A. 2005. Determination of the flight range and dispersal of the house fly, *Musca domestica* (L.) using mark release recapture technique. Tropical Biomedicine, 22: 53–61.
- Paoletti, M.G. and Hassall, M. 1999. Woodlice (Isopoda: Oniscidea): Their potential for assessing sustainability and use as bioindicators. Agriculture, Ecosystems and Environment, 74: 157–165.
- Pardo, R.H.; Torres, M.; Morrison, A.C. and Ferro, C. 1996. Effect of fluorescent powder on *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) and a simple device for marking sand flies. Journal of the American Mosquito Control Association, 12: 235–242.
- Parmenter, R.R.; Macmahon, J.A. and Anderson, D.R. 1989. Animal density estimation using a trapping web design: Field validation experiments. Ecology, 70: 169–179.
- Perry, K.I.; Wallin, K.F.; Wenzel, J.W. and Herms, D.A. 2017. Characterizing movement of ground-dwelling arthropods with a novel mark-capture method using fluorescent powder. Journal of Insect Behavior, 30: 32–47.
- Pérez, G.E.; Conte, A.; Garde, E.J.; Messori, S.; Vanderstichel, R. and Serpell, J. 2018. Movement and home range of home range of owned free-roaming male dogs in Puerto Natales. Chile Applied Animal Behavior Science, 205: 74–82.
- Petit, S.; Waudby, H.P.; Walker, A.T.; Zanker, R. and Rau, G. 2012. A non-mutilating method for marking small wild mammals and reptiles. Australian Journal of Zoology, 60: 64–71.
- Phillips, M.L.; Clark, W.R.; Nusser, S.M.; Sovada, M.A. and Greenwood, R.J. 2004. Analysis of predator movement in prairie landscapes with contrasting grassland composition. Journal of Mammalogy, 85: 187–195.
- Purger, J.J.; Farkas, S. and Dányi, L. 2007. Colonization of post- mining recultivated area by terrestrial isopods (Isopoda: Oniscoidea) and centipedes (Chilopoda) in Hungary. Applied Ecology and Environmental Research, 5: 87–92.

- Quadros, A.F.; Zimmer, M.; Araujo, P.B. and Kray, J.G. 2014. Litter traits and palatability to detritivores: a case study across bio- geographical boundaries. *Nauplius*, 22: 103–111.
- Quadros, A.F. and Araujo, P. B. 2008. An assemblage of terrestrial isopods (Crustacea) in southern Brazil and their contribution to leaf litter processing. *Revista brasileira de Zoologia*, 25: 58–66.
- Quadros, A.F. 2010. Os isópodos terrestres são boas ferramentas para monitorar e restaurar áreas impactadas por metais pesados no Brasil? *Oecologia Australis*, 14: 569–583.
- Quadros, A.F.; Caubet, Y. and Araujo, P.B. 2009. Life history comparison of two terrestrial isopods in relation to habitat specialization. *Acta Oecologica*, 35: 243–249.
- Ramalho, R.O.; McClain, W.R. and Anastácio, P.M. 2010. An effective and simple method of temporarily marking crayfish. *Freshwater Crayfish*, 17: 57–60.
- Rieske, L.K. and Raffa, K.F. 1990. Dispersal patterns and mark-and- recapture estimates of two Pine Root Weevil Species, *Hylobius pales* and *Pachylobius picivorus* (Coleoptera: Curculionidae) in Christmas Tree Plantations. *Environmental Entomology*, 19: 1829–1836.
- Roer, R.; Abehsera, S. and Sagi, A. 2015. Exoskeletons across the pancrustacea: Comparative morphology, physiology, biochemistry and genetics. *Integrative and Comparative Biology*, 55: 771–791.
- Rose, J.P.; Wylie, G.D.; Casazza, M.L. and Halstead, B.J. 2018. Integrating growth and capture-mark-recapture models reveals size-dependent survival in an elusive species. *Ecosphere*, 9: e02384.
- Schmalzfuss, H. 1984. Eco-morphological strategies in terrestrial isopods. *Symposia of the Zoological Society of London*, 53: 49–63.
- Schmidt, K. and Schwarzkopf, L. 2010. Visible implant elastomer tagging and toe-clipping: effects of marking on locomotor performance of frogs and skinks. *Herpetological Journal*, 20: 99–105.
- Sokolowicz, C.C. and Araujo, P.B. 2013. Reproductive pattern of the Neotropical terrestrial isopod *Benthana cairensis* (Isopoda: Philosciidae). *Journal of Crustacean Biology*, 33: 210–217.
- Southwood, T.R.E. and Henderson, P.A. 2000. *Ecological Methods* (3rd edition). Oxford, Blackwell Science Ltd. 576p.
- Suzuki, F.M.; Zambaldi, L.P. and Pompeu, P.S. 2010. Uso de marcação e recaptura para estimar a abundância e densidade de *Trichomycterus brasiliensis* (Siluriformes, Trichomycteridae) em poções do córrego da Bexiga, Carrancas, Minas Gerais, Brasil. *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão*, 28: 89–104.
- Tuf, I. H.; Petr, H.; Mačát, Z.; Machač, O.; Rendoš, M.; Trnka, F. and Vokálová, A. 2013. Suitability of nail polish for marking the common rough woodlouse, *Porcellio scaber* (Oniscidea). *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae*, 77: 159–163.
- Waldbauer, G.P. 1968. The consumption and utilization of food by insects. *Advances in Insect Physiology*, 5: 229–288.
- Walker, T.J. and Wineriter, S.A. 1981. Marking techniques for recognizing individual insects. *The Florida Entomologist*, 64: 18–29.
- Wang, X.; Chen, H.; Ma, C. and Li, Z. 2010. Chinese white pine beetle, *Dendroctonus armandi* (Coleoptera: Scolytinae), population density and dispersal estimated by mark-release- recapture in Qinling Mountains, Shaanxi, China. *Applied Entomology and Zoology*. 45: 557–567.

- Wells, C.D. and Sebens, K.P. 2017. Individual marking of soft-bodied subtidal invertebrates in situ – A novel staining technique applied to the giant plumose anemone *Metridium farcimen* (Tilesius, 1809). PLoS ONE, 12: e0188263.
- Willows, R.I. 1987. Population dynamics and life history of two contrasting populations of *Ligia oceanica* (Crustacea: Oniscidea) in the Rocky Supralittoral. Journal of Animal Ecology, 56: 315–330.
- Wojcik, D.P.; Burges, R.J.; Blanton, C.M. and Focks, D.A. 2000. An improved and quantified technique for marking individual fire ants. Florida Entomologist, 83: 74–78.
- Wood, C.T.; Kostanjšek, R.; Araujo, P.B. and Štrus, J. 2017. Morphology, microhabitat selection and life-history traits of two sympatric woodlice (Crustacea: Isopoda: Oniscidea): A comparative analysis. Zoologischer Anzeiger, 268, 1–10.
- Wood, C.T.; Schlindwein, C.C.D.; Soares, G.L.G. and Araujo, P.B. 2012. Feeding rates of *Balloniscus sellowii* (Crustacea, Isopoda, Oniscidea): the effect of leaf litter decomposition and its relation to the phenolic and flavonoid content. ZooKeys, 176: 231–245.
- Wu, X.; Griffin, J.N. and Sun, S. 2014. Cascading effects of predator–detritivore interactions depend on environmental context in a Tibetan alpine meadow. Journal of Animal Ecology. 83: 546–556.
- Zambonato, B.P.; Daemon, E. and Prezoto, F. 2010. An alternative technique for individual marking of orb-web spiders. Etologia, 9: 3–5.
- Zidar, P.; Kaschl, U.I.; Drobne, D.; Bozic, J. and Štrus, J. 2002. Behavioural response in paired food choice experiments with *Oniscus asellus* (Crustacea, Isopoda) as an indicator of different food quality. In: 1st SloTOX Workshop on Environmental Bioindicators and Refreshment in Basic Toxicology, ArhHig Rada Toksikol. Ljubana, Slovenia, 177–181.
- Zimmer, M. 2006. The role of animal-microbe interactions in isopod ecology and evolution. Acta Biologica Benrodis, 13: 127–168.

CAPÍTULO 2

**Influência de marcação com esmalte no comportamento gregário de
isópodos terrestres (Isopoda, Oniscidea)**

Influência de marcação com esmalte no comportamento gregário de isópodos terrestres (Isopoda, Oniscidea)

Diego Costa Kenne^{1,2,3*}, Geraldo Luiz Gonçalves Soares^{1,3} & Paula Beatriz Araujo²

¹ Programa de Pós-graduação em Ecologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, RS, Brazil.

² Laboratório de Carcinologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, RS, Brazil.

³ Laboratório de Evolução, Ecologia Química e Quimiotaxonomia, Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, RS, Brazil.

*Autor correspondente: diegokenne@gmail.com

RESUMO

A técnica de marcação-recaptura é bastante empregada em pesquisas envolvendo monitoramento e dispersão de organismos. No entanto, em geral, muitos autores não registram alterações ou não incluem possíveis alterações nos trabalhos sobre o comportamento dos indivíduos após serem submetidos a esse procedimento. Neste estudo observou-se o efeito da marcação no comportamento gregário de isópodos terrestres. O evento de agregação é de suma importância para as atividades vitais de tatuzinhos-de-jardim, pois proporciona equilíbrio hídrico corporal, proteção contra predadores, facilitação no evento reprodutivo e evidências de recursos alimentares e/ou de abrigos no ambiente. Neste trabalho foram estudadas três espécies de oniscídeos (*Benthana picta*, *Balloniscus glaber* e *Armadillidium vulgare*) sob influência de marcações na cutícula dos animais com esmalte de unha. Quinze indivíduos de cada espécie foram observados em arenas circulares. Foi registrado: o reconhecimento de coespecíficos já agrupados; o número de visitas no setor correspondente a essa agregação; e o tempo total e maior tempo contínuo de estabilidade nessa região. Além disso, também foi verificada a permanência dos isópodos nos outros setores da arena e o número de transições entre as diferentes áreas, tanto antes quanto depois dos indivíduos serem identificados com uma, duas, três, quatro ou nenhuma marca de esmalte. O processo de marcação e o material utilizado para tal não gerou alterações significativas na grande maioria dos parâmetros analisados, indicando que os isópodos não perdem a habilidade de detectar coespecíficos e de integrar agregações em processo de formação. Os dados aqui levantados reforçam que a utilização da técnica em estudos de marcação-recaptura de oniscídeos de grupos ecomorfológicos distintos é viável sem prejudicar o comportamento gregário dos animais.

Palavras-chave: Marcação-recaptura, Malacostraca, experimento, agregação, locomoção.

INTRODUÇÃO

A técnica de marcação-recaptura é muito utilizada para o acompanhamento de vertebrados e de invertebrados em estudos de monitoramento de populações e de crescimento dos organismos (Rees et al. 2011; Drew et al. 2012; Tuf et al. 2013). O método também é empregado na investigação da dinâmica de deslocamento das espécies, pois viabiliza o conhecimento de rotas migratórias e do comportamento locomotor dos animais (Dennhardt et al. 2017; Rolandsen et al. 2017). Em laboratório, esse método possibilita a identificação de grupos que passaram por um tratamento específico, porém são mantidos em conjunto com outros indivíduos durante as observações de interesse (Dias et al. 2012; Leclercq-Dransart et al. 2019).

Exceto pelos processos de marcação indireta, nos quais os próprios indivíduos acionam dispositivos em campo, como os de armadilhas fotográficas (Karanth 1995; Collett & Fisher 2017) ou de mecanismos de aplicação de pó fluorescente (Nazni et al. 2005; Perry et al. 2017), outros métodos exigem a captura temporária dos espécimes de estudo. O processo direto inclui, mesmo que em diferentes níveis, o contato físico entre o pesquisador e o organismo que se deseja observar com a finalidade da implementação da marcação e, em seguida, a soltura deste indivíduo (Bonner et al. 2010). Além dessa interferência, há também a possibilidade de gerar consequências pós-marcação para os animais, e muitos autores não registram tais eventos ou as prováveis variações no comportamento dos indivíduos (Hagler & Jackson 2001; Butler et al. 2012; Drahekoupilová & Tuf 2012).

Em relação às reações observadas em decorrência do método de marcação, as mais importantes são as que afetam as atividades vitais dos organismos, como eventos de reprodução (Butler et al. 2012), a habilidade em se locomover (Petit et al. 2012; Zambonato et al. 2010) e a capacidade de ingerir alimento (Drahekoupilová & Tuf 2011; Silvy et al. 2012), todas elas relacionadas à sobrevivência (Hagler & Jackson 2001; Mattioli & Walsh 2008; Warner & Bierzychudek 2009). Mesmo que os materiais utilizados para a marcação e/ou a forma de aplicação do método não afetem o desempenho desses hábitos, eventualmente a técnica pode causar efeitos indiretos, produzindo impactos relacionados à rede de interações. Além do mais, o grau (quantidade) de aplicação

dessa matéria-prima pouco é relatado (Drahokoupilová & Tuf 2012; Tuf et al. 2013). Marcação com tintas em excesso e com cores chamativas, por exemplo, tem uma maior probabilidade em destacar visualmente os organismos dos primeiros níveis tróficos, revelando para seus predadores a sua localização no ambiente (Janks & Barker 2013).

Em interações intraespecíficas, as propriedades químicas dos materiais da marcação têm grande potencial em distorcer parâmetros de reconhecimento de castas e/ou indivíduo familiar (MacKinnon et al. 2016). Feromônios e outros voláteis podem perder o efeito de autenticação entre os animais, ou até mesmo confundir o que foi marcado, impossibilitando-o de se agregar aos seus coespecíficos (Still et al. 2014). A incapacidade de agrupar-se com semelhantes pode configurar desvantagens às atividades vitais, pois a sobrevivência de muitas espécies é otimizada através do comportamento gregário (Siljander et al. 2008; Broly et al. 2013; Lordan et al. 2014).

O comportamento de agregação é recorrente em inúmeros táxons, ocorrendo desde bactérias até vertebrados (Parrish & Edelman-Keshet 1999; Krause & Ruxton 2002; Ben Jacob et al. 2004; Sempo et al. 2009). Formar grupos beneficia os indivíduos na proteção contra predadores, além de contribuir para a manutenção de atributos fisiológicos e para o reconhecimento do espaço (Dall et al. 2005; Sempo et al. 2006; Broly et al. 2013). Porém, a densidade das agregações pode trazer desvantagens quando os recursos em questão não são suficientes para a demanda de uma grande horda. Dependendo dos táxons observados, a competição intraespecífica por fontes de alimento e/ou por parceiros reprodutivos pode sofrer intensificação (Moller & Birkhead 1993; Giraldeau & Caraco 2000; Sempo et al. 2009). Ainda assim, esse tipo de interação é considerado essencial na evolução da sociobiologia das espécies (Parrish & Edelman-Keshet 1999; Salma & Thomson 2016).

Com propósito social ou não, o comportamento gregário é observado na grande maioria de invertebrado terrestres (Brockett & Hassall 2005), ocorrendo em moluscos, insetos e crustáceos (Yoder et al. 2002; Benoit et al. 2005; Rojas et al. 2014; Schoombie et al. 2013). Dentre esses últimos, para os isópodos terrestres (Isopoda, Oniscidea) esse fenômeno responde diretamente às condições abióticas

do ambiente (Devigne et al. 2011; Broly et al. 2013). Tal comportamento é interpretado como estratégia de equilíbrio hídrico corporal (Hadley & Quinlan 1984; Niemeyer et al. 2018), pois o aumento da densidade na agregação aumenta a sobrevivência em locais mais secos através da redução da perda de água (Hassall et al. 2005; Broly et al. 2015), além de ser considerado uma adaptação à vida no ambiente terrestre (Greenway & Warburg 1998; Devigne et al. 2011; Hornung 2011). O agrupamento é mediado por feromônios liberados nas fezes dos tatuzinhos-de-jardim (Takeda 1984) e a percepção desses feromônios é de suma importância para as atividades vitais desses animais, como reconhecer parceiros reprodutivos (Lefebvre et al. 2000) e perceber evidências de *hotspots* de recursos alimentares e/ou abrigos em ambientes heterogêneos (Hassall et al. 2005; Yao et al. 2009).

Considerando que a qualidade ambiental pode ser inferida a partir da seleção coletiva de microhabitats para a agregação, isópodos terrestres tem grande destaque como organismos bioindicadores (Zidar et al. 2004; Loureiro et al. 2005, 2006; Godet et al. 2011; Broly et al. 2012). Além disso, pelo importante papel que os oniscídeos têm na degradação do material orgânico depositado no assoalho florestal e consequente contribuição na ciclagem de nutrientes do solo (Quadros & Araujo 2008, Boelter et al. 2009), é essencial entender os padrões de agregação. A relevância se dá pelo fato de que o comportamento gregário é um dos mais básicos pré-requisitos para a vida cooperativa, no qual se compartilha informações sobre a qualidade dos recursos do ambiente (Deneubourg et al. 2002; Valone & Templeton 2002; Devigne et al. 2011).

Testes preliminares já elucidaram questões sobre a eficiência de esmalte de unha como material para a marcação de oniscídeos, bem como aspectos que poderiam influenciar na sobrevivência e no comportamento alimentar desses animais (Kenne et al. 2019). Com o intuito de complementar os estudos sobre os possíveis efeitos de métodos de marcação-recaptura em isópodos terrestres, o presente trabalho buscou investigar as diferenças na dinâmica de agregação antes e depois da marcação dos animais com esmalte de unha. Foi esperado que os tatuzinhos não exibissem diferenças no comportamento agregativo entre os dois momentos (Hipótese I). Para isso, foram observadas três espécies de três grupos

ecomorfológicos de oniscídeos (*sensu* Schmalfuss 1984). Esperou-se que: *corredores* (pereópodos longos, cutícula fina e com deslocamento rápido) exibissem maior movimentação nas arenas, com os indivíduos se agregando após um número maior de encontros com os coespecíficos; *aderentes* (corpo mais robusto com cutícula um pouco mais espessa, com comportamento de aderência e movimentação mais lenta) reconhecessem o local da agregação pré-formada de forma mais direta e estável, apresentando um número menor de visitas prévias no mesmo local; e *volvacionais* (corpo menos achatado, cutícula mais espessa e com habilidade volvocional) demonstrassem um menor deslocamento nas arenas de observação, com os tatuzinhos se agregando aos coespecíficos nos primeiros encontros. Além disso, foi também avaliado a interferência da quantidade de marcas na movimentação e percepção dos isópodos, tendo em vista a não divergência dos dados para este parâmetro (Hipótese II), pois a técnica deve ter o mínimo de influência possível para ser considerada eficiente (Hagler & Jackson 2001).

MATERIAL & MÉTODOS

Espécies de isópodos e procedimentos pré-experimento

Foram utilizadas três espécies de isópodos terrestres, cada uma representando um grupo ecomorfológico diferente (*sensu* Schmalfuss 1984): *Benthana picta* (Brandt, 1833) (Philosciidae) - *corredor*, *Balloniscus glaber* Araujo e Zardo, 1995 (Balloniscidae) - *aderente*, e *Armadillidium vulgare* (Latreille, 1804) (Armadillidiidae) - *volvacional*. Para evitar equívocos quanto à citação das espécies, no presente estudo, elas serão referidas pelo seu gênero taxonômico. Os espécimes de *Benthana* foram coletados no Parque Henrique Luiz Roesler, na cidade de Novo Hamburgo, RS, Brasil (29°41'15"S, 51°06'35"O). Já os de *Balloniscus* e *Armadillidium* foram obtidos tanto no Campus do Vale da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como também de uma área residencial da zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil (30°04'07"S, 51°07'10"O e 30°12'30"S, 51°10'12"O, respectivamente). Todos os animais coletados foram mantidos em laboratório em ambiente com temperatura e fotoperíodo controlados (17 ± 1 °C e 12:12, respectivamente), serapilheira do local de origem e alimentados com discos de batata *ad libitum*. Quinze indivíduos adultos (machos e fêmeas não-ovígeras, com

todos os apêndices e em período de intermuda) de cada espécie foram submetidos à aclimação 24 horas antes do início dos experimentos: mantidos em câmaras individuais com algodão umedecido (manutenção hídrica) e sem alimento.

Experimento, filmagens e coleta de dados

A movimentação dos animais foi registrada através de filmagens de 30 minutos da parte de cima com câmera fotográfica SONY Cyber-shot 12.1 Mp, posicionada a 50 cm de cinco arenas por vez. Os vídeos foram gravados em sala de cultivo a 22 °C no escuro, apenas com iluminação de uma lâmpada LED A55 8W sobre as arenas (60 cm) no momento da filmagem. As arenas consistiram em placas de Petri de vidro (13,5 cm de diâmetro e 2 cm de altura) com tampa e um papel filtro recobrendo o seu assoalho, no qual foram demarcados cinco setores (Figura 1).

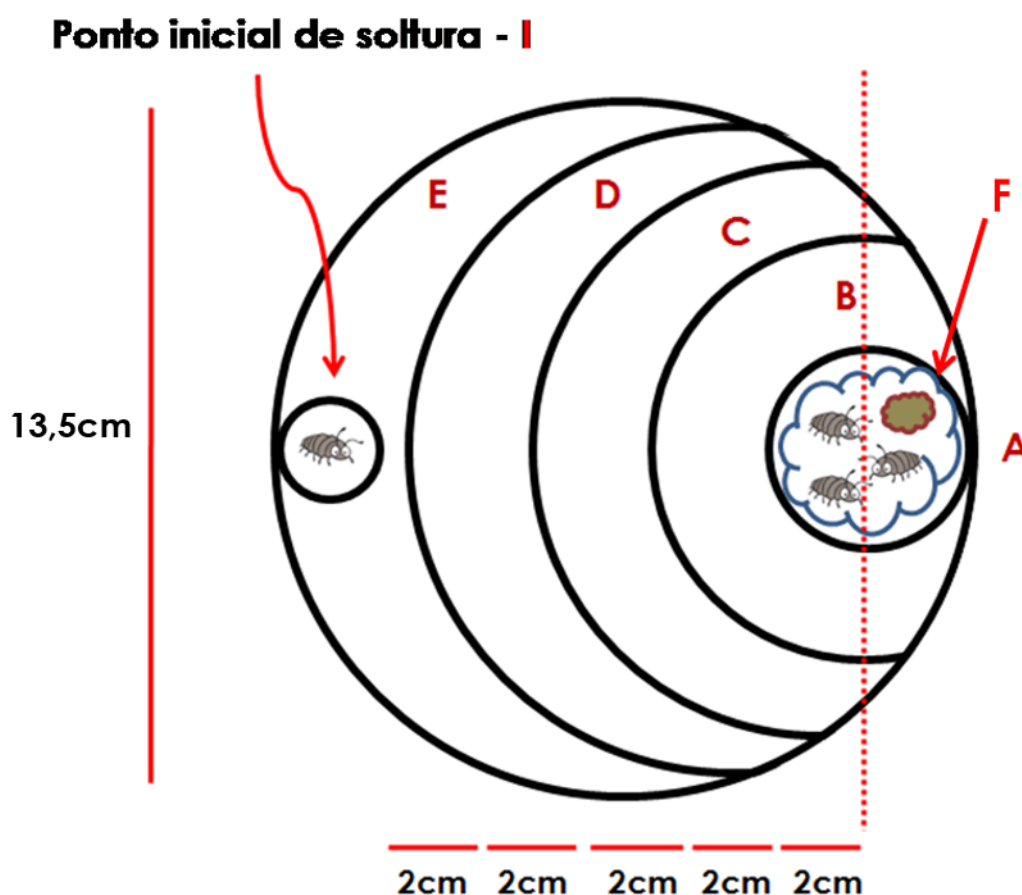


Figura 1. Representação das arenas utilizadas nos experimentos de observação da agregação dos oniscídeos, com a divisão dos setores (A – E), local de soltura dos indivíduos (I) e da bolsa de agregação pré-formada (F).

Cada isópodo foi filmado duas vezes. Na primeira rodada de filmagens os tatuzinhos foram liberados em uma região da borda da arena (setor “I”), e na região oposta (setor “A”) foi colocada uma agregação já formada por três indivíduos e um pequeno algodão umedecido, delimitados por uma pequena bolsa de tule (Figura 1, no setor “A”). A segunda filmagem ocorreu 24 horas após a primeira, depois de os isópodos terem sido marcados com esmalte de unha (Risqué©) com uma, duas, três, quatro ou com nenhuma marca (controle) - apenas sendo manuseado da mesma forma (Figura 2), porém com o uso de água destilada no processo, ao invés de esmalte - e passarem novamente pela mesma aclimatação citada anteriormente. O método de soltura dos tatuzinhos-de-jardim foi o mesmo. Para cada número distinto de marcas e do tratamento controle foram observados três animais (um em cada cinco por vídeo), totalizando três filmagens antes da marcação e três do momento posterior para cada espécie de oniscídeo analisada.

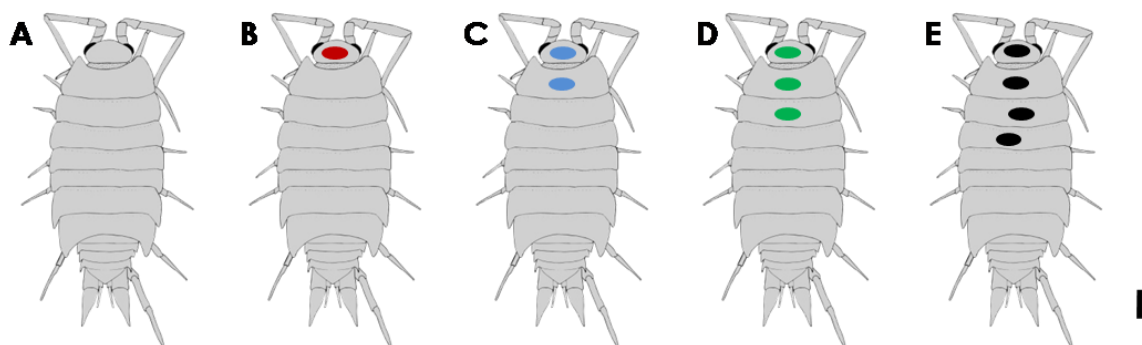


Figura 2. Representação do número de marcas aplicadas nos indivíduos das três espécies de isópodos terrestres, com esmalte de unha (Risqué©) na segunda rodada de filmagens. A) *Benthana picta* do tratamento Controle (processo com H₂O destilada); B) Uma marca; C) Duas marcas; D) Três marcas; E) Quatro marcas.

A partir do momento em que o animal saiu dos limites do setor I com mais da metade do comprimento do corpo foi registrado o seu posicionamento nos 15 minutos seguintes em cada um dos outros setores da arena, do mais afastado até ao setor da agregação propriamente dito (“E”, “D”, “C”, “B” e finalmente “A”) (Figura 1).

Análise estatística

Para as três espécies, foram registradas a frequência de animais que identificaram a agregação pré-formada de coespecíficos e dos que estavam nessa

região da arena ao final do tempo de observação. Para cada indivíduo foi contabilizado: o tempo total em cada setor; o maior tempo contínuo no setor A, a proporção em relação ao tempo total nessa região e ao tempo total de 15 minutos; o tempo entre o primeiro contato com a agregação e o momento inicial do maior período de estabilidade junto aos coespecíficos; o número total de transições entre os cinco setores da arena e o número total de passagens pela agregação. Todos os dados foram testados quanto à distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk ($\alpha < 0,05$) para a posterior aplicação adequada dos cálculos estatísticos.

Foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis (seguido do teste de Dunn quando houve diferença estatística significativa, considerando $\alpha < 0,05$) com a finalidade de comparar o tempo total de permanência dos animais entre os setores da arena em cada momento de observação (antes e depois da marcação dos animais) e o teste de Wilcoxon ($\alpha < 0,05$) para a análise entre os momentos anterior e posterior à marcação em cada setor.

A análise de variância (ANOVA) de dois fatores foi empregada para investigar o tempo total de estabilidade no setor A, o número total de contato com coespecíficos e o número de passagens dos animais no local de agregação, avaliando a associação da quantidade de marcas que os indivíduos receberam, o período de observação e a interação desses dois fatores, seguida do teste de Tukey quando houve significância nos resultados ($\alpha < 0,05$).

A porcentagem de maior tempo contínuo de permanência no setor A em relação ao tempo total na agregação foi comparada entre os dois períodos de observação para cada espécie pelo teste de Wilcoxon ($\alpha < 0,05$), e entre as espécies pelo teste de Kruskal-Wallis ($\alpha < 0,05$) seguido do teste Dunn. Os mesmo testes foram empregados nas mesmas diretrizes para as análises da proporção do maior período contínuo de permanência na agregação, para as considerações sobre o intervalo de tempo entre a percepção dos coespecíficos e o instante do início da maior estabilidade no setor A, e para aferir sobre o número de transições entre os setores da arena.

RESULTADOS

Dentre as três espécies observadas, *Benthana* apresentou todos os indivíduos encontrando os coespecíficos, mais de 70% finalizando os 15 minutos na agregação pré-formada (setor A) e frequência acima dos 80% permanecendo o maior tempo nela, tanto antes como depois da marcação (Figura 3).

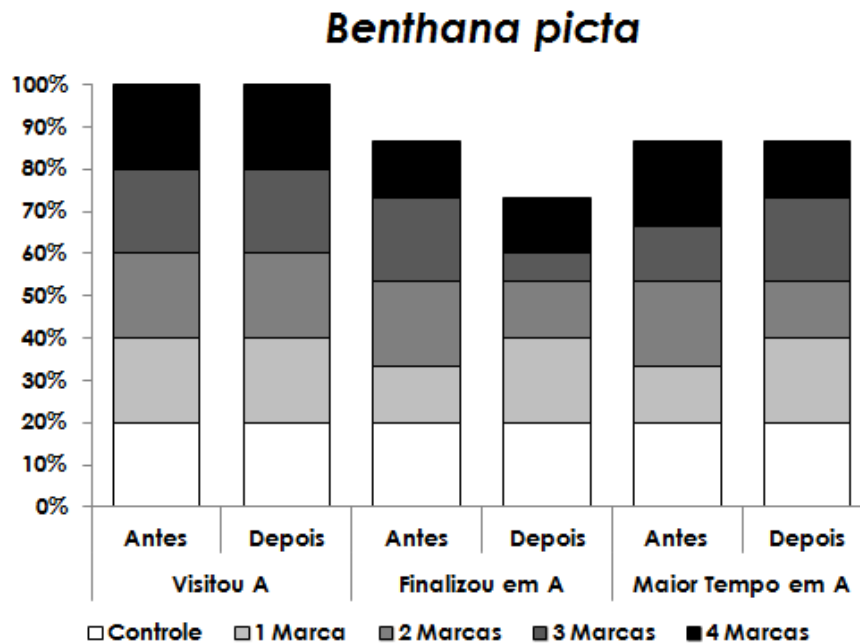


Figura 3. Frequência de espécimes de *Benthana picta* que foram capazes de identificar a agregação pré-formada, que permaneceram com os coespecíficos ao final dos 15 minutos de observação e que apresentaram maior tempo total de estabilidade no Setor A da arena, antes e depois do processo de marcação, por número de marcas que receberam na segunda rodada de filmagem.

Balloniscus atingiu 100% do número de espécimes que visitaram a agregação somente depois de serem marcados, visto que dois indivíduos não encontraram os coespecíficos na antes da marcação, enquanto que mais de 80% finalizou o tempo de observação na agregação e o número de indivíduos que permaneceram por mais tempo no setor A da arena se manteve o mesmo (Figura 4).

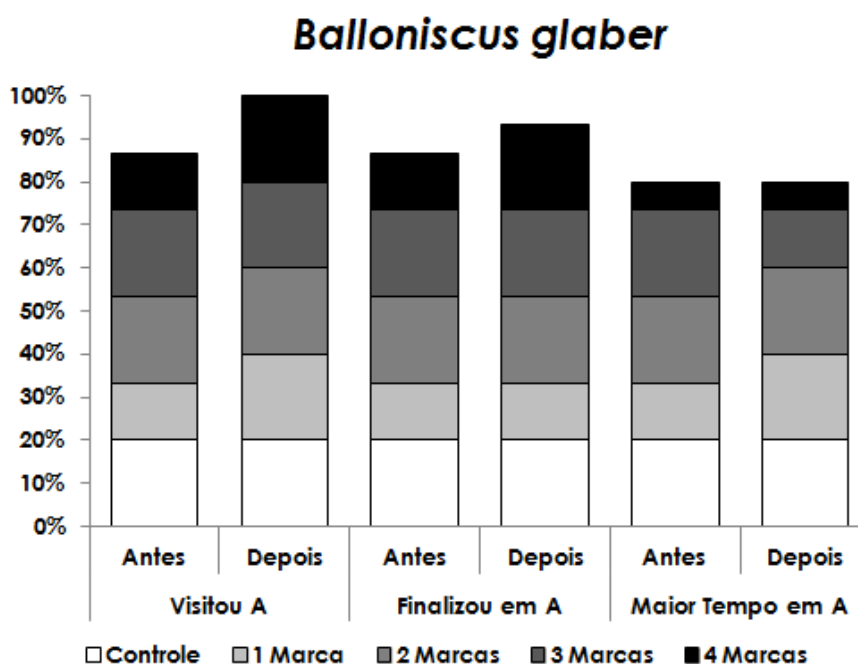


Figura 4. Frequência de espécimes de *Balloniscus glaber* que foram capazes de identificar a agregação pré-formada, que permaneceram com os coespecíficos ao final dos 15 minutos de observação e que apresentaram maior tempo total de estabilidade no Setor A da arena, antes e depois do processo de marcação, por número de marcas que receberam na segunda rodada de filmagem.

Mesmo com as menores frequências registradas entre as três espécies, *Armadillidium* demonstrou um aumento nos parâmetros analisados depois de os animais passarem pelo processo de marcação (Figura 5). Ainda para essa espécie, foram observados cinco animais que só se agregaram na segunda filmagem, um que somente encontrou os coespecíficos no primeiro vídeo e dois que não visitaram o setor A. Devido a esses casos especiais de *Balloniscus* e *Armadillidium*, o número total de espécimes considerados para as análises subsequentes relacionadas ao setor A sofreu alteração (*Balloniscus*: 13 antes; *Armadillidium*: 8 antes e 12 depois). Visitas únicas no setor A foram observadas para as três espécies, sendo sempre a frequência maior depois dos animais serem marcados (Figura 6).

Armadillidium vulgare

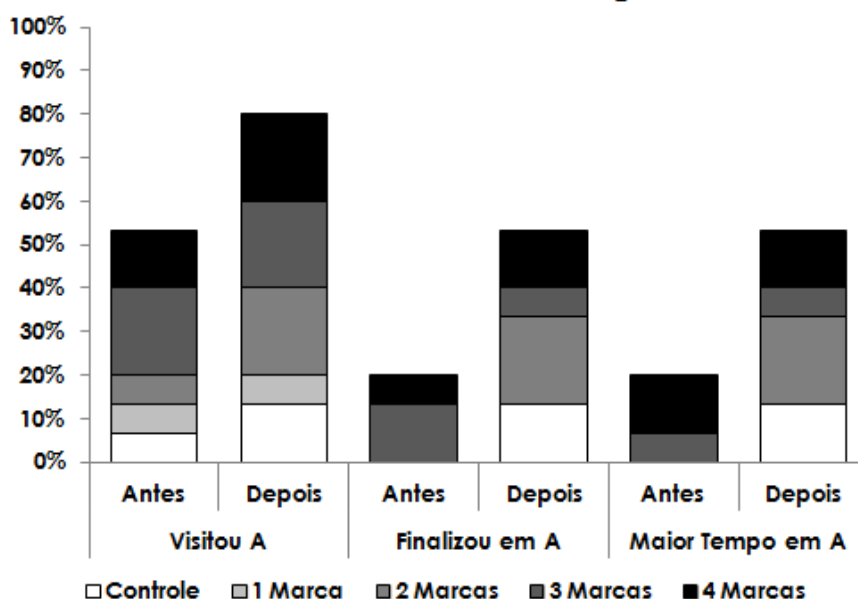


Figura 5. Frequência de espécimes de *Armadillidium vulgare* que foram capazes de identificar a agregação pré-formada, que permaneceram com os coespecíficos ao final dos 15 minutos de observação e que apresentaram maior tempo total de estabilidade no Setor A da arena, antes e depois do processo de marcação, por número de marcas que receberam na segunda rodada de filmagem.

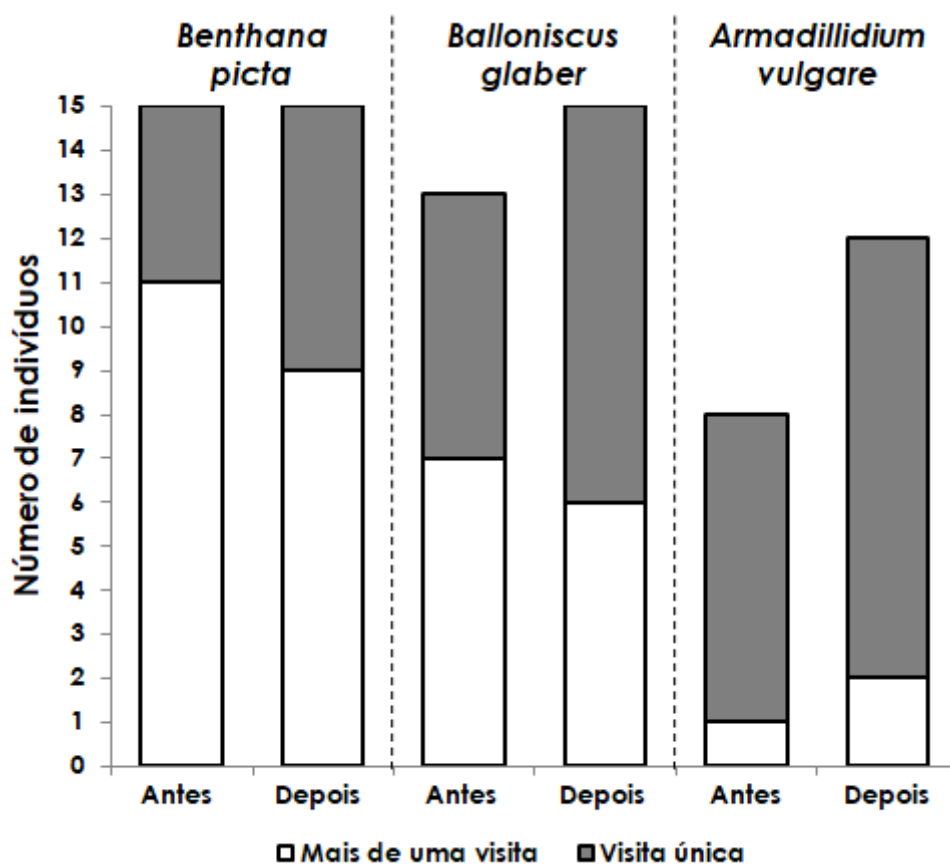


Figura 6. Número de indivíduos das três espécies de isópodos terrestres que se estabilizaram no local de agregação com uma única e com mais de uma visita, antes e depois do processo de marcação.

Para as três espécies, foi encontrada diferença estatística no tempo de permanência total entre os setores, antes e depois da marcação (Tabela 1 e Figuras 7, 8, 9). Em 15 minutos de observação, os espécimes de *Benthana* permaneceram mais tempo na região da agregação já formada, indiferente ao momento da análise. Antes do processo de marcação, *Balloniscus* demonstrou maior estabilidade no setor A, diferindo no total de tempo de permanência apenas das áreas intermediárias da arena (B, C e D). Na segunda rodada de filmagens essa espécie exibiu preferência pela área com coespecíficos. *Armadillidium*, em contraponto às outras duas espécies, permaneceu mais tempo na região mais distante da agregação (setor E) antes de ser marcado. Mesmo que depois da marcação com esmalte essa espécie tenha mostrado que permaneceu, em média, por mais tempo no local com coespecíficos, estatisticamente essa diferença não foi significativa pelo teste de Wilcoxon (Figura 9, Tabela 2).

Tabela 1. Valores dos testes de Kruskal-Wallis (H) e os respectivos valores de *p* gerados da comparação entre o tempo total de permanência nos distintos setores da arena nos momentos anterior e posterior ao processo de marcação dos animais.

Espécie	Momento	Kruskal-Wallis (H)	<i>p</i>
<i>Benthana picta</i>	Antes	34,883	<0,0001*
	Depois	31,531	<0,0001*
<i>Balloniscus glaber</i>	Antes	19,868	0,0005*
	Depois	36,191	0,0001*
<i>Armadillidium vulgare</i>	Antes	16,340	0,0026*
	Depois	14,709	0,0053*

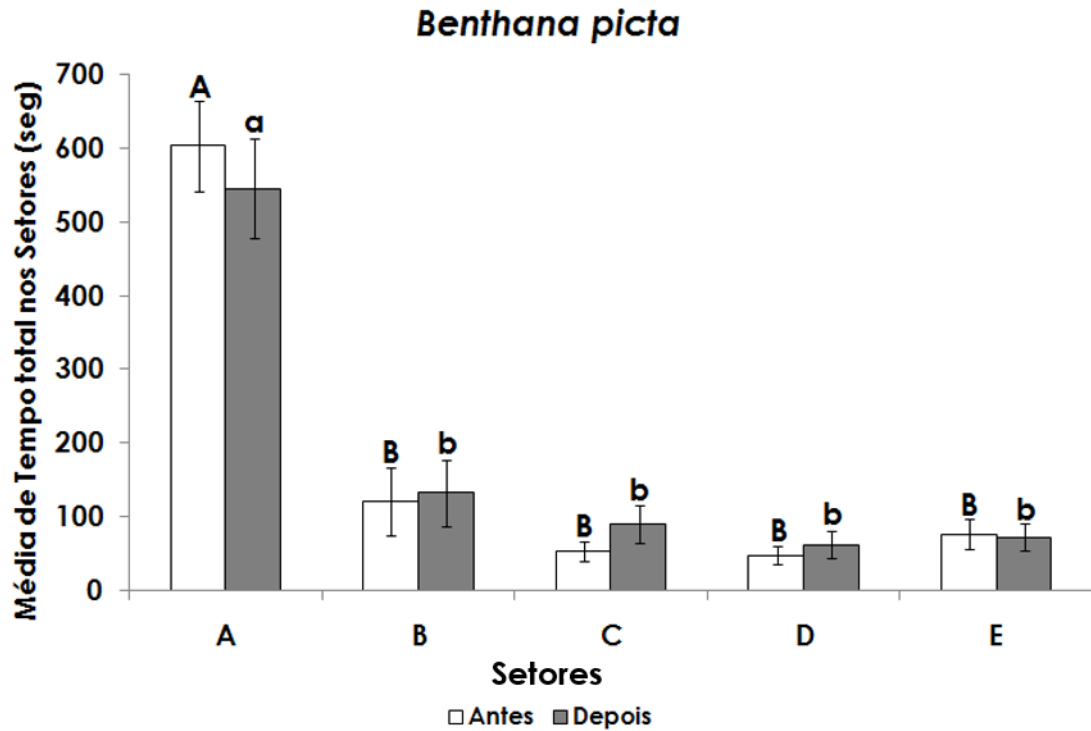


Figura 7. Média do tempo total de permanência em cada setor antes e depois do processo de marcação de *Benthana picta*. Letras distintas acima das colunas indicam diferença significativa entre os setores em cada momento de observação pelo teste Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn ($\alpha < 0,05$). Barras nas colunas indicam \pm um erro padrão.

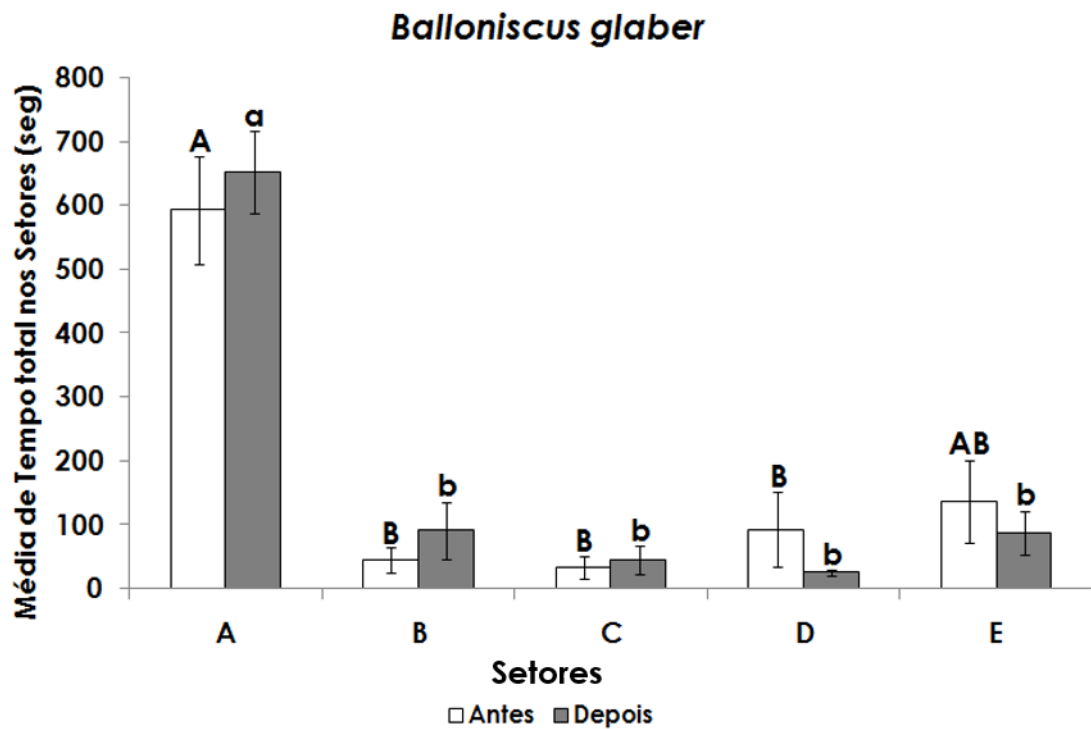


Figura 8. Média do tempo total de permanência em cada setor antes e depois do processo de marcação de *Balloniscus glaber*. Letras distintas acima das colunas indicam diferença significativa entre os setores em cada momento de observação pelo teste Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn ($\alpha < 0,05$). Barras nas colunas indicam \pm um erro padrão.

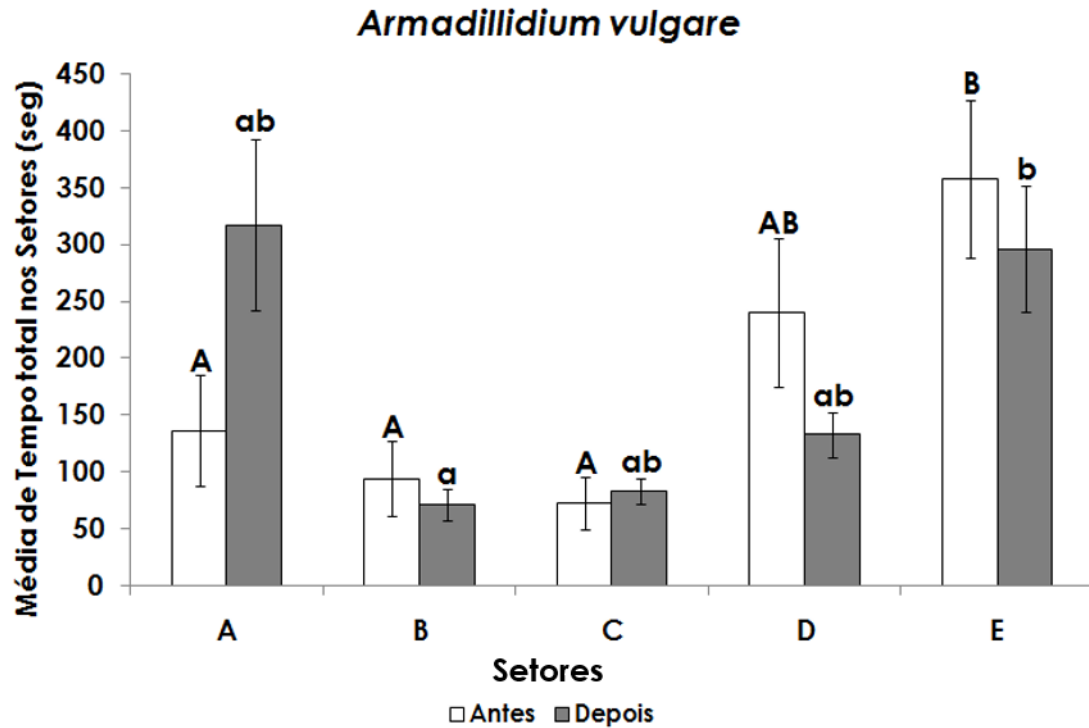


Figura 9. Média do tempo total de permanência em cada setor antes e depois do processo de marcação de *Armadillidium vulgare*. Letras distintas acima das colunas indicam diferença significativa entre os setores em cada momento de observação pelo teste Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn ($\alpha < 0,05$). Barras nas colunas indicam \pm um erro padrão.

Tabela 2. Valores dos testes de Wilcoxon (Z) e os respectivos valores de *p* gerados da comparação entre os momentos anterior e posterior ao processo de marcação dos animais por setor da arena de observação da agregação.

Espécie	Sector	Z	p
<i>Benthana picta</i>	A	0,568	0,570
	B	0,625	0,532
	C	0,616	0,496
	D	0,157	0,875
	E	0,682	0,496
<i>Balloniscus glaber</i>	A	0,426	0,670
	B	0,973	0,331
	C	0,795	0,427
	D	0,085	0,932
	E	0,142	0,887
<i>Armadillidium vulgare</i>	A	1,852	0,064
	B	0,251	0,802
	C	0,824	0,410
	D	1,448	0,148
	E	0,568	0,570

Na ANOVA de 2 fatores, considerando a interação da quantidade de marcas que os animais receberam na segunda rodada de filmagens e o tempo total de permanência no local da agregação já formada, não demonstrou diferença estatística para as três espécies entre os dois momentos de observação (Tabela 3). Porém, animais com uma e duas marcas de *Armadillidium* exibiram diferença significativa no momento posterior (Figura 10).

Tabela 3. Valores de F para ANOVA de 2 fatores e os respectivos valores de *p* gerados da comparação entre os momentos anterior e posterior ao processo de marcação dos animais, da quantidade de marcas e da interação das duas variáveis em relação ao tempo total de permanência no setor A da arena de observação da agregação. * Indica diferença estatística.

Espécie	Variáveis	F	p
<i>Benthana picta</i>	Momento (Antes x Depois)	0,098	0,982
	Número de Marcas	2,029	0,529
	Momento X Marcas	2,025	0,130
<i>Balloniscus glaber</i>	Momento (Antes x Depois)	1,960	0,140
	Número de Marcas	0,323	0,576
	Momento X Marcas	0,425	0,789
<i>Armadillidium vulgare</i>	Momento (Antes x Depois)	2,506	0,075
	Número de Marcas	5,977	0,024*
	Momento X Marcas	2,770	0,056

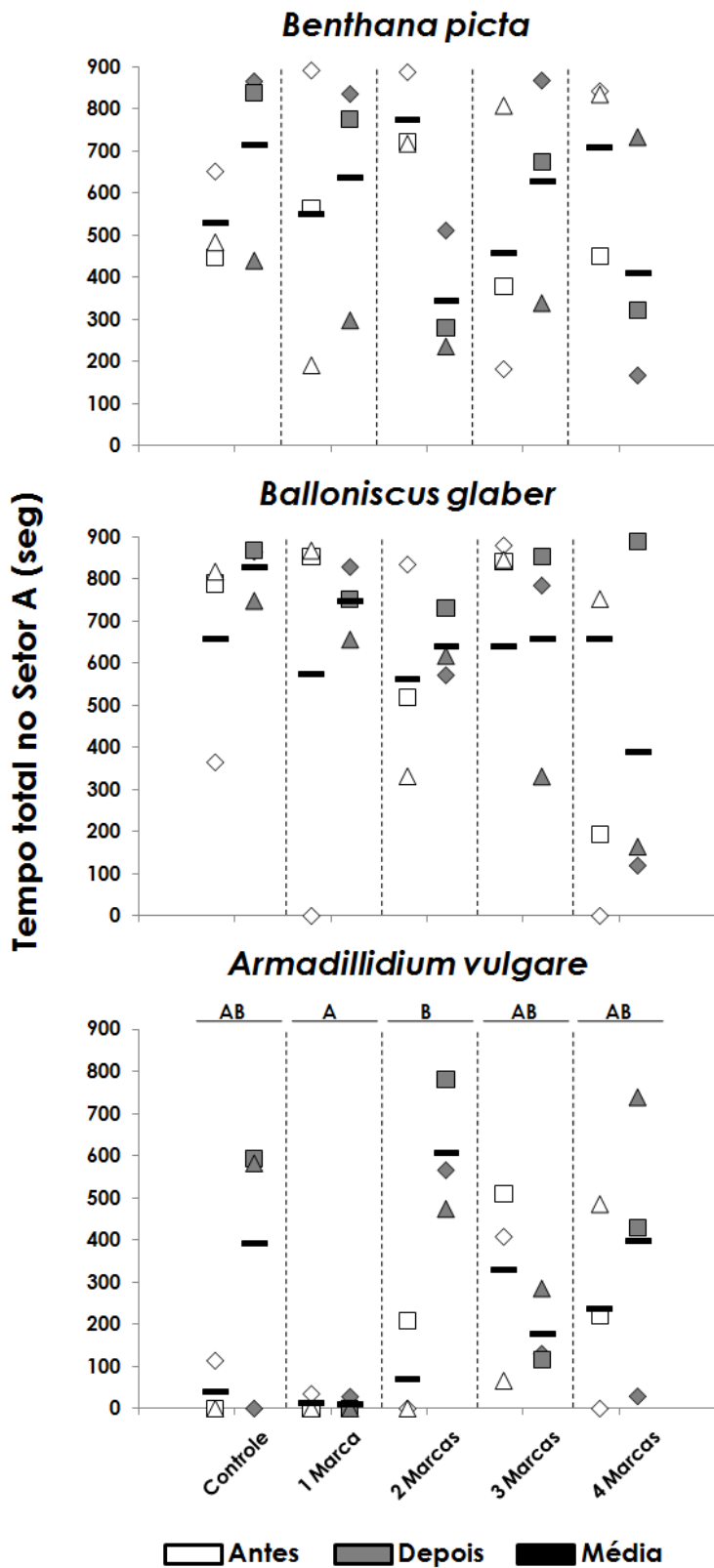


Figura 10. Tempo total de permanência do setor A (agregação pré-formada) antes e depois do processo de marcação das três espécies de isópodos terrestres. Letras distintas acima dos conjuntos de pontos indicam diferença significativa entre o número de marcas que os animais receberam na segunda rodada de observação pelo teste de ANOVA de 2 fatores seguido do teste de Tukey ($\alpha < 0,05$). Símbolos iguais em cada tratamento representam o mesmo indivíduo.

Considerando o maior tempo contínuo de estabilidade no setor A em relação ao tempo total de observação, nenhuma das espécies demonstrou diferença significativa entre os dois momentos analisados pelo teste de Wilcoxon ($\alpha < 0,05$): *Benthana*, $Z=0,1704$ e $p=0,865$; *Balloniscus*, $Z=0,1988$ e $p=0,842$; *Armadillidium* $Z=1,8043$ e $p=0,071$. *Balloniscus* foi a espécie que apresentou maior porcentagem de estabilidade na agregação (em ambos os momentos de observação), seguido de *Benthana* e *Armadillidium* (Kruskal-Wallis, $H=23,9923$ e $p=0,0002$) (Figura 11).

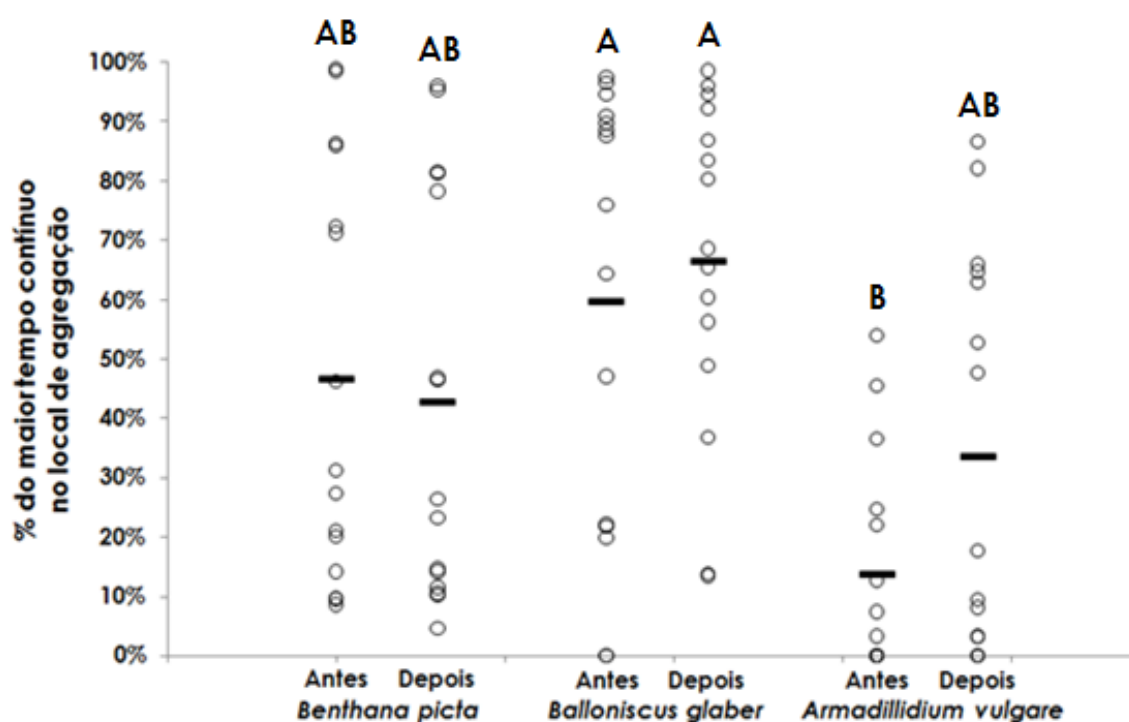


Figura 11. Porcentagem dos maiores períodos contínuos de permanência no setor A em relação ao tempo de 15 minutos de observação. Cada ponto representa um indivíduo de cada uma das três espécies de oniscídeos utilizados no experimento, antes e depois de passarem pelo processo de marcação com esmalte. Traços em destaque representam a média da amostra. Letras diferentes no topo de cada coluna de pontos indicam diferença estatística pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn ($\alpha < 0,05$).

A proporção do maior tempo contínuo e o tempo total no setor A entre os dois momentos de observação para cada espécie não foi significativa para os indivíduos que visitaram a agregação pré-formada (Wilcoxon, *Benthana*, $Z=0,034$ e $p=0,975$; *Balloniscus*, $Z=0,8664$ e $p=0,386$; *Armadillidium* $Z=0,2697$ e $p=0,787$). Porém, quando esse parâmetro é comparado entre as espécies foi possível evidenciar que esse dado é estatisticamente maior para *Armadillidium* quando

comparado à *Benthana* depois de serem marcados (Kruskal-Wallis, $H=18,7147$ e $p=0,002$) (Figura 12).

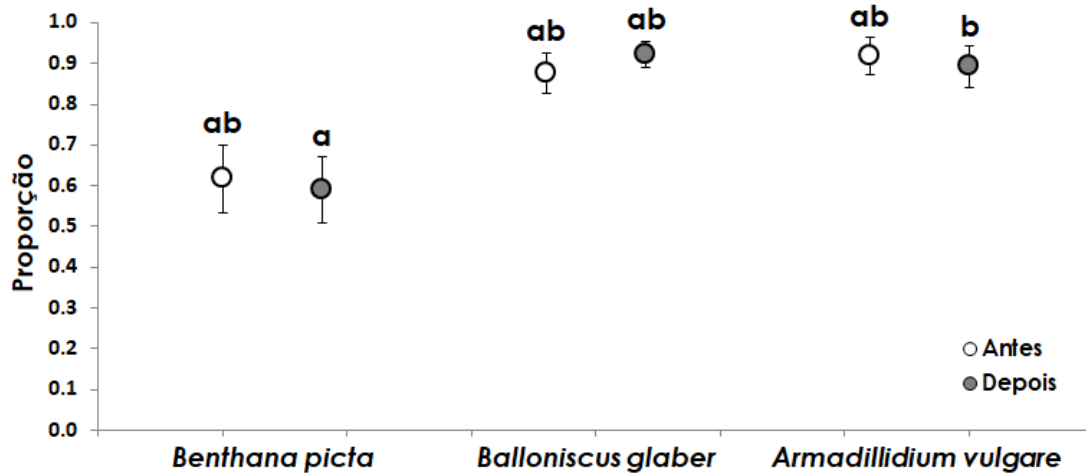


Figura 12. Média da proporção do maior tempo contínuo no setor A pelo tempo total de permanência no mesmo local, antes e depois de serem marcados, para cada espécie de oniscídeo observado. Barras indicam um erro padrão. Letras diferentes acima das barras mostram diferença significativa pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn ($\alpha < 0,05$).

Em relação ao tempo transcorrido entre a percepção da agregação e o início da maior estabilidade no mesmo local, nenhuma das três espécies apresentou diferença estatística entre os dois momentos de observação (Wilcoxon, *Benthana*, $Z=1,0832$ e $p=0,279$; *Balloniscus*, $Z=1,0703$ e $p=0,285$; *Armadillidium* $Z=0,4472$ e $p=0,655$) (Figura 13). Também não foi observada distinção nesse parâmetro entre as espécies (Kruskal-Wallis, $H=10,346$ e $p=0,066$). Dentre os animais que visitaram o setor A, *Benthana* e *Balloniscus* exibiram um menor tempo médio após o processo de marcação em relação ao momento anterior.

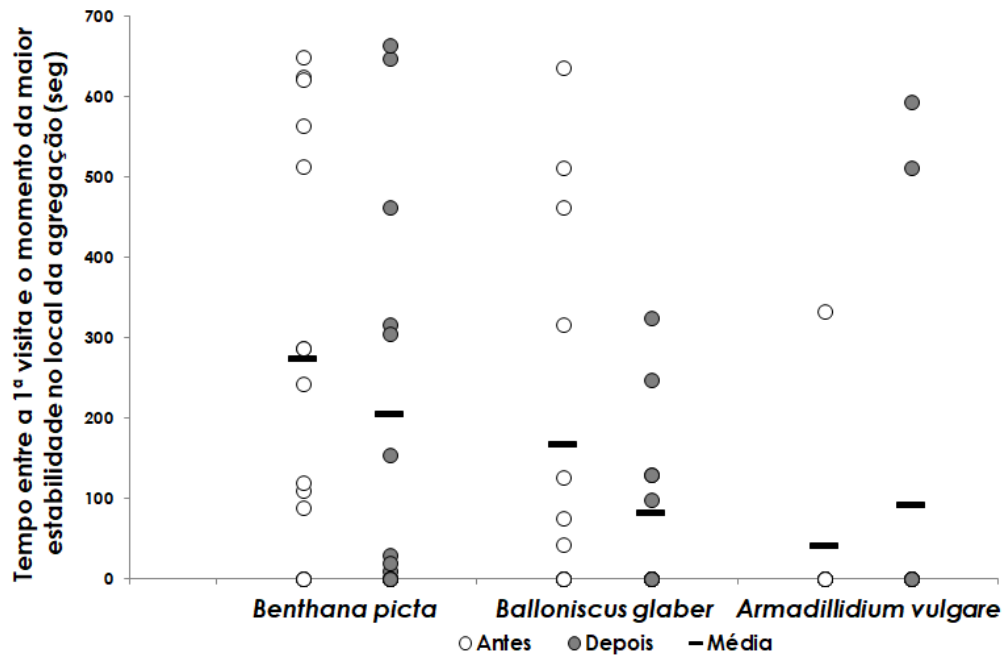


Figura 13. Tempo transcorrido entre a percepção da agregação pela primeira vez e o instante inicial do maior tempo de estabilidade dos animais na agregação pré-formada de cada espécime de cada uma das três espécies de isópodos terrestres nos dois momentos de observação.

A movimentação nas arenas não apresentou diferença significativa entre os dois momentos observados para as três espécies, evidenciada pelo teste de Wilcoxon: *Benthana*, $Z=1,5375$ e $p=0,124$; *Balloniscus*, $Z=0,142$ e $p=0,887$; *Armadillidium*, $Z=1,6423$ e $p=0,101$. Porém, quando o número de transições totais entre os setores das arenas foi comparado entre as espécies foi registrada uma maior mobilidade de *Benthana* em comparação a *Armadillidium* (Kruskal-Wallis, $H=31,6875$ e $p<0.0001$) (Figura 14).

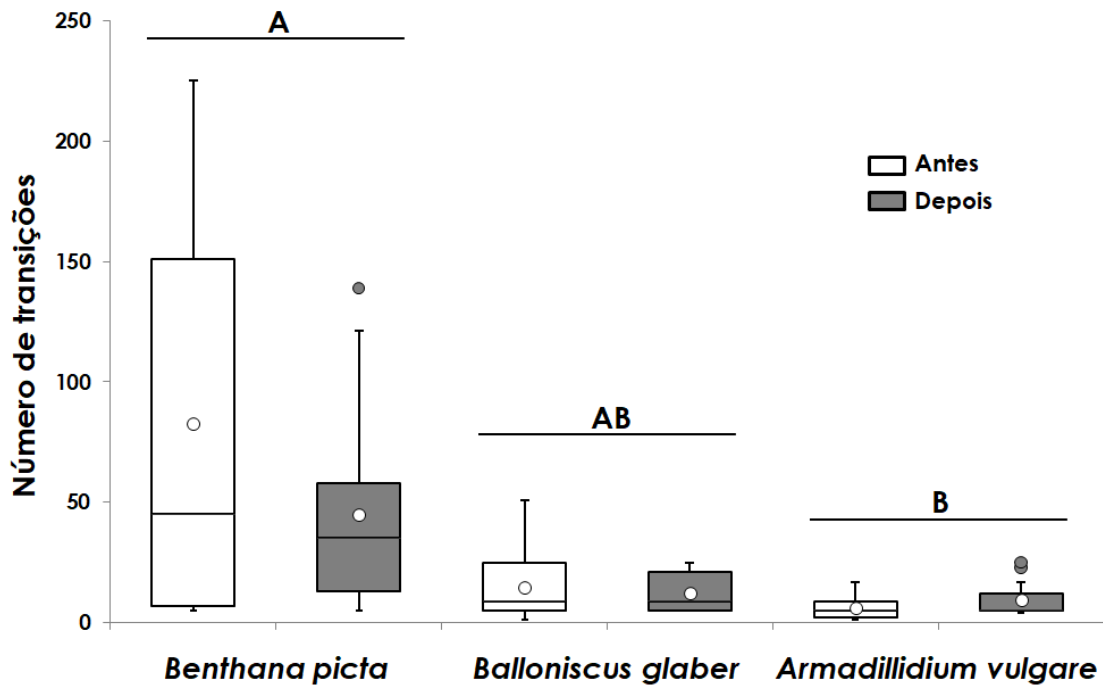


Figura 14. Box-Plot do número de transições entre os setores da arena de observação da agregação das três espécies de isópodos terrestres analisados, antes e depois do evento de marcação. Círculos vazados nas caixas representam a média da amostra, e os acima das barras em cinza indicam os *outliers*. Letras diferentes acima das duplas de caixas apontam diferença significativa pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn ($\alpha < 0,05$).

Quanto ao número total de passagens dos animais pelo setor da agregação e a quantidade de visitas até o maior tempo de estabilidade nessa região da arena, a ANOVA de 2 fatores apontou diferença significativa para *Armadillidium* na primeira situação e para *Balloniscus* na segunda (Tabela 4). Entretanto, o dado evidenciado para *Balloniscus* foi apenas no momento anterior ao processo de marcação, entre os animais que receberam duas marcas no segundo registro das filmagens, diferenciando-os dos que receberam uma e quatro marcas. Por esse motivo, o único resultado de divergência estatística significativa que foi considerado foi o de *Armadillidium*, uma vez que esse fato ocorreu no momento posterior à marcação dos animais, no qual foi demonstrado que os isópodos que receberam três marcas frequentaram mais vezes o setor A do que os demais da mesma espécie (Figura 15).

Tabela 4. Valores de F para ANOVA de 2 fatores e os respectivos valores de *p* gerados da comparação entre os momentos anterior e posterior ao processo de marcação dos animais, da quantidade de marcas e da interação das duas variáveis em relação ao número de visitas total e número de visitas até o maior tempo de estabilidade no setor A da arena de observação para as três espécies de oniscídeos. * Indica diferença estatística.

Espécie	Variáveis	Número total de visitas		Número de visitas até o maior tempo de estabilidade	
		F	p	F	p
<i>Benthana picta</i>	Momento (Antes x Depois)	0,144	0,964	0,225	0,921
	Número de Marcas	3,392	0,080	3,910	0,062
	Momento X Marcas	0,657	0,629	0,659	0,628
<i>Balloniscus galber</i>	Momento (Antes x Depois)	2,153	0,112	3,927	0,016*
	Número de Marcas	0,014	0,907	0,455	0,508
	Momento X Marcas	1,194	0,344	0,909	0,478
<i>Armadillidium vulgare</i>	Momento (Antes x Depois)	5,375	0,004*	2,583	0,068
	Número de Marcas	3,063	0,095	3,000	0,099
	Momento X Marcas	1,500	0,240	0,917	0,474

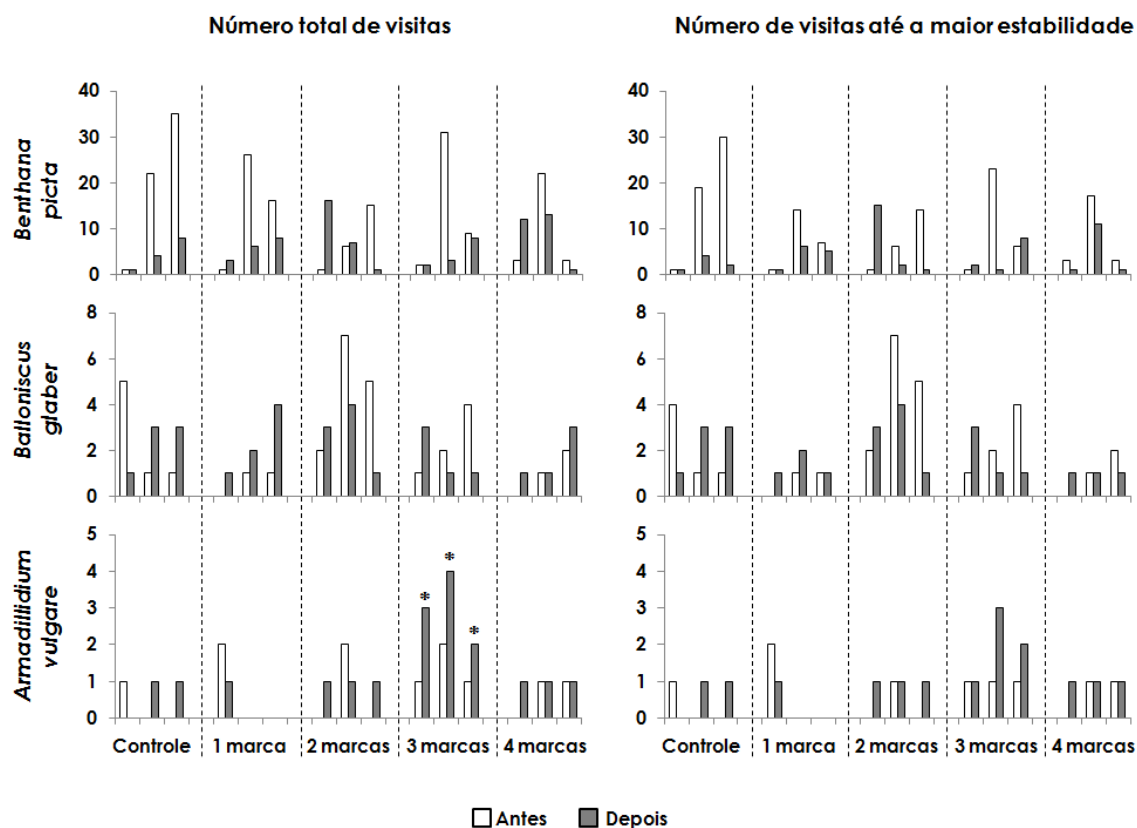


Figura 15. Número de visitas total e número de visitas até a maior estabilidade no setor A da arena das três espécies de isópodos terrestres, antes e depois do evento de marcação com esmalte de unha e por número de marcas recebidas. *Indica diferença estatística pela ANOVA de 2-fatores, seguida do teste de Tukey ($\alpha < 0,05$).

DISCUSSÃO

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, foi possível perceber que o evento de agregação ocorreu independentemente de os indivíduos terem passado pelo processo de marcação com esmalte de unha. Levando em consideração as características de movimentação das espécies de oniscídeos testadas, cada uma apresentou o comportamento predito para os grupos ecomorfológicos aos quais pertencem.

Benthana foi a espécie que mais transitou entre os setores da arena, tanto antes como depois da marcação com esmalte de unha. Em decorrência de possuir pereópodos longos, corpo alongado e cutícula leve, típico das espécies *corredoras* (Schmalfuss 1984; Paoletti & Hassall 1999; Vittori et al. 2016), os indivíduos desse grupo se movimentaram rapidamente pela placa de Petri e, por consequência, os dados referentes à proporção do tempo de maior estabilidade na agregação em relação ao tempo total de permanência na mesma área foi o menor entre as espécies.

Traçando-se um paralelo do comportamento gregário com a habilidade de encontrar e permanecer em abrigos estáveis, Hassall & Tuck (2007) observaram dentre quatro espécies de isópodos terrestres que o representante *corredor* utilizado no estudo, *Philoscia muscorum* (Scopoli, 1763) (Philosciidae), se abrigou em menor frequência do que os outros grupos. Os autores ressaltaram que as características ecomorfológicas refletem também as estratégias antipredatórias e de prevenção de instabilidade fisiológica, e atribuíram os resultados obtidos pela preferência de *P. muscorum* em correr e se dispersar rapidamente a possivelmente ter detectado indícios de perturbação, ao invés de permanecerem nos abrigos. No presente estudo, o registro do maior número de passagens pelo setor A para *Benthana* confirma o dado apresentado em relação aos maiores tempos médios entre o momento do primeiro contato com os coespecíficos e o instante de início de maior duração de tempo na agregação (em torno de 4.5 minutos antes e 3.4 minutos depois da marcação). Visto que as três espécies utilizadas neste trabalho foram testadas sob as mesmas condições da sala de cultivo, o perfil exibido por *Benthana* seguiu o que é descrito para *corredores* na literatura (Dias et al. 2012; Khemaissia et al. 2018; Leclercq-Dransart et al. 2019)

Balloniscus apresentou maior estabilidade em relação ao comportamento de agregação. Fato semelhante foi observado para *Porcellio scaber* Latreille, 1804, (Porcellionidae) também *aderente*, em que a espécie exibiu um maior índice de ocupação de abrigo (*SI: Sheltering Index*) em comparação com outros grupos distintos (Hassal & Tuck 2007). Os autores relacionaram o registro pela alta probabilidade de agregação que esta espécie apresenta. No presente trabalho, dentre os animais que reconheceram os coespecíficos na arena, *Balloniscus* foi quem exibiu respostas de forma mais rápida se associando ao agrupamento já formado. Tendo em vista o perfil dos indivíduos pertencentes ao grupo ecomorfológico dos *aderentes*, com seu corpo mais robusto e achatado dorso-ventralmente, estes isópodos tem o hábito de se aderirem ao substrato e permanecerem imóveis ao menor sinal de perturbação (Schmalzfuss 1984; Paoletti & Hassall 1999; Hornung 2011). Considerando o processo de marcação e aclimatação entre as filmagens, é possível que diante das primeiras evidências de indivíduos da mesma espécie nas arenas tenham contribuído para a estabilidade mais “imediate” de *Balloniscus*, observada pelas maiores porcentagens de permanência contínua no setor A em

relação ao tempo total de observação (antes: 59,7%, depois: 66,4%) e ao tempo total no mesmo local após a marcação (92,3%). Outros estudos relatam a maior sensibilidade de *aderentes* frente a variações de diversos parâmetros, como em análises ecotoxicológicas (Niemeyer et al. 2018), estruturas da cutícula do corpo (Wood et al. 2017), mudanças microclimáticas (Dias et al. 2012) e níveis de terrestrialização de oniscídeos (Broly et al. 2013), correlacionando ao comportamento-resposta na forma de estabilidade junto a coespecíficos.

Armadillidium exibiu os resultados mais variáveis sobre o comportamento gregário. Nem todos os indivíduos encontraram os coespecíficos nas arenas, e esse ocorrido aparentemente não tem relação com a marcação dos animais, pois a maior frequência para esse parâmetro se deu antes de tal evento. O que é descrito para os *volvacionais* na literatura diz respeito à maior espessura da cutícula em comparação aos grupos anteriores, conferindo maior robustez aos tergitos e a proteção contra os predadores através da habilidade volvocional, sendo mais viável tomar a forma esférica encobrendo sua parte ventral delicada do que optar pela fuga em alta velocidade (Schmalfuss 1984, 1998; Paoletti & Hassall 1999). Essas características podem justificar o menor número de transições entre os setores da arena (antes e depois), a maior permanência no setor E (mais afastado da agregação), bem como o menor número de visitas no setor A. Como observado em outros estudos, *Armadillidium*, representando a espécie com maior resistência fisiológica à dessecação dentre outros isópodos terrestres testados, sob as mesmas condições ambientais experimentais, foi o que menos se agregou (Caubet et al. 2008, Broly et al. 2013). Além disso, no presente estudo, dentre os espécimes que se estabilizaram na agregação, o tempo entre a primeira visita e o maior tempo de estabilidade de *Armadillidium* se equipara ao de *Balloniscus*, pois quase todos os indivíduos não saíram do setor A após detectarem a presença de coespecíficos (ou seja, tempo contabilizado para essa variável foi igual a “0” segundos).

Tomando como base que o evento de agregação em isópodos terrestres envolve o equilíbrio entre a preferência individual e o consenso em grupo (Devigne et al. 2011, Broly et al. 2012), bem como quanto mais indivíduos aderidos a um conjunto já formado tem maior probabilidade de atrair mais animais para compor essa agregação (Broly et al. 2014), o experimento apresentado no presente trabalho

mostrou que os animais incorporaram, em sua grande maioria, ao grupo de coespecíficos já agregados e associados ao algodão umedecido, tanto antes como depois do processo de marcação (Hipótese I). Tal comportamento foi semelhante ao que Devigne et al. (2011) e Broly et al. (2012) registraram para *P. scaber*, porém utilizando abrigos e observando a seleção através do posicionamento e da quantidade de indivíduos nas arenas. A escolha entre dois abrigos idênticos se deu ao acaso e em aproximadamente três minutos após o início do experimento (sendo ocupado por mais de 50% dos animais da arena em menos de 10 minutos), e gradualmente aumentou a frequência de isópodos no abrigo escolhido até o momento final de observação (45 minutos) (Devigne et al. 2011; Broly et al. 2012). Fato similar ocorreu para as três espécies utilizadas no presente experimento, evidenciado pelo maior tempo total médio de permanência dos oniscídeos no setor A (em ambos os momentos de observação para *Benthana* e *Balloniscus*, e após a marcação para *Armadillidium*, porém sem diferença estatística) e de finalização no mesmo local ao final do período de 15 minutos de observação.

Em relação à quantidade de marcas (Hipótese II), poucos são os trabalhos de avaliação de diferenças comportamentais entre os indivíduos que passaram por número distinto de eventos de marcação, e também sem a avaliação prévia do mesmo animal que foi submetido a esse processo (Drahokoupilová & Tuf 2011, 2012; De Souza et al. 2012; Tuf et al. 2013). Pardo et al. (1996), observaram que o excesso de pó fluorescente na marcação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera, Psychodidae) resultou em maior mortalidade e causou reflexos negativos na mobilidade dos indivíduos. No presente estudo, porém, a disparidade de dados apresentada apenas por *Armadillidium* somente em dois dos diversos parâmetros analisados em decorrência do evento de marcação infere que tal processo não tem efeitos inibitórios sobre o hábito gregário de isópodos terrestres, pois ocorreu em animais com quantidades intermediárias de marcas. Este fato é corroborado pela falta de um padrão de diferença gradual em relação ao número de marcações, visto que indivíduos com uma e duas marcas diferiram no tempo total médio de agregação (menor e maior variação, respectivamente) e os animais com três marcas exibiram maior número de visitas no setor A em relação aos outros tratamentos. No estudo prévio com os mesmos oniscídeos, os resultados não demonstraram influência negativa da quantidade de marcas com esmalte no

comportamento alimentar das três espécies, bem como não foi observada relação com a taxa de mortalidade dos animais (Kenne et al. 2019). Evidências sobre esse parâmetro também foram descritas em um estudo com vespas, no qual os autores inferiram que até quatro marcas em um único indivíduo de *Polistes versicolor* (Olivier, 1791) (Hymenoptera: Vespidae) é viável sem afetar o seu comportamento (De Souza et al. 2012). Nenhuma espécie no presente trabalho exibiu alteração de comportamento de agregação a curto prazo dos animais com quatro marcas (maior número), o que pode ser interpretado como número de recapturas seguidas que os isópodos podem suportar em experimentos de campo com marcação-recaptura.

De modo geral, com base nos dados referentes à frequência de indivíduos que perceberam os coespecíficos, aos que finalizaram o período de observação na agregação e aos que apresentaram o maior tempo total de estabilidade no setor A, os resultados do presente trabalho contribuíram de forma significativa às informações já levantadas sobre o tema no estudo anterior (Kenne et al. 2019), indicando que a marcação com esmalte de unha potencialmente não gera efeito negativo no processo de reconhecimento, aderência e estabilidade dos isópodos terrestres a uma agregação já formada por coespecíficos. A técnica se mantém útil para possíveis estudos em campo, sem comprometer o comportamento gregário dos tatuzinhos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudos ao DCK, PBA e GLGS, ao Instituto de Biociências da UFRGS pela assistência, aos colegas do Laboratório de Carcinologia e do Laboratório de Evolução, Ecologia Química e Quimiotaxonomia (Leeqtax) pela ajuda na realização dos experimentos, ao Augusto F. Huber pela digitalização dos desenhos de *Benthana* e à secretaria do Parque Henrique Luiz Roesler pela permissão de coleta de isópodos terrestres na área do parque.

REFERÊNCIAS

Ben Jacob, E; Becker, I; Shapira, Y & Levine, H. 2004. Bacterial linguistic communication and social intelligence. *Trends in Microbiology*, 12: 366–372.

- Benoit, JB; Yoder, JA; Rellinger, EJ; Ark, JT & Keeney, GD. 2005. Prolonged maintenance of water balance by adult females of the American spider beetle, *Mezium affine* Boieldieu, in the absence of food and water resources. *Journal of Insect Physiology*, 51: 565–573.
- Boelter, JF; Quadros, AF & Araujo, PB. 2009. The feeding rates and preferences of a Neotropical terrestrial isopod (Oniscidea). *Nauplius*, 17: 107–113.
- Bonner, SJ; Morgan, BJT & King, R. 2010. Continuous covariates in mark-recapture-recovery analysis: a comparison of methods. *Biometrics*, 66: 1256–1265.
- Brockett, BFT & Hassall, M. 2005. The existence of Allee Effect in population of *Porcellio scaber* (Isopoda: Oniscidea). *European Journal of Soil Biology*, 41: 123–127.
- Broly, P; Deneubourg, J-L & Devigne, C. 2013. Benefits of aggregation in woodlice: a factor in the terrestrialization process? *Insectes Sociaux*, 60: 419–435.
- Broly, P; Devigne, C & Deneubourg, J-L. 2015. Body shape in terrestrial isopods: A morphological mechanism to resist desiccation? *Journal of Morphology*, 276: 1283–1289.
- Broly, P; Devigne, L; Deneubourg, J-L & Devigne, C. 2014. Effects of group size on aggregation against desiccation in woodlice (Isopoda: Oniscidea). *Physiological Entomology*, 39: 165–171.
- Broly, P; Mullier, R; Deneubourg, J-L & Devigne, C. 2012. Aggregation in woodlice: Social interaction and density effects. *ZooKeys*, 176: 133–144.
- Butler, SR; Jurzenski, J & Hoback, WW. 2012. Evaluation of marking techniques, mark retention, and mortality due to marking of burying beetles (Coleoptera: Silphidae). *The Coleopterists Bulletin*, 66(2): 149–154.
- Caubet, Y; O'Farrell, G & Lefebvre, F. 2008. Geographical variability of aggregation in terrestrial isopods: What is the actual significance of such behaviour? *In: Proc. Int. Symp. Terr. Isopod Biol.: ISTIB-07* (Zimmer M., Charfi-Cheikhrouha F. and Taiti S., Eds), *Shaker Verlag, Aachen*, pp 137-148.
- Collett, RA & Fisher, DO. 2017. Time-lapse camera trapping as an alternative to pitfall trapping for estimating activity of leaf litter arthropods. *Ecology and Evolution*, 18: 7527–7533.
- Dall, SRX; Giraldeau, LA; Olsson, O; McNamara, JM & Stephens, DW. 2005. Information and its use by animals in evolutionary ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 20: 187–193.
- Deneubourg, J; Lioni, A & Detrain, C. 2002. Dynamics of aggregation and emergence of cooperation. *Biological Bulletin*, 202: 262–267.
- Dennhardt, AJ; Duerr, AE; Brandes, D & Katzner, TE. 2017. Applying citizen-science data and mark-recapture models to estimate numbers of migrant Golden Eagles in an Important Bird Area in eastern North America. *American Ornithological Society*, 119(4): 817–831.
- De Souza, AR; Ribeiro, B; José, N & Prezoto, F. 2012. Paint marking social wasps: An evaluation of behavioral effects and toxicity. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 144: 244–247.
- Devigne, C; Broly, P & Deneubourg, J-L. 2011. Individual preferences and social interactions determine the aggregation of woodlice. *PLoS ONE*, 6(2): e17389.
- Dias, N; Hassall, M & Waite, T. 2012. The influence of microclimate on foraging and sheltering behaviours of terrestrial isopods: Implications for soil carbon dynamics under climate change. *Pedobiologia*, 55: 137–144.

- Drahokoupilová, T & Tuf, IH. 2011. Behaviour of pill millipedes can be affected by external marking. *International Journal of Myriapodology*, 6: 51–60.
- Drahokoupilová, T & Tuf, IH. 2012. The effect of external marking on the behaviour of the common pill woodlouse *Armadillidium vulgare*. *Zookeys*, 176: 145–154.
- Drew, MM; Hartnoll, RG & Hansson BS. 2012. An improved mark-recapture method using passive integrated transponder (pit) tags in *Birgus latro* (linnaeus, 1767) (Decapoda, Anomura). *Crustaceana*, 85(1): 89–102.
- Giraldeau, LA & Caraco, T. 2000. Social Foraging Theory. *Princeton University Press*, Princeton.
- Godet, J-P; Demuynck, S; Waterlot, C; Lemièrre, S; Souty-Grosset, C; Scheifler, R; Douat, F; Leprêtre, A & Pruvot, C. 2011. Growth and metal accumulation in *Porcellio scaber* exposed to poplar litter from Cd-, Pb-, and Zn-contaminated sites. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(3): 451–458.
- Greenaway, P & Warburg, MR. 1998. Water fluxes in terrestrial isopods. *Israel Journal of Zoology*, 44: 473–486.
- Hadley, NF & Quinlan, MC. 1984. Cuticular transpiration in the isopod *Porcellio laevis*: chemical and morphological factors involved in its control. *Symposia of the Zoological Society of London*, 53: 97–107.
- Hagler, JR & Jackson, CG. 2001. Methods for Marking Insects: Current techniques and future prospects. *Annual Review of Entomology*, 46: 511–543.
- Hassall, M; Tuck, JM & James, R. 2005. Effects of density and spatial heterogeneity on foraging behaviour and fitness correlates of *Armadillidium vulgare* (Isopoda Oniscidea). *Ethology Ecology & Evolution*, 17: 233–247.
- Hassall, M & Tuck, JM. 2007. Sheltering behavior of terrestrial isopods in grasslands. *Invertebrate Biology*, 126: 46–56.
- Hornung, E. 2011. Evolutionary adaptation of oniscidean isopods to terrestrial life: Structure, physiology and behavior. *Terrestrial Arthropod Reviews*, 4: 95–130.
- Janks, MR & Barker, NP. 2013. Using mark-recapture to provide population census data for use in Red Listing of invertebrates: The rare terrestrial snail *Prestonella bowkeri* as a case study. *Biodiversity and Conservation*, 22: 1609–1621.
- Karanth, KU. 1995. Estimating tiger *Panthera tigris* populations from camera-trap data using capture recapture models. *Biological Conservation*, 71: 333–338.
- Kenne, DC; Araujo PB & Soares GLG. 2019. External marking of terrestrial isopods (Isopoda, Oniscidea): efficiency of materials and influence on feeding behavior. *Nauplius*, 27: e2019018.
- Khemaissia, H; Raimond, M; Ayari, A; Jelassi, R; Souty-Grosset, C & Nasri-Ammar, K. 2018. Cuticular differences of the exoskeleton relative to habitat preferences among three terrestrial isopods. *Biologia*, 73: 447–483.
- Krause, J & Ruxton, GD. 2002. Living in groups. *Oxford University Press*, Oxford.
- Leclercq-Dransart, J; Pernin, C; Demuynck, S; Grumiaux, F; Lemièrre, S & Leprêtre, A. 2019. Isopod physiological and behavioral responses to wet and drier conditions: an experimental study with four species in the context of global warming. *European Journal of Soil Biology*, 90: 22–30.
- Leclercq-Dransart, J; Pernin, C; Demuynck, S; Grumiaux, F; Lemièrre, S & Leprêtre, A. 2019. Isopod physiological and behavioral responses to wet and drier

- conditions: an experimental study with four species in the context of global warming. *European Journal of Soil Biology*, 90: 22–30.
- Lefebvre, F; Limousin, M & Caubet, Y. 2000. Sexual dimorphism in the antennae of terrestrial isopods: a result of male contests or scramble competition? *Canadian Journal of Zoology*, 78: 1987–1993.
- Lordan, J; Alegre, S; Blanco, R; Sarasúa, MJ & Alins, G. 2014. Aggregation behavior in the European earwig: response to impregnated shelters. *Crop Protection*. 65:71–76.
- Loureiro, S; Sampaio, A; Brandão, A; Nogueira, AJA & Soares, A. 2006. Feeding behaviour of the terrestrial isopod *Porcellionides pruinosus* Brandt, 1833 (Crustacea, Isopoda) in response to changes in food quality and contamination. *Science of The Total Environment*, 369: 119–128.
- Loureiro, S; Soares, AMVM & Nogueira, AJA. 2005. Terrestrial avoidance behaviour tests as screening tool to assess soil contamination. *Environmental Pollution*, 138(1): 121–131.
- MacKinnon, W; Eveleigh, E; Silk, P & Forbes, G. 2016. Labeling feral spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) populations with rubidium. *Environmental Entomology*, 45(2): 427–435.
- Mattioli, F & Walsh, GC. 2008. Performance of marking techniques in the field and laboratory for *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Applied Entomology*, 132: 382–386.
- Moller, AP & Birkhead, AP. 1993. Cuckoldry and sociality: a comparative study of birds. *American Naturalist*, 142: 118–140.
- Nazni, WA; Luke, H; Wan Rozita, WM; Abdullah, AG; Sa'diyah, I; Azahari, AH; Zamree, I; Tan, SB; Lee, HL & Sofian, MA. 2005. Determination of the flight range and dispersal of the house fly, *Musca domestica* (L.) using mark release recapture technique. *Tropical Biomedicine*, 22: 53–61.
- Niemeyer, JC; Carniel, LSC; Pech, TM; Crescencio, LP & Klauberg-Filho, O. 2018. Boric acid as a reference substance in avoidance behaviour tests with *Porcellio dilatatus* (Crustacea: Isopoda). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 161: 392–396.
- Paoletti, MG & Hassall, M. 1999. Woodlice (Isopoda: Oniscidea): their potential for assessing sustainability and use as bioindicators. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 74: 157–165.
- Pardo, RH; Torres, M; Morrison, AC & Ferro, C. 1996. Effect of fluorescent powder on *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) and a simple device for marking sand flies. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 12: 235–242.
- Parrish, JK & Edelman-Keshet L. 1999a. Complexity, pattern, and evolutionary trade-offs in animal aggregation. *Science*, 284: 99–101.
- Perry, KI; Wallin, KF; Wenzel, JW & Herms DA. 2017. Characterizing movement of ground-dwelling arthropods with a novel mark-capture method using fluorescent powder. *Journal of Insect Behavior*, 30: 32–47.
- Petit, S; Waudby, HP; Walker, AT; Zanker, R & Rau, G. 2012. A non-mutilating method for marking small wild mammals and reptiles. *Australian Journal of Zoology*, 60: 64–71.
- Quadros, AF & Araujo, PB. 2008. An assemblage of terrestrial isopods (Crustacea) in southern Brazil and their contribution to leaf litter processing. *Revista brasileira de Zoologia*, 25: 58–66.

- Rees, SG; Goodenough, AE; Hart, AG & Stafford, R. 2011. Testing the effectiveness of capture mark recapture population estimation techniques using a computer simulation with known population size. *Ecological Modelling*, 222: 3291–3294.
- Rojas, JM; Castillo, SB; Folguera, G; Abades, S & Bozinovic, F. 2014. Coping with daily thermal variability: Behavioural performance of an ectotherm model in a warming world. *PLoS ONE*, 9(9): 1–9.
- Rolandsen, CM; Solberg, EJ; Sæther, B-E; Moorter, BV; Herfindal, I & Bjørneraas, K. 2017. On fitness and partial migration in a large herbivore–migratory moose have higher reproductive performance than residents. *Oikos*, 126: 547–555.
- Salma, U & Thomson, M. 2016. Gregarious aggregative behavior in the marine isopod *Cirolana harfordi*. *Invertebrate Biology*, 135(3): 225–234.
- Schmalzfuss, H. 1984. Eco-morphological strategies in terrestrial isopods. In: Sutton, SL & Holdich, DM (Eds.), *The Biology of Terrestrial Isopods. The Zoological Society of London. Clarendon Press, Oxford*, pp. 49–63.
- Schmalzfuss, H. 1998. Evolutionary strategies of the antennae in terrestrial isopods. *Journal of Crustacean Biology*, 18: 10–24.
- Schoombie, RE; Boardman, L; Groenewald, B; Glazier, DS; van Daalen, CE; Clusella-Trullas, S & Terblanche, JS. 2013. High metabolic and water-loss rates in caterpillar aggregations: evidence against the resource-conservation hypothesis. *Journal of Experimental Biology*, 216, 4321–4325.
- Sempo, G; Canonge, S; Detrain, C & Deneubourg, J-L. 2009. Complex dynamics based on a quorum: decision-making process by cockroaches in a patchy environment. *Ethology*, 115(12): 1150–1161.
- Sempo, G.; Depickère, S. & Detrain, C. 2006. Spatial organization in a dimorphic ant: caste specificity of clustering patterns and area marking. *Behavioral Ecology*, 17: 642–650.
- Siljander, E; Gries, R; Khaskin, G & Gries, G. 2008. Identification of the airborne aggregation pheromone of the common bed bug, *Cimex lectularius*. *Journal of Chemical Ecology*, 34: 708–718.
- Silvy, NJ; Lopez, RR & Peterson, MJ. 2012. Techniques for marking wildlife. *The Wildlife Techniques Manual Volume 1: Chapter 9*, 230–257.
- Still, MB; Miles, LS; Gburek, TM & Johnson, JC. 2014. Adverse effects of fluorescent dust marking on the behavior of western black widow spiderlings. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 150: 28–31.
- Takeda, N. 1984. The aggregation phenomenon in terrestrial isopods. *Symposia of the Zoological Society of London*, 53: 381–404.
- Tuf, IH; Petr, H; Mačát, Z; Machač, O; Rendoš, M; Trnka, F & Vokálová, A. 2013. Suitability of nail polish for marking the common rough woodlouse, *Porcellio scaber* (Oniscidea). *Acta Societatis Zoolocae Bohemicae*, 77: 159–163.
- Valone, T & Templeton, J. 2002. Public information for the assessment of quality: a widespread social phenomenon. *Philosophical Transactions of The Royal Society B Biological Sciences*, 357: 1549–1557
- Vittori, M; Tušek-Žnidarič, M & Štrus, J. 2016. Exoskeletal cuticle of cavernicolous and epigeal terrestrial isopods: A review and perspectives. *Arthropod Structure & Development*, 46(1): 96–107.

- Warner, KA & Bierzychudek, P. 2009. Does marking with fluorescent powders affect the survival or development of larval *Vanessa cardui*? *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 131: 320–324.
- Wood, C.T.; Kostanjšek, R.; Araujo, P.B. and Štrus, J. 2017. Morphology, microhabitat selection and life-history traits of two sympatric woodlice (Crustacea: Isopoda: Oniscidea): A comparative analysis. *Zoologischer Anzeiger*, 268, 1–10.
- Yao, M; Rosenfeld, J; Attridge, S; Sidhu, S; Aksenov, V & Rollo, CD. 2009. The ancient chemistry of avoiding risks of predation and disease. *Evolutionary Biology*, 36: 267–281.
- Yoder, JA; Hobbs, HH & Hazelton, MC. 2002. Aggregate protection against dehydration in adult females of the cave cricket, *Hadenoeus cumberlandicus*. *Journal of Cave and Karst Studies*, 64: 140–144.
- Zambonato, BP; Daemon, E & Prezoto, F. 2010. An alternative technique for individual marking of orb-web spiders. *Etologia*, 9: 3–5.
- Zidar, P; Drobne, D; Strus, J; Van Gestel, CA & Donker, M. 2004. Food selection as a means of Cu intake reduction in the terrestrial isopod *Porcellio scaber* (Crustacea, Isopoda). *Applied Soil Ecology*, 25(3): 257–265.

CAPÍTULO 3

**Efeito de rotina no comportamento alimentar de isópodos terrestres
(Isopoda, Oniscidea)**

**Efeito de rotina no comportamento alimentar de isópodos terrestres
(Isopoda, Oniscidea)**

Diego Costa Kenne^{1,2,3*}, Julia Wainstein Sokolovsky³;
Caroline Modena de Medeiros³ & Geraldo Luiz Gonçalves Soares^{1,3}

¹ Programa de Pós-graduação em Ecologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, RS, Brazil.

² Laboratório de Carcinologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, RS, Brazil.

³ Laboratório de Evolução, Ecologia Química e Quimiotaxonomia, Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, RS, Brazil.

*Autor correspondente: diegokenne@gmail.com

RESUMO

Flavonoides são metabólitos secundários vegetais e se caracterizam pela ampla ocorrência e diversificação nas plantas. São sinais químicos importantes na interação com invertebrados fitófagos. Os isópodos terrestres são detritívoros que se alimentam de plantas mortas e em decomposição. As propriedades químicas da planta são de suma importância para a escolha de alimento pelos oniscídeos. Deste modo, o presente trabalho objetivou avaliar o desempenho alimentar de três grupos ecomorfológicos diferentes de isópodos terrestres frente a um alimento artificial com três doses distintas do flavonoide rutina. Para cada indivíduo foi observada taxa de crescimento durante o experimento, e para cada tratamento (dose de rutina - 0.3, 0.6 e 0.9 mg/ml, além do controle com H₂O destilada) foram registradas as taxas de consumo e quantidade de alimento artificial ingerido pelos tatuzinhos. Mesmo sem diferença estatística, *Armadillidium vulgare* (*volvacional*) apresentou valores de ingestão, de taxa de consumo e de incremento de biomassa maiores do que *Balloniscus glaber* (*aderente*) e *Benthana picta* (*corredor*). Não foi observada relação entre quantidade de alimento ingerido e o incremento de biomassa para *Balloniscus*. Porém, *Benthana* exibiu relação inversa nesse parâmetro, e *Armadillidium* mostrou pouca significância positiva. Para as três espécies, as menores concentrações de rutina evidenciaram maiores taxas de consumo pelos isópodos (*Armadillidium* e *Balloniscus* para 0.3 mg/ml e *Benthana* para o tratamento controle). Os resultados obtidos podem ser interpretados como uma alternativa de comportamento dos oniscídeos para maximizar a ingestão de um nutriente/composto requerido, o que também varia com as características de cada grupo ecomorfológico, mostrando, assim, diferenças no desempenho alimentar de espécies de um mesmo nicho.

Palavras-chaves: Flavonoide, experimento, alimento artificial, tatuzinho-de-jardim, detritívoros.

INTRODUÇÃO

Nas interações animal-planta, os vegetais podem recorrer a atributos químicos e físicos para a sua defesa (contra a herbivoria, insetos fitófagos e patógenos), ou para intensificar relações mutualísticas (polinização) (Kefeli et al. 2003, Ode 2006). A respeito desses atributos, algumas plantas tem a possibilidade de se beneficiar da dureza ou da presença de tricomas e espinhos (Fordyce & Agrawal 2001), podem induzir a produção de proteínas defensivas (Haruta et al. 2001), outras atraem inimigos naturais de seus predadores através da liberação de voláteis (Birkett et al. 2000), ou ainda podem ter a capacidade de produzir metabólitos secundários em suas partes ameaçadas, que quando ingeridas, passam a ser tóxicas e potencialmente reduzem a sua “predação” (Kliebenstein et al. 2001, Mello & Silva-Filho 2002). Alguns exemplos de tais substâncias são os alcaloides, terpenos e derivados fenólicos (Crawley 1983, Krohling et al. 2010, Sharma & Sohal 2013).

Dentre os derivados fenólicos, os flavonoides se destacam pela ampla ocorrência e diversidade nas plantas (Harbone 1977). O conteúdo de flavonoides varia de acordo com estágio de crescimento da planta, pois a produção basal é intensificada à medida que o indivíduo chega ao estágio “adulto” (Zhishen et al. 1999), além de sofrer influência de fatores abióticos (temperatura e radiação) (Salgado et al. 2008). Os flavonoides são originários de uma via biossintética mista (acetato/chiquimato) (Hagerman & Butler 1991) e a sua ativação no organismo dos herbívoros ocorrem por oxidação (Appel 1993). Podem causar a inibição da digestão através da formação de radicais livres ou devido à possível formação de pontes de hidrogênio, ou ainda de ligações covalentes com proteínas e enzimas digestivas. A ação tóxica ocorre pelas hidroxilas formadas durante a oxidação dos compostos fenólicos, responsável por distúrbios metabólicos no epitélio intestinal consequentes da ruptura da integridade da membrana (Appel 1993). Além disso, em algumas espécies de artrópodos fitófagos, a ingestão desses metabólitos secundários vegetais pode afetar parâmetros relativos ao crescimento (tempo, momento e ciclos da muda) e causar irregularidades na reprodução (Simmonds 2003, Boué & Raina 2003, Gould & Lister 2006, Bentivenha et al. 2017).

Para herbívoros, especialmente insetos fitófagos, os tecidos vegetais são importantes fontes de lipídios, proteínas e carboidratos (Pichersky & Lewinshon 2011). Folhas recém caídas são compostas, principalmente, por polissacarídeos estruturais (celulose, hemicelulose) taninos e lignina, além de muitos compostos orgânicos não estruturais, como açúcares simples, amido, ácidos graxos e outros metabólitos secundários (Kogel-Knabner 2002, Berg & Laskowski, 2006). Flavonoides podem também ter efeitos na fauna edáfica decompositora e detritívora, pois a maioria dos derivados fenólicos continua presente durante a senescência foliar e após a morte da planta (Bärlocher & Graça 2005, David 2014).

A preferência alimentar de detritívoros está relacionada à senescência foliar, grau nutricional do alimento, nível de colonização microbiana e presença/ausência de compostos impalatáveis (Yeates & Barmuta 1999, Graça et al. 2001, Zimmer et al. 2003, Ihnen & Zimmer 2008, Lambdon & Hassall 2005). A serapilheira em decomposição é considerada um alimento de baixa qualidade para esses indivíduos devido aos baixos teores de nitrogênio, mesmo que contenha alto teor energético. Porém, essa energia está ligada à celulose e à lignina, ambas inutilizáveis pela maioria dos animais saprófagos (Szlavec & Maiorana 1998). O *trade-off* está na abundância e disponibilidade desse material no ambiente, pois além de estar pré-processado, também já passou por influência química e física de microrganismos (Szlavec & Maiorana 1998). Essa fonte alimentar tem a sua resistência física perdida (menor desgaste das peças bucais para detritívoros), os carboidratos estruturais quebrados (mais fáceis para absorção no trato digestivo) e, provavelmente, outros elementos de bloqueio alimentar são lixiviados ou já estão decompostos (Szlavec & Maiorana 1998, Gerlach et al. 2012, Wood et al. 2012).

Microrganismos colonizadores da serapilheira (bactérias e fungos) são ingeridos juntamente com os alimentos (Frouz et al. 2003, Byzov 2006), mas a sua digestibilidade no intestino dos detritívoros varia de espécie para espécie (Byzov 2006, Ihnen & Zimmer 2008). Possivelmente participam da dieta como fontes de nitrogênio, vitaminas e minerais, como o cálcio (Cromack et al. 1977, Martin & Kukor 1984), além de também fornecerem carbono e energia para os detritívoros (Frouz et al. 2003). O grande destaque da presença de microrganismos no trato

digestório da maioria dos consumidores de matéria orgânica vegetal está na contribuição na degradação de compostos secundários (Coulis et al. 2013).

Dentre a fauna de solo detritívora que atuam na decomposição estão as minhocas, diplópodos, cupins, colêmbolos e os isópodos terrestres (Wood et al. 2012). Estes últimos têm destaque como macroartrópodos decompositores devido a sua fisiologia, comportamento e respostas ecológicas a diferentes mudanças climáticas em microambientes (Davis & Sutton 1977, Dixie et al. 2015). Além disso, os isópodos terrestres (Isopoda, Oniscidea), também conhecidos como tatuzinhos-de-jardim, desempenham um papel importante na decomposição da serapilheira e, portanto, contribuem significativamente para a ciclagem de nutrientes e para os serviços ecossistêmicos do solo (Zimmer 2002). Como consequência, os isópodos terrestres são organismos relevantes na ecotoxicologia de sistemas edáficos, tanto em testes de laboratório quanto em estudos de monitoramento e bioindicação em campo (van-Gestel et al 2018, Pezzi et al 2019, Kenne et al. 2019).

Isópodos terrestres possuem quimiorreceptores nos flagelos das antenas e nas suas peças bucais, características que os permitem localizar alimento no ambiente (Ábrahám & Wolsky 1930, Hoese & Schneider 1990, Zimmer et al. 1996). Além disso, tatuzinhos-de-jardim conseguem compartimentalizar metais pesados em grânulos nas células do hepatopâncreas e se desintoxicam excretando esses compostos nocivos (Sousa et al. 2000, Loureiro et al. 2002). Estudos que abordam a preferência e o desempenho alimentar de isópodos são importantes, pois estão relacionados ao seu papel na ecotoxicologia e processos do solo (van Gestel et al. 2018, Quadros & Araujo 2008, David 2014). Tópicos sobre comportamento alimentar de isópodos terrestres são bem explorados na literatura, visto que Zimmer (2002) descreveu os mecanismos e os pré-requisitos nutricionais de itens utilizados na dieta de muitas espécies de Oniscidea. Mesmo assim, os parâmetros comumente analisados variam no perfil da relação da palatabilidade com o conteúdo fenólico da matéria orgânica. Há estudos apresentando associações fracas quanto ao grau de ingestão por detritívoros e teor de fenol na serapilheira (Neuhauser & Hartenstein 1978, Kasurinen et al. 2007), bem como também existem relatos de correlações negativas na preferência alimentar de isópodos (Hassall & Rushton 1984).

Vários trabalhos já analisaram os efeitos de metabólitos secundários em herbívoros, porém poucos atentam para a compreensão das consequências da ingestão desses compostos por detritívoros e decompositores (Canhoto & Graça 1999) e sua relação com a senescência das folhas (Yeates & Barmuta 1999). Poucos são os estudos que abordam ingestão de flavonoides por isópodos terrestres (Wood et al. 2012), e os que se tem registro abordam comportamento de espécies Paleárticas (Rushton & Hassall 1983, Gunnarsson 1987, Szlávecz & Pobozny 1995, Zimmer 2002, Ihnen & Zimmer 2008). Aspectos complementares aos mecanismos de escolha de fontes alimentares e forrageio, bem como consequências pós-ingestão, ainda precisam ser mais abordados (Montesanto & Cividini 2017).

Com base nisso, o presente trabalho objetivou investigar o desempenho alimentar de três espécies de isópodos terrestres frente a três concentrações distintas do flavonoide rutina em um alimento artificial neutro. Rutina é um dos compostos fenólicos mais representativo nos vegetais (Sondheimer 1964, Singh et al. 2009). Além disso, está presente na batata (Deußer et al. 2012, Sánchez Maldonado et al. 2014), um dos principais alimentos utilizados em cultivos de isópodos terrestres em laboratório (Yao et al. 2009, Montesanto & Cividini 2017, Kenne et al, em preparação). Assim como outros metabólitos secundários, a rutina tem função relacionada à defesa das plantas contra a herbivoria, com consequências diversas para os animais. Contudo, alguns trabalhos citam rutina como estimulante alimentar em algumas espécies de artrópodos (Bernays et al. 1991, Pacheco-Sánchez et al., 2012).

As hipóteses deste estudo tomaram como ponto de partida os atributos de cada grupo ecomorfológico das espécies de isópodos testadas nos experimentos (*sensu* Schmalzfuss 1984), uma vez que essas características podem influenciar no comportamento de forrageio e nos diferentes *trade-offs* dos perfis alimentares. Os isópodos classificados como *volvacionais* possuem cutícula espessa e, em adição da habilidade volvocional, conseguem proteger suas partes mais delicadas (ventre) de predadores, bem como evitam a perda de água em ambientes mais secos. *Aderentes* são mais achatados dorso-ventralmente, o que lhes permite aderir ao substrato com mais firmeza através de suas pernas, dificultando a ação de captura por predadores. Já os isópodos do grupo do *corredores* possuem a cutícula mais fina em relação aos

anteriores, conferindo-lhes maior sensibilidade às alterações do ambiente em que se encontram, e por isso adotam a estratégia de fuga diante situações de perigo (Schmalfuss 1984, Hornung 2011, Csonka et al. 2013).

De modo geral, neste trabalho esperou-se que: I) *Volvacionais* apresentassem valores de ingestão, de taxa de consumo e de incremento de biomassa dos indivíduos maiores do que os de *aderentes* e de *corredores*; II) O incremento de biomassa dos indivíduos exibisse correlação positiva à biomassa de alimento consumido; e III) As três espécies evidenciarão maiores de taxas de consumo para a menor concentração de flavonoide.

MATERIAL & MÉTODOS

Espécies de isópodos terrestres

Foram utilizadas três espécies de isópodos terrestres, representando três grupos ecomorfológicos distintos: *Benthana picta* (Brandt, 1833) (Philosciidae) (*corredor*), *Balloniscus glaber* Araujo e Zardo, 1995 (Balloniscidae) (*aderente*) e *Armadillidium vulgare* (Latreille, 1804) (Armadillidiidae) (*volvacional*). Com o intuito de evitar equívocos em relação aos nomes das espécies, no presente estudo elas serão citadas através do seu gênero taxonômico.

Os espécimes de *Benthana* foram obtidos no Parque Henrique Luiz Roesler, na cidade de Novo Hamburgo, RS, Brasil (29°41'15"S, 51°06'35"O). Os de *Balloniscus* e de *Armadillidium* foram coletados em dois locais: no Campus do Vale da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) (30°04'07"S, 51°07'10"O) e em uma área residencial da zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil (30°12'30"S, 51°10'12"O). Os animais foram mantidos em sala de cultivo no Laboratório de Evolução, Ecologia Química e Quimiotaxonomia (Leeqtax) e no Laboratório de Carcinologia, ambos da UFRGS, com temperatura e fotoperíodo controlados (17 ± 1°C e 12:12, respectivamente), serapilheira do local de origem e discos de batata como fonte alimentar adicional.

Antes do início dos testes, 60 indivíduos de cada uma das três espécies foram individualizados em câmaras por 48 horas, sem alimento e com apenas uma

esfera de algodão umedecida com água destilada. Animais de ambos os sexos foram utilizados no experimento, exceto por fêmeas ovígeras e indivíduos na pré-muda (presença de placas de cálcio na parte ventral do péreon).

Procedimentos experimentais

Após a aclimação, os animais foram colocados individualmente em unidades experimentais (UE) (2.5 cm de altura e 5 cm de diâmetro) com um disco de 18 mm de diâmetro de papel aquarela de fibra de algodão, o qual foi imerso durante aproximadamente três minutos em uma das três distintas concentrações de rutina (0.3, 0.6 e 0.9 mg/ml solubilizada em água destilada) ou do tratamento controle (somente água destilada) antes do início dos testes (Figura 1). Foram conduzidas três réplicas do experimento com cada espécie, utilizando cinco isópodos para cada concentração do flavonoide e para o controle (quatro tratamentos, 20 indivíduos por réplica, 60 de cada espécie, 180 no total). Na parte interna da tampa de todas as UEs foi fixada uma esfera de algodão, a qual foi umedecida com água destilada para a manutenção da umidade.

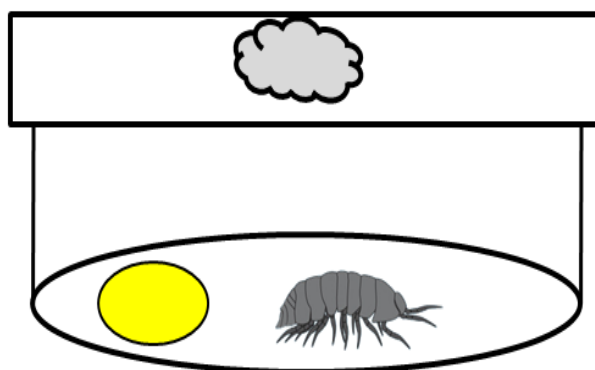


Figura 1. Representação esquemática da Unidade Experimental (UE), com um isópodo terrestre, alimento artificial com determinada concentração de flavonoide (disco amarelo) e algodão umedecido fixado na tampa (nuvem cinza).

Todos os indivíduos e os discos de papel foram pesados (mg) no início e ao final dos cinco dias de experimento em balança de precisão. Para cada tratamento, cinco UE's adicionais com apenas discos de papel foram mantidas durante os testes, com a finalidade de avaliar a perda autogênica (%) e inferir com maior precisão os

cálculos de ingestão do alimento pelos animais. A taxa de consumo foi calculada pela fórmula (Waldbauer 1968, modificada):

$$[(di - df) \times (1 - pa)] / (mi \times \text{dias})$$

onde: di=massa inicial do disco (mg); df=massa final do disco (mg); pa=perda autogênica (%); mi=massa média do isópodo (mg).

Análise estatística

Todos os dados foram testados quanto a sua distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk ($\alpha < 0,05$) para posterior aplicação dos testes estatísticos adequados. O peso inicial dos isópodos foi comparado entre as réplicas e entre os tratamentos pela Análise de Variância (ANOVA) e pelo teste de Kruskal-Wallis ($\alpha < 0,05$). A quantidade de massa de papel ingerida pelos animais foi comparada tanto pelo teste de Kruskal-Wallis ($\alpha < 0,05$) como também pela Análise de Covariância (ANCOVA), utilizando a concentração do flavonoide como fator principal e o peso inicial dos animais como covariável ($\alpha < 0,05$). As taxas de consumo e as taxas de crescimento dos indivíduos foram comparadas dentro de cada concentração de flavonoide pelo teste de Kruskal-Wallis ($\alpha < 0,05$). A massa inicial e final dos isópodos foi comparada em cada tratamento pelo teste t-pareado ($\alpha < 0,05$) e pelo teste de Wilcoxon ($\alpha < 0,05$). A relação entre o incremento de massa dos animais após os experimentos e a quantidade de alimento ingerido foi analisada pela Correlação de Pearson. Para as diferenças estatísticas observadas na ANOVA, foram realizados os testes *pos-hoc* de Tukey, assim como o teste de Dunn para Kruskal-Wallis. As análises foram conduzidas nos softwares Bioestat 5.0 e MedCalc 19.2.1.

RESULTADOS

Entre os tratamentos e nas três réplicas não houve diferença na massa inicial dos animais, indicando que para as três espécies foram utilizados indivíduos de tamanhos estatisticamente similares em todas as unidades experimentais

(Tabela 1 e 2), com média geral de 84 mg ($\pm 2,7$ mg) para *Armadillidium*, 49,3 mg ($\pm 2,2$ mg) para *Balloniscus* e 38,6 mg ($\pm 1,5$ mg) para *Benthana*. Esse fato assegura a possibilidade de análise dos dados das três réplicas em conjunto para todos os parâmetros que se seguem.

Tabela 1. Valores de F* e p da Análise de Variância (ANOVA, teste de Tukey, $\alpha < 0,05$) da comparação da massa inicial dos indivíduos das três espécies de isópodos terrestres utilizadas nos experimentos, nas três réplicas separadamente e em conjunto. * representa o valor da estatística “H” do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis (seguido do teste de Dunn, $\alpha < 0,05$).

Espécie	Réplica	F*	p
<i>Armadillidium vulgare</i>	Réplica 1	0,328	0,805
	Réplica 2	3,018	0,061
	Réplica 3	0,149	0,929
	Todos	7,198*	0,066
<i>Balloniscus glaber</i>	Réplica 1	1,589	0,231
	Réplica 2	0,391	0,764
	Réplica 3	0,278	0,842
	Todos	1,699	0,177
<i>Benthana picta</i>	Réplica 1	0,347	0,792
	Réplica 2	4,051*	0,256
	Réplica 3	1,756	0,196
	Todos	0,901	0,447

Tabela 2. Valores de F e p da Análise de Variância (ANOVA, teste de Tukey, $\alpha < 0,05$) da comparação da massa inicial dos indivíduos das três espécies de isópodos terrestres utilizadas nos experimentos, nos três tratamentos de concentrações distintas de rutina e no controle separadamente.

Espécie	Tratamento	F	p
<i>Armadillidium vulgare</i>	Controle	0,406	0,680
	[0,3]	0,787	0,519
	[0,6]	0,002	0,998
	[0,9]	0,070	0,933
<i>Balloniscus glaber</i>	Controle	1,432	0,277
	[0,3]	1,008	0,396
	[0,6]	0,198	0,824
	[0,9]	0,594	0,572
<i>Benthana picta</i>	Controle	0,786	0,519
	[0,3]	2,871	0,095
	[0,6]	0,167	0,849
	[0,9]	1,439	0,275

De modo geral, a quantidade de alimento artificial ingerido foi maior para *Armadillidium*, com média de 3,16 mg ($\pm 0,36$ mg) consumido no tratamento 0,3 mg/ml de rutina, seguido de *Benthana*, com a maior média de ingestão no tratamento controle, de 1,5 mg ($\pm 0,21$ mg), e *Balloniscus*, com maior quantidade ingerida no tratamento 0,3 mg/ml, de 1,14 mg ($\pm 0,14$ mg) (Figura 2). Entre os tratamentos, para as três espécies não houve diferença estatística significativa (Kruskal-Wallis, *Armadillidium*: $H=4,621$ e $p=0,202$; *Balloniscus*: $H=1,927$ e $p=0,588$; *Benthana*: $H=0,893$ e $p=0,827$).

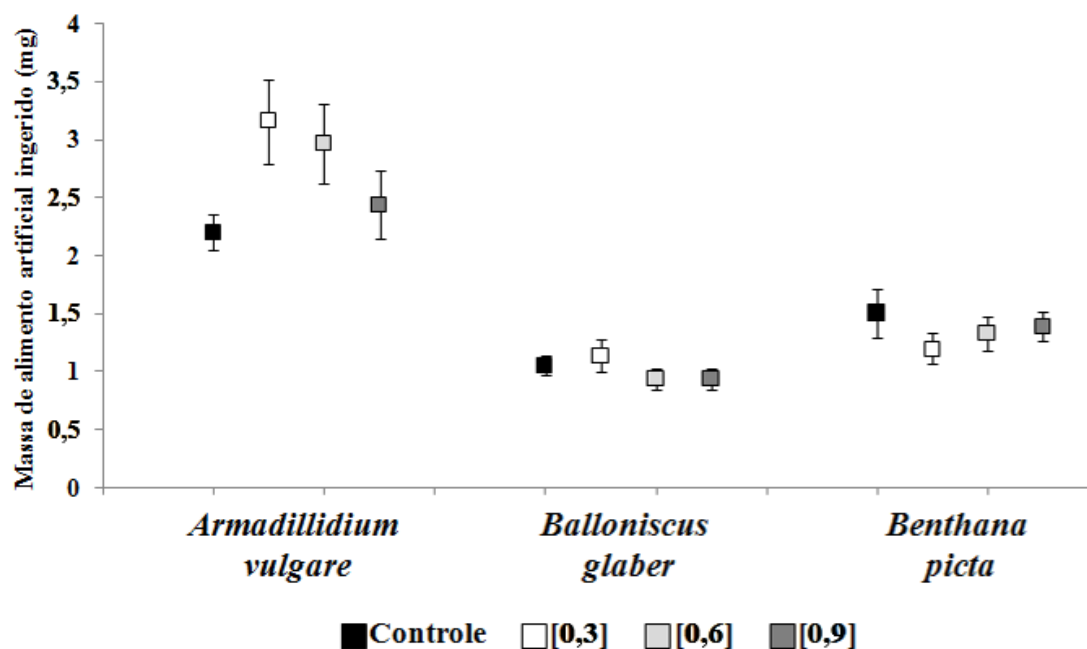


Figura 2. Massa de alimento artificial ingerido (mg) pelas três espécies de isópodos terrestres (*Armadillidium vulgare*, *Balloniscus glaber* e *Benthana picta*). Valores correspondem à média, linhas verticais indicam \pm um erro padrão de cada tratamento.

Não foi observada diferença estatística nas taxas de consumo das três concentrações de rutina e do controle administrados nos experimentos com as três espécies de isópodos terrestres (Kruskal-Wallis, *Armadillidium*: $H=3,042$ e $p=0,385$; *Balloniscus*: $H=2,505$ e $p=0,474$; *Benthana*: $H=0,718$ e $p=0,869$) (Figura 3). Mesmo assim, *Armadillidium* e *Balloniscus* exibiram maiores taxas de ingestão média para o menor teor de flavonoide no alimento artificial ([0,3]: *Armadillidium*=0,0078 mg/mg*dia, *Balloniscus*=0,0053 mg/mg*dia). A maior taxa média para *Benthana* foi observada no tratamento controle (0,0087 mg/mg*dia).

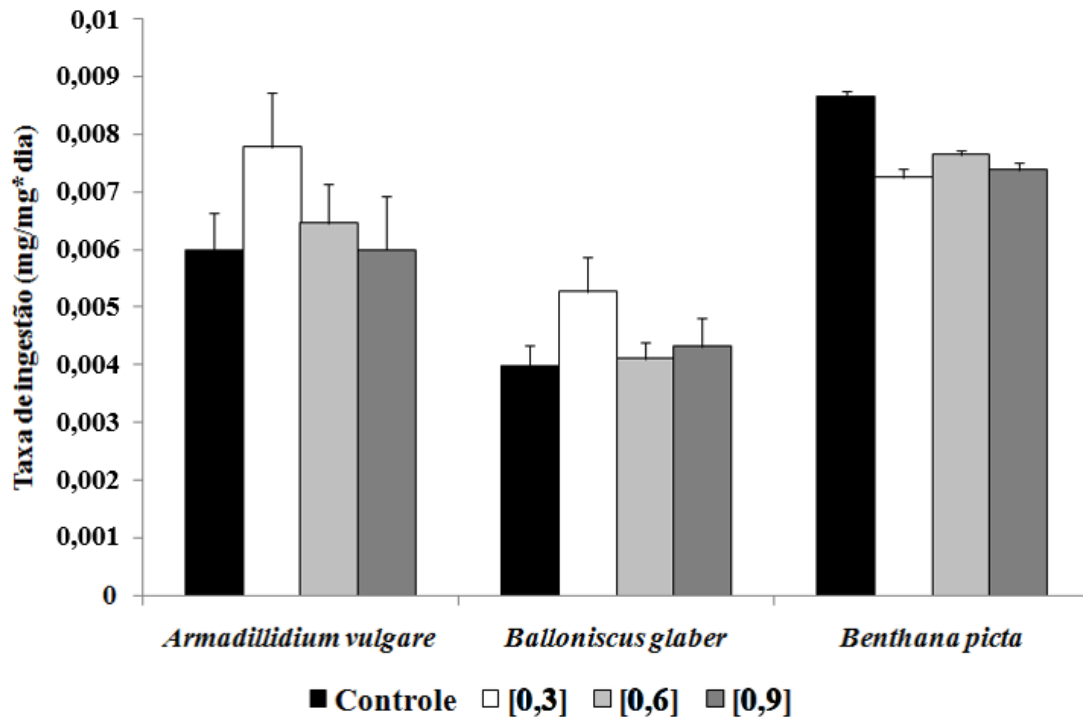


Figura 3. Taxa de ingestão do alimento artificial das diferentes concentrações oferecidas as três espécies de isópodos terrestres (*Armadillidium vulgare*, *Balloniscus glaber* e *Benthana picta*). Valores correspondem à média, linhas verticais indicam um erro padrão de cada tratamento.

Quanto à variação entre a massa inicial e a massa final dos animais, *Armadillidium* apresentou aumento significativo em todos os tratamentos (Teste t-pareado, Controle: $t=3,396$ e $p=0,004$; [0,3]: $t=2,775$ e $p=0,015$; [0,6]: $t=3,431$ e $p=0,004$; [0,9]: $t=2,538$ e $p=0,024$) (Figura 4). Para *Balloniscus* não foi demonstrada diferença neste parâmetro (Teste de Wilcoxon, Controle: $Z=0,14$ e $p=0,893$; [0,3]: $Z=0,085$ e $p=0,934$; [0,6]: $Z=1,164$ e $p=0,252$; [0,9]: $Z=0,157$ e $p=0,903$) (Figura 5). Já para *Benthana* foi observado apenas decréscimo de massa significativo no tratamento controle (Teste t-pareado, Controle: $t=-2,697$ e $p=0,017$; [0,3]: $t=-1,110$ e $p=0,286$; [0,6]: $t=-0,446$ e $p=0,663$; [0,9]: $t=0,045$ e $p=0,965$) (Figura 6).

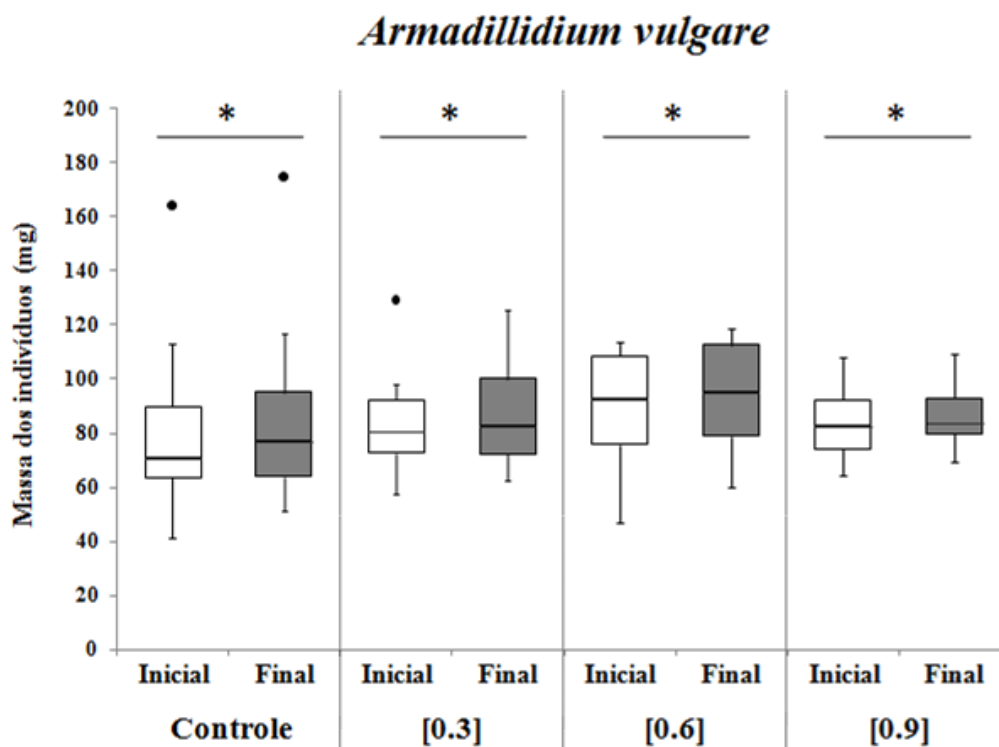


Figura 4. Box-plot de distribuição de massa inicial e final de *Armadillidium vulgare* para as três concentrações de rutina e tratamento controle. * indicam diferença estatística entre a massa inicial e final dentro dos tratamentos pelo teste t-pareado ($\alpha < 0,05$).

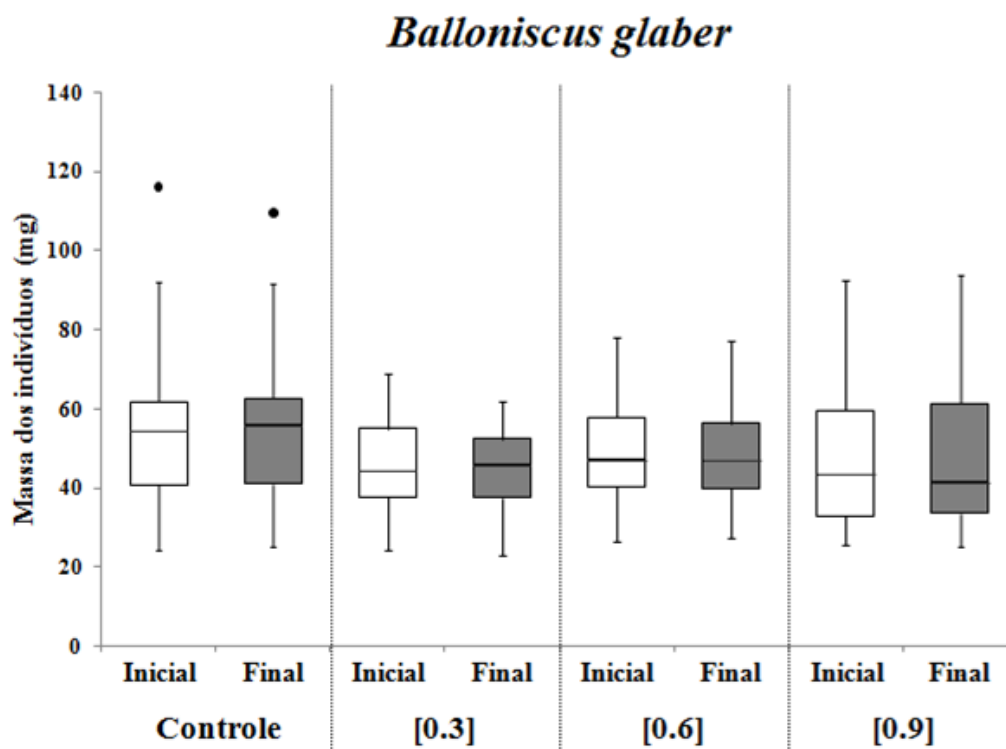


Figura 5. Box-plot de distribuição de massa inicial e final de *Balloniscus glaber* para as três concentrações de rutina e tratamento controle.

Benthana picta

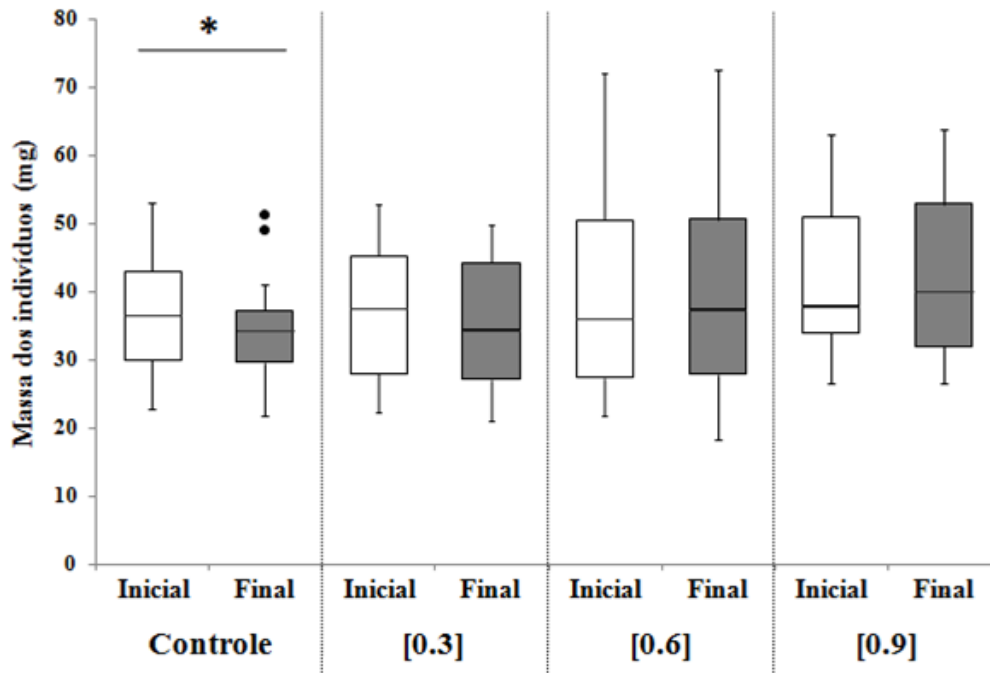


Figura 6. Box-plot de distribuição de massa inicial e final de *Benthana picta* para as três concentrações de rutina e tratamento controle. * indicam diferença estatística entre a massa inicial e final dentro dos tratamentos pelo teste t-pareado ($\alpha < 0,05$).

As maiores taxas de incremento de massa foram observadas para *Armadillidium*, entretanto sem diferença significativa entre os tratamentos (Kruskal-Wallis, $H=0,923$ e $p=0,820$). Porém, foi possível observar que à medida que se aumenta a concentração de flavonoide no alimento artificial oferecido aos animais essa taxa diminui, sendo a maior calculada para o controle e menor para [0,9] (Figura 7). As taxas referentes a *Balloniscus* se aproximaram de zero, enquanto que as de *Benthana* foram as menores entre as três espécies (Figura 7), ambas também sem distinção estatística entre os tratamentos (*Balloniscus*: Kruskal-Wallis, $H=0,779$ e $p=0,855$; *Benthana*: ANOVA, $F=1,030$ e $p=0,386$).

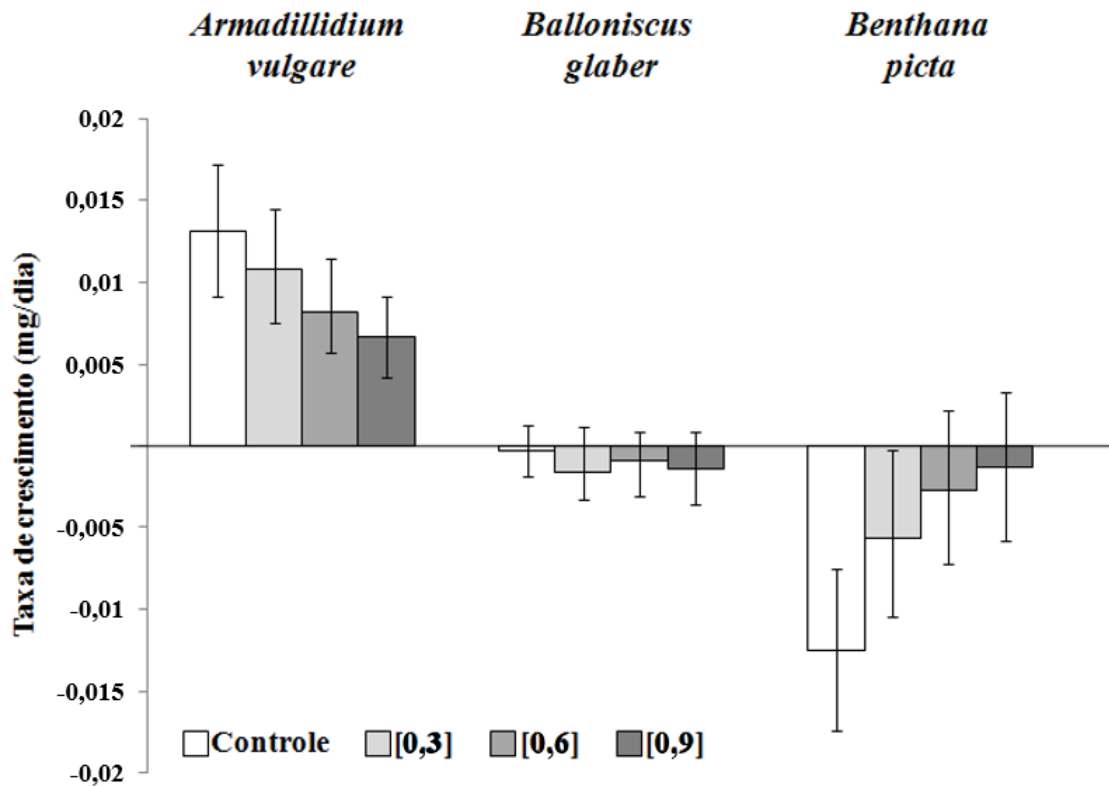


Figura 7. Taxa de crescimento das três espécies de isópodos terrestres nos diferentes tratamentos. Linhas acima das colunas representam \pm um erro padrão da amostra.

A análise entre a variação de incremento de massa dos animais após cinco dias de experimento e a quantidade de alimento ingerido mostrou correlação significativa apenas nos tratamentos de concentração de 0,3 e 0,9 mg/ml de rutina para *Benthana* e no de 0,3 mg/ml para *Armadillidium* (Tabela 3). Para esses casos, o coeficiente de correlação (r) calculado apresentou fraca relação negativa e baixos coeficientes de determinação (R^2), indicando pouca relação explicativa para esses resultados. Para os outros casos não foi constatado relação entre a quantidade de alimento ingerido e variação de massa dos isópodos.

Tabela 3. Valores de F, p, coeficiente de correlação (r) e coeficiente de determinação (R²) para a análise de correlação entre a quantidade de alimento artificial ingerido e o incremento de massa dos indivíduos das três espécies de isópodos terrestres ao término de cinco dias de experimento. * indica significância estatística.

Espécie	Tratamento	F	p	r	R ²
<i>Armadillidium vulgare</i>	Controle	0,334	0,573	-0,158	0,025
	[0,3]	5,967	0,030*	-0,561	0,315
	[0,6]	0,002	0,968	-0,012	0,0001
	[0,9]	0,247	0,627	0,137	0,019
<i>Balloniscus glaber</i>	Controle	0,603	0,451	-0,211	0,044
	[0,3]	0,628	0,443	0,215	0,046
	[0,6]	0,024	0,879	-0,043	0,002
	[0,9]	0,453	0,513	-0,184	0,034
<i>Benthana picta</i>	Controle	2,746	0,121	-0,418	0,174
	[0,3]	5,220	0,040*	-0,535	0,287
	[0,6]	0,250	0,625	-0,137	0,019
	[0,9]	5,024	0,043*	-0,528	0,279

Quanto à quantidade de alimento artificial ingerido (mg), a análise de covariância (ANCOVA) demonstrou diferença significativa apenas para *Balloniscus* em relação ao peso inicial dos animais, mas sem efeito em conjunto do teor de flavonoide presente nos discos de papel (Tabela 4).

Tabela 4. Valores de F e p da Análise de Covariância (ANCOVA) da influência na quantidade de alimento ingerido pelos indivíduos das três espécies de isópodos terrestres referentes à concentração de flavonoide presente no alimento artificial e ao peso inicial dos animais. * indica diferença estatística.

Espécie	Tratamento	F	p
<i>Armadillidium vulgare</i>	Concentração	1,995	0,125
	Peso inicial	0,014	0,905
<i>Balloniscus glaber</i>	Concentração	1,030	0,387
	Peso inicial	5,284	0,025*
<i>Benthana picta</i>	Concentração	0,518	0,672
	Peso inicial	0,084	0,773

DISCUSSÃO

Os resultados quanto à distribuição de indivíduos de biomassa semelhante em todos os tratamentos e réplicas confirmaram, para as três espécies aqui utilizadas, que as informações não carregam influência de tamanho corporal nas taxas de consumo e quantidade de alimento ingerido entre esses parâmetros. Para isópodos terrestres, classes distintas de tamanho (indiferente de estarem ou não relacionadas à idade ou à divisão de coortes) podem apresentar diferenças no comportamento alimentar (Vilisics et al. 2012). Isso se deve à distinção anatômica das peças bucais entre um adulto e um juvenil (por exemplo) frente a um mesmo alimento oferecido (Schmalfuss 2008).

Quanto à ingestão do alimento artificial, os maiores valores foram apresentados por *Armadillidium* em todos os tratamentos. Porém quando as taxas de consumo são comparadas entre as espécies, *Benthana* mostrou valores equiparados aos de *Armadillidium*, também em todos os tratamentos. *Armadillidium* é a espécie mais robusta dentre os isópodos testadas, visto os maiores valores de biomassa dos animais. Neste caso, um maior consumo era esperado para os *volvacionais*, já que a ingestão de uma quantidade maior de alimento é a lógica proporcional ao tamanho corporal de artrópodos, também relacionada à demanda metabólica (Reichle, 1968). Além disso, possíveis empecilhos físicos do alimento artificial podem ter sido superados pela resistência das peças bucais de *Armadillidium*, visto que há registro da espécie utilizando sementes de constituição mais rígida como item alimentar (Saska 2008). Porém, *Balloniscus* exibiu a menor ingestão e as menores taxas de consumo, mesmo que o incremento de massa corporal tenha sido intermediário as outras duas espécies utilizadas nos experimentos.

Considerando o comportamento de *aderentes*, a sua procura por alimento nas UE's provavelmente foi menor do que a de *volvacionais* e *corredores*, pois isópodos terrestres podem sobreviver por muito tempo sem alimento (Donker 1992). Entretanto, essa possível resistência até o início da ingestão do alimento artificial pode ter atingido um nível subletal e, conseqüentemente, os animais ingeriram o material disponível na UE. Mesmo que o acesso aos discos tenha sido

igual para todas as espécies, *corredores* (*Benthana*) indubitavelmente tem maior potencial de exploração do espaço interno disponível nas UEs, e com maior agilidade (Schmalfuss 1984). Além disso, o maior nível de atividade de *Benthana* demanda maior energia (Leclercq-Dransart et al. 2019). Portanto, mesmo que sem destaque de distinção estatística nos dados apresentados pelas três espécies o comportamento esperado para cada grupo ecomorfológico seguiu o padrão da primeira hipótese levantada no presente trabalho.

Em relação às concentrações distintas de rutina oferecidas aos animais, foi possível perceber que para as três espécies houve um maior consumo na dose mais baixa (*Armadillidium* e *Balloniscus*) e no tratamento controle (*Benthana*), embora não ter apresentado diferença significativa tanto pela comparação das taxas entre os tratamentos, como também contrastando a biomassa média de alimento artificial ingerido. O único cenário em que esses parâmetros exibiram destaque significativo foi em relação à quantidade de alimento ingerido dependente da biomassa inicial dos isópodos para *Balloniscus* (covariável ao fator principal das distintas concentrações de rutina na ANCOVA). Contudo, para essa espécie outros parâmetros analisados não exibiram relações de dependência. Para *Armadillidium* se tem registro de que a espécie compensa a baixa digestibilidade de alimentos aumentando seu consumo, dependendo dos indícios de compostos impalatáveis ainda presentes na fonte alimentar (Rushton & Hassall 1983, Abelho & Molles 2009, Pey et al. 2018). Fato semelhante ocorreu com *Benthana cairensis* Sokolowicz, Araujo & Boelter, 2008 (*corredor*) onde a serapilheira de *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae) e de *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae) tiveram menores taxas de consumo possivelmente pelos maiores teores de compostos secundários apresentados (Boelter et al. 2009). Catalán et al. (2008) apontaram esse comportamento também para *Porcellio laevis* Latreille, 1804 (*aderente*), assim como Wood et al. (2012) inferiram que *Balloniscus sellowii* (Brandt, 1833) (*aderente*) utilizam flavonoides presentes na serapilheira como parâmetro alimentar. Além disso, os isópodos podem ter o hábito de ingerir certa faixa de flavonoides com a finalidade de utilizá-los como antioxidante, assim como observado por Johnson & Felton (2001) e Wood et al. (2012). A maior quantidade e taxa de alimento consumido na concentração mais baixa ou nula pode ser

interpretada como uma alternativa de comportamento para maximizar a ingestão de um nutriente/composto requerido, o que corrobora com a terceira hipótese do presente estudo.

As maiores taxas de crescimento apresentadas por *Armadillidium*, mesmo sem diferença estatística significativa, mostraram que a ingestão de alimento artificial com concentrações distintas de rutina segue um padrão no incremento de massa após cinco dias de experimento. Porém, essa influência é inversamente proporcional às doses do flavonoide oferecido nos discos para os animais. Embora a quantidade de alimento ingerido e o incremento de biomassa tenha sido estatisticamente relacionada somente para a concentração de 0,3 mg/ml no experimento com *Armadillidium*, os outros tratamentos mostraram tendência a corroborar com essa associação entre ambos os parâmetros, inclusive o tratamento controle. Curiosamente, Lavy et al. (2001) mencionam que a biomassa de indivíduos que se alimentaram de fonte alimentar rica em nitrogênio aumentou significativamente. Entretanto, Faberi et al. (2011) demonstrou que a taxa de crescimento de indivíduos adultos de *Armadillidium* depende da dieta, mas não está associada ao nível de nitrogênio. No presente estudo, relação semelhante à de *Armadillidium* ocorreu com *Benthana*, no entanto a variação de biomassa animal significativa foi mostrada apenas no tratamento controle, enquanto que correlação significativa foi demonstrada para as concentrações de 0,3 mg/ml e 0,9 mg/ml. Mesmo sem destaque estatístico para as taxas de crescimento, *Benthana* exibiu um aumento gradativo à medida que se aumentavam as doses de flavonoide. O crescimento de *Balloniscus* se mostrou intermediário as outras duas espécies, se aproximando de zero. Esse fato é confirmado pelos dados de variação de biomassa inicial e final, no qual essa espécie não apresentou resultados significativos para nenhuma das concentrações de rutina ou tratamento controle. Para outro *aderente*, *Porcelio scaber* (Latreille 1804), Lavy et al. (2001) observaram fato semelhante, sem relação da dieta nas taxas de crescimento do indivíduo. Consequentemente, em relação à hipótese II deste estudo, os resultados seguiram um perfil aparentemente inverso para *corredores*, pouco significativo para *volvacionais* e sem relação para *aderentes*.

No ambiente natural, após a ingestão da serapilheira a concentração da maioria dos metabólitos secundários diminui substancialmente, indicando que esses compostos são prontamente digeridos e assimilados (Gillon & David 2001, Rawlins et al. 2006). Contra a intoxicação alimentar, isópodos podem ter o hábito de alternar as fontes alimentares (Glendinning 2007). Variações na composição química da serapilheira devido à decomposição natural aumentam a palatabilidade para esses detritívoros, visto que o conteúdo fenólico diminui com a senescência foliar, com a ação de microrganismos e pela lixiviação (Zimmer 1999, Zimmer 2002, Wood et al. 2012). Simmonds (2001) mostrou que insetos podem ser estimulados a ingerir folhas com determinada concentração de rutina, além de utilizar diferentes quantidades do flavonoide para seu corpo e asas. Em contraponto, já foram registrados padrões de deterrência alimentar para outros invertebrados em relação a estas substâncias, uma vez que esses compostos fazem parte das defesas químicas das plantas contra herbivoria e patógenos (Oberdörster et al. 2001).

A maioria dos trabalhos apresenta dados sobre o conteúdo de fenólicos totais (em diferentes concentrações para a análise de repelência pelos animais) e de lignina (em relação à resistência) (Graça & Zimmer 2005), além de averiguar a capacidade de taninos de se ligar e precipitar proteínas, e de inibir reações catalisadas por enzimas (Graça & Bärlocher 2005). A abordagem de mais estudos em relação ao isolamento de determinados flavonoides, bem como de outros compostos fenólicos, se faz ainda necessária, pois diferentes formações vegetais constituem distintos tipos de serapilheira no assoalho florestal, o que influencia a palatabilidade desse material por detritívoros e, conseqüentemente, afetam o comportamento e o *fitness* desses organismos (Sousa et al. 1998, Lardies et al. 2004, Loureiro et al. 2006). Conhecer cada vez mais as estratégias de desempenho alimentar de detritívoros esclarece como as espécies interagem com as propriedades químicas de seus itens alimentares e como afetam as populações em longo prazo (van Gestel et al. 2018), principalmente das diferentes regiões do mundo. Além disso, há a possibilidade de inferir modelos experimentais para planos ambientais de remoção física de serapilheira (decomposição natural), contribuindo para os serviços ecossistêmicos do solo (Heemsbergen et al. 2004).

De acordo com os resultados levantados pelo presente estudo, foi possível observar que, mesmo ocupando o mesmo nicho em diversos cenários naturais, os diferentes grupos ecomorfológicos de isópodos terrestres podem sofrer diferentes influências fisiológicas frente distintas concentrações de um flavonoide específico. Essa diversidade de resposta exibida pelas três espécies reforça a necessidade de estudos que investiguem as consequências da ingestão de outros flavonoides por outras espécies Neotropicais de isópodos, isolados ou em conjunto a outros fatores, bem como em utilizar mais concentrações relativas ao conteúdo de fenólicos presentes na serapilheira de espaços naturais.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudos ao DCK e GLGS, ao Instituto de Biociências da UFRGS pela assistência, aos colegas do Laboratório de Carcinologia e do Laboratório de Evolução, Ecologia Química e Quimiotaxonomia (Leeqtax) pela ajuda na realização dos experimentos e à secretaria do Parque Henrique Luiz Roesler pela permissão de coleta de isópodos terrestres na área do parque.

REFERÊNCIAS

- Abelho, M & Molles, MC. 2009. Effect of introduced exotic tree litter on consumption patterns of the introduced exotic isopod *Armadillidium vulgare*. *European Journal of Soil Biology*, 45: 306–311.
- Ábrahám, A & Wolsky, A. 1930. "Über ein neues Sinnesorgan del Landisopoden. *Zoologischer Anzeiger*, 87: 87–93.
- Appel, H. 1993. Phenolics in ecological interactions: The importance of oxidation. *Journal of Chemical Ecology*, 19: 1521–1552.
- Bärlocher, F & Graça, MAS. 2005. Total phenolics. *In*: Graça, MAS; Bärlocher, F & Gessner, MO. (eds) *Methods to Study Litter Decomposition: A Practical Guide*. Springer, 97–100.
- Bentivenha, JPF; Canassa, VF; Baldin, ELL; Borguini, MG; Lima, GPP & Louranção, AL. 2017. Role of the rutin and genistein flavonoids in soybean resistance to *Piezodorus guildinii* (Hemiptera: Pentatomidae). *Arthropod-plant interactions*, 12(2): 311–320.
- Berg, B & Laskowski, R. 2006. Changes in substrate composition and rate-regulating factors during decomposition. *Advances in Ecological Research*, 38: 101–155.

- Bernays, EA; Howard, JJ; Champagne, D & Estes, BJ. 1991. Rutin: a phagostimulant for the polyphagous acridid *Schistocerca americana*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 60: 19–28.
- Birkett, MA; Campbell, CAM; Chamberlain, K; Guerrieri, E; Hick, AJ; Martin, JL; Matthes, M; Napier, JA; Pettersson, J; Pickett, JA; Poppy, GM; Pow, EM; Pye, BJ; Smart, LE; Wadhams, GH; Wadhams, LJ & Woodcock, CM. 2000 New roles for cis-jasmone as an insect semiochemical and in plant defense. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 97: 9329–9334.
- Boelter, JF; Quadros, AF & Araujo, PB. 2009. The feeding rates and preferences of a Neotropical terrestrial isopod (Oniscidea). *Nauplius*, 17: 107–113.
- Boué, SM & Raina, AK. 2003. Effects of plant flavonoids on fecundity, survival, and feeding of the Formosan subterranean termite. *Journal of Chemical Ecology*, 29(11): 2575–2584.
- Byzov, BA. 2006. Intestinal microbiota of millipedes. *In: König, H & Varma, A. (eds.) Intestinal Microorganisms of Termites and Other Invertebrates. Springer-Verlag*, 89–114.
- Canhoto, CM & Graça, MAS. 1999. Leaf barriers to fungal colonization and shredders (*Tipula lateralis*) consumption of decomposing *Eucalyptus globulus*. *Microbial Ecology*, 37:163–172.
- Catalán, TP; Lardies, MA & Bozinovic, F. 2008. Food selection and nutritional ecology of woodlice in Central Chile. *Physiological Entomology*, 33: 89–94.
- Coulis, M; Hättenschwiler, S; Fromin, N & David, JF. 2013. Macroarthropod-microorganism interactions during the decomposition of Mediterranean shrub litter at different moisture levels. *Soil Biology & Biochemistry*, 64: 114–121.
- Crawley, MJ. 1983. Herbivory. The dynamics of plant-animal interactions. *Blackwell Scientific Publishers*, Oxford.
- Cromack, K; Sollins, P; Todd, RL; Crossley, DA; Fender, WM; Fogel, R & Todd, AW. 1977. Soil microorganism-arthropod interactions: fungi as major calcium and sodium sources. *In: Mattson, WJ. (eds.) The Role of Arthropods in Forest Ecosystems. Springer-Verlag*, 78–84.
- Csonka, D; Halasy, K; Szabó, P; Mrak, P; Štrus, J & Hornung, E. 2013. Eco-morphological studies on pleopodal lungs and cuticle in *Armadillidium* species (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). *Arthropod Structure and Development*, 42: 229–35.
- David, JF. 2014. The role of litter-feeding macroarthropods in decomposition processes: a reappraisal of common views. *Soil Biology and Biochemistry*, 76: 109–118.
- Davis, RC & Sutton SL. 1977. Spatial distribution and niche separation of woodlice and millipedes in a dune grassland ecosystem. *Ecological Bulletins*, 25: 45–55
- Deußer, H; Guignard, C; Hoffmann, L & Evers, D. 2012. Polyphenol and glycoalkaloid contents in potato cultivars grown in Luxembourg. *Food Chemistry*, 135: 2814–2824.
- Dixie, B; White, H & Hassall, M. 2015. Effects of microclimate on behavioural and life history traits of terrestrial isopods: implications for responses to climate change. *ZooKeys*, 515: 145–157.

- Donker, MH. 1992. Energy reserves and distribution of metals in populations of the isopod *Porcellio scaber* from metal-contaminated sites. *Functional Ecology*, 6: 445–454.
- Faberi, AJ; López, AN; Clemente, NL & Manetti, PL. 2011. Importance of diet in the growth, survivorship and reproduction of the no-tillage pest *Armadillidium vulgare* (Crustacea: Isopoda). *Revista Chilena de Historia Natural*, 84: 407–417.
- Fordyce, JA & Agrawal, AA. 2001. The role of plant trichomes and caterpillar group size on growth and defence of the pipevine swallowtail *Battus philenor*. *Journal of Animal Ecology*, 70: 997–1005.
- Frouz, J; Kristufek, V; Li, X; Santruckova, H; Sustr, V & Brune, A. 2003. Changes in amount of bacteria during gut passage of leaf litter and during coprophagy in three species of bibionidae (Diptera) larvae. *Folia Microbiologica*, 48: 535–542.
- Gerlach, A; Russell, DJ; Römbke, J & Brüggemann, W. 2012. Consumption of introduced oak litter by native decomposers (Glomeridae, Diplopoda). *Soil Biology & Biochemistry*, 44: 26–30.
- Gillon, D & David, JF. 2001. The use of near infrared reflectance spectroscopy to study chemical changes in the leaf litter consumed by saprophagous in vertebrates. *Soil Biology & Biochemistry*, 33: 2159–2161.
- Glendinning, JI. 2007. How do predators cope with chemically defended foods? *Biological Bulletin*, 213: 252–266.
- Gould, KS & Lister, C. 2006. Flavonoid function in plants. *In*: Andersen, ØM & Markham, KR. (eds.) *Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications. Taylor & Francis Group*, 397–441.
- Graça, MAS & Bärlocher, F. 2005. Radial diffusion assay for tannins. *In*: Graça, MAS; Bärlocher, F & Gessner MO. (eds.) *Methods to Study Litter Decomposition: A Practical Guide. Springer*, 101–105.
- Graça, MAS & Zimmer, M. 2005. Leaf toughness. *In*: Graça, MAS; Bärlocher, F & Gessner, MO. (eds.) *Methods to Study Litter Decomposition: A Practical Guide. Springer*, 121–125.
- Graça, MAS; Cressa, C; Gessner, MO; Feio, MJ; Callies, KA & Barrios, C. 2001. Food quality, feeding preferences, survival and growth of shredders from temperate and tropical streams. *Freshwater Biology*, 46: 947–957.
- Gunnarsson, T. 1987. Selective feeding of a maple leaf by *Oniscus asellus* (Isopoda). *Pedobiologia*, 30: 161–165.
- Hagerman, AE & Butler, LG. 1991. Tannins and lignins. *In*: Rosenthal, GA & Berenbaum, MR. (eds.) *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites: The Chemical Participants. Academic Press*, 355–383.
- Harbone, JB. 1977. *Introduction to Ecological Biochemistry. Academic Press, London.*
- Haruta, M; Major, IT; Christopher, ME; Patton, JJ & Constabel, CP. 2001. A Kunitz trypsin inhibitor gene family from trembling aspen (*Populus tremuloides* Michx.): cloning, functional expression, and induction by wounding and herbivory. *Plant Molecular Biology*, 46: 347–359.
- Hassall, M & Rushton, SP. 1984. Feeding behaviour of terrestrial isopods in relation to plant defences and microbial activity. *Symposium of the Zoological Society of London*, 53: 487–505.

- Heemsbergen, DA; Berg, MP; Loreau, M; van Hal, JR; Faber, JF & Verhoef, HA. 2004. Biodiversity effects on soil processes explained by interspecific functional dissimilarity. *Science*, 306: 1020–1021.
- Hoese B. & Schneider P. 1990. Bewegungen der 2. Antennen einiger Landasseln (Oniscidea) beim Suchlauf. *Zoologischer Anzeiger*, 225: 1–19.
- Hornung, E. 2011. Evolutionary adaptation of oniscidean isopods to terrestrial life: Structure, physiology and behavior. *Terrestrial Arthropod Reviews*, 4: 95–130.
- Ihnen, K & Zimmer, M. 2008. Selective consumption and digestion of litter microbes by *Porcellio scaber* (Isopoda: Oniscidea). *Pedobiologia*, 51: 335–342.
- Johnson, KS & Felton, GW. 2001. Plant phenolics as dietary antioxidants for herbivores insects: a test with genetically modified Tobacco. *Journal of Chemical Ecology*, 27(12): 2579–2597.
- Kasurinen, A; Peltonen, PA; Julkunen-Tiitto, R; Vapaavuori, E; Nuutinen, V; Holopainen, T & Holopainen, JK. 2007. Effects of elevated CO₂ and O₃ on leaf litter phenolics and subsequent performance of litter-feeding soil macrofauna. *Plant and Soil*, 292: 25–43.
- Kefeli, VI; Kalevitch, MV & Borsari, B. 2003. Phenolic cycle in plants and environment. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 2: 13–18.
- Kenne, DC; Araujo PB & Soares GLG. 2019. External marking of terrestrial isopods (Isopoda, Oniscidea): efficiency of materials and influence on feeding behavior. *Nauplius*, 27: e2019018.
- Kliebenstein, DJ; Kroymann, J; Brown, P; Figuth, A; Pedersen, D; Gershenzon, J & Mitchell-Olds, T. 2001. Genetic control of natural variation in *Arabidopsis* glucosinolate accumulation. *Plant Physiology*, 126: 811–825.
- Kogel-Knabner, I. 2002. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology & Biochemistry*, 34: 139–162.
- Krohling, CA; Eutrópio, FJ & Silva, AG. 2010. Interações inseto-planta em *Solanum hexandrum* Vell. (Solanaceae): polinização e herbivoria na Reserva Biológica de Duas Bocas, Cariacica, Espírito Santo. *Natureza on line*, 8(2): 78–85.
- Lambdon, PW & Hassall, M. 2005. How should toxic secondary metabolites be distributed between the leaves of a fast-growing plant to minimize the impact of herbivory? *Functional Ecology*, 19: 299–305.
- Lardies, MA; Carter, MJ & Bozinovic, F. 2004. Dietary effects on life history traits in a terrestrial isopod: the importance of evaluating maternal effects and trade-offs. *Oecologia*, 138: 387–395.
- Lavy, D; Van Rijn, MJ; Zoomer, HR & Verhoef, HA. 2001. Dietary effects on growth, reproduction, body composition and stress resistance in the terrestrial isopods *Oniscus asellus* and *Porcellio scaber*. *Physiological Entomology*, 26: 18–25.
- Leclercq-Dransart, J; Pernin, C; Demuynck, S; Grumiaux, F; Lemièrre, S & Leprêtre, A. 2019. Isopod physiological and behavioral responses to wet and drier conditions: an experimental study with four species in the context of global warming. *European Journal of Soil Biology*, 90: 22–30.
- Loureiro, S; Sampaio, A; Brandão, A; Nogueira, AJA & Soares, AMVM. 2006. Feeding behaviour of the terrestrial isopod *Porcellionides pruinosus* Brandt, 1833

- (Crustacea, Isopoda) in response to changes in food quality and contamination. *Science of the Total Environment*, 369: 119–128.
- Loureiro, S; Sousa, JPS; Nogueira, AJA & Soares, AMVM. 2002. Assimilation efficiency and toxicokinetics of ¹⁴C-lindane in the terrestrial isopod *Porcellionides pruinosus*: the role of isopods in degradation of persistent soil pollutants. *Ecotoxicology*, 11: 481–490.
- Martin, MM & Kukor JJ. 1984. Role of mycophagy and bacteriophagy in invertebrate nutrition. In: Klug, MJ & Reddy, CA. (eds.) Current Perspectives in Microbial Ecology. *American Society for Microbiology*, 257–263.
- Mello, MO & Silva-Filho, MC. 2002. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 14(2): 71–81.
- Montesanto, G & Cividini, S. 2017. A crossover design to assess feeding preferences in terrestrial isopods: a case study in a Mediterranean species. *Biologia*, 72: 194–203.
- Neuhauser, EF & Hartenstein, R. 1978. Phenolic content and palatability of leaves and wood to soil isopods and diplopods. *Pedobiologia*, 18: 99–109.
- Oberdörster, E; Clay, MA; Cottam, DM; Wilmot, FA; McLachlan, JA & Milner, MJ. 2001. Common phytochemical are ecdysteroid agonists and antagonists: a possible evolutionary link between vertebrate and invertebrate steroid hormones. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 77: 229–238.
- Ode, PJ. 2006. Plant chemistry and natural enemy fitness: effects on herbivore and natural enemy interactions. *Annual Review of Entomology*, 51: 163–185.
- Pacheco-Sánchez, C; Villa-Ayala, P; Montes-Belmont, R; Figueroa-Brito, R & Jiménez-Pérez, A. 2012. Effect of *Ricinus communis* extracts on weight and mortality of *Scyphophorus acupunctatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Florida Entomologist*, 95(3): 706–710.
- Pey, B; Trãn, C; Cruz, P; Hedde, M; Jouany, C; Laplanche, C & Lecerf, A. 2018. Nutritive value and physical and chemical deterrents of forage grass litter explain feeding performances of two soil macrodetritivores. *Applied Soil Ecology*, 133: 81–88.
- Pezzi, PH; Araujo, PB & Wood, CT. 2019. Coprophagy in detritivores: methodological design for feeding studies in terrestrial isopods (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). *Nauplius*, 27: e2019010.
- Pichersky, E & Lewinsohn, E. 2011. Convergent evolution in plant specialized metabolism. *Annual Review of Plant Biology*, 62: 549–566.
- Quadros, AF & Araujo, PB. 2008. An assemblage of terrestrial isopods (Crustacea) in southern Brazil and its contribution to leaf litter processing. *Revista Brasileira de Zoologia*, 25: 58–66.
- Rawlins, AJ; Bull, ID; Poirier, N; Ineson, P & Evershed, RP. 2006. The biochemical transformation of oak (*Quercus robur*) leaf litter consumed by the pill millipede (*Glomeris marginata*). *Soil Biology & Biochemistry*, 38: 1063–1076.
- Reichle, D. 1968. Relation of body size to food intake, oxygen consumption, and trace element metabolism in forest floor arthropods. *Ecology*, 49: 538–542.
- Rushton, P & Hassall, M. 1983. Food and feeding rates of the terrestrial isopod *Armadillidium vulgare* (Latreille). *Oecologia*, 57: 257–261.

- Salgado, PR; Favarin, JL; Leandro, RA & Lima-Filho, OF. 2008. Total phenol concentrations in coffee tree leaves during fruit development. *Science and Agriculture*, 65(4): 354–359.
- Sánchez-Maldonado, A; Mudge, E; Gänzle, M & Schieber, A. 2014. Extraction and fractionation of phenolic acids and glycoalkaloids from potato peels using acidified water/ethanol-based solvents. *Food Research International*, 65: 27–34.
- Saska, P. 2008. Granivory in terrestrial isopods. *Ecological Entomology*, 33: 742–747.
- Schmalzfuss, H. 1984. Eco-morphological strategies in terrestrial isopods. In: Sutton, SL & Holdich, DM (eds.) *The Biology of Terrestrial Isopods. The Zoological Society of London. Clarendon Press*, 49–63.
- Schmalzfuss, H. 2008. The mandibles in terrestrial isopods (Isopoda: Oniscidea). In: Zimmer, M; Cheikrouha, C & Taiti, S. (eds.) *Proceedings of the International Symposium of Terrestrial Isopod Biology - ISTIB-7. Shaker Verlag: Aachen*, 1–13.
- Sharma, R & Sohal, SK. 2013. Bioefficacy of quercetin against melon fruit fly. *Bulletin of Insectology*, 66(1): 79–83.
- Simmonds, MSJ. 2001. Importance of flavonoids in insect-plant interaction: feeding and oviposition. *Phytochemistry*, 56(3): 245–252.
- Simmonds, MSJ. 2003. Flavonoid-insect interactions: recent advances in our knowledge. *Phytochemistry*, 64: 21–30.
- Singh, PP; Ambika & Chauhan SMS. 2009. Activity guided isolation of antioxidants from the leaves of *Ricinus communis* L. *Food Chemistry*, 114: 1069–1072.
- Sondheimer, E. 1964. Chlorogenic acids and related depsides. *Botanical Review*, 30: 667–712.
- Sousa, JP; Loureiro, S; Pieper, S; Frost, M; Kratz, W; Nogueira, AJA & Soares AMVM. 2000. Soil and plant diet exposure routes and toxicokinetics of lindane in a terrestrial isopod. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19: 2557–2563.
- Sousa, JP; Vingada, JV; Loureiro, S; da Gama, MM & Soares, AMVM. 1998. Effects of introduced exotic tree species on growth, consumption and assimilation rates of the soil detritivore *Porcellio dilatatus* (Crustacea: Isopoda). *Applied Soil Ecology*, 9: 399–403.
- Szlavec, K & Maiorana, VC. 1998. Supplementary food in the diet of the terrestrial isopod *Porcellio scaber* Latr. (Isopoda: Oniscidea). *Israel Journal of Zoology*, 44(3-4): 413–421.
- Szlavec, K & Pobožny, M. 1995. Coprophagy in isopods and diplopods: a case for indirect interaction. *Acta Zoologica Fennica*, 196: 124–128.
- van Gestel, CAM; Loureiro, S & Zidar, P. 2018. Terrestrial isopods as model organisms in soil ecotoxicology: a review. *Zookeys*, 801: 127–162.
- Vilisics, F; Szekeres, S & Hornung, E. 2012. Size dependent differences in litter consumption of isopods: preliminary results. *ZooKeys*, 176: 247–259.
- Waldbauer, GP. 1968. The consumption and utilization of food by insects. *Advances in Insect Physiology*, 5: 229–288.
- Wood, CT; Schlindwein, CCD; Soares, GLG. & Araujo, PB. 2012. Feeding rates of *Balloniscus sellowii* (Crustacea, Isopoda, Oniscidea): the effects of leaf litter decomposition and its relation to the phenolic and flavonoid content. *ZooKeys*, 176: 231–245.

- Yao, M; Rosenfeld, J; Attridge, S; Sidhu, S; Aksenov, V & Rollo, CD. 2009. The Ancient Chemistry of Avoiding Risks of Predation and Disease. *Evolutionary Biology*, 36: 267–281.
- Yeates, LV & Barmuta, LA. 1999. The effects of willow and eucalypt leaves on feeding preference and growth of some Australian aquatic macroinvertebrates. *Australian Journal of Ecology*, 24: 593–598.
- Zhishen, J; Mengcjeng, T & Jianming, W. 1999. The determination of flavonoide contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64: 555–559.
- Zimmer, M. 1999. The fate and effects of ingested hydrolysable tannins in *Porcellio scaber*. *Journal of Chemical Ecology*, 25: 611–628.
- Zimmer, M. 2002. Is decomposition of leaf litter influenced by its species richness? *Soil Biology and Biochemistry*, 34: 277–284.
- Zimmer, M; Kautz, G & Topp, W. 1996. Olfaction in terrestrial isopods (Crustacea: Oniscidea): responses of *Porcellio scaber* to the odour of litter. *European Journal of Soil Biology*, 32: 141–147.
- Zimmer, M; Kautz, G & Topp, W. 2003. Leaf litter-colonized microbiota: supplementary food source or indicator of food quality for *Porcellio scaber* (Isopoda: Oniscidea)? *European Journal of Soil Biology*, 39: 209–216.

CAPÍTULO 4

Isópodos terrestres (Isopoda, Oniscidea) e óleo essencial de *Eucalyptus saligna* (Myrtaceae): aspectos sobre sobrevivência e seleção de abrigos

**Isópodos terrestres (Isopoda, Oniscidea) e óleo essencial de
Eucalyptus saligna (Myrtaceae): aspectos sobre sobrevivência e
seleção de abrigos**

Diego Costa Kenne^{1,2,3*}, Isabella de Souza Morais³; Luis Henrique Ruiz da Silveira³;
Joaquim Flesch Salaberry³ & Geraldo Luiz Gonçalves Soares^{1,3}

¹ Programa de Pós-graduação em Ecologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, RS, Brazil.

² Laboratório de Carcinologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, RS, Brazil.

³ Laboratório de Evolução, Ecologia Química e Quimiotaxonomia, Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, RS, Brazil.

*Autor correspondente: diegokenne@gmail.com

RESUMO

Óleos essenciais são metabólitos secundários vegetais, caracterizados por sua alta volatilidade e por sua composição aromática. Possuem a importante função de repelência contra invertebrados fitófagos, principalmente insetos. Vários são os efeitos negativos observados para esse grupo, porém pouco se sabe quais são as consequências para outros táxons, como os isópodos terrestres. Recentemente foi observada a presença desses indivíduos em abundância em monocultura de *Eucalyptus saligna*. Sabe-se da baixa qualidade da serapilheira dessa espécie vegetal como fonte alimentar para isópodos, e a rigidez das suas folhas dificulta a sua ingestão por esses detritívoros. O presente trabalho objetivou registrar a sobrevivência de três grupos ecomorfológicos distintos (*volvacionais*, *corredores*, *aderentes*) de isópodos terrestres frente a doses gradativas de óleo essencial de *E. saligna*, individualmente e em maiores densidades de indivíduos, com/sem acesso a uma fonte alimentar, além de observar padrões na dinâmica de ocupação/seleção entre abrigos neutros e expostos ao óleo essencial, em grupo e individualmente. Quatro experimentos foram conduzidos para responder a essas questões. A presença de alimento demonstrou ser um fator mais significativo do que a dose de óleo em que os isópodos são expostos (*Armadillidium vulgare* - *volvacional*), assim como foi observado que os indivíduos em maiores densidades sobrevivem por mais tempo, independentemente da quantidade do volátil (*Atlantoscia floridana* - *corredor*, e *A. vulgare*). Individualmente, *Benthana picta* (*corredor*) ocupou, em média, os abrigos expostos ao óleo por mais tempo, *Balloniscus glaber* (*aderente*) os abrigos controle (H₂O destilada) e *A. vulgare* foi indiferente. Em grupo, *corredores*, *volvacionais* e *aderentes* se abrigaram por mais tempo (em média) nos abrigos controle. Os atributos morfológicos e, por consequência, o perfil fisiológico de cada grupo refletem nos resultados obtidos, os quais se referem à disparidade na espessura da cutícula, estratégias antipredatórias distintas e diferentes níveis de sensibilidade a estímulos químicos do ambiente em que as espécies são inseridas.

Palavras-chaves: Metabólitos secundários, repelência, detritívoros, experimento, volátil.

INTRODUÇÃO

Óleos essenciais são misturas complexas de metabolitos secundários voláteis de grande destaque dentre os produtos naturais das plantas (Nerio et al. 2010). Geralmente são encontrados na fase líquida na temperatura ambiente, volatilizam sem decomposição e são facilmente afetados por fatores abióticos (Isman 2000, Mauchline et al. 2005, Miresmailli & Isman 2006, Bakkali et al. 2008). Esses voláteis podem ser obtidos de diversas partes das plantas, como raízes, sementes e folhas (Ohmart & Edwards 1991, Batish et al. 2008, Puvača et al. 2019). Muitos são os métodos de obtenção de óleos essenciais, como a destilação com vapor ou em água, ou ainda com extração utilizando solventes voláteis (Williams 1996). A diversidade de odores provenientes das plantas é consequência direta da composição variada de seus óleos essenciais e seus principais componentes são os monoterpenoides, sesquiterpenoides e arilpropanoides (Batish et al. 2008, Bakkali et al. 2008, Ohara et al. 2010). Aproximadamente 17.500 espécies de plantas possuem óleos voláteis, e a grande maioria pertence às famílias Myrtaceae, Lauraceae, Lamiaceae, Verbenaceae e Asteraceae (Regnault-Roger et al. 2012). Pelo menos 10% dos tipos conhecidos de óleos tem importância econômica (Nerio et al. 2010).

Os óleos essenciais estão envolvidos na sinalização química dos vegetais (Park & Tak 2016). Alguns podem ter efeitos fitotóxicos, reduzindo as taxas de germinação e crescimento de outras plantas (Scrivanti et al. 2003, Azirak & Karaman 2008, Louppe et al. 2008). Em interações com animais, fungos e bactérias, óleos essenciais assumem a função de proteção contra uma gama variada de herbívoros e patógenos (Park & Tak 2016). Dentre estes, os artrópodos fitófagos são os principais alvos dessa relação (Ohmart & Edwards 1991, Anderson & Coats 2012, Asbahani et al. 2015). Para insetos, por exemplo, os monoterpenos de óleos essenciais têm ação neurotóxica, bloqueando neurotransmissores (Regnault-Roger 1997, Isman & Machial 2006). Outros metabolitos relacionados a óleos podem afetar o crescimento de artrópodos em diferentes estágios de vida, impossibilitando a produção de hormônios relacionados à muda (Tarelli et al. 2009, Regnault-Roger et al. 2012). Invertebrados com carapaça cerosa ou que possuem cutícula fina geralmente

morrem por perda excessiva de água ao entrarem em contato com óleos (Alexenizer & Dorn 2007, Gillilan 2012).

Os efeitos dos óleos essenciais podem ser também descritos como bloqueadores das enzimas digestivas, causando distúrbios alimentares em organismos fitófagos (Tarelli et al. 2009). A respeito desse último fato, óleos essenciais são bastante empregados no controle de pragas em plantações e de produtos em armazenamento de larga escala (Saraç & Tunç 1995, Isman 2006, Padin et al. 2013, Miresmailli & Isman 2014). Também são comercializados como repelente de insetos (Curtis et al. 1989). Embora os óleos essenciais sejam efetivos contra esses organismos, seus efeitos de repelência podem se dissipar rapidamente devido a sua alta volatilidade (Trongtokit et al. 2005). Muitos são os estudos que abrangem os possíveis efeitos de distintos compostos voláteis na repelência contra diferentes táxons de invertebrados (Landolt et al. 1999, Zhu et al. 2001, Koschier & Sedy 2003, Lori et al. 2005, Isman 2006, Cheng et al. 2007, Choochote et al. 2007, Goel et al. 2007, Anderson & Coats 2012).

As espécies de *Eucalyptus* (Myrtaceae), gênero nativo da Oceania, figuram entre as plantas mais estudadas quanto às características do seu óleo essencial. Esse fato se justifica pelo seu alto grau de adaptação em diversos habitats, ao seu crescimento rápido, ao grande valor econômico da sua madeira e, principalmente, pela sua diversidade de espécies (Pinto et al. 2004, Lopes et al. 2007, Garlet et al. 2009, Soares et al. 2010, Ibá 2015). No Brasil, a eucaliptocultura ocupa aproximadamente 3,5 milhões de hectares (Valverde et al. 2007). Devido à crescente expansão desse plantio, as florestas nativas e áreas de campos nativos têm sido ameaçadas (Lopes et al. 2007). O cultivo intenso de eucalipto desencadeia a depleção de nitrogênio no solo, o que exige o manejo baseado no uso de fertilizantes para o equilíbrio da proporção C:N, afetando diretamente organismos edáficos (Forrester et al. 2006, Laclau et al. 2008, Gonçalves et al. 2008). Em relação às consequências para a fauna de solo, monoculturas de eucalipto podem causar fortes impactos na diversidade, riqueza e distribuição de espécies (Inderjit & Mallik 1997, Ashagrie et al. 2005).

Para os detritívoros, a influência de óleos essenciais ocorre *a posteriori* em relação aos organismos herbívoros (insetos fitófagos, por exemplo), pois os

parâmetros que tangem esse nicho dependem das condições físicas da serapilheira e do grau de concentração dos compostos secundários remanescente no material orgânico depositada no assoalho florestal (Inderjit 1997, Ashagrie et al. 2005). As folhas que caem no solo vão perdendo sua integridade e, assim, a lixiviação é facilitada. Esse processo libera os produtos do metabolismo secundário e, conseqüentemente, acumula esses compostos nas camadas mais superficiais do sistema solo-serapilheira. Isso é o que acontece com taninos e fenólicos solúveis, por exemplo, que apesar de terem alta volatilidade podem ter sua influência no folhiço do solo prolongada por serem hidrofóbicos, ou por estarem presentes na forma de vesículas de óleo (Bernhard-Reversat 1993, Louzada et al 1997, Bernhard-Reversat et al. 2003). Além disso, o óleo de algumas espécies de *Eucalyptus* é conhecido por influenciarem o crescimento de fungos e bactérias (Canhoto & Graça 1999, Behera & Sahani 2003), podendo ocasionar efeitos diversos no consumo da serapilheira por alguns detritívoros.

Isópodos terrestres (Isopoda, Oniscidea) são detritívoros com grande representatividade na decomposição da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes do solo (Zimmer et al. 2003, Quadros & Araujo 2008, Wood et al. 2012). São classificados em grupos ecomorfológicos, os quais são baseados no comportamento antipredatório das espécies e refletem principalmente às características morfológicas dos indivíduos. Tatuzeiros classificados como *volvacionais* apresentam a cutícula espessa e antenas curtas, além de um corpo robusto com maior proteção contra variações ambientais. Oniscídeos do grupo dos *aderentes* são mais achatados dorso-ventralmente, conseguem aderir ao substrato com firmeza através de suas pernas, o que protege suas partes mais delicadas (ventre) de predadores e contra a perda de água para o ambiente. Já os *corredores* possuem longas antenas e cutícula mais fina em relação aos grupos anteriores, tornando-os mais sensíveis às alterações do ambiente, e em circunstâncias de ameaça partem em retirada com agilidade (*sensu* Schmalfuss 1984, Hornung 2011, Csonka et al. 2013).

Não diferente dos outros grupos de artrópodos edáficos, a ocorrência de isópodos na serapilheira de determinados cenários naturais depende do nível de metabólitos secundários vegetais presentes nesses microambientes (Reis et al. 2018). Em relação à interação entre oniscídeos e *Eucalyptus*, sabe-se que a

serapilheira desse gênero não é uma boa fonte alimentar para tatuzinhos-de-jardim devido à baixa qualidade nutricional e à dureza de suas folhas (Zimmer et al. 2005, Loureiro et al. 2006). Porém, recentemente foi observada elevada abundância de isópodos terrestres em um cultivo comercial de *Eucalyptus saligna* Sm., bem como em uma área florestal do perímetro urbano com presença significativa dessa espécie vegetal (dados não publicados).

Levando em consideração o potencial repelente de espécies de *Eucalyptus* para artrópodos de solo e a diversidade de características morfológicas, fisiológicas e comportamentais de três espécies de três distintos grupos ecomorfológicos (*sensu* Schmalzfuss 1984) de isópodos terrestres (Wood et al. 2017, Kenne et al. 2019, Pezzi et al. 2019), o presente trabalho teve como objetivos: I) Avaliar a sobrevivência de tatuzinhos-de-jardim frente diferentes doses de óleo essencial de *Eucalyptus saligna*, em grupo e individualmente, com/sem acesso a uma fonte alimentar; e II) observar padrões na dinâmica de ocupação e seleção de abrigos neutros e expostos ao óleo essencial, em grupo e individualmente.

As hipóteses deste estudo se baseiam nos diferentes níveis de sensibilidade que cada espécie de isópodo de cada grupo ecomorfológico pode apresentar nos diferentes cenários testados. Esperou-se que: isópodos com acesso à fonte alimentar apresentassem maiores taxas de sobrevivência no período de observação (Hipótese I); que o efeito negativo do óleo essencial de eucalipto é relacionado com a densidade de isópodos, sendo grupos de indivíduos da mesma espécie mais resistentes as maiores concentração do composto. (Hipótese II); *volvacionais* exibissem maior resistência às maiores doses de óleo de *E. saligna* devido à sua maior robustez em relação à espessura da cutícula do exoesqueleto (Hipótese III); abrigos expostos ao óleo seriam os menos ocupados pelos isópodos (Hipótese IV); e os perfis de seleção e estabilidade nos abrigos teriam resultados dos testes individuais similares às análises em grupo (Hipótese V).

MATERIAL & MÉTODOS

Espécies de isópodos terrestres e grupos ecomorfológicos

Quatro espécies de isópodos terrestres foram utilizadas nos diversos experimentos do presente estudo, as quais representaram três grupos ecomorfológicos distintos: *Armadillidium vulgare* (Latreille, 1804) (Armadillidiidae) (*volvo*), *Balloniscus glaber* Araujo & Zardo, 1995 (Balloniscidae) (*aderente*), *Benthana picta* (Brandt, 1833) (Philosciidae) (*corredor*) e *Atlantoscia floridana* (van Name, 1940) (Philosciidae) (*corredor*). Para fins de minimizar equívocos em relação aos nomes das espécies elas serão referidas através do gênero taxonômico.

Os espécimes de *Benthana* foram coletados no Parque Henrique Luiz Roesler, na cidade de Novo Hamburgo, RS, Brasil (29°41'15"S, 51°06'35"O). Já os de *Atlantoscia* foram obtidos no Campus do Vale da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) (30°04'07"S, 51°07'10"O). Tanto os espécimes de *Balloniscus* e de *Armadillidium* foram coletados em dois locais: em uma área residencial da zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil (30°12'30"S, 51°10'12"O) e também no Campus do Vale da UFRGS. Em laboratório todos os isópodos foram mantidos em ambiente de cultivo com temperatura e fotoperíodo controlados (18 ± 1°C e 12:12, respectivamente) e serapilheira do local de origem, além de discos de batata como fonte alimentar adicional.

Todos os animais utilizados nos experimentos passaram por aclimação antes do início de todas as observações (*ver detalhes na seção de cada teste*). A utilização de duas espécies do grupo ecomorfológico *corredor* se justifica pela maior abundância de *Atlantoscia* na natureza, porém *Benthana* apresenta tamanho e resistência maior para manutenção em laboratório (observação pessoal).

Óleo essencial de Eucalyptus saligna

O óleo essencial de *E. saligna* utilizado nos experimentos foi obtido a partir de folhas secas da serapilheira originária de um plantio localizado no município de Eldorado do Sul, RS, Brasil (30°11'02"S 51°37'14"O), pertencente à empresa CMPC

Celulose Riograndense. A extração do óleo foi através da técnica de destilação por arraste a vapor, a partir de 5 kg de folhas e utilizando um extrator de inox com uma taxa de fluxo de 3 L/h por 1 hora, com rendimento de 0,56% (peso/volume). Pequenas quantidades de sulfato de sódio anidro foram adicionadas dentro do frasco com óleo essencial para eliminar resíduos de água acumulada. Ao entrar em contato com o sulfato, a água se solidificava, e então o óleo essencial foi retirado do frasco. Após esse processo, óleo foi armazenado em ultrafreezer (-80°C). Toda essa metodologia de extração foi realizada no Laboratório de Extração de Óleos Essenciais da Universidade de Caxias do Sul (Silva et al. 2017).

Sobrevivência em diferentes microcosmos

Experimento 1: Óleo Essencial x Disponibilidade de Alimento

Primeiramente, a sobrevivência de *Armadillidium* foi observada por meio de testes de exposição contínua a três doses distintas de óleo essencial de *E. saliga* (0,5µl; 1µl e 1,5µl; e mais um tratamento controle com água destilada) e quanto à disponibilidade de alimento (presente/ausente). Quarenta e oito isópodos foram mantidos individualmente em placas de Petri (9 x 2 cm), totalizando em seis réplicas por combinação dos fatores “quantidade de óleo” e “disponibilidade de alimento”. O alimento disponível foi dois discos foliares de 1 cm de diâmetro de *Machaerium stipitatum* (DC.) Vogel (Fabaceae), espécie vegetal considerada fonte adequada de nutrientes para isópodos terrestres (Quadros et al. 2014).

As doses de óleo foram aplicadas em pequenas porções de algodão fixadas na parte interna da tampa das placas de Petri, evitando, assim, que os animais entrassem em contato direto com o óleo. As placas foram vedadas com papel filme para evitar que o óleo se difundisse para fora dos microcosmos, e mantidas em sala de cultivo com fotoperíodo e temperatura controlada (12:12 e 18 ± 1°C, respectivamente). Os isópodos foram acondicionados sem alimento dois dias antes do início dos experimentos. A sobrevivência foi observada diariamente pelo período de 15 dias. Os registros de quantidade de dias vivos foram analisados através de curvas de Kaplan-Meier e teste de Log-Rank (Mantel-Cox) ($\alpha < 0,05$). A diferença entre o número de sobreviventes referente ao fator de presença/ ausência de

alimento nas placas ao final do experimento foi comparada pelo teste não-paramétrico de Mann-Whitney ($\alpha < 0,05$).

Experimento 2: Óleo Essencial x Densidade de Isópodos

Nesse ensaio, as doses de óleo essencial administradas foram modificadas para 1 μ l e 2 μ l (além do controle) e todas as placas passaram a ter disponibilidade de alimento (dois discos de *M. stipitatum* por animal). Foram utilizados 168 espécimes de *Armadillidium*, distribuídos em oito réplicas para cada combinação do fator “quantidade de óleo” e “densidade de isópodos” (1 ou 6 indivíduos). As condições de aclimação pré-experimento, sala de cultivo e observação durante os 15 dias de testes foram as mesmas do experimento anterior. A sobrevivência foi descrita através de curvas de Kaplan-Meier e teste de Log-Rank (Mantel-Cox) ($\alpha < 0,05$). O tempo de sobrevivência entre a combinação dos dois fatores foi comparado através do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn para diferenças significativas ($\alpha < 0,05$).

Experimento 3: Aumento de dose de Óleo Essencial para Corredores e Volvacionais

Uma terceira etapa foi desenvolvida na investigação desses parâmetros. Porém, as quantidades de óleo de *E. saligna* foram ajustadas novamente, para 2 μ l e 4 μ l. Duas espécies de isópodos foram testadas neste ensaio: *Atlantoscia* e *Armadillidium*. Para a primeira espécie foi observada a sobrevivência individual dos animais (N=30, 10 réplicas para cada dose de óleo administrada e para o tratamento controle) e em grupos de 10 isópodos por placa (N=150, cinco réplicas por dose de óleo e controle). Para a segunda espécie foram utilizadas oito réplicas por tratamento, com cada placa de Petri contendo apenas grupos de oito indivíduos (N=192). O experimento manteve as mesmas condições que o anterior quanto à aclimação, disponibilidade de alimento, sala de cultivo e período de observação dos animais. O registro diário da sobrevivência das duas espécies gerou curvas de Kaplan-Meier, as quais foram analisadas pelo teste de Log-Rank (Mantel-Cox) ($\alpha < 0,05$).

Influência de óleo essencial na seleção e ocupação de abrigos (Experimento 4)

Os dados da seleção e da ocupação dos abrigos pelos isópodos foram obtidos através de filmagens da movimentação dos animais em arenas, registradas por aproximadamente 25 minutos. As gravações foram realizadas da parte de cima com câmera fotográfica SONY Cyber-shot 12.1Mp posicionada a 50 cm de duas arenas por vez. Os vídeos foram gravados em sala de cultivo a $22 \pm 1^\circ\text{C}$ no escuro, apenas com a iluminação de uma lâmpada LED A55 8W sobre as arenas (a 60 cm) no momento da filmagem. As arenas consistiram em recipientes plásticos transparentes de 10 x 21,5 x 30,5 cm (altura x largura x comprimento), com um tampão de vidro (~60 x ~50 cm) recobrindo ambas. As arenas foram posicionadas sobre papel ofício A3 com demarcações de regiões de transições (Figura 1).

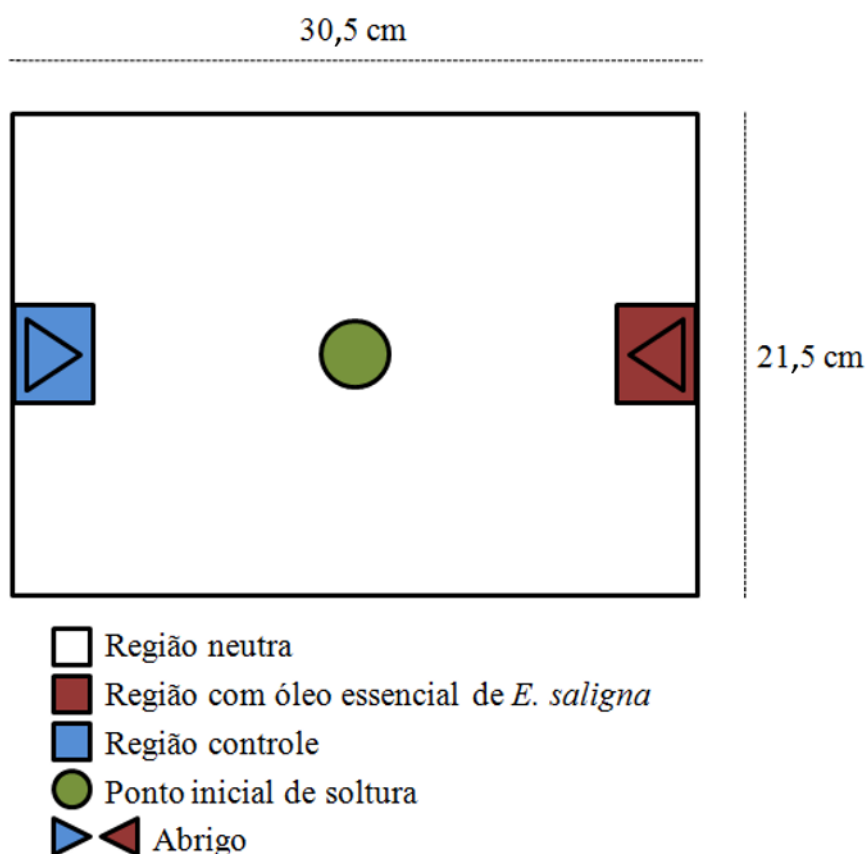


Figura 1. Representação esquemática da vista superior das arenas de observação do experimento de seleção e ocupação de abrigos exposto e não-exposto ao óleo essencial de *Eucalyptus saligna*.

Em cada arena foram colocados dois abrigos em posições opostas nas bordas mais distantes. Cada abrigo foi confeccionado a partir de papel aquarela de fibra de algodão, de dimensões 3 x 5 cm, dobrados ao meio. Na parte do “cotovelo” interno do abrigo um filtro de cigarro biodegradável (Papelito©) (6 mm de diâmetro e 15 mm de comprimento) foi fixado com fita dupla-face. Além disso, embaixo de cada abrigo foi colocado um suporte de polipropileno (25 x 25 mm) para comportar um disco de batata (18 mm de diâmetro x 5 mm de altura), o qual serviu como atrativo alimentar para os indivíduos.

Neste experimento, foram utilizadas três espécies de isópodos: *Benthana* (N=56), *Balloniscus* (N=56) e *Armadillidium* (N=56). Os animais foram aclimatados em câmaras sem alimento e individualmente por 48 horas antes dos testes. Antes da realização das filmagens, sete animais foram selecionados aleatoriamente. Destes, um foi colocado individualmente na região central de uma das arenas de testes, delimitada por um recipiente invertido de plástico transparente (25 mm de altura e 50 mm de diâmetro). Os seis isópodos restantes foram agrupados e passaram pelo mesmo processo na outra arena. Enquanto os animais se estabilizavam, um dos abrigos de cada arena recebeu uma dose de água destilada na região onde o filtro foi fixado. O abrigo oposto recebeu a dose de óleo essencial (2µl nas observações com *Benthana*, 3µl para *Balloniscus* e 4µl para *Armadillidium*, quantidades válidas também para água destilada). Os animais foram liberados logo em seguida a esse processo, assim como foi dado início à gravação na câmera e as arenas tampadas com o vidro. Esse procedimento foi repetido oito vezes com cada espécie, até que os 56 indivíduos fossem filmados nas arenas.

O período considerado para as análises dos vídeos quanto aos parâmetros de seleção e ocupação dos abrigos pelos isópodos se deu nos 900 segundos (15 minutos) após o instante em que o primeiro indivíduo ultrapassou o limite da área central (ponto de soldura) da arena. Nos testes com apenas um animal foram registrados: o primeiro e o último abrigo visitado, o número de passagens por cada abrigo e pela região neutra, o tempo de cada transição de local, o abrigo mais visitado, a visita de maior tempo contínuo e em qual posição, e o abrigo com maior tempo total de ocupação. Para cada abrigo (Controle - com água destilada - e com óleo essencial) e para a área neutra, foram calculados o tempo total médio de

permanência dos indivíduos, a proporção do tempo da maior visita no local em relação ao tempo total de observação e a média de visitas totais.

O tempo total médio foi comparado entre cada local da arena pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis ($\alpha < 0,05$) para *Benthana* e por Análise de Variância (ANOVA) ($\alpha < 0,05$) para *Balloniscus* e *Armadillidium*. Já nas análises considerando os estados “abrigado” e “não-abrigado” e também a preferência entre os dois tipos de abrigos, foi utilizado o teste t-pareado ($\alpha < 0,05$). Este teste foi utilizado da mesma forma para verificar diferença estatística quanto ao número total médio de visitas entre os abrigos. Para a comparação entre as proporções dos tempos médios da maior estabilidade em cada área foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis ($\alpha < 0,05$) para *Benthana* e *Balloniscus* e ANOVA para *Armadillidium*, e novamente o teste t-pareado acerca da análise considerando apenas os dois abrigos. Entre as espécies, foi comparado o número de transições entre as áreas da arena (correspondendo ao grau de estabilidade dos animais nos abrigos ou no setor neutro) pelo teste de Kruskal-Wallis ($\alpha < 0,05$).

Para o tratamento com seis coespecíficos na arena foi contabilizada a duração de cada um dos seguintes eventos de distribuição dos animais: maioria dos indivíduos na área neutra, maioria no abrigo controle, maioria no abrigo com óleo, igualmente distribuídos (dois em cada abrigo e dois na região neutra), igualmente todos abrigados (três no abrigo controle e três no abrigo com óleo), igualmente distribuídos no controle e na área neutra, e igualmente distribuídos no abrigo com óleo e na área neutra.

A comparação entre os totais médios de duração dessas ocorrências foi através do teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn ($\alpha < 0,05$). O mesmo teste foi utilizado para verificar o grau de movimentação em grupo entre as espécies, para a análise da diferença estatística considerando apenas os eventos de preferência de local na arena (área neutra, abrigo com óleo, abrigo controle e abrigos igualmente ocupados) e também na comparação entre os eventos apenas envolvendo os abrigos (maioria no controle, todos no controle, maioria no abrigo com óleo e todos no abrigo com óleo) e, nesses casos, seguido do teste de Dunn ($\alpha < 0,05$). Por fim, foi contabilizado o tempo total médio de ocupação de cada um dos dois abrigos disponíveis por pelo menos um indivíduo e comparado pelo teste

t-pareado ($\alpha < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas nos Softwares Bioestat 5.0, Past 4.03 e IBM SPSS Statistics 18.0.

RESULTADOS

Sobrevivência, densidade de animais e disponibilidade de alimento

Não foi observada diferença estatística quanto a sobrevivência de *Armadillidium* frente às distintas doses do óleo essencial de *E. saligna* administradas no primeiro experimento. Porém, o teste de Log-Rank (Mantel-Cox) apontou significância desse parâmetro em relação à diferença de disponibilidade de alimento durante a exposição dos animais ao óleo (Tabela 1), mesmo que todos os tratamentos tenham exibido sobrevivência acima de 75% (alta) (Figura 2).

Tabela 1. Valores de Log-Rank (Mantel-Cox) para as curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier e significância (p) do experimento com distintas doses de óleo de *Eucalyptus saligna* e quanto à presença/ausência de alimento para *Armadillidium vulgare*. * indica diferença estatística ($\alpha < 0,05$).

Variável	Log-Rank (Mantel-Cox)	p
Óleo	1,839	0,607
Alimento	5,28	0,022*

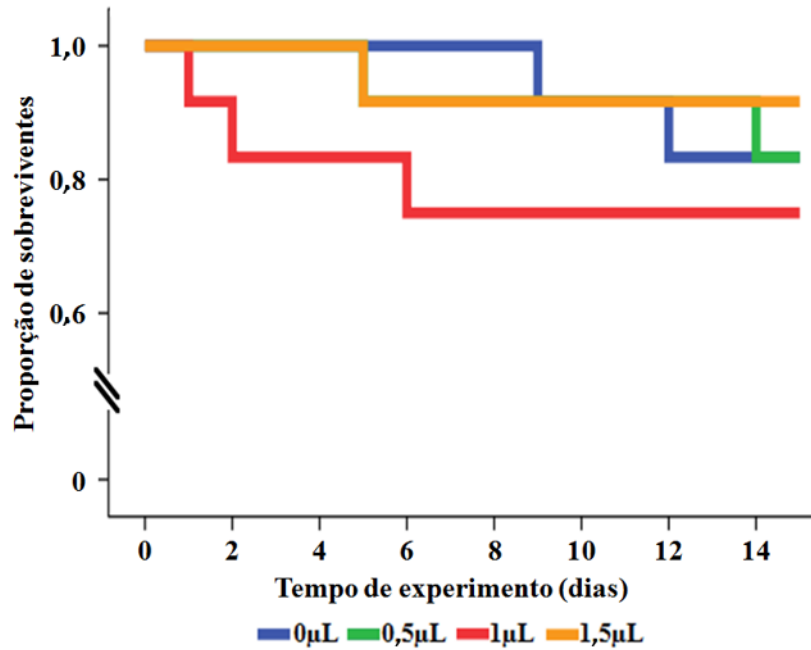


Figura 2. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevivência de *Armadillidium vulgare* em diferentes doses de óleo essencial de *Eucalyptus saligna* do experimento 1.

Pelo teste de Mann-Whitney a frequência acumulada de indivíduos sobreviventes ao final dos 15 dias de experimento diferiu entre os tratamentos ($Z=2,124$ e $p=0,034$) (Figura 3). Dos óbitos registrados, apenas um ocorreu no tratamento controle (com água destilada) com acesso dos animais aos discos de *M. stipitatum*, enquanto que o restante foi observado nas placas sem alimento.

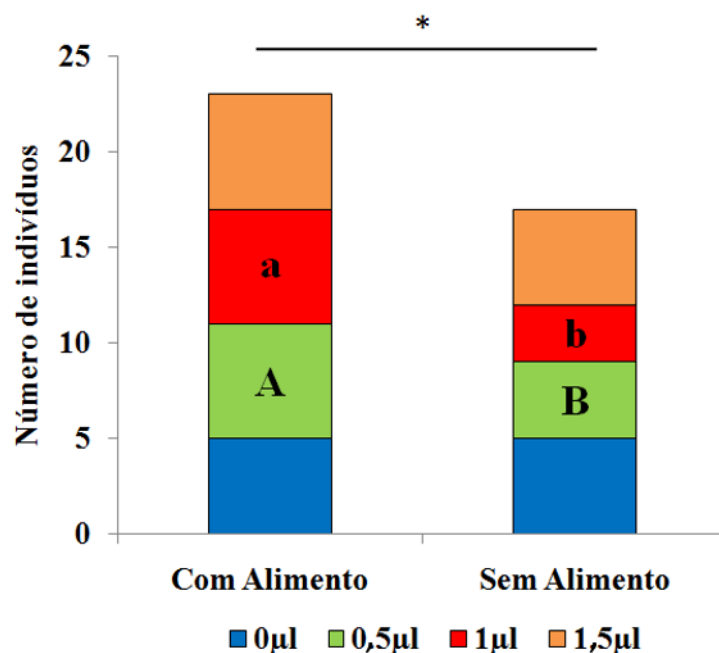


Figura 3. Frequência acumulada de sobreviventes de *Armadillidium vulgare* ao final de 15 dias de experimento, por dose de óleo administrada e por tratamentos com e sem acesso à fonte de alimento (discos de *Machaerium stipitatum*). Letras diferentes dentro das colunas de mesma cor indicam diferença significativa pelo teste de Log-Rank (Mantel-Cox) da curva de Kaplan-Meier. * acima das colunas indica diferença estatística pelo teste de Mann-Whitney ($\alpha < 0,05$).

Sobre o segundo experimento, novamente o diferencial estatístico não se deu entre as doses de óleo essencial de *E. saligna*, mas sim quanto à densidade de indivíduos nas placas (Tabela 2).

Tabela 2. Valores de Log-Rank (Mantel-Cox) para as curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier e significância (p) do experimento com distintas doses de óleo de *Eucalyptus saligna* e densidade de indivíduos de *Armadillidium vulgare*. * indica diferença estatística ($\alpha < 0,05$).

Variável	Log-Rank (Mantel-Cox)	p
Óleo	4,025	0,134
Densidade de indivíduos	12,018	0,001*

Foi observado que a proporção de isópodos vivos ao final dos 15 dias de experimento foi próxima a 100% para os animais agregados, diferindo estatisticamente dos que foram expostos individualmente ao óleo, independentemente da dose (Figuras 4 e 5). Além disso, foi demonstrado que a sobrevivência dos isópodos mantidos individualmente diminuiu à medida que se aumentou a quantidade do óleo nas placas (Kruskal-Wallis, $H=23.84$ e $p=0.0002$) (Figura 6).

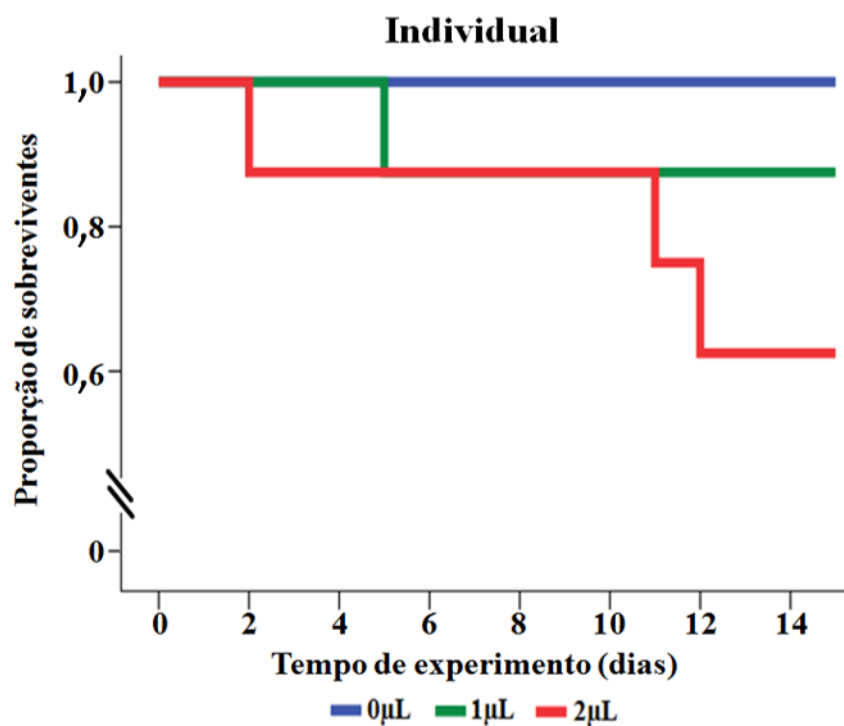


Figura 4. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevivência de *Armadillidium vulgare* mantidos individualmente por 15 dias em diferentes doses de óleo essencial de *Eucalyptus saligna* do experimento 2.

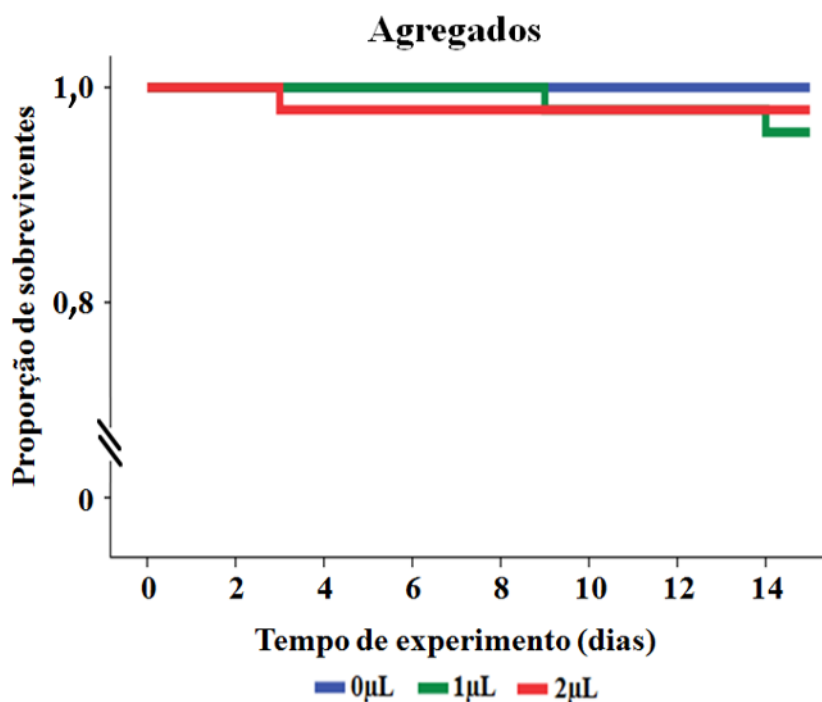


Figura 5. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevivência de *Armadillidium vulgare* mantidos em grupos de seis indivíduos por 15 dias em diferentes doses de óleo essencial de *Eucalyptus saligna* do experimento 2.

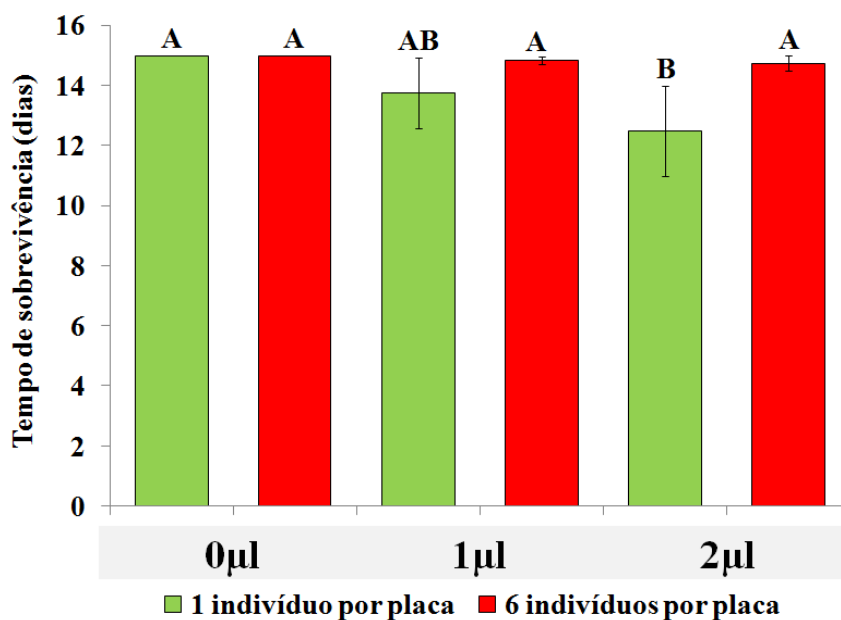


Figura 6. Tempo de sobrevivência médio em dias de *Armadillidium vulgare* por dose de óleo administrada e por densidade de indivíduos por unidade experimental do experimento 2. Letras diferentes acima das colunas indicam diferença significativa pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn ($\alpha < 0,05$). Barras nas colunas significam \pm um erro padrão.

Em contraponto, *Atlantoscia* apresentou diferença estatística quanto à sobrevivência entre as doses de óleo, tanto nos tratamentos em grupos de 10 indivíduos por unidade experimental como nas placas com apenas um animal (Tabela 3).

Tabela 3. Valores de Log-Rank (Mantel-Cox) para as curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier e significância (p) do experimento com distintas doses de óleo de *Eucalyptus saligna* e densidade de indivíduos de *Atlantoscia floridana*. * indica diferença estatística ($\alpha < 0,05$).

Tratamento	Log-Rank (Mantel-Cox)	p
1 indivíduo	38,361	< 0,001*
10 indivíduos	9,731	0,002*

No tratamento individual, a proporção de animais vivos ao final de 15 dias de experimento foi de 20% para ambas as quantidades de óleo utilizadas (2µl e 4µl) (Figura 7), enquanto que para os isópodos observados em grupo a dose mais baixa atingiu 20% e a mais alta 62% (Figura 8).

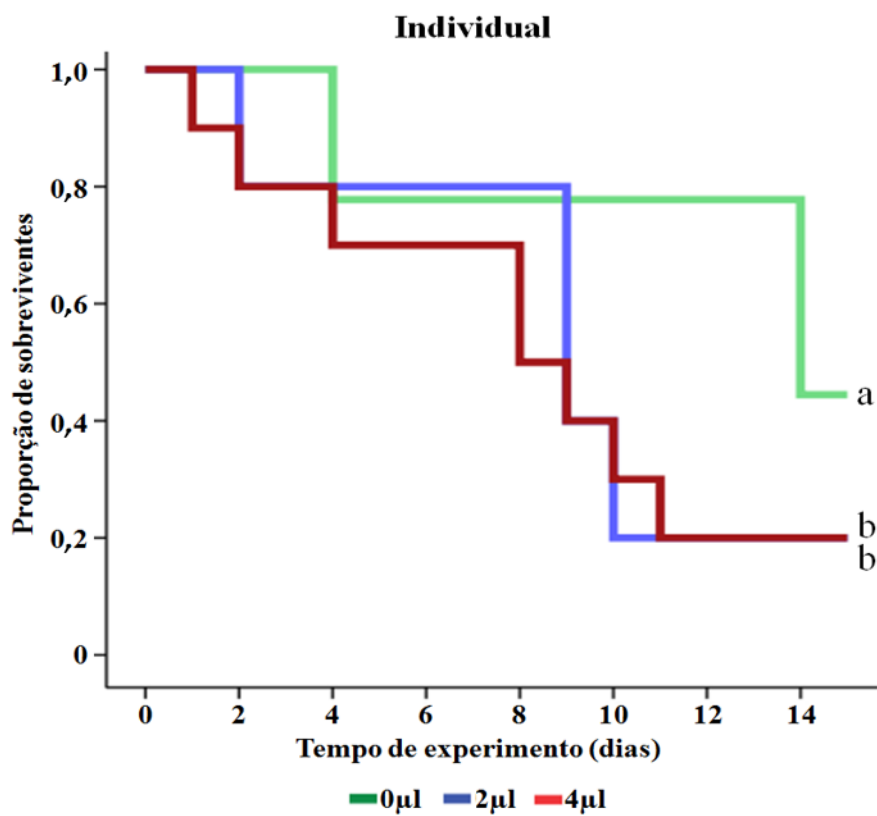


Figura 7. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevivência de *Atlantoscia floridana* mantidos individualmente por 15 dias em diferentes doses de óleo essencial de *Eucalyptus saligna*. Letras diferentes mostram diferença estatística pelo valor de Log-Rank (Mantel-Cox ($\alpha < 0,05$)).

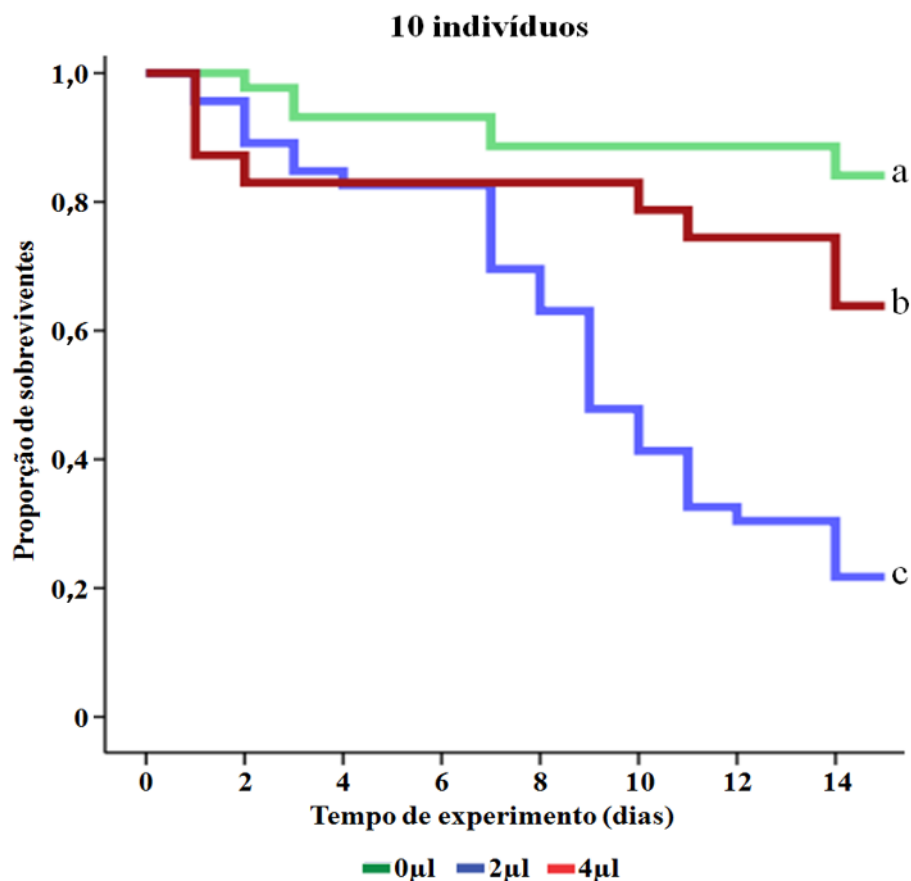


Figura 8. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevivência de *Atlantoscia floridana* mantidos em grupo de 10 indivíduos por 15 dias em diferentes doses de óleo essencial de *Eucalyptus saligna*. Letras diferentes mostram diferença estatística pelo valor de Log-Rank (Mantel-Cox) ($\alpha < 0,05$).

Apesar da proporção de sobreviventes ter sofrido um leve decréscimo em relação ao experimento anterior, não foi observada diferença estatística ao aplicar essas mesmas doses com grupos de oito indivíduos de *Armadillidium* (Log-Rank: Mantel-Cox=0,277 e $p=0,871$). O tratamento controle exibiu o menor valor para esse parâmetro (68%), e a maior dose do óleo a maior sobrevivência (74%) (Figura 9).

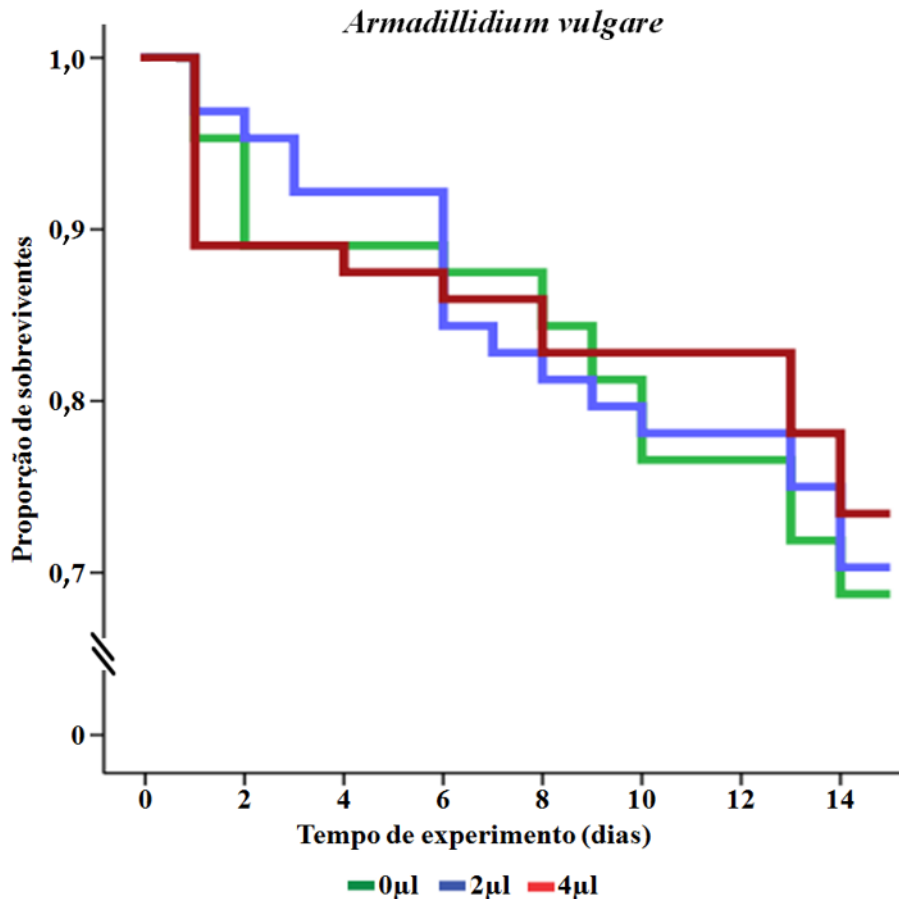


Figura 9. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevivência de *Armadillidium vulgare* mantidos em grupo de oito indivíduos por 15 dias em diferentes doses de óleo essencial de *Eucalyptus saligna*.

Seleção e ocupação de abrigos

Para as três espécies de isópodos terrestres foram registradas alternâncias de ocupação entre os dois abrigos das arenas experimentais durante os 15 minutos de observação. Nem sempre o primeiro abrigo visitado foi o mesmo em que o animal se estabilizou no final, bem como o abrigo em que foi registrado o maior tempo total não necessariamente foi no qual o indivíduo demonstrou maior tempo de estabilidade (permanência contínua) (Tabelas 4, 5 e 6).

Tabela 4. Registro de observação dos abrigos selecionados pelos espécimes de *Benthana picta* referentes aos parâmetros: 1º abrigo visitado, último abrigo visitado, abrigo como maior tempo total de seleção, abrigo com maior número de visitas e abrigo com maior tempo de estabilidade contínua. C: Abrigo controle (2µl de água destilada), O: Abrigo com óleo de *E. saligna* (2µl), =: Sem preferência.

Indivíduo	1ª visita	Última visita	Maior tempo	Mais visitado	Maior estabilidade
1	C	C	C	C	C
2	C	O	O	=	O
3	C	O	O	O	O
4	C	O	O	O	O
5	O	C	C	=	C
6	O	C	C	O	C
7	C	O	O	=	O
8	O	C	O	O	O
Total (C/O)	5/3	3/5	3/5	1/4	4/4

Tabela 5. Registro de observação dos abrigos selecionados pelos espécimes de *Balloniscus glaber* referentes aos parâmetros: 1º abrigo visitado, último abrigo visitado, abrigo como maior tempo total de seleção, abrigo com maior número de visitas e abrigo com maior tempo de estabilidade contínua. C: Abrigo controle (3µl de água destilada), O: Abrigo com óleo de *E. saligna* (3µl), =: Sem preferência.

Indivíduo	1ª visita	Última visita	Maior tempo	Mais visitado	Maior estabilidade
1	C	C	C	C	C
2	O	C	C	C	C
3	C	C	C	C	C
4	C	C	C	C	C
5	C	C	C	C	C
6	C	O	O	C	O
7	C	O	C	C	O
8	O	C	C	O	C
Total (C/O)	6/2	6/2	7/1	7/1	6/2

Tabela 6. Registro de observação dos abrigos selecionados pelos espécimes de *Armadillidium vulgare* referentes aos parâmetros: 1º abrigo visitado, último abrigo visitado, abrigo como maior tempo total de seleção, abrigo com maior número de visitas e abrigo com maior tempo de estabilidade contínua. C: Abrigo controle (4µl de água destilada), O: Abrigo com óleo de *E. saligna* (4µl), =: Sem preferência.

Indivíduo	1ª visita	Última visita	Maior tempo	Mais visitado	Maior estabilidade
1	C	C	C	C	C
2	O	O	O	O	O
3	O	C	C	=	C
4	O	O	O	O	O
5	O	C	C	O	C
6	O	O	O	O	O
7	C	O	O	=	O
8	C	C	C	C	C
Total (C/O)	3/5	4/4	4/4	2/4	4/4

O tempo total médio de permanência em cada abrigo e na região neutra da arena não diferiu estatisticamente para nenhuma das três espécies observadas (*Benthana*: Kruskal-Wallis, $H=3,813$ e $p=0,149$; *Balloniscus*: ANOVA, $F=2,804$ e $p=0,083$; *Armadillidium*: ANOVA, $F=0,361$ e $p=0,702$) (Figura 10). Porém, os dados indicaram diferença acerca do parâmetro entre os estados “abrigado e não-abrigado” dos animais e para a preferência entre um dos abrigos (Tabela 7).

Tabela 7. Valores de t e p para os Testes t-pareados comparando os tempos totais médios das três espécies de isópodos terrestres observadas durante 15 minutos em arenas com dois abrigos distintos. * indicam diferença estatística nas categorias de análise relacionadas ($\alpha < 0,05$).

Espécie	Tempo total Abrigado X Área Neutra		Tempo total abrigado Controle X Óleo	
	t	p	t	p
<i>Benthana picta</i>	-17,958	< 0,001*	-1,161	0,265
<i>Balloniscus glaber</i>	-3,165	0,007*	2,2	0,045*
<i>Armadillidium vulgare</i>	-1,788	0,095	0,195	0,848

Benthana apresentou maior tempo total médio de 502,1 (± 127) segundos nos abrigos com óleo essencial. Mesmo que a espécie tenha permanecido por mais tempo abrigada durante as observações, não foi observada preferência significativa entre os dois abrigos. Além de manter-se por mais tempo abrigados, *Balloniscus* preferiu o abrigo com água destilada (480,6 $\pm 113,1$ segundos). Em contraponto, para *Armadillidium* foi observado um tempo total médio maior na região neutra da arena (nenhum abrigo) de 357,8 (± 73) segundos, sem diferença estatística para nenhuma das categorias de análise desses dados.

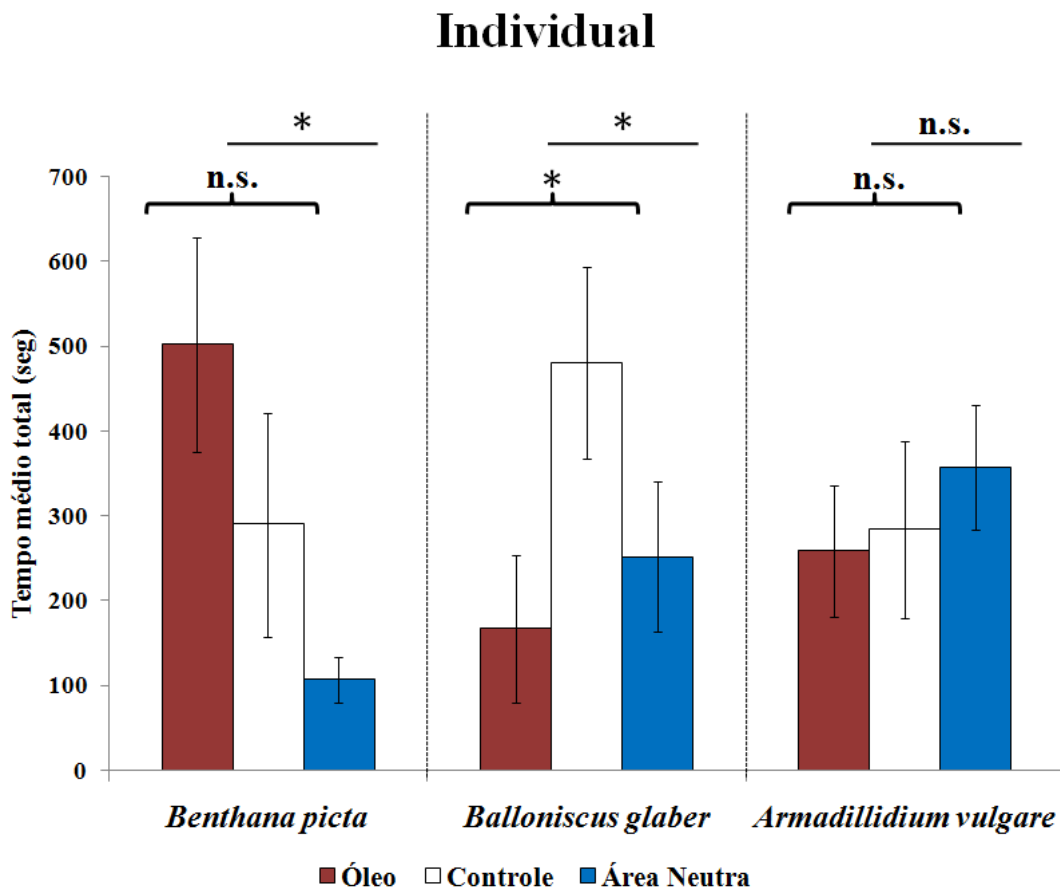


Figura 10. Tempo total médio (seg) de permanência em abrigos distintos e na região neutra para as três espécies de isópodos terrestres observados individualmente em arenas durante 15 minutos. Barras verticais nas colunas representam \pm erro padrão. Chaves acima das barras indicam análise de preferência entre abrigos. Barras horizontais acima das colunas indicam análise entre os estados “abrigados e não-abrigados”. * indicam diferença estatística ($\alpha < 0,05$). n.s.: não significativo.

O número médio de visitas entre os abrigos não diferiu estatisticamente para as três espécies (Teste t-pareado, *Benthana*: $t=-1,418$ e $p=0,178$; *Balloniscus*: $t=1,576$ e $p=0,137$; *Armadillidium*: $t=-0,989$ e $p=0,34$). Também não foi observada diferença estatística entre os maiores tempos contínuos médios entre todas as áreas (Kruskal-Wallis, *Benthana*: $H=5,279$ e $p=0,071$; *Balloniscus*: $H=4,58$ e $p=0,101$; ANOVA, *Armadillidium*: $F=0,361$ e $p=0,706$), assim como não foi mostrada disparidade nos dados comparando-se somente os abrigos (Teste t-pareado, *Benthana*: $t=-1,165$ e $p=0,264$; *Balloniscus*: $t=1,483$ e $p=0,16$; *Armadillidium*: $t=0,470$ e $p=0,646$). Em média, a maior duração de uma única visita registrada correspondeu aproximadamente à 50% ($\pm 14,2$) do tempo total (900 segundos) de observação no abrigo com óleo essencial para *Benthana*. Para *Balloniscus*, esse tempo atingiu 41,2% ($\pm 13,6$) no abrigo com água destilada. Diferentemente da análise referente à preferência de local na arena, *Armadillidium* não permaneceu o maior tempo contínuo na região neutra, mas sim no abrigo com água destilada, o qual correspondeu em média à 28.6% ($\pm 11,5$) dos 15 minutos de observação (Figura 11).

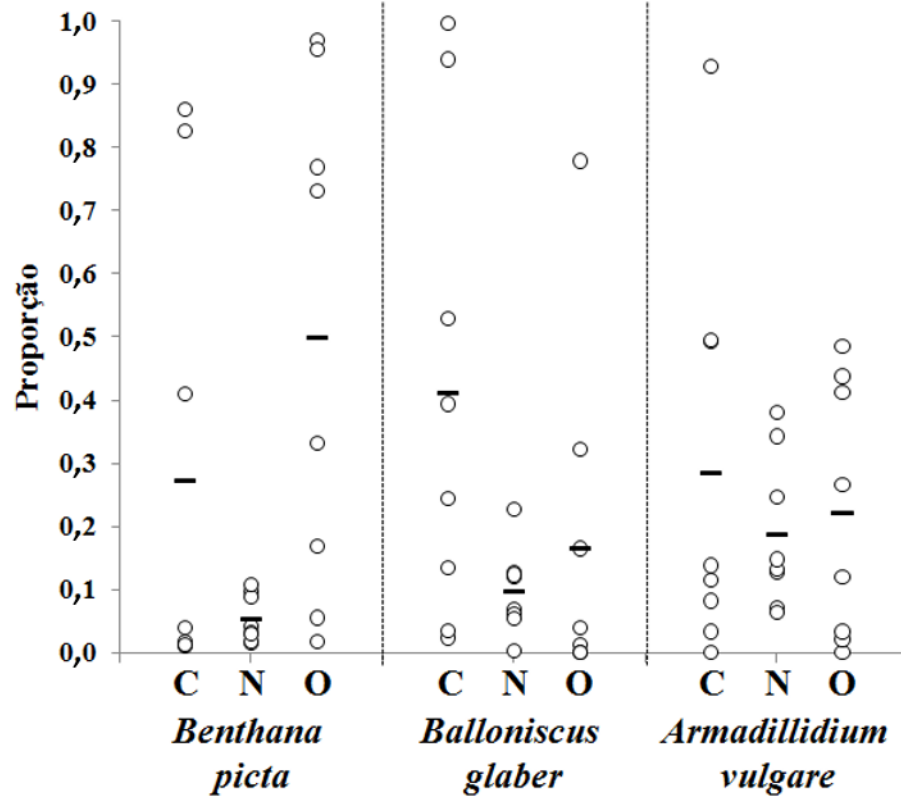


Figura 11. Proporção do maior tempo contínuo de permanência em cada região da arena em relação ao tempo máximo de observação (15 minutos) de cada indivíduo de cada uma das três espécies de isópodo terrestres. Traços horizontais em cada fileira vertical de pontos representam a média do conjunto. C: Abrigo controle, com água destilada, N: Área neutra, O: Abrigo com óleo essencial de *E. saligna*.

O número de alternância de local na arena não diferiu entre as espécies, mostrando que tanto *corredores*, *aderentes* e *volvacionais* exploraram o espaço e os abrigos disponíveis de forma similar (Kruskal-Wallis, $H=1,003$ e $p=0,606$) (Figura 12).

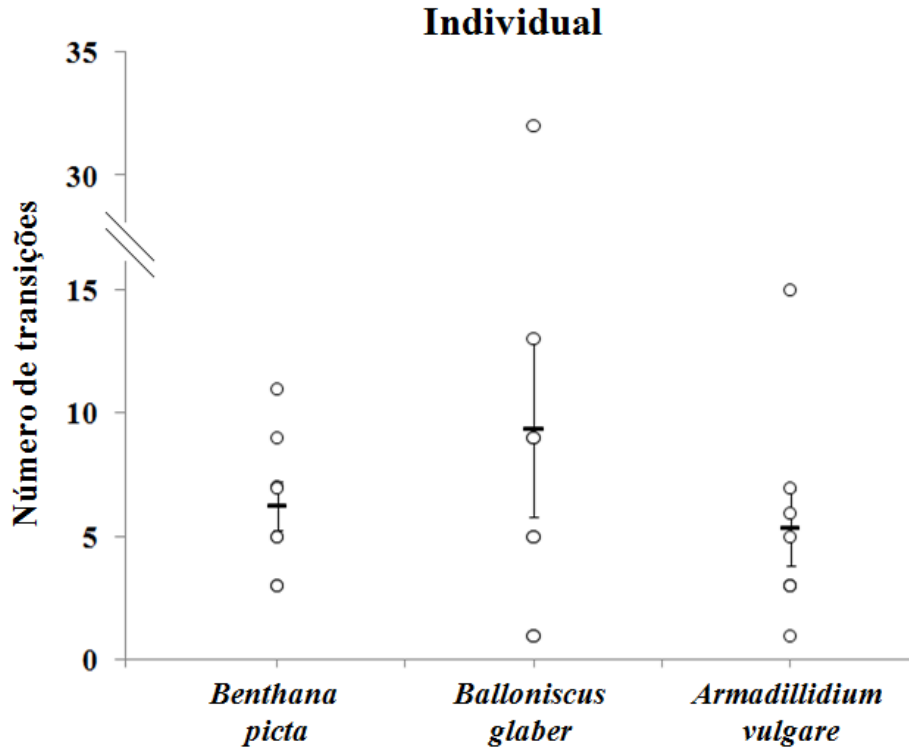


Figura 12. Número de transições pelas distintas áreas demarcadas na arena para as três espécies de isópodos terrestres observadas. Traços horizontais em cada conjunto de pontos indicam o número médio de mudança de local. Barras verticais indicam \pm erro padrão.

Considerando todas as possíveis alternativas de distribuição de indivíduos na arena nos testes com seis indivíduos, o tempo total médio diferiu estatisticamente para as três espécies (Kruskal-Wallis, *Benthana*: $H=23,886$ e $p=0,0005$; *Balloniscus*: $H=27,229$ e $p=0,0001$; *Armadillidium*: $H=24,855$ e $p=0,0004$). *Benthana* e *Balloniscus* exibiram maior tempo permanecendo no abrigo controle, com média de $368 (\pm 107,3)$ segundos e $441,5 (\pm 96,4)$ segundos (Figuras 13 e 14). Já *Armadillidium* preferiu a região neutra, exibindo média de $383,3 (\pm 106,9)$ segundos (Figura 15).

Benthana picta

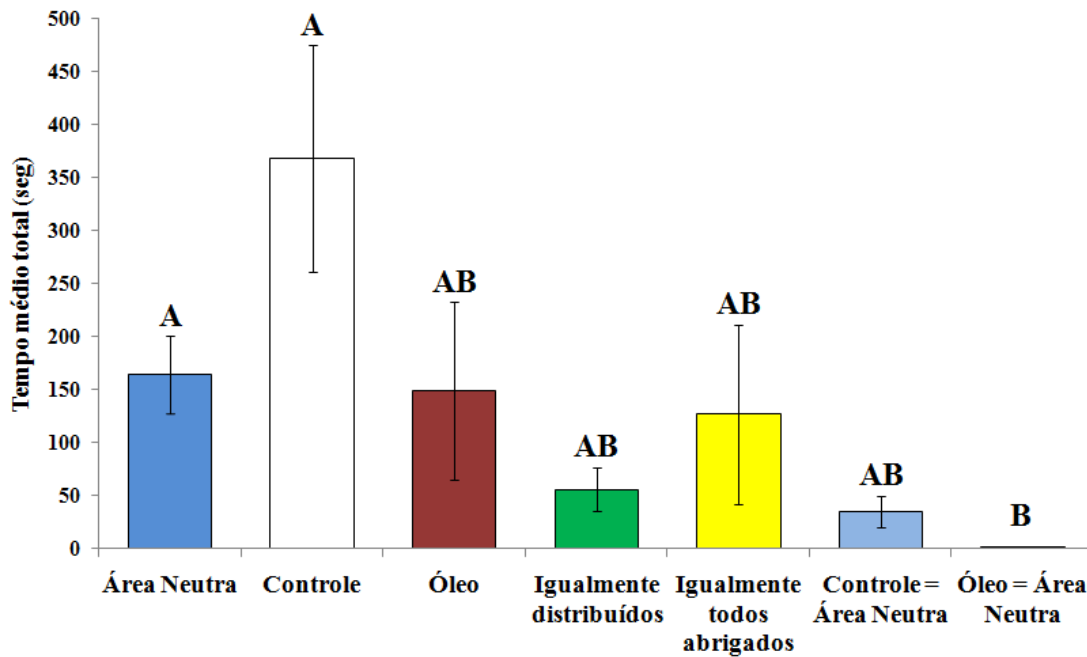


Figura 13. Tempo total médio (seg) de ocorrência de todas as alternativas possíveis de distribuição dos seis indivíduos de *Benthana picta* na arena observados durante 15 minutos. Barras verticais nas colunas representam \pm erro padrão. Letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn ($\alpha < 0,05$).

Balloniscus glaber

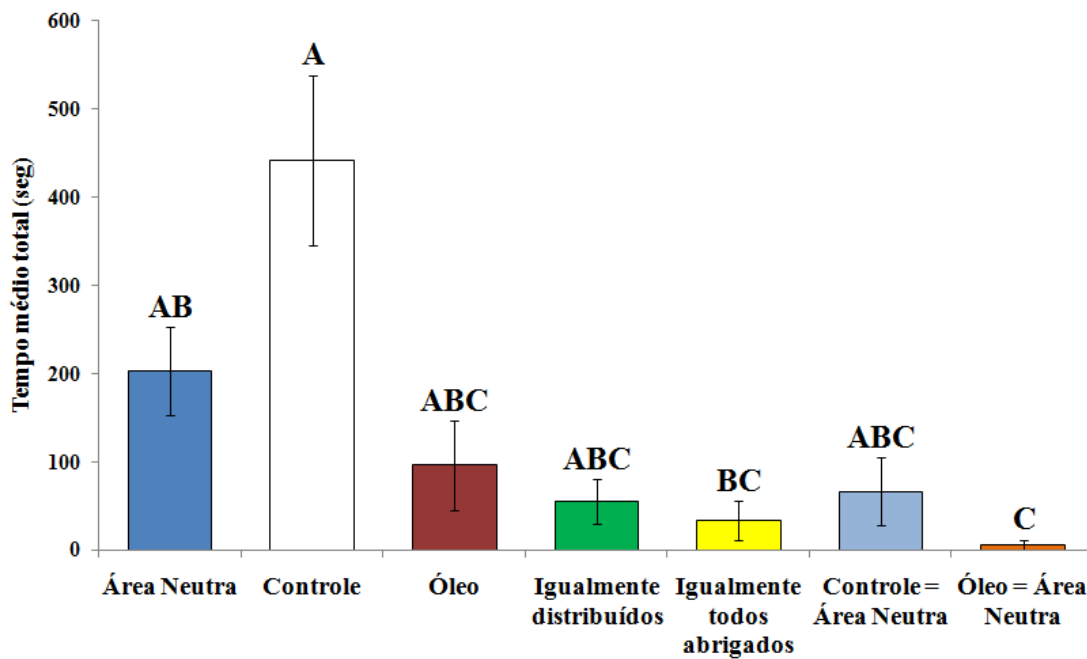


Figura 14. Tempo total médio (seg) de ocorrência de todas as alternativas possíveis de distribuição dos seis indivíduos de *Balloniscus glaber* na arena observados durante 15 minutos. Barras verticais nas colunas representam \pm erro padrão. Letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn ($\alpha < 0,05$).

Armadillidium vulgare

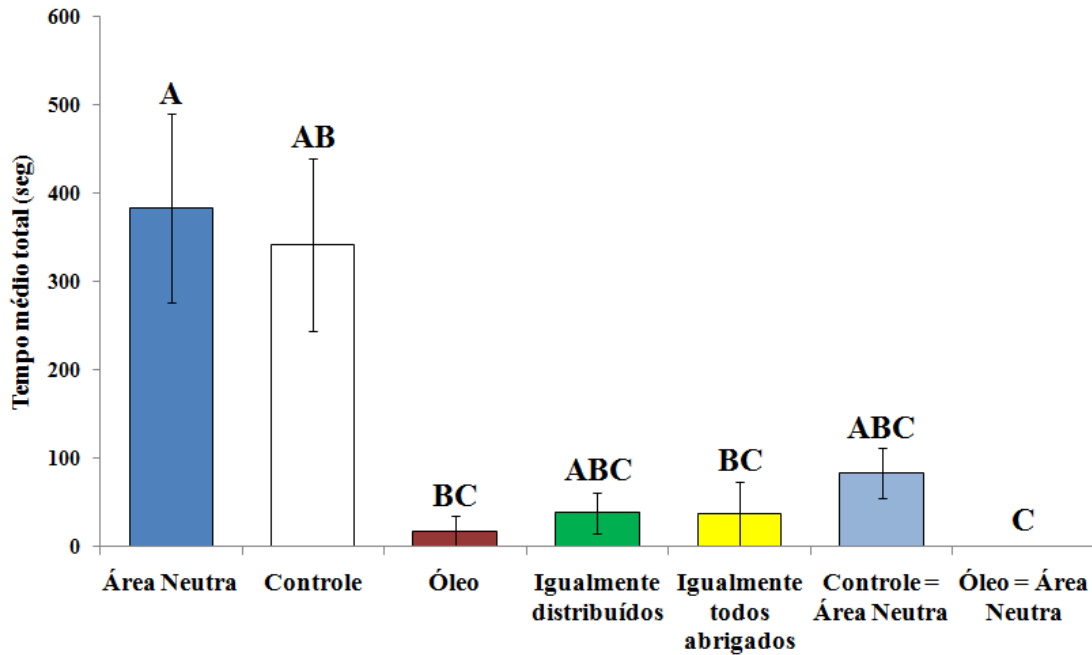


Figura 15. Tempo total médio (seg) de ocorrência de todas as alternativas possíveis de distribuição dos seis indivíduos de *Armadillidium vulgare* na arena observados durante 15 minutos. Barras verticais nas colunas representam \pm erro padrão. Letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn ($\alpha < 0,05$).

A exploração da arena demonstrou diferença estatística significativa entre as espécies para as observações em grupo (Kruskal-Wallis, $H=7,682$ e $p=0,022$). Em média, o grupo de *Benthana* alternou mais de locais na arena ($54,6 \pm 7,6$ vezes), seguido de *Balloniscus* ($41,4 \pm 8,1$ vezes) e *Armadillidium* ($25 \pm 4,3$ vezes) (Figura 16).

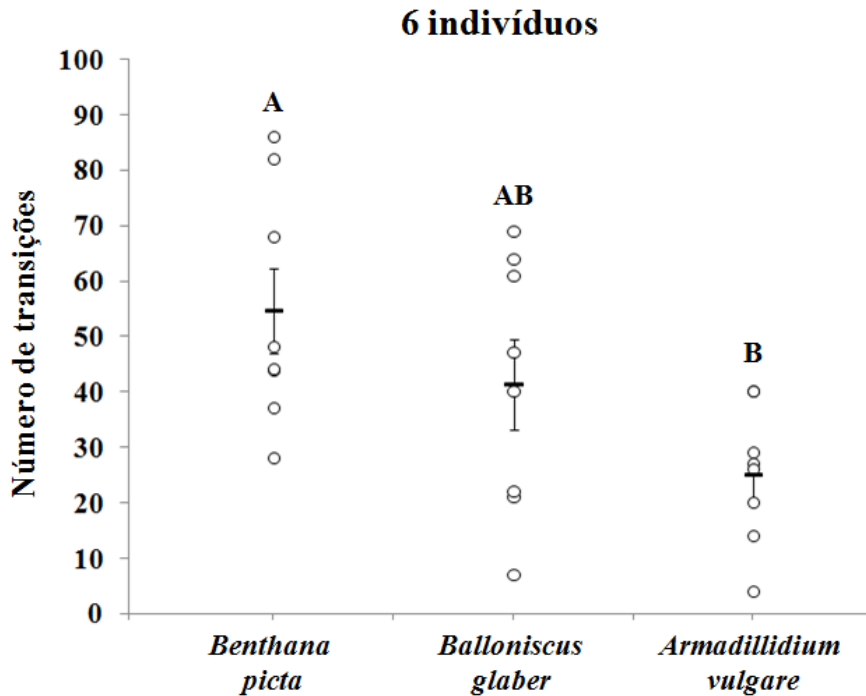


Figura 16. Número de transições pelas distintas áreas demarcadas na arena para as três espécies de isópodos terrestres observadas em grupos de seis indivíduos. Traços horizontais em cada conjunto de pontos indicam o número médio de mudança de local. Barras verticais indicam \pm erro padrão. Letras diferentes acima de cada conjunto de pontos representam diferença estatística entre as espécies pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn ($\alpha < 0,05$).

No que diz respeito à escolha direta dos distintos abrigos, as três espécies demonstraram resultados significativos (Kruskal-Wallis, *Benthana*: $H=16,446$ e $p=0,0009$; *Balloniscus*: $H=16,964$ e $p=0,0007$; *Armadillidium*: $H=17,072$ e $p=0,0007$). *Balloniscus* e *Armadillidium* exibiram maior tempo total médio de permanência em maiores densidades de indivíduos no abrigo controle, com $613 (\pm 94,7)$ segundos e $647,1 (\pm 89,4)$ segundos, respectivamente. *Benthana* não apresentou diferença significativa entre os valores referentes ao abrigo controle em comparação ao com óleo essencial (Figura 17).

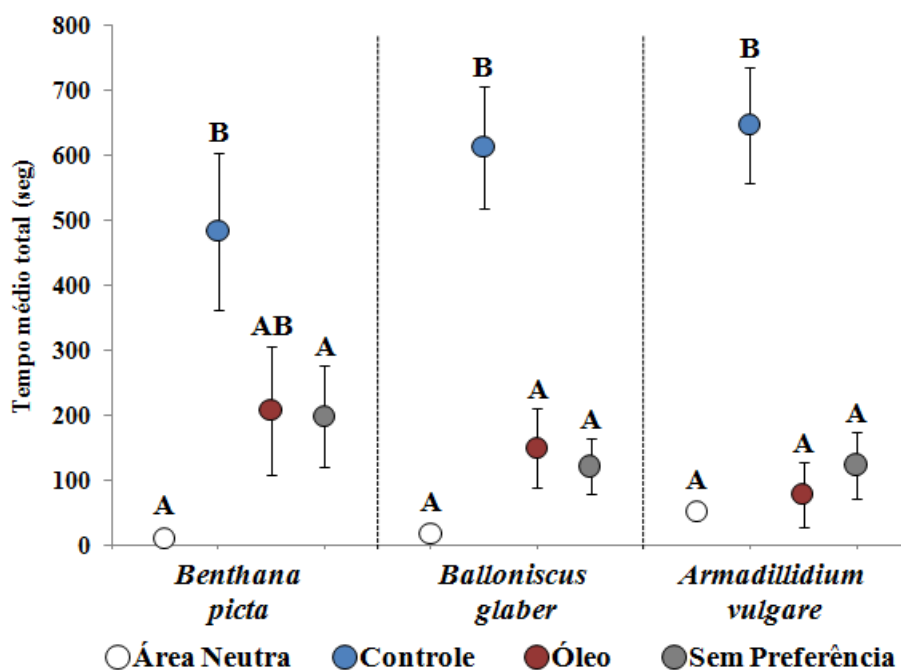


Figura 17. Tempo total médio (seg) de distribuição dos seis indivíduos das três espécies de isópodos terrestres na arena considerando a preferência entre os abrigos, observados durante 15 minutos. Barras verticais nos pontos representam \pm erro padrão. Letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn ($\alpha < 0,05$).

Considerando os momentos em que todos os indivíduos estão abrigados, *Benthana* e *Balloniscus* exibiram diferença significativa (Kruskal-Wallis, *Benthana*: $H=9,737$ e $p=0,007$; *Balloniscus*: $H=14,374$ e $p=0,006$). Apesar da análise *pos-hoc* (teste de Dunn) não ter apontado diferença entre o tempo médio total médio de preferência entre os abrigos, ambas espécies exibiram maior densidade de indivíduos presente no abrigo controle. Para *Armadillidium*, não houve diferença estatística (Kruskal-Wallis, $H=2,382$ e $p=0,666$), mesmo que a preferência dos indivíduos pelo abrigo com óleo essencial tenha sido nula, ocorrendo apenas em iguais densidades ao abrigo controle (Figura 18).

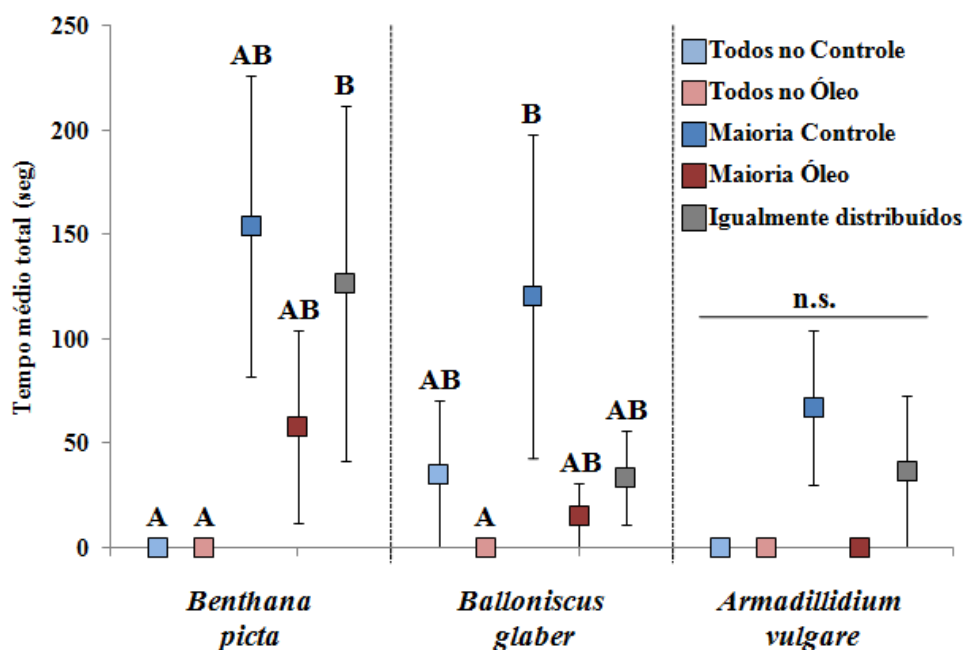


Figura 18. Tempo total médio (seg) de distribuição dos seis indivíduos das três espécies de isópodos terrestres na arena considerando a preferência entre os abrigos apenas nos momentos em que todos estão abrigados, observados durante 15 minutos. Barras verticais nos quadrados representam \pm erro padrão. Letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn ($\alpha < 0,05$).

Entre os abrigos, o grau de ocupação durante os 15 minutos de observação diferiu estatisticamente apenas para *Armadillidium*, apontando maiores densidades de indivíduos nos abrigos com água destilada (Teste t-pareado, $t=4,189$ e $p=0,004$). Mesmo demonstrando indícios de maiores tempos totais médios nesse mesmo abrigo, *Benthana* e *Balloniscus* não exibiram valores significativos para esse parâmetro (Teste t-pareado, *Benthana*: $t=1,477$ e $p=0,183$; *Balloniscus*: $t=2,126$ e $p=0,071$).

DISCUSSÃO

No presente estudo, foi possível registrar variações do efeito do mesmo óleo para os representantes dos três grupos ecomorfológicos de isópodos terrestres, em distintas quantidades e diferentes cenários e períodos de exposição. Cada experimento demonstrou os possíveis artifícios morfológicos, fisiológicos e comportamentais disponíveis ao alcance dos animais para a adaptação que melhor se adequasse à sobrevivência individual e em grupo.

Os principais atributos que conferem os resultados quanto ao comportamento observado para as três espécies de isópodos terrestres no presente estudo estão diretamente relacionados à diversidade de características quanto aos seus órgãos dos sentidos. A cutícula de isópodos terrestres protege o animal de estresses mecânicos externos e apresenta estruturas para receber e conduzir informações sensoriais (Seidl et al. 2011). Sensilas estão distribuídas por todo o corpo, além de quimiorreceptores presentes nas peças bucais e nos sete pares de pernas (Vandel 1960, Holdich & Lincoln 1974, Holdich 1984). As segundas antenas aparentemente respondem aos compostos voláteis presentes no ar (Hoese & Schneider 1990, Schmalfuss 1998, Hansson et al. 2011). A percepção desses sinais pode ocorrer através da movimentação das antenas e/ou pelo toque (Hoese & Schneider 1990). São por esses estímulos que os isópodos encontram alimento e regulam a comunicação intraespecífica, transmitindo informações químicas sobre o ambiente ao redor (Zimmer et al. 1996, Schmalfuss 1998, Hornung 2011).

A cutícula de *Armadillidium* é a mais espessa dentre as espécies utilizadas no presente estudo, o que lhe confere maior proteção contra predadores, baixa permeabilidade e baixa perda de água (Broly et al. 2015; Nako et al. 2018, Csonka et al., 2018), além de ser altamente mineralizada (Hild et al. 2008), propiciando maior resistência contra substratos abrasivos e materiais para marcação do exoesqueleto (Kenne et al. 2019). As segundas antenas são mais curtas em comparação aos *corredores* e a maioria dos *aderentes*. Em todos os experimentos, *Armadillidium* apresentou maior resistência (ou “indiferença”) à exposição de diversas doses do óleo essencial de *E. saligna*. Com acesso a uma fonte alimentar, nenhum dos tratamentos com óleo pareceu ter efeito na sobrevivência dos indivíduos no primeiro experimento. Além disso, a espécie também não exibiu preferência entre os abrigos exposto e não exposto ao óleo quando testados individualmente.

Já *corredores* (*Atlantoscia* e *Benthana*) possuem exoesqueleto mais fino, leve e delicado, com maior permeabilidade e flexibilidade (Vittori & Štrus 2014, Vittori et al. 2016, Wood et al. 2017) e o segundo par de antenas é longo em relação ao comprimento total do corpo (Schmalfuss 1984). Essas características esclarecem a alta sensibilidade de *Atlantoscia* para os resultados sobre a taxa de sobrevivência frente a exposição de distintas doses do óleo. Visto que a estratégia adotada por

corredores em situações de incômodo é se afastar (dispersar) em alta velocidade (Neues et al. 2007), o espaço interno das placas de Petri não permitiu que os isópodos usufríssem desse artifício. Para outros grupos de artrópodos, há registros de observações desse mesmo padrão, indicando que o efeito de óleos essenciais é mais prejudicial para insetos de carapaça mole e corpo mais delicado, como o tripes *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera, Thripidae), o pulgão-verde-do-pessegueiro *Myzus persicae* (Hemiptera, Aphididae), e a mosca-branca-de-estufa *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera, Aleyrodidae), do que em outros de exoesqueletos mais rígidos (Isman 2000, Bostanian et al. 2005, Kimbaris et al. 2010, Delkoon et al. 2013, Park & Tak 2016). Quanto à seleção de abrigos, ao contrário da hipótese levantada, *Benthana* ocupou por mais tempo total o local com óleo essencial nos testes individuais e não foi a espécie que mais se movimentou na arena. A quantidade de 2µl de óleo administrada para esses isópodos pode não ter o mesmo efeito de repelência observado para *Atlantoscia*, bem como provavelmente o tempo de 15 minutos de observação não foi suficiente para gerar repulsa e afastamento dos animais.

Balloniscus apresenta cutícula com espessura semelhante à de outros *aderentes* (Hild et al. 2008) e o segundo par de antenas de tamanho intermediário de *volvacionais* e *corredores*. Além disso, segundo Wood et al. (2017), tanto *Balloniscus* como *Atlantoscia* exibem um tecido nervoso embaixo da cutícula que pode estar relacionado à função quimiossensorial, associados às sensilas do exoesqueleto. A maior estabilidade de *Balloniscus* nos abrigos sem óleo presumivelmente reflete ao hábito comum de *aderentes* em situações que representem perigo: aderir ao substrato favorável e permanecer imóvel (*sensu* Schmalfuss 1984). Individualmente, *Balloniscus* foi a espécie que mais explorou a arena do experimento e os espécimes se estabeleceram por um maior tempo no local menos afetado pelo óleo. Esse comportamento de aversão observado para *aderentes* se assemelha ao que acontece para a maioria dos artrópodos estudados em testes de repelência de compostos voláteis de origem vegetal, como o gorgulho-do-milho *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae), o mosquito *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae) e o tripes-do-fumo *Thrips tabaci* (Thysanoptera, Thripidae) (Ndungu et al. 1999, Koschier & Sedy 2003, Erler et al. 2006).

No experimento de seleção e ocupação de abrigos em grupo de seis indivíduos, as três espécies exibiram tendência em permanecer por mais tempo nos locais sem exposição ao volátil de *E. saliga*. Estes resultados divergiram do que foi observado individualmente para *Benthana* e *Armadillidium*, indo de contraponto à hipótese levantada para estes parâmetros. Mesmo que o tempo de observação não tenha sido suficiente para os animais impregnarem as arenas com feromônios de agregação (presente nas fezes - Takeda 1980), a sinalização para a formação de um núcleo de segregação distante do óleo ocorreu. A comunicação entre os isópodos se deu por outros meios, possivelmente pelo contato das antenas entre os indivíduos e pela liberação de voláteis indicativos de locais propícios para abrigo (Takeda 1989, Loureiro et al. 2005). Dentre as vantagens do comportamento de agregação de isópodos terrestres está a proteção contra fatores externos que podem penetrar pela cutícula (Broly et al. 2013). Esse argumento também é válido para o maior tempo de sobrevivência observado nos tratamentos de maior densidade de isópodos quando comparados aos testes com apenas um indivíduo expostos à mesma dose de óleo essencial (Takeda 1984, Thiel 2011).

A disponibilidade de uma fonte alimentar adicional parece ser um fator determinante para a sobrevivência de isópodos terrestres expostos ao óleo essencial de *E. saligna*. Em ambientes naturais, sabe-se que a presença de oniscídeos em serapilheira de *Eucalyptus* spp. não se deve pelo condicionamento alimentar, já que a rigidez das folhas dificulta sua ingestão, além da presença de outros metabólitos secundários vegetais (Martins et al. 2013, Tonello et al. 2014). Tatuzinhos-de-jardim que colonizam esse tipo de assoalho florestal provavelmente utilizam serapilheira de outras espécies de plantas (sub-bosque) como alimento. Jones & Paine (2012) inferiram que *Armadillidium vulgare* pode se beneficiar com a infestação de psilídeos (Hemiptera, Psyllidae) em folhas do gênero *Eucalyptus*, pois esses últimos podem aumentar o teor de açúcares no folhíço e induzem o crescimento do “bolor de fuligem” na serapilheira. Utilizando óleo essencial do alecrim *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) e da camomila *Matricaria chamomilla* L. (Asteraceae), Chopa & Descamps (2019) observaram repelência por parte de *A. vulgare*, e os autores enfatizaram sobre a quimiossensibilidade das segundas antenas dos isópodos em relação aos metabólitos secundários presentes no óleo. Panlasigui (2011), também observando o comportamento de *A. vulgare*, relatou que

um habitat constituído por folhas de *Quercus agrifolia* Nee. (Fagaceae) é preferível a um composto por folhas de *Eucalyptus globulus*.

O tempo de exposição aos voláteis, o espaço em que eles estão em constante liberação e a sua quantidade acumulada tem relevância nesses tipos de ensaios devido ao grau de importância que óleos essenciais têm em estudos de avaliação da eficácia de pesticidas empregados em controles de pragas (Bernhard-Reversat 1993, Louzada et al. 1997, Lori et al. 2005, Anderson & Coats 2012). O modo de aplicação, a sinergia dos constituintes do óleo e de fatores ambientais e a espécie vegetal de origem podem ser específicos para um determinado táxon (Spurr & McGregor 2003, Nerio et al. 2010, Isman et al. 2011, Anderson & Coats 2012).

Foi observado que alguns óleos essenciais de eucalipto vendidos comercialmente têm efeito de repelência contra picada de insetos por cerca de até 8 horas (Trigg & Hill 1996). Quando aplicado na roupa, o efeito se estende para pelo menos 8 dias (Mumcuoglu et al. 1996). Há registro do efeito sinérgico para a combinação de óleos de *Artemisia princeps* Pamp. (Asteraceae) e *Cinnamomum camphora* (L.) J.Presl. (Laureaceae) com efeito repelente para *Sitophilus oryzae* (Coleoptera, Curculionidae) e *Bruchus rugimanus* (Coleoptera, Chrysomelidae) (Liu et al. 2006). Porém, o mesmo cenário não foi observado quando os voláteis foram testados individualmente. Utilizando *E. citriodora* e *E. globulus*, Yan & Tan (1998) observaram que o óleo essencial da primeira espécie foi mais efetivo do que a segunda. Concentrações de 10% de óleo *E. citriodora* repeliu três espécies de coleópteros (Coleoptera, Cerambycidae) por 4 - 12 dias, enquanto que 0.6% apresentou esse efeito por 1 - 11 dias para os mesmos grupos alvos (Yan & Tan 1998). Lin (1998), trabalhando com as mesmas espécies vegetais, constatou um cenário contrário da influência dos voláteis em cupins (Insecta, Isoptera). Expostos a concentrações de 2% de óleo de *E. globulus* os indivíduos foram repelidos, porém, a 0.25% não causou dano algum para os animais (Lin 1998). Anderson & Coats (2012) inferiram que essas variações ocorrem devido às plantas geralmente apresentarem defesas como um conjunto de compostos, e não cada um individualmente.

Em ambientes naturais, a amplitude de desfechos para esses contextos é ainda maior, visto a diversidade de estratégias de sobrevivência documentadas para

oniscídeos. *Corredores* poderiam simplesmente se dispersar em poucos segundos, *volvacionais* tomariam a forma de esferas e *aderentes* se enterrariam na camada superficial do solo. Além disso, as condições de exposição à voláteis na natureza e a sua biodisponibilidade não ocorre de forma uniforme (Van-Gestel & Van-Straalen 1993), bem como a variabilidade e distribuição de recursos (abrigo, alimento) (Van-Capelleveen 1987, Drobne et al. 1995).

Considerando o grau de repelência do voláteis de *Eucalyptus* spp. para diversos grupos funcionais de artrópodos de solo (Hadis et al. 2003, Yang & Ma 2005, Jaenson et al. 2006, Yi et al. 2007, Toloza et al. 2008, Batish et al. 2008, Mousa et al. 2013), os já documentado para isópodos (Singh et al. 1991, Louppe et al. 2008) e os resultados obtidos no presente trabalho, a presença de oniscídeos em ambientes naturais com serapilheira de eucalipto pode estar relacionada a uma estratégia alternativa de evitar contato com predadores de isópodos em potencial. Além disso, Siqueira et al. (2016) sugerem que os grandes grupos de fauna do solo que relacionados com assoalho florestal de origem de eucalipto (Isopoda, Poduromorpha e Gastropoda) são organismos adaptados a ambientes com alto conteúdo de matéria orgânica, consequentes de muitos eventos de lixiviação e armazenamento de água no solo. A solubilização dos compostos secundários presente nesse tipo de serapilheira é uma das principais premissas para a colonização desses microhabitats por detritívoros (Tonello et al. 2014). Segundo Skorupa et al. (2015), não somente as características químicas das folhas senescentes são importantes para o processamento desse material orgânico por detritívoros e decompositores, como também a temperatura e a umidade do solo.

Cada espécie de isópodo terrestre testada no presente trabalho demonstrou comportamento correspondente ao grupo ecomorfológico ao qual pertence na maioria dos experimentos, indicando que as diferentes características morfológicas e processos fisiológicos configuraram distintas respostas aos tipos de exposição ao óleo essencial de *E. saligna* e cenários em que os animais foram inseridos. Estudos que informem esses parâmetros de suporte e adaptações de comportamento dos seres são de suma importância, pois a ocorrência e distribuição em diferentes escalas dependem da tolerância ecológica das espécies e das condições apropriadas dos habitats (Hornung et al., 2008, Csonka et al., 2013). Dentro de um mesmo grupo

funcional, a amplitude da capacidade de adequação ao ambiente pode variar drasticamente, mostrando populações mais instáveis do que outras de espécies estreitamente relacionadas no mesmo local (Araujo & Bond-Buckup 2005, Quadros & Araujo 2008, Kenne & Araujo 2015, Wood et al. 2017). Isso pode gerar consequências que influenciam diretamente nas funções do solo relacionadas aos principais serviços do ecossistema, como a ciclagem de nutrientes (Martins et al. 2013).

Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudos ao DCK e GLGS, ao Instituto de Biociências da UFRGS pela assistência, aos colegas do Laboratório de Carcinologia e do Laboratório de Evolução, Ecologia Química e Quimiotaxonomia (Leeqtax) pela ajuda na realização dos experimentos e à secretaria do Parque Henrique Luiz Roesler pela permissão de coleta de isópodos terrestres na área do parque.

REFERÊNCIAS

- Alexenizer, M & Dorn, A. 2007. Screening of medicinal and ornamental plants for insecticidal and growth regulating activity. *Journal of Pest Science*, 80: 205–215.
- Anderson, JA & Coats, JR. 2012. Acetylcholinesterase inhibition by nootkatone and carvacrol in arthropods. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 102(2): 124–128.
- Araujo, PB & Bond-Buckup, G. 2005. Population structure and reproductive biology of *Atlantoscia floridana* (van Name, 1940) (Crustacea, Isopoda, Oniscidea) in southern Brazil. *Acta Oecologica*, 28: 289–298.
- Asbahani, AEL; Miladi, K; Badri, W; Sala, M; Aït Addi, EH; Casabianca, H; Mousadik, AEL; Hartmann, D; Jilale, A; Renaud, FNR & Elaissari, A. 2015. Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 483 (1–2): 220–243.
- Ashagrie, Y; Zech, W & Guggenberger, G. 2005. Transformation of a *Podocarpus falcatus* dominated natural forest into a monoculture *Eucalyptus globulus* plantation at Munesa, Ethiopia: soil organic C, N and S dynamics in primary particle and aggregate-size fractions. *Agricultural Ecosystem Environmental*, 106: 89–98.

- Azirak, S. & Karaman, S. 2008. Allelopathic effect of some essential oils and components on germination of weed species. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Plant Soil Science*, 58(1): 88–92.
- Bakkali, F; Averbeck, S; Averbeck, D & Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils - a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446–475.
- Batish, DR; Singh, HP; Kohli, RK & Kaur, S. 2008. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, 256: 2166–2174.
- Behera, N & Sahani, U. 2003. Soil microbial biomass and activity in response to *Eucalyptus* plantation and natural regeneration on tropical soil. *Forest Ecological Management*, 174: 1–11.
- Bernhard-Reversat, F. 1993. Dynamics of litter and organic matter at the soil- litter interface in fast-growing tree plantations on sandy ferrallitic soils (Congo). *Acta Ecologia*, 14: 179–195.
- Bernhard-Reversat, F; Main, G; Holl, K; Loumeto, J & Ngao, J. 2003. Fast disappearance of the water-soluble phenolic fraction in eucalypt leaf litter during laboratory and field experiments. *Applied Soil Ecology*, 23: 273–278.
- Bostanian, NJ; Akalach, M & Chiasson, H. 2005. Effects of a *Chenopodium*-based botanical insecticide/acaricide on *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) and *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae). *Pest Management Science*, 61: 979–984.
- Broly, P; Deneubourg, J-L & Devigne, C. 2013. Benefits of aggregation in woodlice: a factor in the terrestrialization process? *Insectes Sociaux*, 60: 419–435.
- Broly, P; Devigne, C & Deneubourg, J. 2015. Body shape in terrestrial isopods: A morphological mechanism to resist desiccation? *Journal of Morphology*, 276: 1283–1289.
- Canhoto, C & Graça, MAS. 1999. Leaf barriers to fungal colonization and shredders (*Tipula lateralis*) consumption of decomposing *Eucalyptus globulus*. *Microbiological Ecology*, 37: 163–172.
- Cheng, S; Chang, H; Wu, C & Chang, S. 2007. Anti-termitic activities of essential oils from coniferous trees against *Coptotermes formosanus*. *Bioresource Technology*, 98: 456–459.
- Choochote, W; Chaithong, U; Kamsuk, K; Jitpakdi, A; Tippawangkosol, P; Tuetun, B; Champakaew, D & Pitasawat, B. 2007. Repellent activity of selected essential oils against *Aedes aegypti*. *Fitoterapia*, 78: 359–364.
- Chopa, CS & Descamps, LR. 2019. Métodos alternativos para disminuir los daños de *Armadillidium vulgare* (Crustacea: Isopoda) en lotes bajo siembra directa. *Dominguezia*, 35(1): 81–85.
- Csonka, D; Halasy, K; Buczkó, K & Hornung, E. 2018. Morphological traits – desiccation resistance – habitat characteristics: A possible key for distribution in woodlice (Isopoda, Oniscidea). *Zookeys*, 801: 481–499.
- Csonka, D; Halasy, K; Szabó, P; Mrak, P; Štrus, J & Hornung, E. 2013. Eco-morphological studies on pleopodal lungs and cuticle in *Armadillidium* species (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). *Arthropod Structure and Development*, 42: 229–35.
- Curtis, C; Lines, J; Lu, B & Renz, A. 1989. Natural and synthetic repellents. In: Curtis, CF. (eds.) *Appropriate Technology in Vector Control*. Chapter 4. *CRC Press*, Florida.
- Delkhoon, S; Fahim, M; Hosseinzadeh, J & Panahi, O. 2013. Effect of lemon essential oil on the developmental stages of *Trialeurodes vaporariorum* West

- (Homoptera: Aleyrodidae). *Archive of Phytopathology and Plant Protection*, 5: 569–574.
- Drobne, D; Zidar, P & Bjerregaard, P. 1995. Could proposed bio-monitoring organism select differently contaminated food? *Sixth International Symposium, Metal Compounds in Environment and Life*, Julich, Germany, 35p.
- Erler, F; Ulug, I & Yalcinkaya, B. 2006. Repellent activity of five essential oils against *Culex pipiens*. *Fitoterapia*, 77: 491–494.
- Forrester, DI; Bauhus, J; Cowie, AL & Vanclay, JK. 2006. Mixed-species plantations of Eucalyptus with nitrogen-fixing trees: a review. *Forest Ecology Management*, 233: 211–230.
- Garlet, J; Zauza, EAV, Ferreira, F & Salvadori, JR. 2009. Danos provocados por coró-das-pastagens em plantas de eucalipto. *Ciência Rural*, 39(2): 575–576.
- Gillilan, J. 2012. Improvement of U.S. EPA Minimum Risk Essential Oils' Pesticide Activity through Surfactant Enhancement and Synergy (Ph.D. dissertation). *The Ohio State University*, Columbus, OH.
- Goel, D; Goel, R; Singh, V; Ali, M; Mallavarapu, G & Kumar, S. 2007. Composition of the essential oil from the root of *Artemisia annua*. *Journal of Natural Medicine*, 61: 458–461.
- Gonçalves, JLM; Stape, JL; Laclau, JP; Bouillet, JP & Ranger, J. 2008. Assessing the effects of early silvicultural management on long-term site productivity of fast-growing eucalypt plantations: the Brazilian experience. *Southern Forest*, 70: 105–118.
- Hadis, M; Lulu, M; Mekonnen, Y & Asfaw, T. 2003. Field trials on the repellent activity of four plant products against mainly *Mansonia* population in Western Ethiopia. *Phytotherapy Research*, 17: 202–205.
- Hansson, BS; Harzsch, S; Knaden, M & Stensmyr, MC. 2011. The neural and behavioral basis of chemical communication in terrestrial crustaceans. *In: Breithaupt, T & Thiel, M. (eds.) Chemical Communication in Crustaceans. Springer*, New York, 149–173.
- Hild, S; Marti, O & Ziegler, A. 2008. Spatial distribution of calcite and amorphous calcium carbonate in the cuticle of the terrestrial crustaceans *Porcellio scaber* and *Armadillidium vulgare*. *Journal of Structural Biology*, 163(1): 100–108.
- Hoesel, B & Schneider, P. 1990. Bewegungen der 2. Antennen einiger Landasseln (Oniscidea) beim Suchlauf. *Zool. Anz*, 225: 1–19.
- Holdich DM. 1984. The cuticular surface of woodlice: a search for receptors. *Symposium of Zoology Society of London*, 53: 9–48.
- Holdich, DM & Lincoln, RJ. 1974. An investigation of the surface of the cuticle and associated sensory structures of the terrestrial isopod, *Porcellio scaber*. *Journal of Zoology*, 172: 469–482.
- Hornung, E. 2011. Evolutionary adaptation of oniscidean isopods to terrestrial life: Structure, physiology and behavior. *Terrestrial Arthropod Reviews*, 4: 95–130.
- Hornung, E; Vilisics, F & Sólymos, P. 2008. Low alpha and high beta diversity in terrestrial isopod assemblages in the Transdanubian region of Hungary. *In: Zimmer, M; Cheikrouha, C & Taiti, S (eds.) Proceedings of the International Symposium of Terrestrial Isopod Biology - ISTIB-7. Shaker Verlag*, Aachen, Germany. 1-13.

- Ibá. 2015. Indústria brasileira de Árvores. Anuário estatístico da IBA, ano base: 2014.
- Inderjit & Mallik, AU. 1997. Effect of phenolic compounds on selected soil properties. *Forest Ecology Management*, 92: 11–18
- Isman, MB & Machial, CM. 2006. Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. *Naturally Occuring Bioactive Compound*, 3: 29–44.
- Isman, MB. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19: 603–608.
- Isman, MB; Miresmailli, S & Machial, C. 2011. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochemistry Reviews*, 10: 197–204.
- Jaenson, TG; Palsson, K & Borg-Karlson, AK. 2006. Evaluation of extracts and oils of mosquito (Diptera: Culicidae) repellent plants from Sweden and Guinea-Bissau. *Journal of Medical Entomology*, 43: 113–119.
- Jones, M & Paine, TD. 2012. Associations between invasive eucalyptus psyllids and arthropod litter communities under tree canopies in southern California. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 143(3): 280–291.
- Kenne, DC & Araujo, PB. 2015. *Balloniscus glaber* (Crustacea, Isopoda, Balloniscidae), a habitat specialist species in a disturbed area of Brazil. *Iheringia, Série Zoologia*, 105: 430–438.
- Kenne, DC; Araujo PB & Soares GLG. 2019. External marking of terrestrial isopods (Isopoda, Oniscidea): efficiency of materials and influence on feeding behavior. *Nauplius*, 27: e2019018.
- Kimbaris, AC; Papachristos, DP; Michaelakis, A; Martinou, AF & Polissiou, MG. 2010. Toxicity of plant essential oil vapours to aphid pests and their coccinellid predators. *Biocontrol Science and Technology*, 20: 411–422.
- Koschier, E & Sedy, K. 2003. Labiate essential oils affecting host selection and acceptance of *Thrips tabaci* Lindeman. *Crop Protection*, 22: 929–934.
- Laclau, JP; Bouillet, JP; Gonçalves, JLM; Silva, EV; Jourdan, C; Cunha, MCS; Moreira, MR; Saint-André, L; Maquère, V; Nouvellon, Y & Ranger, J. 2008. Mixed-species plantations of *Acacia mangium* and *Eucalyptus grandis* in Brazil. 1. Growth dynamics and aboveground net primary production. *Forest Ecology Management*, 255: 3905–3917.
- Landolt, PJ; Hofstetter, RW & Biddick, LL. 1999. Plant essential oils as arrestants and repellents for neonate larvae of the codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Environmental Entomology*, 28: 954–960.
- Lin, TS. 1998. Effects of essential oil from the leaves of seven Eucalyptus on the control of termite. *Forest Products Industries*, 17: 751–760.
- Liu, CH; Mishra, AK; Tan, RX; Tang, C; Yang, H & Shen, YF. 2006. Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean. *Bioresource Technology*, 97: 1969–1973.
- Lopes, LA; Blochtein, B & Ott, AP. 2007. Diversidade de insetos antófilos em áreas com reflorestamento de eucalipto, Município de Triunfo, Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia, Série Zoologia*, 97(2): 181–193.
- Lori, A; Grazioli, D; Gentile, E; Marano, G & Salvatore, G. 2005. Acaricidal properties of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* Cheel (tea tree oil) against nymphs of *Ixodes ricinus*. *Veterinary Parasitology*, 129: 173–176.

- Loupe, D; Oteng-Amoako, AA & Brink, M. 2008. Timbers 1. *Wageningen, Netherlands: PROTA Foundation.*
- Loureiro, S; Sampaio, A; Brandão, A; Nogueira, AJA & Soares, AMVM. 2006. Feeding behaviour of the terrestrial isopod *Porcellionides pruinosus* Brandt, 1833 (Crustacea, Isopoda) in response to changes in food quality and contamination. *Science of the Total Environment*, 369: 119–128.
- Loureiro, S; Soares, AMVM & Nogueira, AJA. 2005. Terrestrial avoidance behaviour tests as screening tool to assess soil contamination. *Environmental Pollution*, 138: 121–131.
- Louzada, JNC; Schoederer, JH & Marco, JrP. 1997. Litter decomposition in semideciduous forest and *Eucalyptus* spp. crop in Brazil: a comparison. *Forest Ecological Management*, 94: 31–36.
- Martins, C; Natal-da-Luz, T; Sousa, JP; Gonçalves, MJ; Salgueiro, L & Canhoto, C. 2013. Effects of Essential Oils from *Eucalyptus globulus* Leaves on Soil Organisms Involved in Leaf Degradation. *PLoS ONE*, 8(4): e61233.
- Mauchline, AL; Osborne, JL; Martin, AP; Poppy, GM & Powell, W. 2005. The effects of non-host plant essential oil volatiles on the behaviour of the pollen beetle *Meligethes aeneus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 114: 181–188.
- Miresmailli, S & Isman, MB. 2006. Efficacy and persistence of rosemary oil as an acaricide against two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) on greenhouse tomato. *Journal of Economic Entomology*, 99: 2015–2023.
- Miresmailli, S & Isman, MB. 2014. Botanical insecticides inspired by plant–herbivore chemical interactions. *Trends in Plant Science*, 19(1): 29–35.
- Mousa, KM; Khodeir, IA; El-Dakhakhni, TN & Youssef, AE. 2013. Effect of garlic and eucalyptus oils in comparison to organophosphate insecticides against some piercing-sucking faba bean insect pests and natural enemies populations. *Egypt Academic Journal of Biological Science*, 5: 21–27.
- Mumcuoglu, KY; Galun, R; Bach, U; Miller, J & Magdassi, S. 1996. Repellency of essential oils and their components to the human body louse, *Pediculus humanus humanus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 78: 309–314.
- Nako, J; Lee, NS & Wright, JC. 2018. Water vapor absorption allows for volume expansion during molting in *Armadillidium vulgare* and *Porcellio dilatatus* (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). *ZooKeys*, 801: 459–479.
- Ndungua, MW; Chhabra, SC & Lwande, W. 1999. *Cleome hirta* essential oil as livestock tick (*Rhipicephalus appendiculatus*) and maize weevil (*Sitophilus zeamais*) repellent. *Fitoterapia*, 70: 514–516.
- Nerio, LZ; Olivero-Verbel, J & Stashenko, E. 2010. Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology*, 101: 372–378.
- Neues, F; Ziegler, A & Epple, M. 2007. The composition of the mineralized cuticle in marine and terrestrial isopods: a comparative study. *CrystEngComm*, 9: 1245–1251.
- Ohara, K; Matsunaga, E; Nanto, K; Yamamoto, K; Sasaki, K; Ebinuma, H & Yazaki, K. 2010. Monoterpene engineering in a woody plant *Eucalyptus camaldulensis* using a limonene synthase cDNA. *Plant Biotechnology Journal*, 8: 28–37.
- Ohmart, CP & Edwards, PB. 1991. Insect herbivory on Eucalyptus. *Annual Review of Entomology*, 36: 637–657.

- Padin, SB; Fuse, C; Urrutia, MI & Dal Bello, GM. 2013. Toxicity and repellency of nine medicinal plants against *Tribolium castaneum* in stored wheat. *Bulletin of Insectology*, 66(1): 45–49.
- Panlasigui, S. 2011. Choosy Crustaceans: Habitat preference of the terrestrial isopod, *Armadillidium vulgare* (Isopoda: Oniscidea). *Terrestrial Isopod Habitat Preference*.
- Park, YL & Tak, JH. 2016. Essential Oils for Arthropod Pest Management in Agricultural Production Systems. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, 61–70.
- Pezzi, PH; Araujo, PB & Wood, CT. 2019. Coprophagy in detritivores: methodological design for feeding studies in terrestrial isopods (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). *Nauplius*, 27: e2019010.
- Pinto, R; Junior, JSZ; Zanuncio, TV; Zanuncio, JC & Lacerda, MC. 2004. Coleópteros coletados com armadilhas luminosas em plantios de *Eucalyptus urophylla* na região amazônica brasileira. *Ciência Florestal*, 14(1):111–119.
- Puvača, N; Čabarkapa, I; Petrović, A; Bursić, V; Prodanović, R; Soleša, D & Lević, J. 2019. Tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and its essential oil: antimicrobial, antioxidant and acaricidal effects in poultry production. *World's Poultry Science Journal*, 75.
- Quadros, AF & Araujo, PB. 2008. An assemblage of terrestrial isopods (Crustacea) in southern Brazil and its contribution to leaf litter processing. *Revista Brasileira de Zoologia*, 25: 58–66.
- Quadros, AF & Araujo, PB. 2008. An assemblage of terrestrial isopods (Crustacea) in southern Brazil and their contribution to leaf litter processing. *Revista brasileira de Zoologia*, 25: 58–66.
- Quadros, AF; Zimmer, M; Araujo, PB & Kray, JG. 2014. Litter traits and palatability to detritivores: a case study across bio-geographical boundaries. *Nauplius*, 22: 103–111.
- Regnault-Roger, C. 1997. The potential of botanical essential oils for insect pest control. *Integrated Pest Management Reviews*, 2: 25-34.
- Regnault-Roger, C; Vincent, C & Thor, J. 2012. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annual Review of Entomology*, 57: 405–424.
- Reis, F; Nascimento, E; Castro, H; Canhoto, C; Gonçalves, AL; Simões, S; García-Palacios, P; Milla, R; Sousa, JP & Silva, PM. 2018. Land management impacts on the feeding preferences of the woodlouse *Porcellio dilatatus* (Isopoda: Oniscidea) via changes in plant litter quality. *Applied Soil Ecology*, 132: 45–52.
- Saraç, A & Tunç, I. 1995. Residual toxicity and repellency of essential oils to stored-product insects. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 102(4): 429–434.
- Schmalfuss, H. 1984. Eco-morphological strategies in terrestrial isopods. In: Sutton, SL & Holdich, DM (eds.) *The Biology of Terrestrial Isopods. The Zoological Society of London. Clarendon Press*, 49–63.
- Schmalfuss, H. 1998. Evolutionary strategies of the antennae in terrestrial isopods. *Journal of Crustacean Biology*, 18: 10–24.
- Scrivanti, LR; Zunino, MP & Zygadlo, JA. 2003. *Tagetes minuta* and *Schinus areira* essential oils as allelopathic agents. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(6): 563–572.

- Seidl, B; Huemer, K; Neues, F; Hild, S; Epple, M & Ziegler, A. 2011. Ultrastructure and mineral distribution in the tergite cuticle of the beach isopod *Tylos europaeus* Arcangeli, 1938. *Journal of Structural Biology*, 174: 512–526.
- Silva, ER; Lazarotto, DC; Schwambach, J; Overbeck, GE & Soares, GLG. 2017. Phytotoxic effects of extract and essential oil of *Eucalyptus saligna* (myrtaceae) leaf litter on grassland species. *Australian Journal of Botany*, 65: 172–182.
- Singh, D; Kohli, RK & Saxena, DB. 1991. Effect of eucalyptus oil on germination and growth of *Phaseolus aureus* Roxb. *Plant and Soil*, 137: 223–227.
- Siqueira, GM; Silva, EFF; Moreira, MM; Santos, GAA & Silva, RA. 2016. Diversity of soil macrofauna under sugarcane monoculture and two different natural vegetation types. *African Journal of Agricultural Research*, 11(30): 2669–2677.
- Skorupa, ALA; Barros, NF & Neves, JCL. 2015. Forest litter decomposition as affected by eucalyptus stand age and topography in south-eastern Brazil. *Revista Árvore*, 39(6): 1055–1064.
- Soares, NS; Silva, ML; Rezende, JLP & Gomes, MFM. 2010. Competitividade da cadeia produtiva da madeira de eucalipto no Brasil. *Revista Árvore*, 34(5): 917–928.
- Spurr, EB & McGregor, PG. 2003. Potential invertebrate antifeedants for toxic baits used for vertebrate pest control. *Science for Conservation*, 232: 36p.
- Takeda, N. 1980. The aggregation pheromone of some terrestrial isopod crustaceans. *Experientia*, 36: 1296–1297.
- Takeda, N. 1984. The aggregation phenomenon in terrestrial isopods. In: Sutton, SL & Holdich, DM (eds.) *The Biology of Terrestrial Isopods: Symposium of the Zoological Society of London*, Clarendon, Oxford. *Clarendon Press*, Oxford, UK, 53: 381–404.
- Tarelli, G; Zerba, EN & Alzogaray, RA. 2009. Toxicity to vapor exposure and topical application of essential oils and monoterpenes on *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Journal of Economic Entomology*, 102: 1383–1388.
- Thiel, M. 2011. Chemical communication in peracarid crustaceans. In: Breithaupt, T & Thiel, M (eds.) *Chemical Communication in Crustaceans*. *Springer*, Berlin, 199–218.
- Tolosa, AC; Lucia, A; Zerba, E; Masuh, H & Picollo, MI. 2008. Interspecific hybridization of eucalyptus as a potential tool to improve the bioactivity of essential oils against permethrin-resistant head lice from Argentina. *Bioresource Technology*, 99: 7341–7347.
- Tonello, G; Loureiro, RC; Krause, P; Silva, C; Ongaratto, RM; Sepp, S; Restello, RM & Hepp, LU. 2014. Colonização de invertebrados durante a decomposição de diferentes detritos vegetais em um riacho subtropical. *Revista Brasileira de Biociências*, 12(2): 98–105.
- Trigg, JK & Hill, N. 1996. Laboratory evaluation of a eucalyptus-based repellent against four biting arthropods. *Phytotherapy Research*, 10: 313–316.
- Trongtokit, Y; Rongsriyam, Y; Komalamisra, N & Apiwathnasorn, C. 2005. Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. *Phytotherapy Research*, 19: 303–309.
- Valverde, SR; Neiva, AS & Soares, NS. 2007. Biotecnologia florestal como diferencial da competitividade brasileira. In: Oliveira, AB (eds.) *Biotecnologia florestal*. *Editores UFV*, Viçosa 1: 363–374.

- Van Capelleveen, E. 1987. Ecotoxicology of heavy metals for terrestrial isopods. PhD thesis. *Vrije Universiteit*, Amsterdam, The Netherlands.
- Van Gestel, CAM & Van Straalen, NM. 1993. Ecotoxicological test systems for terrestrial invertebrates. *In*: Donker, MH; Eijsackers, H & Feimback, F (eds.) *Ecotoxicology of Soil Organisms*. *Lewis*, Boca Raton, 205–228.
- Vandel, A. 1960. Les especes d'*Androniscus* appartenant au sous-genre *Dentigeroniscus* (crustaces; isopodes terrestres). *Ann. Speleol*, 15: 553–584.
- Vittori, M & Strus, J. 2014. The integument in troglobitic and epigean woodlice (Isopoda: Oniscidea): a comparative ultrastructural study. *Zoomorphology*, 133: 391–403.
- Vittori, M; Tušek-Žnidarič, M & Štrus, J. 2017. Exoskeletal cuticle of cavernicolous and epigean terrestrial isopods: A review and perspectives. *Arthropod Structure & Development*, 46(1): 96–107.
- Williams, DG. 1996. The Chemistry of Essential Oils. *Micelle Press*, Weymouth, UK.
- Wood, CT; Kostanjšek, R; Araujo, PB & Štrus, J. 2017. Morphology, microhabitat selection and life-history traits of two sympatric woodlice (Crustacea: Isopoda: Oniscidea): A comparative analysis. *Zoologischer Anzeiger*, 268, 1–10.
- Wood, CT; Schlindwein, CCD; Soares, GLG & Araujo, PB. 2012. Feeding rates of *Balloniscus sellowii* (Crustacea, Isopoda, Oniscidea): the effect of leaf litter decomposition and its relation to the phenolic and flavonoid content. *ZooKeys*, 176: 231–245.
- Yan, AJ & Tan, Q. 1998: Repellency effects of essential oil derived from Eucalyptus leaf against three species of sawyers. *Journal of Nanjing Forestry University*, 22: 87–90.
- Yang, P & Ma, Y. 2005. Repellent effect of plant essential oils against *Aedes albopictus*. *Journal of Vector Ecology*, 30: 231–234.
- Yi, CG; Kwon, M; Hieu, TT; Jang, YS & Ahn, YJ. 2007. Fumigant toxicity of plant essential oils to *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) and *Cotesia glomerata* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of the Asia Pacific Entomology*, 10: 157–163.
- Zhu, BC; Henderson, G; Chen, F; Fei, H & Laine, RA. 2001. Evaluation of vetiver oil and seven insect-active essential oils against the forms an subterranean termite. *Journal of Chemical Ecology*, 27: 1617–1625.
- Zimmer, M; Kautz, G & Topp, W. 1996. Olfaction in terrestrial isopods (Crustacea: Oniscidea): responses of *Porcellio scaber* to the odour of litter. *European Journal of Soil Biology*, 32: 141–147.
- Zimmer, M; Kautz, G & Topp, W. 2003. Leaf litter-colonized microbiota: supplementary food source or indicator of food quality for *Porcellio scaber* (Isopoda: Oniscidea)? *European Journal of Soil Biology*, 39: 209–216.
- Zimmer, M; Oliveira, R; Rodrigues E & Graça MAS. 2005. Degradation of leaf litter phenolics by aquatic and terrestrial isopods. *Journal of Chemical Ecology*, 31: 1933–1952.

CAPÍTULO 5

Ocupação de abrigos artificiais por isópodos terrestres (Isopoda, Oniscidea) e interações com invertebrados edáficos

Ocupação de abrigos artificiais por isópodos terrestres (Isopoda, Oniscidea) e interações com invertebrados edáficos

Diego Costa Kenne^{1,2,3*}; Nikolas Rublescki³; Adriana Winter^{4,5}; Paula Beatriz Araujo² & Geraldo Luiz Gonçalves Soares³

¹ Programa de Pós-graduação em Ecologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

² Laboratório de Carcinologia, Instituto de Biociências, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

³ Laboratório de Ecologia Química, Evolução e Quimiotaxonomia, Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

⁴ Programa de Pós-graduação em Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

⁵ Laboratório de Fisiologia Vegetal, Departamento de Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

*Autor correspondente: diegokenne@gmail.com

RESUMO

Muitos são os fatores que definem a posição e o tempo de permanência dos indivíduos em determinados locais nos espaços naturais. Atributos relacionados ao comportamento de deslocamento de forrageio, ao grau das interações intra e interespecíficas e aos elementos de sinalização química e física presentes no ambiente influenciam na trajetória e estabilidade dos organismos nos diferentes habitats. Combinando abrigos de papelão a dois componentes semioquímicos de origem vegetal (flavonoide em um alimento alternativo e óleo essencial de *Eucalyptus saligna* em serapilheira artificial) e a um de oniscídeos (agrupamentos de seis indivíduos em bolsa de tule) em tratamentos distintos, o presente estudo almejou analisar o processo de ocupação desses microhabitats artificiais pela fauna edáfica, com maior foco nos isópodos terrestres, bem como analisar padrões de distribuição de grupos funcionais encontrados nesses cenários. Além disso, se intentou monitorar o deslocamento de três grupos ecomorfológicos de isópodos entre os abrigos através da técnica de marcação-recaptura. Três áreas experimentais foram observadas, cada uma protagonizando uma espécie de oniscídeo distinta. Os experimentos em campo tiveram duração de cinco dias, com a instalação e retirada (a partir do segundo dia) de todos os abrigos todos os dias para as áreas 1 e 2, e abrigos colocados todos no primeiro dia, com recolhimento de 1/4 do total do segundo ao último dia para a área 3. Considerando as três áreas experimentais, dentre amostras de serapilheira (controle) e dos quatro tratamentos de abrigos artificiais combinados a um elemento acessório, foram coletados 3457 indivíduos pertencentes a 18 grupos taxonômicos. Não foi possível monitorar o deslocamento dos isópodos devido ao baixo número de indivíduos recapturados. Na área 1 foi observada alta abundância de colêmbolos nas amostras de serapilheira, o que consequentemente resultou no maior número de detritívoros nesse tratamento. Considerando apenas a ocupação nos abrigos artificiais para essa área, *Balloniscus glaber* (*clinger*) foi encontrado em maior abundância nos abrigos associados à pré-agregação de seus coespecíficos, o que corrobora com a grande eficiência da sinalização química espécie-específica. Para a área 2, a maior ocupação de predadores (aranhas) ocorreu nos abrigos combinados à serapilheira artificial com exposição ao óleo essencial de *E. saligna*. Levando em conta apenas o observado para os abrigos, esse último tratamento também se destacou para a ocupação de isópodos totais (3 espécies). Porém, *Armadillidium vulgare* (*roller*) foi observado em maior número nos abrigos com seus coespecíficos. Na terceira área, formigas foram encontradas em maior número nos abrigos sem aditivos, bem como a maior abundância média de *Benthana picta* (*runner*). De modo geral, Araneae e Isopoda foram os principais colonizadores dos abrigos de papelão, material que combinado aos elementos físicos e químicos utilizados no presente trabalho, cumpriu o objetivo de fornecer informações sobre a eficiência da atratividade e ocupação desses microhabitats artificiais em ambientes naturais. De acordo com os resultados observados e com o aprimoramento da metodologia, utilizar esses artefatos para a simulação de *hotspots* favoráveis à fauna edáfica pode contribuir nos processos de (re)estruturação de comunidades de invertebrados de solo em experimentos de restauração de áreas em estágios iniciais de sucessão ecológica.

Palavras-chaves: detritívoros, restauração, experimento, flavonoide, óleo essencial.

INTRODUÇÃO

Muitos são os fatores envolvidos nos processos ecológicos que regem as decisões dos organismos na seleção, na ocupação e na colonização de habitats. Em diferentes proporções, as condições externas e internas aos indivíduos determinam a magnitude da motivação para a sua mudança de localização e/ou permanência em um determinado espaço (Nathan et al. 2008, Gurarie et al. 2009). Parâmetros internos se referem às questões fisiológicas, à capacidade mecânica (morfológica) de locomoção e à habilidade de navegação (cognição) dos organismos. Já os elementos externos estão diretamente ligados às condições do ambiente em relação aos seus atributos, como disponibilidade de fonte alimentar, abrigos para postura de ovos e acasalamento, e locais para proteção contra predadores e condições climáticas extremas (Cornelissen & Boechat 2001, Podgaiski et al. 2007, Nathan et al. 2008). A decisão de ocupar determinado habitat é o resultado final de toda percepção que o indivíduo compila do cenário em que está inserido, almejando espaços que apresentem maior sucesso adaptativo para a espécie (Cornelissen & Boechat 2001, Nathan et al. 2008).

As paisagens naturais, bem como áreas antropizadas, podem emitir informações para o meio de duas formas: através de suas características físicas e/ou sinais químicos. O tipo de substrato, a distribuição de artefatos e elementos estruturais que modificam a conformação tridimensional de determinada área são considerados atributos físicos do ambiente (Dyck & Baguette 2005, Anselme 2018, Otero-Ferrer et al. 2019). Por outro lado, componentes químicos estão relacionados à sinalização de aleloquímicos voláteis liberados na natureza, constituindo uma vasta comunicação indireta entre os seres (Meiners 2015, Thienen et al. 2016, Brooker & Dixon 2017). Nos animais, essas características são percebidas através dos órgãos dos sentidos, o que os possibilitam “traduzir” as mensagens deixadas no ambiente e decidir sobre o quão viável é permanecer no local em que se encontram (Durier & Rivault 2001, Anselme 2013, Thienen et al. 2016).

A colonização de novos habitats – sejam eles artificiais ou não – tem sido foco central de muitos estudos em regiões que apresentam perda de biodiversidade (Goldsbrough et al. 2003, Kramer-Schadt et al. 2005, Croak et al. 2010). Essas pesquisas evidenciam dados acerca do estabelecimento espacial de populações,

sobre a reocupação de nichos e também a respeito de logísticas para a reestruturação de rede de interações (Croak et al. 2010, Cornelissen et al. 2016). A viabilidade do manejo controlado através da distribuição novos habitats e de *hotspots* de colonização como ferramenta se dá através do entendimento do seu “uso e desuso” pelos organismos, sobre a conectividade de manchas e da distribuição espacial de recursos, além da avaliação da variação do *fitness* das espécies que se deslocam nesses cenários, bem como as relações intra e interespecíficas dos indivíduos em questão (Thomas 2000, Revilla et al. 2004, Cornelissen et al. 2016, Mola & Williams 2019). A análise simultânea de dados de interação ambiente-organismo e do deslocamento dos indivíduos em diferentes cenários elucidam modelos de predição de distribuição das espécies (Hamilton et al. 2006, Revilla & Wiegand 2008, Yang et al. 2016), de modo a cooperar com a ecologia da conservação e da restauração (Yang et al. 2016). Entender o que motiva o deslocamento a favor ou contra e o estabelecimento de populações em determinados ambientes, bem como usar desses artifícios para a recuperação de áreas degradadas pela ação humana, se torna um ponto de partida para uma série de trabalhos ecológicos de caráter essencial no combate à fragmentação e perda de espaços naturais.

Os indivíduos da fauna de solo são potenciais colonizadores primários em áreas que estão em algum estágio preliminar de sucessão ou restauração ecológica, logo após o estabelecimento de vegetação pioneira (Broza & Izhaki 1997, Hågvar et al. 2009, Courtney et al. 2010, Hågvar 2010, Bråten et al. 2012, Lehmitz et al. 2012). A micro-, meso- e a macrofauna edáfica atuam na formação, microestrutura e fertilidade do solo (Brussaard 1998, Wanner & Dunger 2002, Lehmitz et al. 2012). Por consequência dessa atividade, acabam modificando ou criando novos ambientes para as próximas espécies colonizadoras, e por isso alguns grupos recebem o nome de “engenheiros ecossistêmicos” (Brussaard 1998, Calderón-Cortés et al. 2011). As relações entre os diversos níveis da biota edáfica são complexas e numerosas, o que reflete nas interações tróficas, mutualísticas e antagônicas (Calderón-Cortés et al. 2011, Menta 2012). Além de terem uma diversa representatividade, a fauna de solo possui uma plasticidade em relação às suas estratégias alimentares, variando de organismos herbívoros a onívoros, incluindo também espécies carnívoras (predadoras) (Brussaard 1998, Menta 2012). São capazes de mudar de hábito

alimentar dependendo das fontes disponíveis, o que possibilita indivíduos carnívoros ou herbívoros passar a ingerir resíduos orgânicos e atuarem como detritívoros (Menta 2012).

Das interações planta-animal, a herbivoria é tida como uma das mais importantes (Johnson 2011, Gong & Zhang 2014), pois esta relação é determinante na produtividade vegetal, tanto em plantações manejadas como em florestas naturais (Mitchell et al. 2016). Devido a esse fato, as plantas desenvolveram inúmeras formas de responder à predação, sendo a grande maioria a partir da produção de metabólitos secundários responsáveis pela sua defesa contra os consumidores de suas partes aéreas (Johnson 2011). Dentre esses compostos secundários estão os flavonoides e óleos essenciais, cuja composição varia intra e entre as espécies vegetais (Randlkofer et al. 2010). Apesar do grande volume de estudos sobre o assunto, ainda existem muitas questões acerca da variação dos voláteis produzidos por plantas e os seus reflexos nas comunidades de organismos que são repelidos (Randlkofer et al. 2010). Considerando esses aspectos, tal complexidade química vegetal interfere na distribuição da biota de solo, bem como servem de motivação (atração e/ou repelência) para a seleção de microhabitats em espaços naturais por esses indivíduos. Muitos estudos demonstram a influência desses metabólitos secundários em herbívoros, porém em relação à duração da efetividade da função de defesa dessas substâncias no período de senescência foliar e seus efeitos para detritívoros e decompositores ainda é um campo a se explorar (Canhoto & Graça 1999, Yeates & Barmuta 1999, Wood et al. 2012).

Dentre a fauna edáfica, os isópodos terrestres (Isopoda, Oniscidea) atuam na quebra mecânica e bioquímica da serapilheira e da matéria orgânica, e por isso tem grande participação na ciclagem de nutrientes do solo (Zimmer 2006, Frouz et al. 2008, Wood et al. 2012). Esses animais possuem modificações fisiológicas, morfológicas e comportamentais que lhes permitiram a colonização de áreas não litorâneas com total independência do ambiente aquático (Holdich 1984, Hornung 2011). A presença de pulmões pleopodais, a formação de um marsúpio fechado nas fêmeas ovígeras para o desenvolvimento direto de sua prole e o comportamento de agregação são alguns exemplos dessas adaptações (Araujo et al. 2004, Hornung 2011, Broly et al. 2013). A respeito de percepção química, sabe-se que isópodos

respondem a estímulos emitidos por voláteis de microorganismos (Zimmer et al. 1996) e, principalmente, ao feromônio de agregação de coespecíficos, liberados nas fezes (Takeda 1984). Através dessas evidências químicas no ambiente os isópodos iniciam um aglomerado de indivíduos, o qual oferece redução da evapotranspiração, aumento de encontros de potenciais parceiros para reprodução e diminuição do risco de predação (Hornung & Warburg 1996, Broly et al. 2012, 2013). Além disso, indícios desse feromônio em microhabitats (simples presença de fezes, por exemplo) indicam potenciais locais com fonte alimentar adequada e de abrigos seguros (Hassall & Tuck 2007, Farr 1978).

De acordo com suas características morfológicas e comportamento antipredatório, os isópodos terrestres são classificados em grupos ecomorfológicos (*sensu* Schmalzfuss 1984). As espécies conhecidas como *rollers* apresentam habilidade volvocional, tomando a forma de uma esfera, o que protege a sua região ventral contra variações ambientais, além de possuírem a cutícula espessa e corpo robusto. *Clingers* são mais achatados dorso-ventralmente, protegem suas partes mais delicadas (ventre) de predadores e contra a perda de água para o ambiente aderindo ao substrato com firmeza através de suas pernas. Já os *runners*, em relação aos grupos anteriores, possuem antenas mais longas e cutícula mais fina, o que lhes confere maior sensibilidade às alterações do ambiente, e em situações de emergência partem em retirada com agilidade (Schmalzfuss 1984, Hornung 2011, Csonka et al. 2013).

Embora os isópodos terrestres sejam considerados animais com pouca capacidade dispersiva (Lemos de Castro 1971), o monitoramento do processo de ocupação de microhabitats favoráveis por esses artrópodos detritívoros é um evento que precisa ser mais bem compreendido, considerando influências físicas (presença de coespecíficos e distribuição de abrigos artificiais) e químicas (feromônios, aleloquímicos voláteis) do ambiente. Em geral, os estudos que envolvem restauração ecológica e estabelecimento de espécies pioneiras utilizam anelídeos, com uma menor frequência abordam milípedes e raramente contemplam isópodos terrestres como modelos, e destes últimos, a maioria discorre sobre espécies paleárticas (Snyder & Hendrix 2008).

Considerando as informações supramencionadas, o presente estudo teve como objetivo analisar o processo de ocupação de microhabitats artificiais pela fauna edáfica, com maior foco em três espécies de isópodos terrestres de três grupos ecomorfológicos distintos (*clinger*, *roller* e *runner*), utilizando combinações de abrigos (papelão) e: fonte alternativa de alimento com flavonoide, agregações pré-formadas de coespecíficos e “serapilheira artificial” de papel filtro exposta ao óleo essencial de *Eucalyptus saligna* Sm. (Myrtaceae). Além disso, se intentou analisar padrões de distribuição de grupos funcionais (herbívoros, detritívoros, predadores e onívoros) da macrofauna de solo encontrados nesses microhabitats. Através da técnica de marcação-recaptura, este trabalho também almejou monitorar o deslocamento dos isópodos terrestres individualmente, registrando possíveis alternâncias na preferência de abrigos específicos, bem como observar prováveis interações interespecíficas, através da presença/ausência de outros macroinvertebrados terrestres nos microhabitats artificiais. Dentre os grupos ecomorfológicos de isópodos monitorados, foi esperado que *clingers* apresentassem maior afinidade pelos abrigos com coespecíficos e repelência aos com serapilheira artificial expostas ao óleo de *E. saligna*; *runners* também evitassem abrigos com óleo e os com maiores abundâncias de possíveis predadores; e que *rollers* ocupassem os abrigos de forma similar.

MATERIAL & MÉTODOS

Espécies de isópodos terrestres e áreas de estudo

Três espécies de isópodos terrestres foram observadas nos experimentos em campo nos seus respectivos locais de ocorrência/coleta: *Balloniscus glaber* Araujo & Zardo, 1995 (Balloniscidae) (*clinger*) em uma área residencial da zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil (30°12'30"S, 51°10'12"O) (Área 1); *Armadillidium vulgare* (Latreille, 1804) (Armadillidiidae) (*roller*) em uma área próxima a anterior (Área 2) (Figura 1B); e *Benthana picta* (Brandt, 1833) (Philosciidae) (*runner*) no Parque Henrique Luiz Roesler, na cidade de Novo Hamburgo, RS, Brasil (29°41'15"S, 51°06'35"O) (Área 3) (Figura 1A).

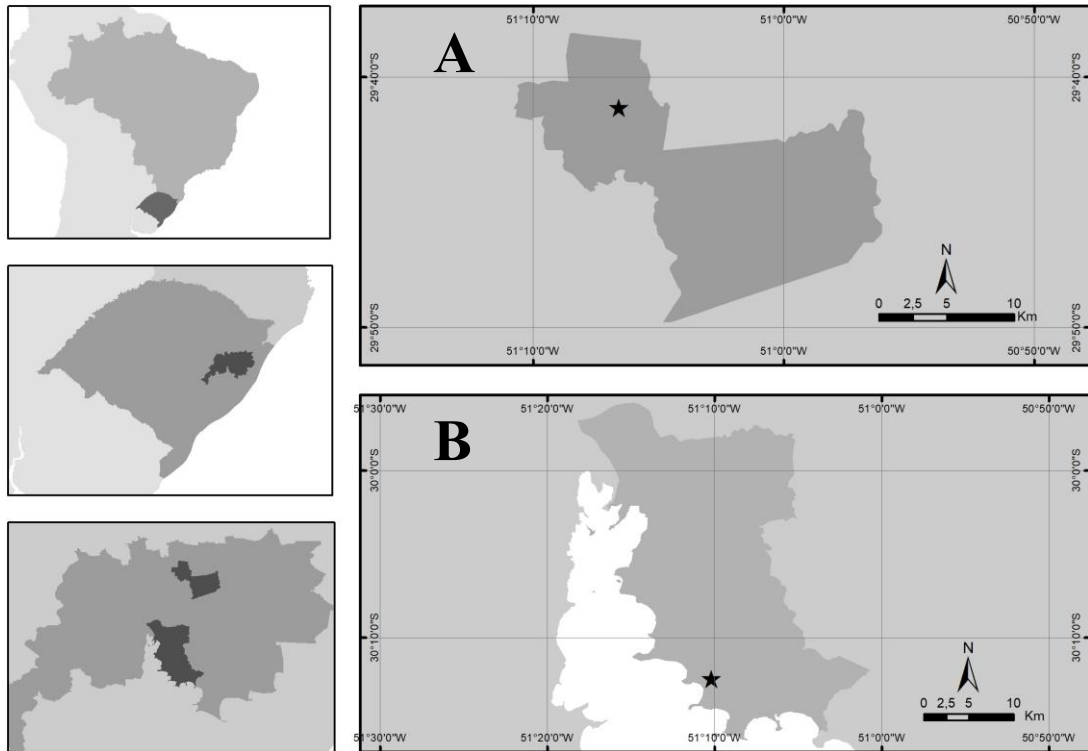


Figura 1. Localização das áreas experimentais. A) Parque Henrique Luiz Roesler, Novo Hamburgo, RS, Brasil (Área 3); B) Fundação de Proteção Especial do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS Brasil (Áreas 1 e 2).

Em cada área, foram demarcados três pontos para a distribuição dos abrigos artificiais. Os pontos onde foram realizadas as observações de *B. glaber* se localizavam próximos de uma trilha com descarte de materiais (entulhos) das residências próximas (Figura 2).



Figura 2. Localização das áreas experimentais 1 e 2 com os três respectivos pontos de observação das replicatas, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil.

As árvores do local não apresentavam mais do que 10 metros de altura, com largura do tronco não muito espessa e distribuídas relativamente de forma espaçada pelo local. Além disso, o dossel observado não era muito denso e, apesar de haver regeneração da vegetação, a mata ainda se encontrava bem aberta. Nos pontos foram encontrados indivíduos de pitangueira (*Eugenia uniflora*, Myrtaceae), maricá (*Mimosa bimucronata*, Fabaceae), aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius*, Anacardiaceae), cocão (*Erythroxylum* sp., Erythroxylaceae) e capororoca (*Myrsine* sp., Myrsinaceae). Foram observados alguns indivíduos de *Eucalyptus* sp., cujas folhas compunham a maior parte da serapilheira (cerca de 2 – 5 cm de espessura). Também foi notada a presença de samambaias, conhecida popularmente como unha-de-gato, e algumas lianas. No local não foram registrados epífitos em geral, porém foram observados alguns indivíduos de *Tillandsia aeranthis* (Bromeliaceae). O ponto 1 era o mais distante da trilha de caminhada e possuía um gravatazal (*Bromelia* cf. *anthiakanthus*, Bromeliaceae) com mais vegetação rasteira e aberta. Os pontos 2 e 3 eram semelhantes entre si, mais próximos à trilha e com vegetação mais fechada e mais densa.

Apesar de próxima da anterior, a área onde foram desenvolvidos os experimentos com *A. vulgare* apresentou dominância de Maricá, a poucos metros de uma área residencial (Figura 2). Essa espécie é uma arvoreta espinhenta que ocorre de maneira espaçada. Outras espécies arbóreas, como *E. uniflora* e *S. terebinthifolius*, e o cocão também foram observadas no local, porém a vegetação herbácea foi mais comum, com gêneros como *Desmodium* (Fabaceae) (pega-pega), *Elephantopus* (Asteraceae) e *Solanum* (Solanaceae), além das espécies *Commelina nudiflora* (Commelinaceae) e *Sida ciliaris* (Malvaceae). Os pontos 2 e 3 apresentaram o solo mais exposto com a mesma formação florestal.

Já em Novo Hamburgo (Figura 3), os três pontos de coleta e observação de *B. picta* exibiram vegetação arbórea com cerca de 3 metros de altura e 10 – 15 cm de diâmetro da altura do peito, com árvores espaçadas e com a luz do sol chegando ao assoalho florestal. No geral, foram observadas espécies nativas das famílias Melastomataceae, Rubiaceae, Myrtaceae e Piperaceae, com alguns raros epífitos (micrograma). O ponto 1 se localizava a poucos metros de distância da trilha de caminhada do Parque. O ponto 2 apresentou alguns epífitos do gênero *Rhypsalis* (Rhipsalideae) e algumas Pteridophyta, mas com vegetação bem similar ao ponto 1. O terceiro ponto exibiu mata mais densa do que os dois anteriores, com alguns representantes das famílias Smilacaceae e Nyctaginaceae.



Figura 3. Localização da área 3 com os três respectivos pontos de observação das replicatas, no Parque Henrique Luiz Roesler, Novo Hamburgo, RS, Brasil.

Procedimentos pré-experimento

Em campo, dois dias antes do início dos testes, foram coletados em torno de 108 indivíduos de cada espécie de isópodos. Destes, 60 receberam uma marca inicial com esmalte de unha Risqué© no primeiro pereonito (Figura 4) e foram aclimatados em câmaras sem alimento e individualmente (segundo Kenne et al. 2019). Os 48 indivíduos restantes foram separados em grupos de seis em pequenas bolsas de tule com um algodão umedecido para sua posterior utilização nos abrigos como agregação pré-formada. Somente animais adultos de ambos os sexos (exceto fêmeas ovígeras) no período de intermuda foram utilizados.

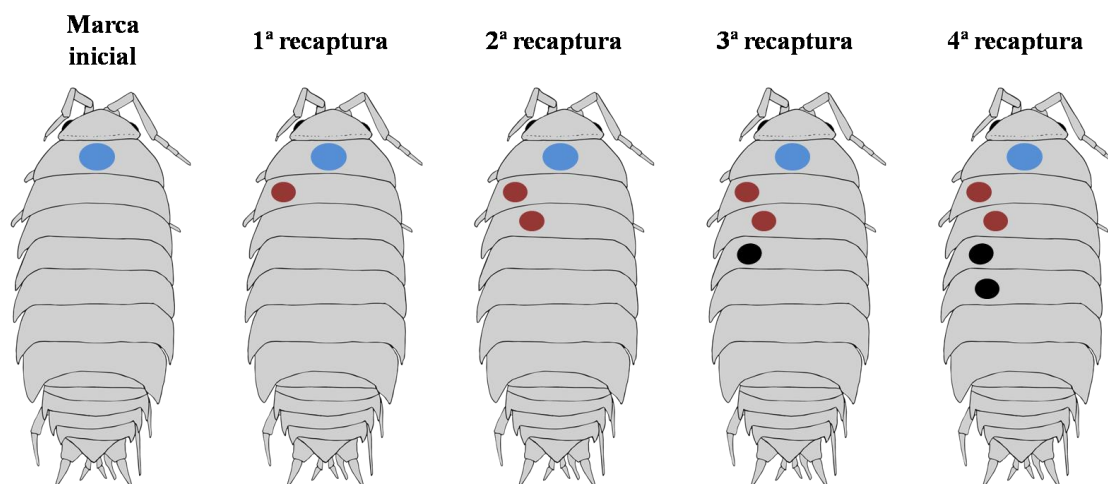


Figura 4. Esquema de marcação de recaptura para os indivíduos adultos das três espécies de isópodos terrestres foco deste estudo: *Balloniscus glaber* (exemplo da figura), *Armadillidium vulgare* e *Benthana picta*. As cores e a posição da marca em cada pereonito obedecem a uma direção, distância e tipo de abrigo em que o animal foi encontrado.

Os abrigos utilizados para a ocupação e colonização pela fauna edáfica consistiram em recortes de 20 x 20 cm de papelão corrugado de ~6 mm de espessura (Kawashima & Jung 2010, Logan et al. 2017, Belkair et al. 2018). Três artefatos adicionais foram associados a 3/4 do total de abrigos utilizados para distingui-los em quatro tratamentos: alimento alternativo com flavonoide, serapilheira artificial com óleo essencial e uma agregação de isópodos de uma das três espécies, além também de nenhum material adicional (abrigo sem aditivos).

Combinações dos abrigos

O tratamento correspondente ao flavonoide consistiu em 16 discos (por abrigo) de 18 mm de diâmetro de papel aquarela de fibra de algodão, os quais foram imersos durante aproximadamente 24 horas em solução de 2 mg/ml de rutina (com adaptações de Kenne et al. A, em preparação). Para simular serapilheira com teor considerável de óleo essencial foram utilizadas várias amostras de ~50 mg de papel filtro recortado em pedaços (cerca de 2 x 12 cm), os quais foram isolados em sacos plásticos e expostos por 24 horas a três quantidades de óleo de *E. saligna* (~4µl nos experimentos da área com *B. picta*, ~6µl com *B. glaber* e ~8µl com *A. vulgare*, modificações de Kenne et al. B, em preparação). O óleo foi obtido através da técnica

de destilação por arraste a vapor, a partir de 5 kg de folhas e utilizando um extrator de inox com uma taxa de fluxo de 3 L/h por 1 hora, com rendimento de 0,56% (peso/volume). A extração foi realizada no Laboratório de Extração de Óleos Essenciais da Universidade de Caxias do Sul (Silva et al. 2017). As bolsas de tule com seis isópodos de cada espécie e um algodão umedecido desempenharam o papel de uma agregação pré-formada de coespecíficos em cada cenário experimental (Kenne et al. C, em preparação).

Procedimentos experimentais

Nos locais escolhidos para a realização dos experimentos foram demarcadas áreas circulares de ~3 metros de raio. No primeiro dia dos experimentos com *B. glaber* e *A. vulgare* foram distribuídos oito abrigos equidistantemente em um raio de 50 cm a partir do ponto central dessa área. A serapilheira foi retirada de cada local de fixação dos abrigos, e embaixo de cada papelão foi colocado o material correspondente a um dos quatro tratamentos. Dessa forma, cada tratamento foi representado por dois abrigos alocados em posições opostas nessa distribuição circular (Figura 5). Todos os abrigos foram fixados no solo com um prego na sua porção central, deixando espaço suficiente para a sua posterior colonização por isópodos e fauna edáfica. No centro da área experimental foram liberados 20 isópodos terrestres com a marca inicial de esmalte.

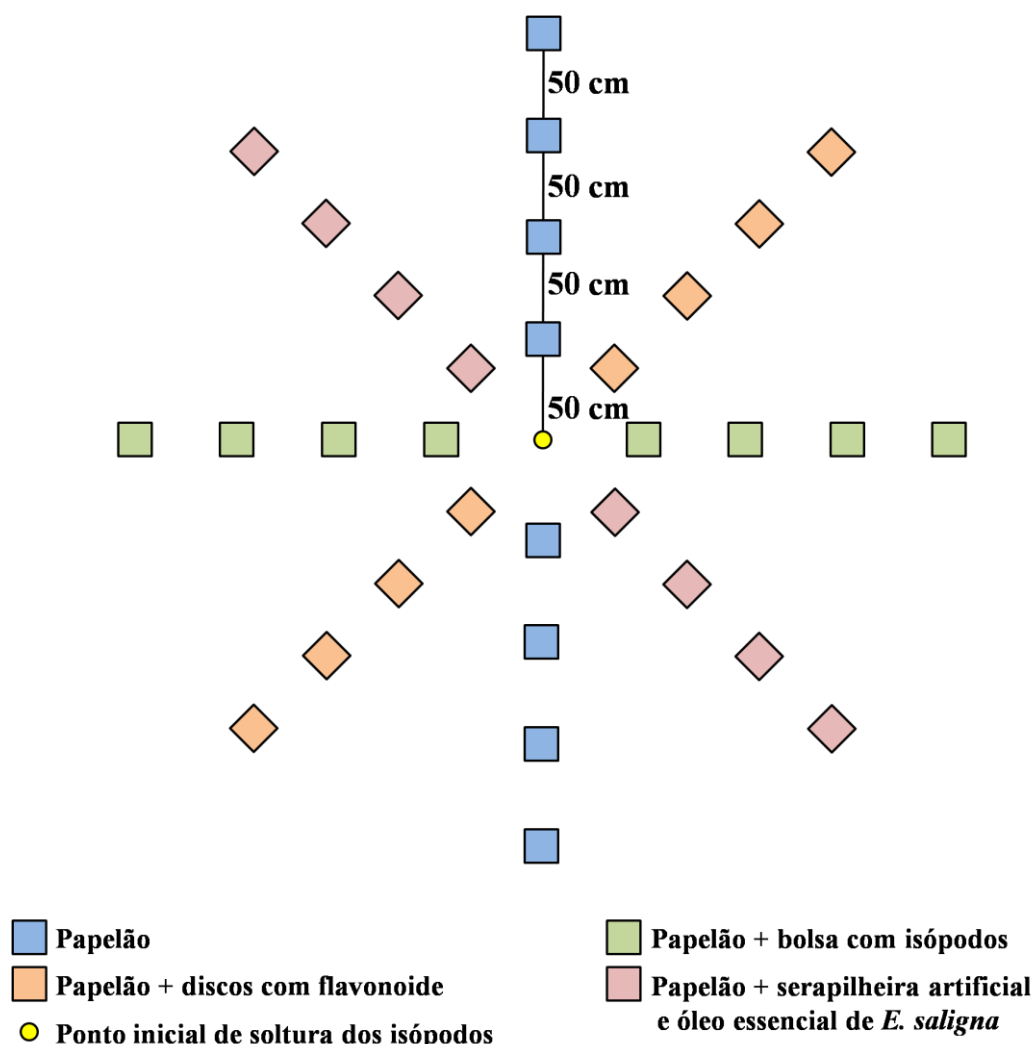


Figura 5. Representação da área experimental de observação da seleção e ocupação de abrigos artificiais por isópodos terrestres e fauna associada. Cada abrigo (e suas variações de combinações de tratamentos) foi distribuído gradativamente em oito direções de 50 em 50 cm de distância.

No dia seguinte, os oito abrigos foram recolhidos juntamente com o material abaixo deles, colocados em bandejas plásticas para triagem em campo em busca de isópodos terrestres. Conforme os tatuzinhos que já possuíam uma marca eram recapturados, estes recebiam uma nova marca no pereonito seguinte. Isópodos sem marca e com o tamanho suficientemente adequado para as observações passaram pelo processo de marcação inicial e foram registrados durante o experimento quanto ao seu deslocamento na área de observação. As marcas obedeceram a uma legenda de cor e posição em cada pereonito, correspondendo ao tipo de abrigo, distância e direção em que o indivíduo foi capturado (Figura 4). Após esse procedimento, o restante do material coletado e o abrigo de papelão foram colocados em sacos plásticos devidamente identificados e

transportados para o Laboratório de Carcinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Além dos pontos de coleta com abrigos, duas amostras adicionais de dimensões de 20 x 20 cm foram recolhidas no mesmo raio a partir do centro (em posições opostas), sendo designadas como grupo controle do experimento. Posteriormente a esse processo, novos oito abrigos foram distribuídos na mesma ordem dos que foram retirados, porém distantes a 50 cm dos anteriores, na mesma direção a partir do centro, resultando em 1 metro do centro inicial. Com suas marcas de identificação, tanto os isópodos recapturados como os que foram encontrados pela primeira vez foram devolvidos nos mesmos pontos de origem dos abrigos onde foram coletados. Esse protocolo se repetiu nos três dias seguintes, até os últimos abrigos serem recolhidos a 2 metros do centro da área. O experimento na área de observação de *B. picta* se diferenciou no fato de que todos os abrigos das quatro distâncias (0,5; 1; 1,5 e 2 metros) a partir do centro foram fixados no primeiro dia de observação, e em cada um dos dias seguintes ocorreu a retirada dos abrigos do menor raio. O tempo total do experimento em campo durou cinco dias. Para cada uma das três espécies de isópodos terrestres observadas quanto à colonização, ocupação e deslocamento entre os abrigos artificiais em campo foram realizadas três réplicas, totalizando em 288 amostras de abrigos (quatro variantes) e mais 72 amostras do tratamento controle.

Posteriormente, a meso- e a macrofauna de invertebrados terrestres associada foi identificada até grupos taxonômicos superiores (classe, ordem ou família) e em grupos funcionais de acordo com o hábito alimentar: Predadores (Araneae, Neuroptera e Pseudoscorpiones), Herbívoros (Hemiptera e Mollusca), Detritívoros (Blatodea, Coleoptera, Diplopoda, Amphipoda, Collembola, além de Isopoda) e Onívoros (Opiliones). Considerando a possibilidade de que nem todos os indivíduos de um mesmo grupo taxonômico agrupados no mesmo grupo funcional apresentarem o mesmo hábito alimentar, Formicidae, Acari, Dermaptera e Diptera não foram contabilizados para essas análises (Jasen 1997, Moço et al. 2005, Podgaiski et al. 2007).

Parâmetros de descrição faunística e análise estatística

Para todos os tratamentos, foram registradas a abundância e riqueza de espécies de isópodos terrestres; abundância e riqueza dos demais grupos taxonômicos; proporção de tatuzinhos recapturados e de frequência de recapturas de um mesmo isópodo; e o número de abrigos ocupados por tratamento (por todos os táxons, por total de isópodos e por cada espécie de tatuzinho foco deste estudo). Os dados foram organizados em tabelas de contingência para comparação da distribuição da frequência dos grupos taxonômicos e grupos funcionais mais representativos ($n > 50$) entre os abrigos disponíveis em campo, através do Teste Qui-quadrado ($\alpha < 0,05$) (Podgaiski et al. 2007).

Com o intuito de medir a diversidade de grupos taxonômicos que foram atraídos e colonizaram os diferentes tipos de abrigos, foram calculados os índices de: Diversidade de Shannon (H'), para análise da riqueza dos grupos e a sua abundância relativa; Dominância de Simpson (D), para averiguar a probabilidade de dois indivíduos selecionados ao acaso pertencerem ao mesmo grupo; e Equitabilidade de Pielou (J), o qual indica o grau de distribuição da abundância entre o total de grupos taxonômicos encontrados em cada tipo de abrigo (Moço et al. 2005, Pinheiro & Castello 2010, Oliveira 2013). Além desses, os índices de similaridade de Morisita e de Jaccard foram calculados para análise de agrupamento hierárquico, considerando quantitativamente a abundância dos grupos taxonômicos encontrados e qualitativamente a sua presença e ausência nos abrigos distintos, respectivamente (Pillar 1996, Moreno 2001). Também foi realizada análise de agrupamento hierárquico utilizando o índice de Bray-Curtis para a identificação de tendências de distribuição quantitativa dos grupos taxonômicos de cada área (Pinheiro & Castello 2010). Foi realizada Análise de Componentes Principais (PCA) para cada área estudada a partir dos dados referentes à abundância total e média, riqueza total e média, número de abrigos ocupados por todos os grupos taxonômicos, por Isopoda e pelas espécies foco de isópodos terrestres de cada local, índice de Diversidade de Shannon, índice de Dominância de Simpson e Equitabilidade de Pielou.

Todos os dados foram testados quanto à distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk ($\alpha < 0,05$) e quanto à homocedasticidade pelo teste de Levene ($\alpha <$

0,05) para a posterior aplicação adequada dos cálculos estatísticos paramétricos (Teste *t* ou ANOVA, seguida do teste de Tukey, $\alpha < 0,05$) ou não-paramétricos (Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn, $\alpha < 0,05$). Em alguns casos foi necessária a transformação de dados em $\log(x + 1)$ para melhor adequação da representação gráfica. As análises estatísticas foram realizadas através dos softwares Past 4.03, BioEstat 5.3 e DivEs 4.11. Todo o material coletado de Isopoda foi depositado na coleção científica de Carcinologia da UFRGS.

RESULTADOS

Número de abrigos ocupados pela fauna edáfica total e por isópodos terrestres

De modo geral, mesmo que alguns abrigos (e amostras do controle) não tenham atraído indivíduos, os quatro tratamentos foram ocupados pela fauna edáfica nas três áreas estudadas. A área 2 foi a que demonstrou menor número de amostras totais colonizadas (ANOVA, $F=11,659$ e $p=0,002$), como também exibiu menor número de abrigos ocupados (ANOVA, $F=6,517$ e $p=0,018$). A fauna total de Isopoda foi encontrada em número similar de amostras nas três áreas (ANOVA, $F=0,408$ e $p=0,678$) e nos abrigos (ANOVA, $F=2,639$ e $p=0,125$). O número de amostras totais em que *B. picta* foi encontrada na área 3 foi estatisticamente maior do que *B. glaber* e *A. vulgare* em suas respectivas áreas de observação (ANOVA, $F=9,169$ e $p=0,004$), bem como para o número de abrigos colonizados considerando essa espécie (ANOVA, $F=15,28$ e $p=0,002$).

Na área 1 o tratamento com maior proporção de ocupação por fauna de invertebrados de solo total foi o com agregação pré-formada de *B. glaber* (79,2%). Porém, o tratamento controle se destaca com maior porcentagem de amostras que exibiram isópodos terrestres (58,3%) e com *B. glaber* (29,2%). Considerando apenas os tratamentos dos distintos tipos de abrigos, novamente o com tatuzinhos pré-agregados foram os que exibiram o maior número de amostras colonizadas por isópodos (37,5%) e por *B. glaber* (20,8%) (Figura 6).

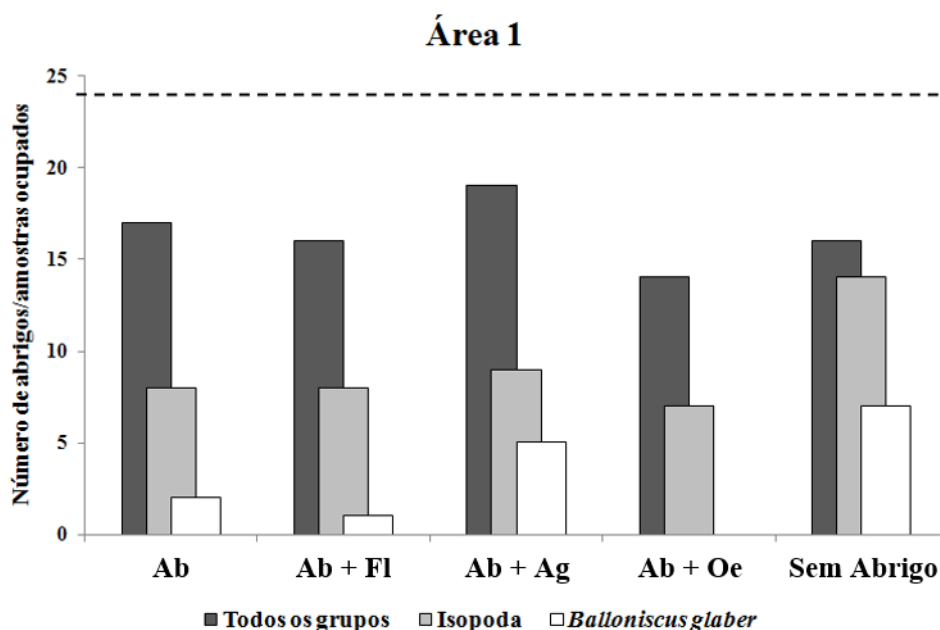


Figura 6. Número de abrigos (amostras) ocupados por fauna de invertebrados edáficos, isópodos terrestres e *Balloniscus glaber* (separadamente) dos diferentes tratamentos do experimento em campo da área 1, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Linha horizontal pontilhada representa o número máximo de amostras de cada tratamento. Legenda dos tratamentos: Ab – Abrigo (papelão); Fl – Alimento artificial com flavonoide; Ag – Bolsa de tule com agregação já formada de isópodos coespecíficos; Oe – Serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*.

Nenhum espécime de *B. glaber* foi encontrado no abrigo com óleo essencial de *E. saligna*. Para a área 2, os abrigos com serapilheira artificial e óleo essencial de eucalipto foram os que exibiram maior proporção de colonização por invertebrados de solo (62,5%). A maior frequência de ocupação por isópodos terrestres se deu em iguais proporções nas amostras controles e também nos abrigos com óleo (41,7%). As amostras do tratamento controle se destacam para a presença de *A. vulgare* (20,8% ocupadas). Porém esse parâmetro se modifica ao se considerar apenas os abrigos, onde os com alimento artificial com flavonoide e com a pré-agregação de *A. vulgare* demonstraram proporções iguais (12,5%) (Figura 7).

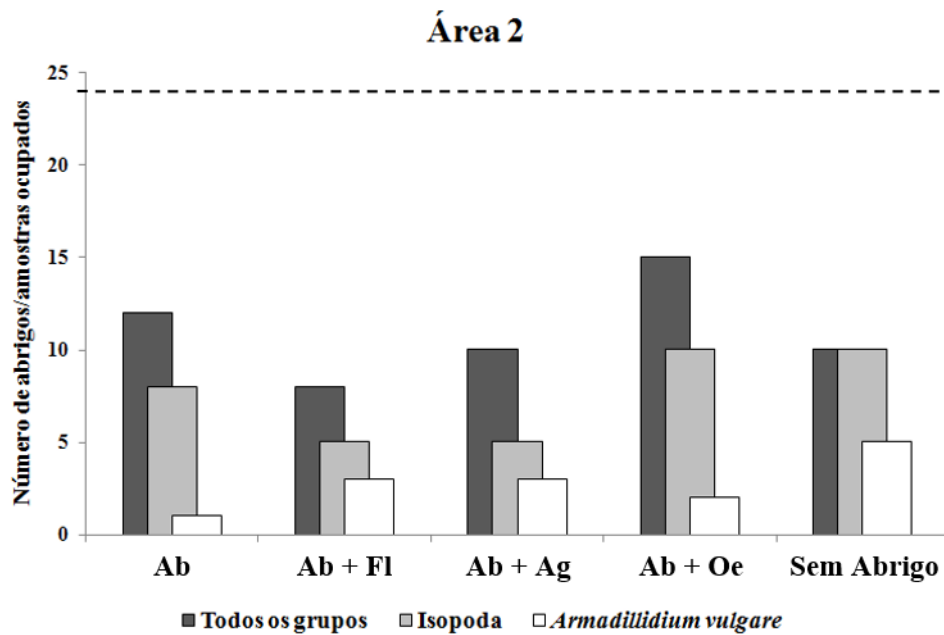


Figura 7. Número de abrigos (amostras) ocupados por fauna de invertebrados edáficos, isópodos terrestres e *Armadillidium vulgare* (separadamente) dos diferentes tratamentos do experimento em campo da área 2, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Linha horizontal pontilhada representa o número máximo de amostras de cada tratamento. Legenda dos tratamentos: Ab – Abrigo (papelão); Fl – Alimento artificial com flavonoide; Ag – Bolsa de tule com agregação já formada de isópodos coespecíficos; Oe – Serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*.

Já na área 3, os abrigos sem nenhum aditivo apresentaram maior frequência quanto à colonização por fauna edáfica (79,2%). Esse tratamento passa a apresentar igual número de amostras ocupadas por isópodos terrestres e por *B. picta* com os abrigos com óleo essencial (45,8% e 41,7%, respectivamente) (Figura 8).

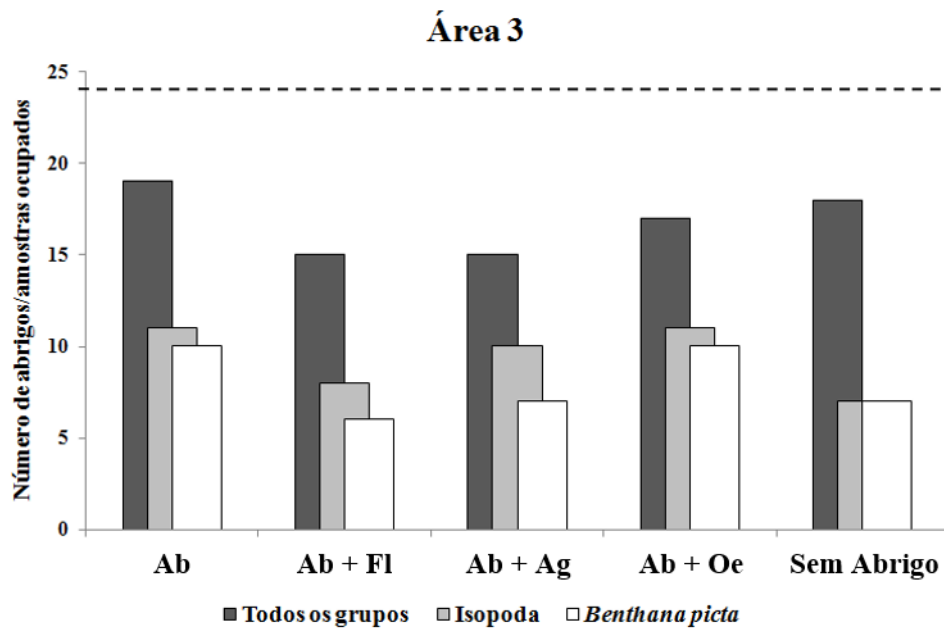


Figura 8. Número de abrigos (amostras) ocupados por fauna de invertebrados edáficos, isópodos terrestres e *Benthana picta* (separadamente) dos diferentes tratamentos do experimento em campo da área 3, no Parque Henrique Luiz Roesler, Novo Hamburgo, RS, Brasil. Linha horizontal pontilhada representa o número máximo de amostras de cada tratamento. Legenda dos tratamentos: Ab – Abrigo (papelão); Fl – Alimento artificial com flavonoide; Ag – Bolsa de tule com agregação já formada de isópodos coespecíficos; Oe – Serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*.

Abundância, riqueza e distribuição dos grupos taxonômicos nos abrigos e controle

No total, excluindo indivíduos imaturos e não-identificados, foram coletados 2644 invertebrados de solo pertencentes a 15 grupos taxonômicos na área 1, 215 indivíduos classificados em oito agrupamentos na área 2 e 551 animais de 10 categorias taxonômicas na área 3 (total geral de 3457 indivíduos e 18 grupos taxonômicos). Para a área 1, a maior abundância média foi encontrada nas amostras de serapilheira (controle). Porém, essa distinção não foi observada em relação aos abrigos com a presença da agregação já formada por seis indivíduos de *B. glaber*, se distinguindo apenas para a ocupação dos abrigos com óleo essencial, discos com flavonoide e para abrigos vazios (Kruskal-Wallis, $H=10,66$ e $p=0,031$) (Figura 9).

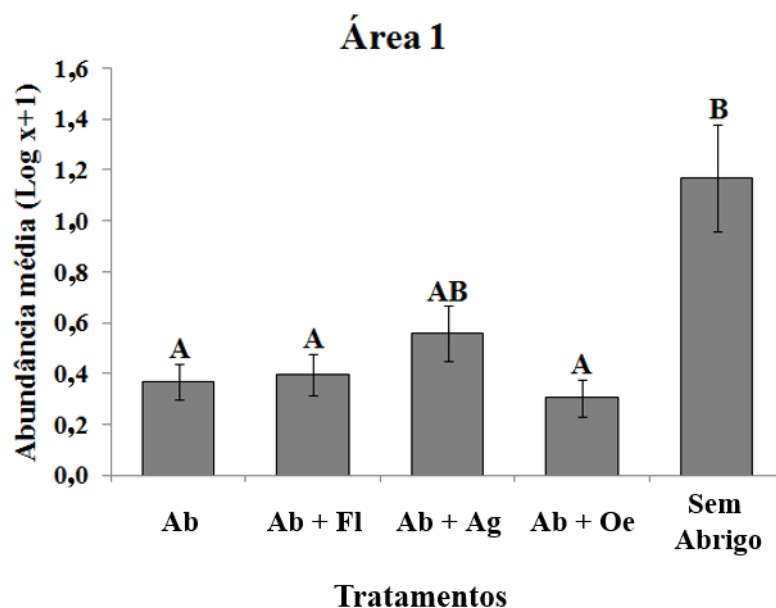


Figura 9. Log (x + 1) da abundância média dos indivíduos encontrados nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 1, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Linhas verticais indicam \pm um erro padrão. Letras diferentes acima das barras e linhas indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn ($\alpha < 0,05$). Legenda dos tratamentos: Ab – Abrigo (papelão); Fl – Alimento artificial com flavonoide; Ag – Bolsa de tule com agregação já formada de isópodos coespecíficos; Oe – Serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*.

Quanto à riqueza média, o número de grupos de invertebrados terrestres encontrados não diferiu significativamente entre os tratamentos (Kruskal-Wallis, $H=7,729$ e $p=0,082$) (Figura 10). Os grupos mais abundantes ($n > 50$) na área 1 foram Collembola (70,6%), Formicidae (12,1%), Isopoda (11,6%) e Araneae (2,5%). Desses, apenas para as aranhas não foi observada diferença estatística entre a abundância média encontrada entre os tratamentos (incluindo o controle), bem como também não foi notada disparidade nesses dados na ocupação entre os quatro tipos de abrigos (Tabela 1).

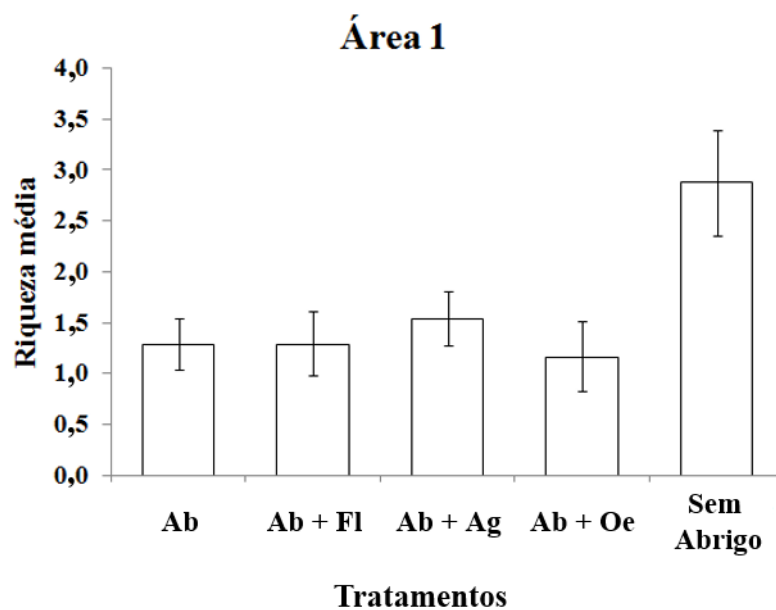


Figura 10. Riqueza média de grupos taxonômicos encontrados nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 1, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Linhas verticais indicam \pm um erro padrão. Legenda dos tratamentos: Ab - Abrigo (papelão); Fl - Alimento artificial com flavonoide; Ag - Bolsa de tule com agregação já formada de isópodos coespecíficos; Oe - Serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*.

Tabela 1. Abundância dos grupos taxonômicos nas amostragens dos quatro tratamentos diferentes de abrigos e do controle do experimento na área 1, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Teste qui-quadrado para a comparação entre as abundâncias totais dos grupos mais representativos ($n > 50$) entre os cinco tratamentos (incluindo amostragem do controle) e entre os quatro abrigos distintos ($\alpha < 0,05$). Tratamentos: Abrigos – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isópodos – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

Grupos	Abrigos	Flavonoide	Isópodos	Óleo Essencial	Controle	Total	Todos Tratamentos			Entre Abrigos		
							χ^2	<i>g.l.</i>	<i>p</i>	χ^2	<i>g.l.</i>	<i>p</i>
Ácaros	-	-	-	-	3	3	-	-	-	-	-	-
Anfípodos	-	1	12	3	3	19	-	-	-	-	-	-
Aranhas	12	6	17	14	18	67	6,81	4	0,147	5,3	3	0,152
Blatódeos	-	1	-	2	-	3	-	-	-	-	-	-
Colêmbolos	8	24	66	-	1793	1891	6622,6	4	<0,0001	106	3	<0,0001
Coleópteros	1	1	-	1	7	10	-	-	-	-	-	-
Diplópodos	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Dípteros	-	-	-	-	2	2	-	-	-	-	-	-
Formigas	9	20	19	5	271	324	822,7	4	<0,0001	12,4	3	<0,0001
Hemípteros	-	-	1	-	4	5	-	-	-	-	-	-
Isópodos	20	15	86	25	165	311	265,7	4	<0,0001	90,9	3	<0,0001
Moluscos	-	-	-	3	1	4	-	-	-	-	-	-
Neurópteros	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Opiliões	-	1	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-
Pseudoescorpiões	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-
Imaturos	4	5	3	2	18	32	-	-	-	-	-	-
Outros	-	-	-	-	2	2	-	-	-	-	-	-
Total	54	75	205	55	2289	2678	7204,6	4	<0,0001	162,1	3	<0,0001

Já na área 2, não houve diferença estatística entre as abundâncias médias observadas entre os tratamentos (ANOVA, $F=1,14$ e $p=0,342$) (Figura 11). O mesmo foi constatado em relação à riqueza média do número de grupos taxonômicos coletados (ANOVA, $F=0,86$ e $p=0,493$) (Figura 12). O táxon mais abundante nessa área foi Isopoda (78%), o qual demonstrou diferença estatística entre a distribuição de seus indivíduos tanto na análise com o tratamento controle e entre apenas os distintos tipos de abrigos utilizados no experimento (Tabela 2).

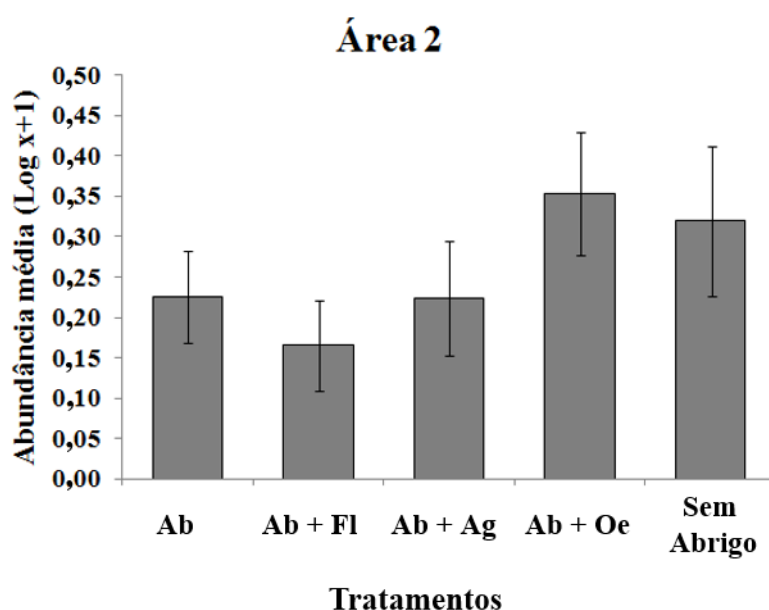


Figura 11. Log (x + 1) da abundância média dos indivíduos encontrados nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 2, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Linhas verticais indicam \pm um erro padrão. Legenda dos tratamentos: Ab – Abrigo (papelão); Fl – Alimento artificial com flavonoide; Ag – Bolsa de tule com agregação já formada de isópodos coespecíficos; Oe – Serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*.

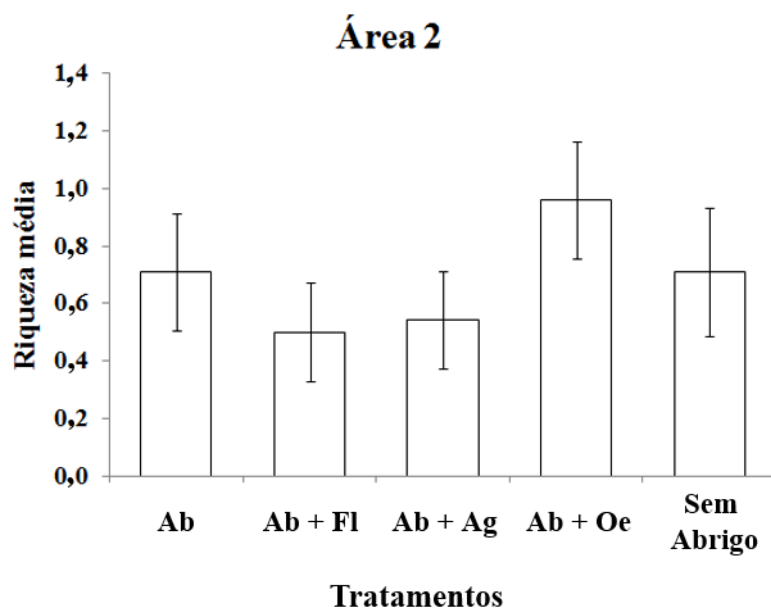


Figura 12. Riqueza média de grupos taxonômicos encontrados nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 2, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Linhas verticais indicam \pm um erro padrão. Legenda dos tratamentos: Ab - Abrigo (papelão); Fl - Alimento artificial com flavonoide; Ag - Bolsa de tule com agregação já formada de isópodos coespecíficos; Oe - Serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*.

Tabela 2. Abundância dos grupos taxonômicos nas amostragens dos quatro tratamentos diferentes de abrigos e do controle do experimento na área 2, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Teste qui-quadrado para a comparação entre as abundâncias totais dos grupos mais representativos ($n > 50$) entre os cinco tratamentos (incluindo amostragem do controle) e entre os quatro abrigos distintos ($\alpha < 0,05$). Tratamentos: Abrigos – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isópodos – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

Grupos	Abrigos	Flavonoide	Isópodos	Óleo Essencial	Controle	Total	Todos Tratamentos			Entre Abrigos		
							χ^2	<i>g.l.</i>	<i>p</i>	χ^2	<i>g.l.</i>	<i>p</i>
Aranhas	4	3	2	12	3	24	-	-	-	-	-	-
Blatódeos	-	-	2	2	-	4	-	-	-	-	-	-
Colêmbolos	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-
Coleópteros	1	3	-	2	1	7	-	-	-	-	-	-
Dípteros	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-
Formigas	2	1	-	-	1	4	-	-	-	-	-	-
Hemípteros	2	-	-	1	1	4	-	-	-	-	-	-
Isópodos	17	15	33	40	65	170	48,5	4	<0,0001	17	3	0,0007
Imaturos	-	-	1	-	2	3	-	-	-	-	-	-
Total	26	22	38	59	73	218	43,8	4	<0,0001	22,9	3	<0,0001

A abundância média de indivíduos entre os tratamentos da área 3 não apresentou disparidade nos resultados (ANOVA, $F=0,54$ e $p=0,707$) (Figura 13), assim como os dados quanto à riqueza média (ANOVA, $F=0,59$ e $p=0,668$) (Figura 14). Os destaques para as maiores frequências de representantes coletados foram observados para Formicidae (60,3%), Isopoda (24,2%) e Araneae (11,1%), dos quais apenas os dois primeiros exibiram diferença nas suas frequências entre os tratamentos (Tabela 3).

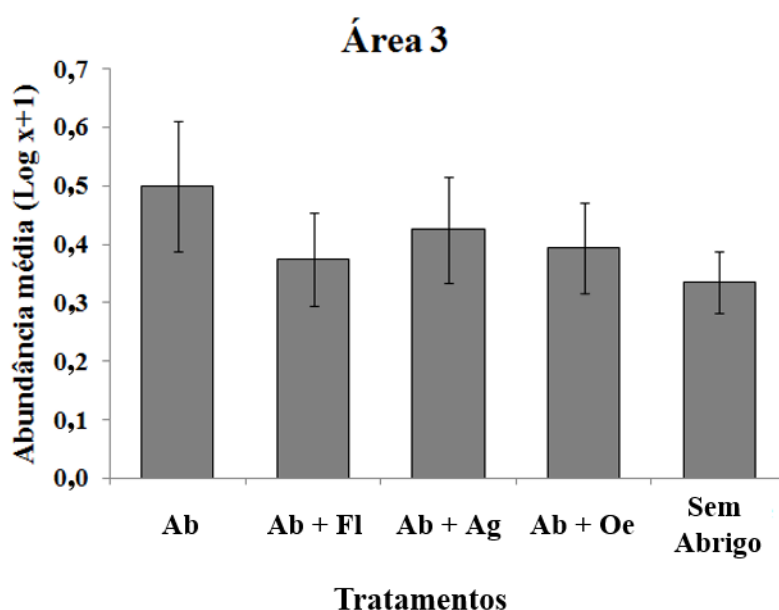


Figura 13. Log (x + 1) da abundância média dos indivíduos encontrados nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 3, no Parque Henrique Luiz Roesler, Novo Hamburgo, RS, Brasil. Linhas verticais indicam \pm um erro padrão. Legenda dos tratamentos: Ab – Abrigo (papelão); Fl – Alimento artificial com flavonoide; Ag – Bolsa de tule com agregação já formada de isópodos coespecíficos; Oe – Serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*.

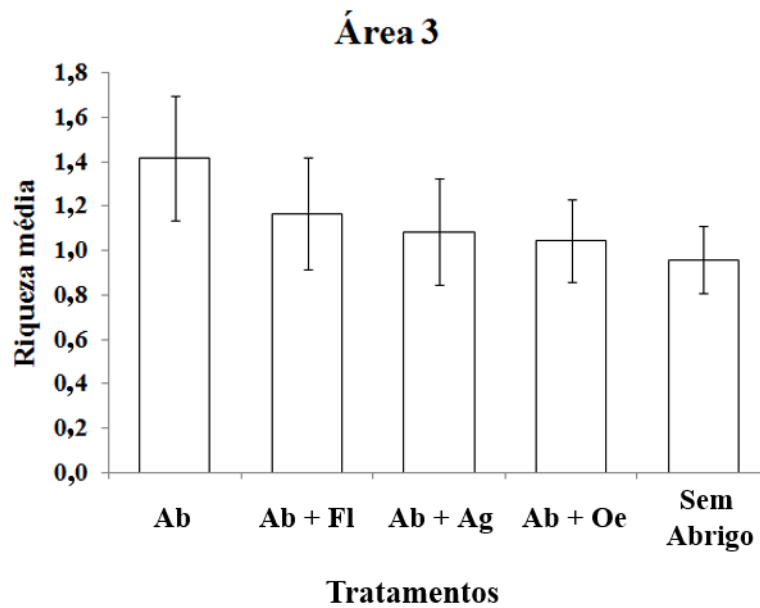


Figura 14. Riqueza média de grupos taxonômicos encontrados nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 3, no Parque Henrique Luiz Roesler, Novo Hamburgo, RS, Brasil. Linhas verticais indicam \pm um erro padrão. Legenda dos tratamentos: Ab - Abrigo (papelão); Fl - Alimento artificial com flavonoide; Ag - Bolsa de tule com agregação já formada de isópodos coespecíficos; Oe - Serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*.

Tabela 3. Abundância dos grupos taxonômicos nas amostragens dos quatro tratamentos diferentes de abrigos e do controle do experimento na área 3, no Parque Henrique Luiz Roesler, Novo Hamburgo, RS, Brasil. Teste qui-quadrado para a comparação entre as abundâncias totais dos grupos mais representativos ($n > 50$) entre os cinco tratamentos (incluindo amostragem do controle) e entre os quatro abrigos distintos ($\alpha < 0,05$). Tratamentos: Abrigos – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isópodos – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

Grupos	Abrigos	Flavonoide	Isópodos	Óleo Essencial	Controle	Total	Todos Tratamentos			Entre Abrigos		
							χ^2	<i>g.l.</i>	<i>p</i>	χ^2	<i>g.l.</i>	<i>p</i>
Ácaros	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Aranhas	12	12	12	13	13	62	0,1	4	0,9989	0,06	3	0,996
Blatódeos	1	1	-	-	1	3	-	-	-	-	-	-
Colêmbolos	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Coleópteros	-	-	1	-	1	2	-	-	-	-	-	-
Dermápteros	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Formigas	237	29	32	33	7	338	537,3	4	<0,0001	383,5	3	<0,0001
Hemípteros	-	2	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-
Isópodos	39	21	38	24	14	136	17,6	4	0,0015	8,6	3	0,0358
Moluscos	-	-	1	1	-	2	-	-	-	-	-	-
Pseudoescorpiões	2	-	-	1	-	3	-	-	-	-	-	-
Imaturos	2	1	1	1	1	6	-	-	-	-	-	-
Outros	1	-	1	1	1	4	-	-	-	-	-	-
Total	296	67	86	74	38	561	387,5	4	<0,0001	279,9	3	<0,0001

Similaridades quantitativa e qualitativa na distribuição dos grupos taxonômicos nos abrigos e controle

Considerando o índice de Similaridade de Bray-Curtis para a análise de agrupamento hierárquico da distribuição de abundância dos grupos taxonômicos identificados na área 1, foi possível notar algumas tendências nos padrões de ocupação dos abrigos disponíveis em campo (Figura 15). Neuroptera foi o único grupo que somente foi encontrado no abrigo com óleo essencial. Ácaros, dípteros e indivíduos não identificados foram registrados apenas nas amostras controle. Pseudoescorpiões também somente ocorreram no controle, porém acabaram se distanciando no agrupamento gerado. Formigas, aranhas, indivíduos imaturos e isópodos colonizaram todos os tipos de abrigos, inclusive as amostras do controle. Porém, foram agrupados em locais distintos, de acordo com a frequência relativa de animais coletados. Opiliões e diplópodos foram amostrados tanto nas amostras de serapilheira do controle como também nos abrigos com alimento artificial embebido em solução de rutina. Coleópteros não foram observados nos abrigos com agregação pré-formada de *B. glaber*.

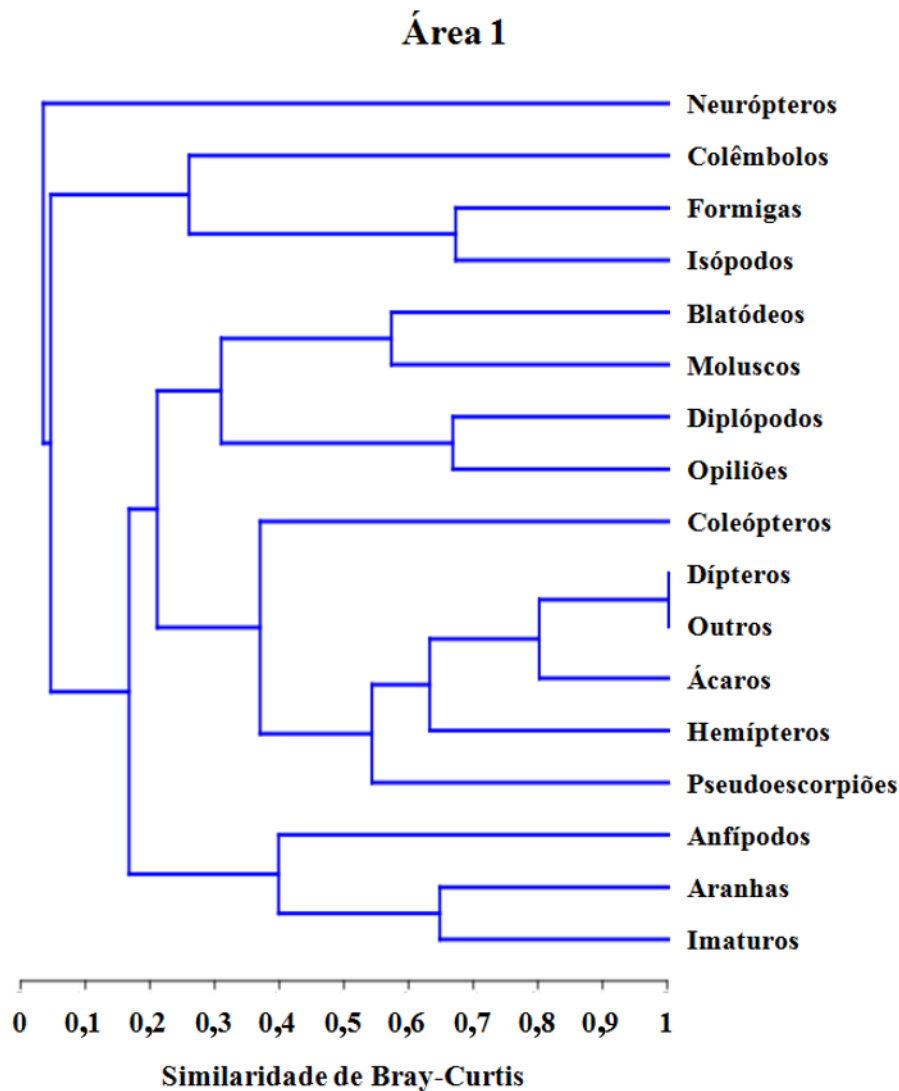


Figura 15. Agrupamento hierárquico gerado a partir do índice de similaridade de Bray-Curtis considerando a distribuição da abundância dos grupos taxonômicos de fauna edáfica identificadas nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 1, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil.

Na área 2 (Figura 16), isópodos apresentaram grande distinção em relação aos demais grupos, pois ocuparam todos os abrigos e amostras controle em grande abundância. O mesmo ocorreu com as aranhas amostradas, porém em abundância menor. Dípteros e colêmbolos foram observados apenas nos abrigos com óleo essencial. Formigas e hemípteros foram registrados com a mesma abundância no controle e nos abrigos sem aditivos.

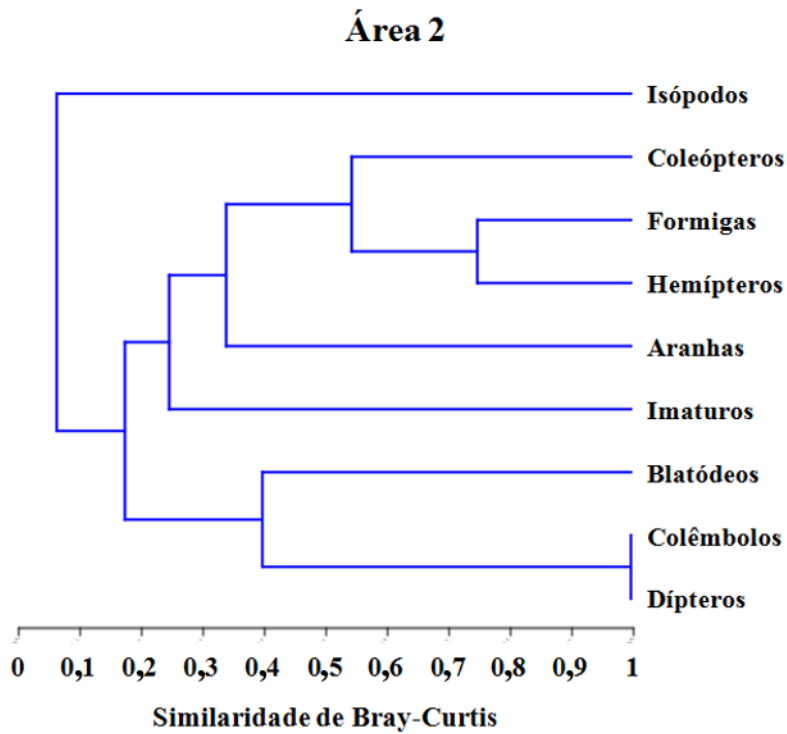


Figura 16. Agrupamento hierárquico gerado a partir do índice de similaridade de Bray-Curtis considerando a distribuição da abundância dos grupos taxonômicos de fauna edáfica identificadas nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 2, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil.

A área 3 (Figura 17) exibiu padrão de ocupação similar entre colêmbolos e ácaros (100%), entre isópodos, aranhas e formigas (maiores abundâncias em todos os tratamentos) e entre dermápteros e hemípteros (menores frequências, ocorrendo apenas nos abrigos com flavonoide). Indivíduos imaturos também ocorreram em todos os tratamentos, porém em baixa frequência.

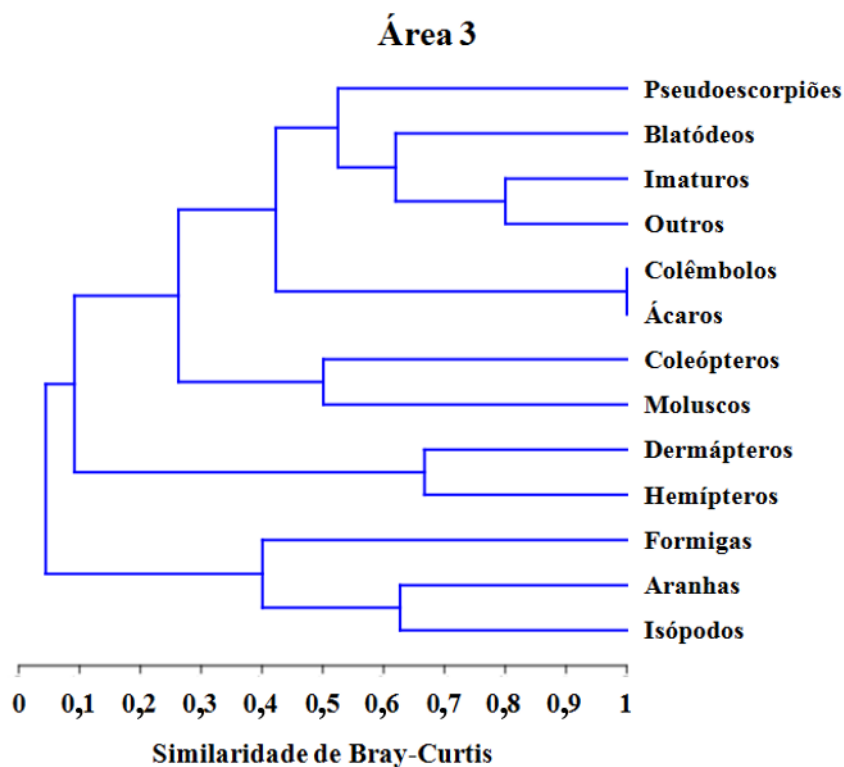


Figura 17. Agrupamento hierárquico gerado a partir do índice de similaridade de Bray-Curtis considerando a distribuição da abundância dos grupos taxonômicos de fauna edáfica identificadas nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 3, no Parque Henrique Luiz Roesler, Novo Hamburgo, RS, Brasil.

Entre os tratamentos, a similaridade dos grupos taxonômicos encontrados na área 1 pelo índice de Morisita apontou alta semelhança quantitativa para os abrigos sem aditivos com os abrigos com óleo de eucalipto. Já considerando qualitativamente em relação à presença e ausência dos grupos identificados, pelo índice de Jaccard a maior semelhança foi exibida entre os tratamentos com o flavonoide rutina e os abrigos com óleo essencial (Figura 18).

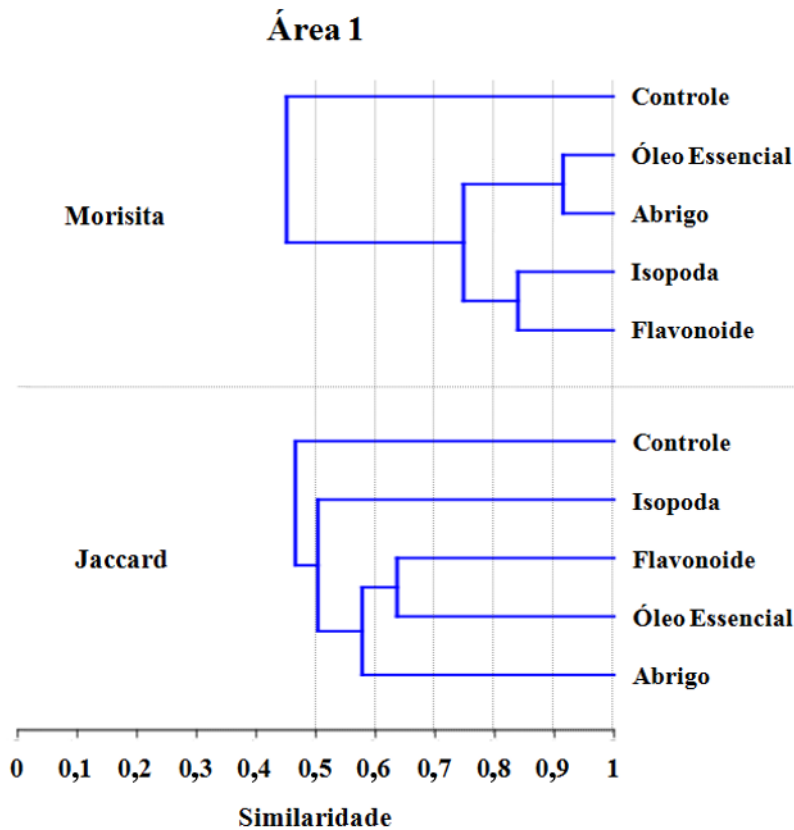


Figura 18. Agrupamento hierárquico gerado a partir dos índices de similaridade de Morisita e Jaccard, considerando quantitativamente e qualitativamente os grupos taxonômicos de fauna edáfica observados nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 1, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

Na área 2 (Figura 19), quantitativamente todos os tratamentos apresentaram índice de Morisita próximos de 1 (alta similaridade). Porém, qualitativamente pelo índice de Jaccard a maior semelhança foi demonstrada entre o tratamento controle e os abrigos sem aditivos.

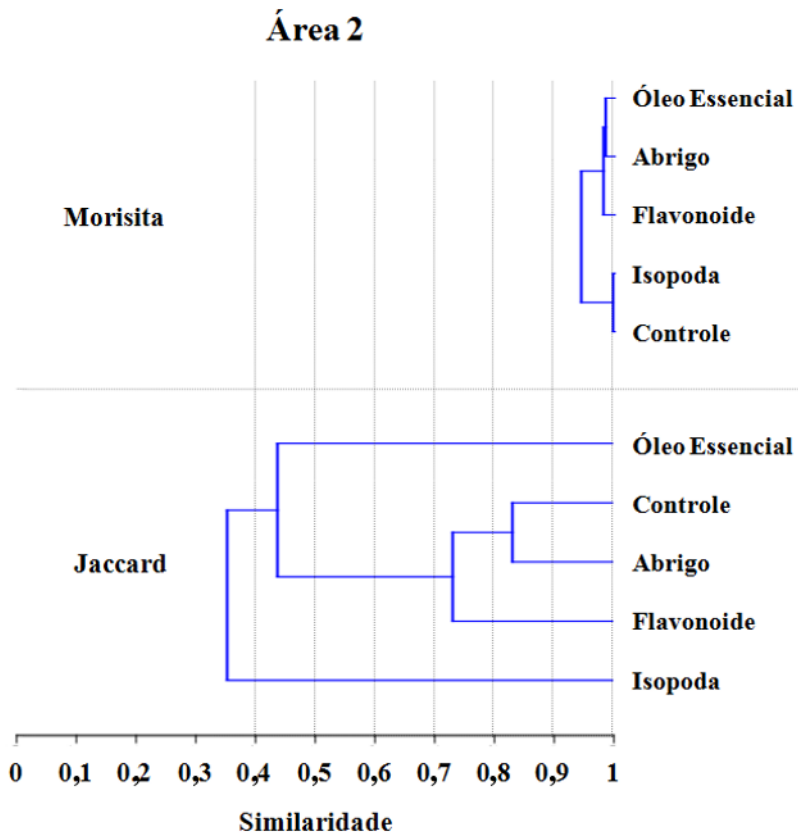


Figura 19. Agrupamento hierárquico gerado a partir dos índices de similaridade de Morisita e Jaccard, considerando quantitativamente e qualitativamente os grupos taxonômicos de fauna edáfica observados nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 2, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

Para a área 3 (Figura 20), a maior semelhança quantitativa registrada entre os tratamentos se deu entre os abrigos com rutina e com óleo essencial de eucalipto, com valor do índice de Morisita muito próximo de 1. Já qualitativamente a maior semelhança foi observada entre os abrigos com *B. picta* pré-agregadas e os com óleo essencial.

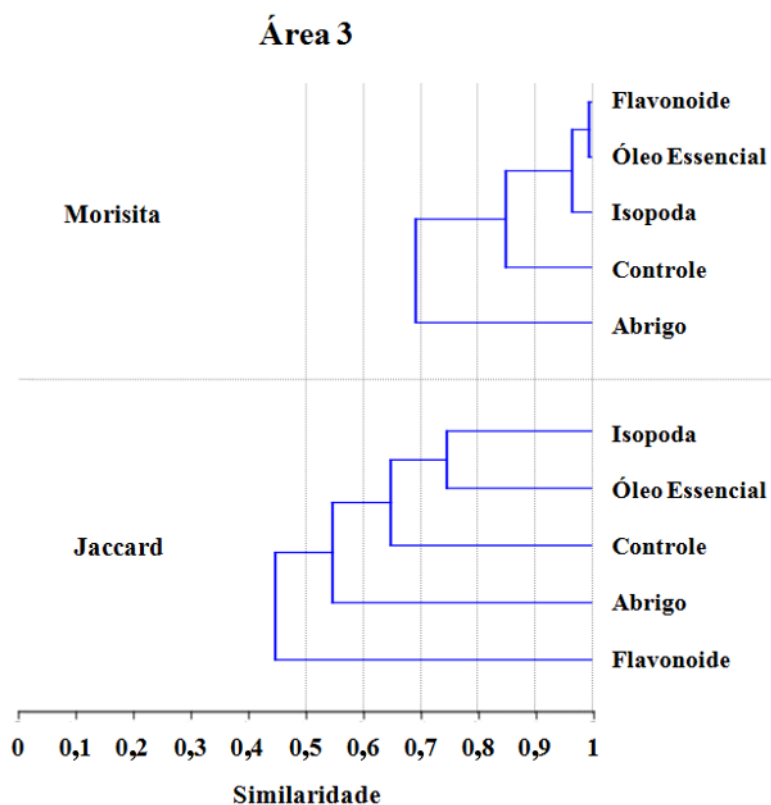


Figura 20. Agrupamento hierárquico gerado a partir dos índices de similaridade de Morisita e Jaccard, considerando quantitativamente e qualitativamente os grupos taxonômicos de fauna edáfica observados nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 3, no Parque Henrique Luiz Roesler, Novo Hamburgo, RS, Brasil. Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

Índices de Diversidade, Dominância e Equitabilidade dos abrigos e controle

O tratamento que evidenciou maior diversidade pelo índice de Shannon foi o dos abrigos com alimento alternativo com flavonoide para a área 1 (Tabela 4). Porém, pelo teste t esse tratamento não diferiu estatisticamente dos abrigos com óleo essencial e dos sem aditivos (Tabela 5). Em relação ao índice de Dominância de Simpson, apenas o tratamento controle apresentou valor alto, se distinguindo significativamente dos demais. Já quanto à Equitabilidade de Pielou, o maior valor observado foi para os abrigos sem aditivos.

Tabela 4. Número total de grupos taxonômicos, total de indivíduos, índice de Diversidade de Shannon (H'), índice de Dominância de Simpson (D) e índice de Equitabilidade de Pielou (J) para as amostras do experimento com diferentes tipos de abrigos e do tratamento controle na área 1, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Letras diferentes entre parênteses ao lado dos valores nas colunas de H' e D indicam diferença estatística pelo teste t, par a par ($\alpha < 0,05$). Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

Tratamento	N grupos	Total de Ind.	Diversidade de Shannon (H')	Dominância de Simpson (D)	Equitabilidade de Pielou (J)
Abrigo	6	54	2,2366 (ab)	0,2278 (a)	0,8652
Flavonoide	10	75	2,4661 (a)	0,2148 (a)	0,7424
Isopoda	8	205	2,0719 (b)	0,2954 (a)	0,6906
Óleo Essencial	8	55	2,2447 (ab)	0,2754 (a)	0,7482
Controle	14	2289	1,1229 (c)	0,6328 (b)	0,2949

Tabela 5. Valores de t e p para o teste t ($\alpha < 0,05$) realizado par a par para o índice de Diversidade de Shannon (H') (abaixo da diagonal principal) e para o índice de Dominância de Simpson (D) (acima da diagonal principal) com as amostras do experimento com diferentes tipos de abrigos e do tratamento controle na área 1, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

		Dominância de Simpson (D)					
		Abrigo	Favonoide	Isopoda	Óleo Essencial	Controle	
Diversidade de Shannon (H')	Abrigo	t	-	0,088	0,528	0,296	3,505
		p	-	0,467	0,31	0,39	0,009
	Favonoide	t	1,265	-	0,713	0,406	4,234
		p	0,131	-	0,254	0,351	0,004
	Isopoda	t	1,159	2,39	-	0,155	5,329
		p	0,15	0,03	-	0,442	0,002
	Óleo Essencial	t	0,038	0,962	0,86	-	3,066
		p	0,488	0,19	0,215	-	0,014
	Controle	t	9,362	9,237	10,326	6,058	-
		p	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	-

Para a área 2, os abrigos sem aditivos demonstraram a maior diversidade pelo índice de Shannon, seguido dos abrigos com óleo essencial e dos com flavonoide (Tabela 6). Entretanto, esses três tratamentos não se diferiram estatisticamente nesse parâmetro (Tabela 7). Não foi observada distinção entre os valores calculados para o índice de Dominância de Simpson nessa área. Pelo índice de Equitabilidade de Pielou, os tratamentos que apresentaram distribuição de abundância dos grupos taxonômicos com menor disparidade foram o dos abrigos sem aditivos e dos abrigos com flavonoide (Tabela 6).

Tabela 6. Número total de grupos taxonômicos, total de indivíduos, índice de Diversidade de Shannon (H'), índice de Dominância de Simpson (D) e índice de Equitabilidade de Pielou (J) para as amostras do experimento com diferentes tipos de abrigos e do tratamento controle na área 2, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Letras diferentes entre parênteses ao lado dos valores nas colunas de H' e D indicam diferença estatística pelo teste t, par a par ($\alpha < 0,05$), e n.s. corresponde a não significância. Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

Tratamento	N grupos	Total de Ind.	Diversidade de Shannon (H')	Dominância de Simpson (D)	Equitabilidade de Pielou (J)
Abrigo	5	26	1,5663 (a)	0,4431 (n.s.)	0,6746
Flavonoide	4	22	1,3634 (ab)	0,4805 (n.s.)	0,6817
Isopoda	4	38	0,762 (b)	0,7539 (n.s.)	0,381
Óleo Essencial	7	59	1,4776 (a)	0,4956 (n.s.)	0,5263
Controle	6	73	0,7349 (b)	0,793 (n.s.)	0,2843

Tabela 7. Valores de t e p para o teste t ($\alpha < 0,05$) realizado par a par para o índice de Diversidade de Shannon (H') (abaixo da diagonal principal) e para o índice de Dominância de Simpson (D) (acima da diagonal principal) com as amostras do experimento com diferentes tipos de abrigos e do tratamento controle na área 2, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

		Dominância de Simpson (D)					
		Abrigo	Favonoide	Isopoda	Óleo Essencial	Controle	
Diversidade de Shannon (H')	Abrigo	t	-	0,142	1,257	0,246	1,605
		p	-	0,446	0,132	0,408	0,085
	Favonoide	t	0,542	-	1,046	0,066	1,336
		p	0,306	-	0,172	0,475	0,12
	Isopoda	t	2,26	1,713	-	1,227	0,182
		p	0,037	0,074	-	0,137	0,431
	Óleo Essencial	t	0,263	0,344	2,3	-	1,697
		p	0,402	0,373	0,035	-	0,075
	Controle	t	2,524	1,94	0,09	2,65	-
		p	0,026	0,055	0,466	0,023	-

A área 3 apresentou valores estatisticamente maiores de H' e D para os abrigos sem aditivos, tratamento o qual, conseqüentemente, exibiu o menor valor de J (Tabela 8 e 9).

Tabela 8. Número total de grupos taxonômicos, total de indivíduos, índice de Diversidade de Shannon (H'), índice de Dominância de Simpson (D) e índice de Equitabilidade de Pielou (J) para as amostras do experimento com diferentes tipos de abrigos e do tratamento controle na área 3, no Parque Henrique Luiz Roesler, Novo Hamburgo, RS, Brasil. Letras diferentes entre parênteses ao lado dos valores nas colunas de H' e D indicam diferença estatística pelo teste t, par a par ($\alpha < 0,05$). Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

Tratamento	N grupos	Total de Ind.	Diversidade de Shannon (H')	Dominância de Simpson (D)	Equitabilidade de Pielou (J)
Abrigo	9	296	1,0379 (a)	0,6591 (a)	0,3274
Flavonoide	7	67	1,9148 (b)	0,3089 (b)	0,682
Isopoda	7	86	1,7467 (b)	0,3461 (b)	0,622
Óleo Essencial	7	74	1,8228 (b)	0,3265 (b)	0,6493
Controle	7	38	2,0621 (b)	0,2703 (b)	0,7345

Tabela 9. Valores de t e p para o teste t ($\alpha < 0,05$) realizado par a par para o índice de Diversidade de Shannon (H') (abaixo da diagonal principal) e para o índice de Dominância de Simpson (D) (acima da diagonal principal) com as amostras do experimento com diferentes tipos de abrigos e do tratamento controle na área 3, no Parque Henrique Luiz Roesler, Novo Hamburgo, RS, Brasil. Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

		Dominância de Simpson (D)					
		Abrigo	Favonoide	Isopoda	Óleo Essencial	Controle	
Diversidade de Shannon (H')	Abrigo	t	-	2,864	2,784	2,796	2,544
		p	-	0,018	0,019	0,019	0,026
	Favonoide	t	5,138	-	0,262	0,12	0,22
		p	0,002	-	0,402	0,454	0,417
	Isopoda	t	4,509	0,883	-	0,141	0,449
		p	0,003	0,208	-	0,447	0,336
	Óleo Essencial	t	4,797	0,47	0,414	-	0,325
		p	0,002	0,33	0,348	-	0,379
	Controle	t	4,896	0,627	1,399	1,041	-
		p	0,002	0,279	0,11	0,173	-

Ocupação dos abrigos por grupos funcionais

Classificando os invertebrados edáficos por grupos funcionais foi possível observar que, dentre os mais abundantes, na área 1 a grande maioria dos detritívoros foram encontrados nas amostragens do controle (serapilheira) e nos abrigos com *B. glaber*, enquanto que predadores ocuparam todos os abrigos de forma similar, inclusive o tratamento controle (Tabela 10 e Figura 21).

Tabela 10. Teste qui-quadrado para a comparação entre as abundâncias totais dos grupos funcionais coletados ($n > 50$) entre os cinco tratamentos (incluindo amostragem do controle) e entre os quatro tratamentos de abrigos distintos, nas três áreas experimentais ($\alpha < 0,05$).

Área	Grupo Funcional	Todos Tratamentos			Entre Abrigos		
		χ^2	<i>g.l.</i>	<i>p</i>	χ^2	<i>g.l.</i>	<i>p</i>
Área 1	<i>Predadores</i>	7,89	4	0,096	6	3	0,1116
	<i>Detritívoros</i>	6497,82	4	<0,0001	190,63	3	<0,0001
	<i>Herbívoros</i>	-	-	-	-	-	-
	<i>Onívoros</i>	-	-	-	-	-	-
Área 2	<i>Predadores</i>	-	-	-	11,95	3	0,0075
	<i>Detritívoros</i>	44,76	4	<0,0001	18,41	3	0,0004
	<i>Herbívoros</i>	-	-	-	-	-	-
	<i>Onívoros</i>	-	-	-	-	-	-
Área 3	<i>Predadores</i>	0,31	4	0,9893	0,31	3	0,9586
	<i>Detritívoros</i>	17,09	4	0,0019	9,3	3	0,0255
	<i>Herbívoros</i>	-	-	-	-	-	-
	<i>Onívoros</i>	-	-	-	-	-	-

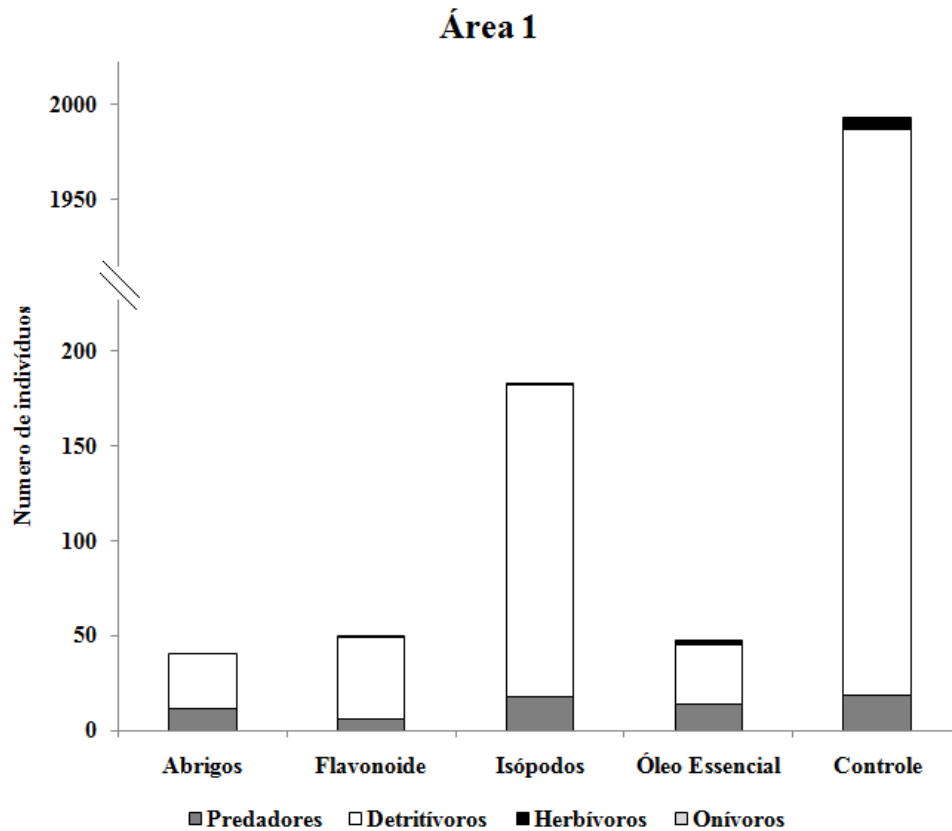


Figura 21. Número de indivíduos de cada grupo funcional encontrado nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 1, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

Para a área 2, os detritívoros também demonstraram maior abundância nos mesmos tratamentos que a área 1, enquanto que a comparação só foi possível entre os abrigos para os predadores, os quais apontaram preferência pelos abrigos com serapilheira artificial exposta à ~8µl de óleo essencial de *E. saligna* (Tabela 10 e Figura 22).

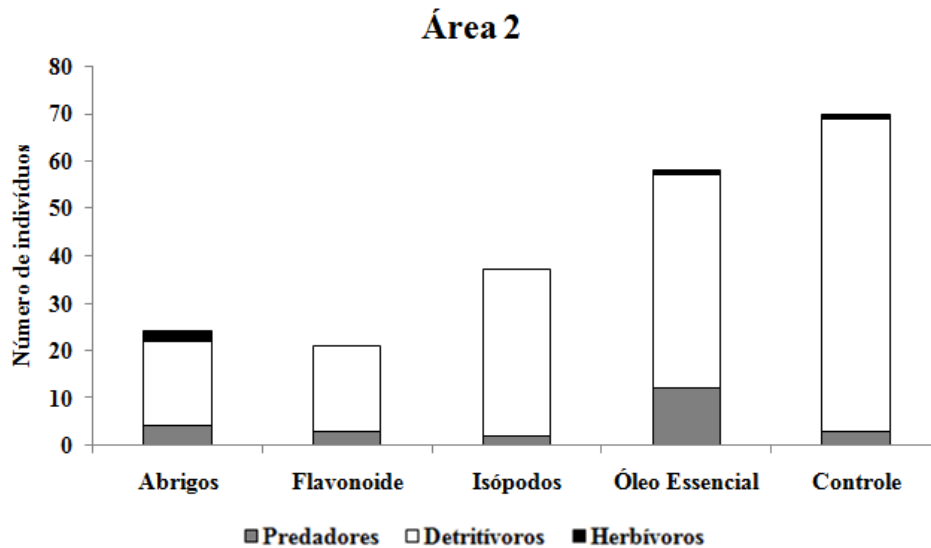


Figura 22. Número de indivíduos de cada grupo funcional encontrado nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 2, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

Predadores na área 3 foram observados em proporções similares em todos os abrigos e serapilheira, enquanto que detritívoros mostraram maiores abundâncias nos abrigos com *Benthana* e nos abrigos sem adicional algum (Tabela 10 e Figura 23). Onívoros e Herbívoros exibiram baixa representatividade nas 3 áreas.

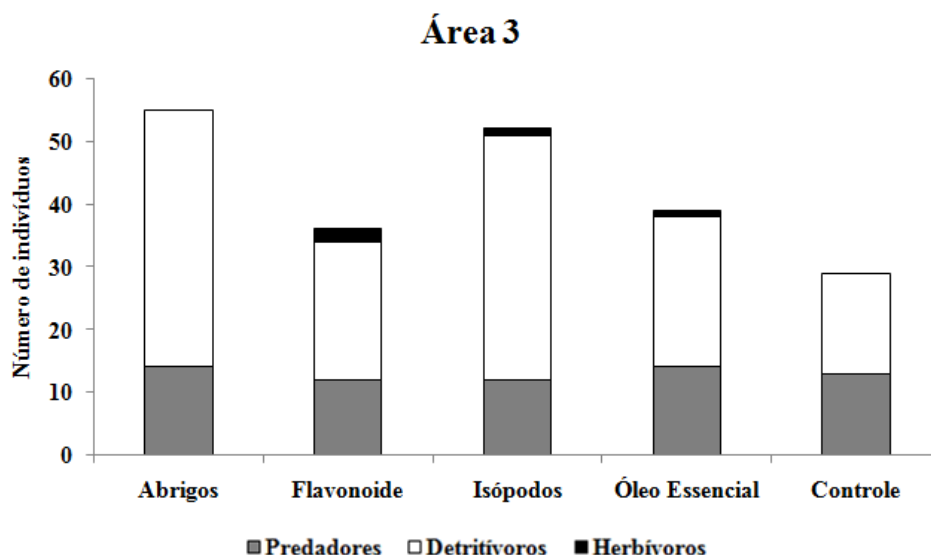


Figura 23. Número de indivíduos de cada grupo funcional encontrado nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 3, no Parque Henrique Luiz Roesler, Novo Hamburgo, RS, Brasil. Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

Ocupação dos abrigos por isópodos terrestres

Foram encontradas quatro espécies de isópodos terrestres da área 1: *Atlantoscia floridana* (N=273), *Balloniscus glaber* (36), *Balloniscus sellowii* (1) e *Neotroponiscus* sp. (1). Dos 60 indivíduos iniciais de *B. glaber* soltos no centro das arenas experimentais, apenas um foi recapturado nos abrigos com coespecíficos na bolsa de tule no terceiro dia de coleta (percorreu 1,5 metros). Além disso, 94,4% dos indivíduos contabilizados durante os dias de amostragem para essa espécie não apresentaram tamanho mínimo suficiente para receberem a marca inicial do monitoramento de deslocamento dos isópodos, tornando inviáveis as demais análises estatísticas para esses parâmetros.

Considerando as duas espécies mais abundantes de isópodos na área 1 (*A. floridana* e *B. glaber*), a distribuição da abundância média observada inferiu que mais animais foram encontrados nas amostras controle de forma significativa (Kruskal-Wallis, *B. glaber*: H=13,4 e p<0,009; *A. floridana*: H=12,13 e p=0,016). Porém, para *B. glaber*, estatisticamente esse dado não difere do abrigo com coespecíficos. Além disso, entre os abrigos, o com indivíduos da mesma espécie de

isópodo exibiu maior abundância média, enquanto que o que comportava serapilheira artificial com ~6µl de óleo essencial de *E. saligna* não foi observado nenhum espécime colonizando o local (Figura 24). Já para *A. floridana* não houve diferença estatística entre os abrigos (Figura 25).

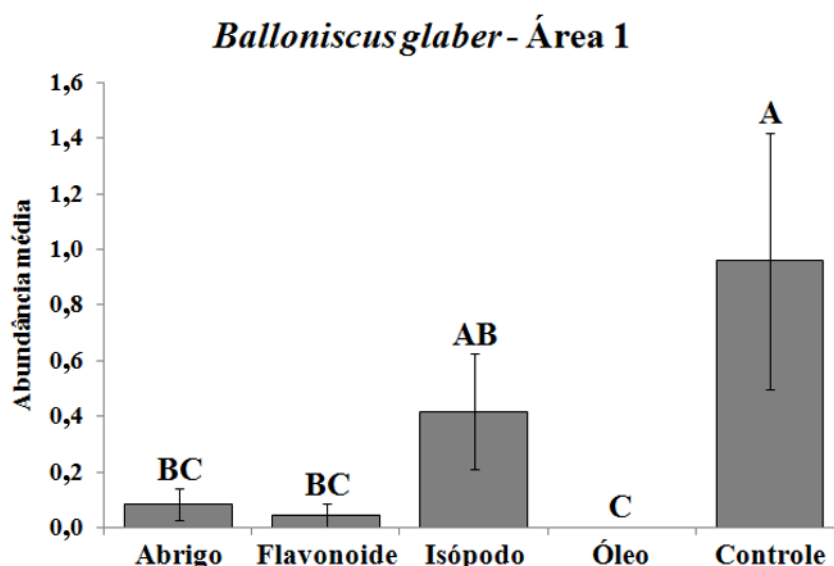


Figura 24. Abundância média de *Balloniscus glaber* encontrados nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 1, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Linhas verticais indicam \pm um erro padrão. Letras diferentes acima das barras e linhas indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn ($\alpha < 0,05$). Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

Atlantoscia floridana - Área 1

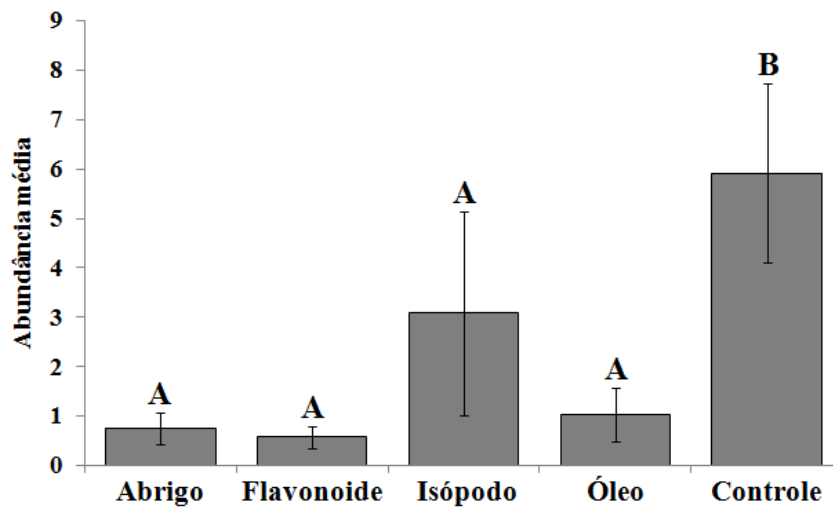


Figura 25. Abundância média de *Atlantoscia floridana* encontrados nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 1, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Linhas verticais indicam \pm um erro padrão. Letras diferentes acima das barras e linhas indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn ($\alpha < 0,05$). Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isópodo – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

Na área 2 foram observadas três espécies de oniscídeos: *A. floridana* (N=89), *Balloniscus sellowii* (53) e *Armadillidium vulgare* (28). Dos 60 espécimes de *A. vulgare* marcados inicialmente, apenas um foi recuperado a 1,5 metros do centro no terceiro dia de coleta na amostra do tratamento controle. Aproximadamente 71,4% dos indivíduos coletados não foram marcados *a posteriori* pelo mesmo motivo anterior. A análise estatística do deslocamento de *A. vulgare* pela arena se tornou inexecutável pela mesma razão da área 1.

Para as três espécies de isópodos da área 2 a maior abundância foi observada no tratamento controle. Porém, a média desse parâmetro não inferiu disparidade estatística (Kruskal-Wallis, *A. vulgare*: H=3,61 e p=0,462; *A. floridana*: H=5,78 e p=0,216; *B. sellowii*: H=5,04 e p=0,284) (Figuras 26, 27, e 28).

Armadillidium vulgare - Área 2

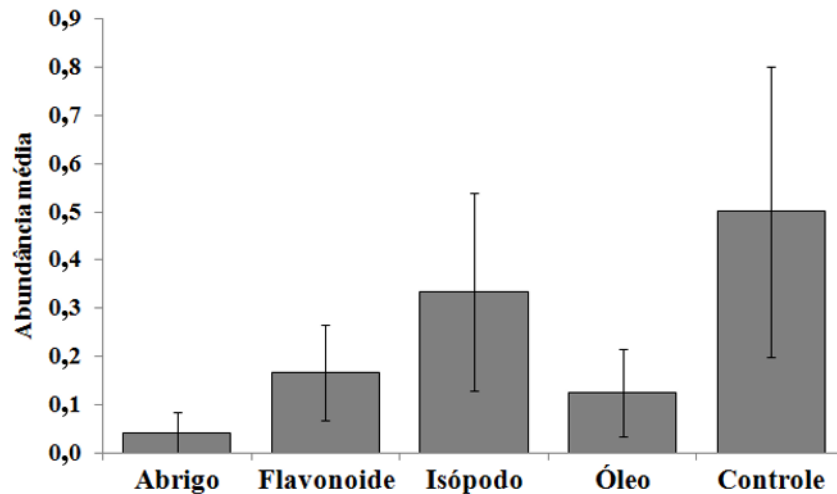


Figura 26. Abundância média de *Armadillidium vulgare* encontrados nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 2, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Linhas verticais indicam \pm um erro padrão. Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

Atlantoscia floridana - Área 2

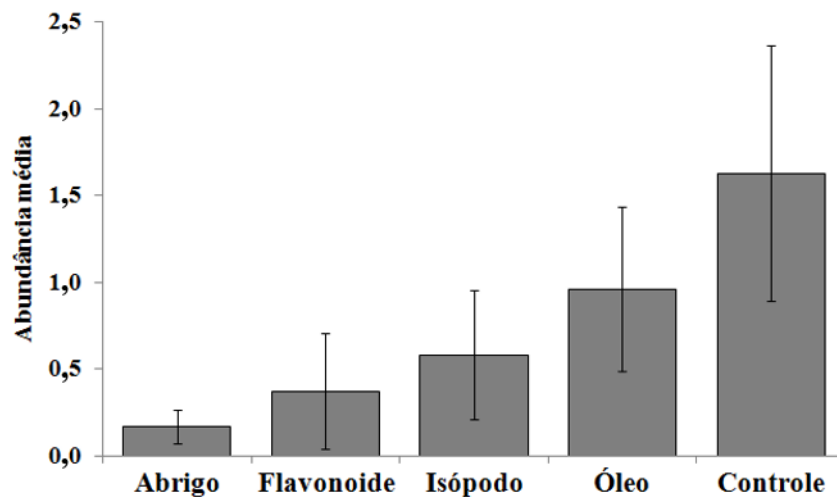


Figura 27. Abundância média de *Atlantoscia floridana* encontrados nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 2, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Linhas verticais indicam \pm um erro padrão. Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

Balloniscus sellowii - Área 2

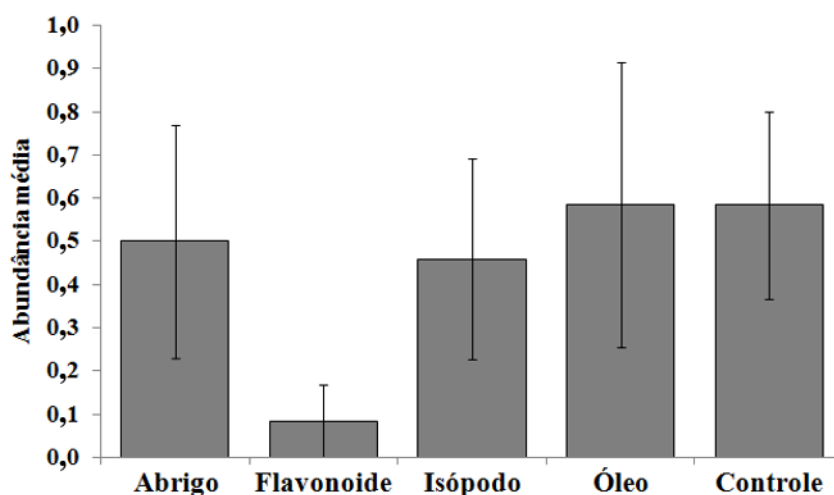


Figura 28. Abundância média de *Balloniscus sellowii* encontrados nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 2, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Linhas verticais indicam \pm um erro padrão. Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isópodo – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

Três espécies de isópodos terrestres foram coletados na área 3: *Benthana picta* (N=106), *Atlantoscia floridana* (29) e *Armadillidium vulgare* (1). Nenhum dos 60 espécimes de *B. picta* marcados inicialmente foi recuperado, tão pouco os 77,4% que receberam a marca *a posteriori* durante os quatro dias de coleta. Novamente não foi possível realizar o monitoramento da trajetória e deslocamento dos indivíduos entre os abrigos.

Das duas espécies de oniscídeos mais abundantes, apenas *A. floridana* exibiu significância estatística entre os parâmetros observados para avaliação da ocupação dos abrigos (Kruskal-Wallis, $H=11,1$ e $p=0,026$), e não foi coletada tanto nos abrigos com óleo de *E. saligna* e tão pouco nas amostras controle (Figura 29). Já *B. picta* apresentou maior ocupação nos abrigos sem atrativos, porém sem diferença comparando com os outros tratamentos (Kruskal-Wallis, $H=2,41$ e $p=0,661$) (Figura 30).

Atlantoscia floridana - Área 3

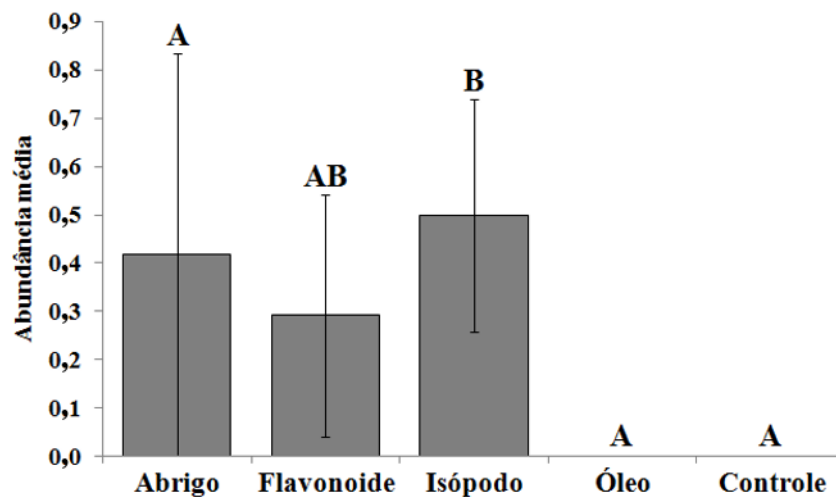


Figura 29. Abundância média de *Atlantoscia floridana* encontrados nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 3, no Parque Henrique Luiz Roesler, Novo Hamburgo, RS, Brasil. Linhas verticais indicam \pm um erro padrão. Letras diferentes acima das barras e linhas indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn ($\alpha < 0,05$). Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

Benthana picta - Área 3

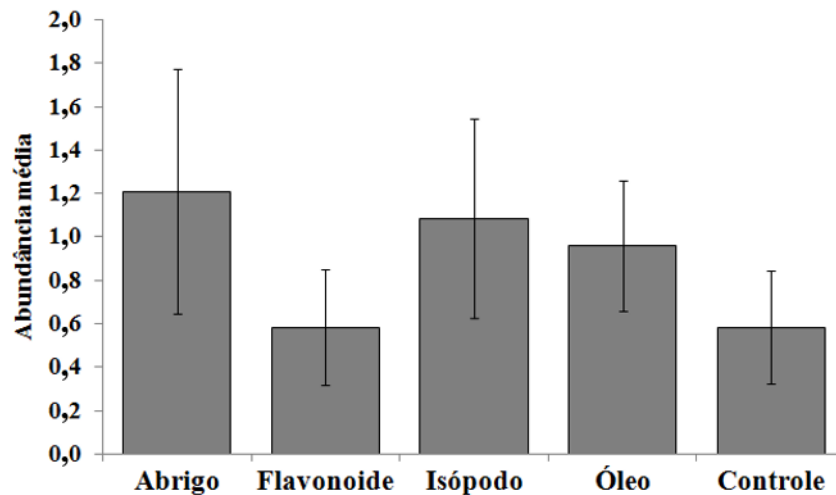


Figura 30. Abundância média de *Benthana picta* encontrados nos diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 3, no Parque Henrique Luiz Roesler, Novo Hamburgo, RS, Brasil. Linhas verticais indicam \pm um erro padrão. Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

Análise de componentes principais para os parâmetros

Compilando os dados levantados, na Análise de Componentes Principais foi possível estabelecer quais parâmetros caracterizaram de forma mais adequada o desempenho apresentado pelos diversos tipos de tratamentos utilizados como atrativos (ou repelentes) nos abrigos disponibilizados no experimento em campo das três áreas estudadas.

Na área 1 (Figura 31), os dois eixos evidenciaram 97,2% da relação entre as variáveis, mostrando que os abrigos com flavonoide somente se destacaram quanto a diversidade (H') de grupos taxonômicos observada, enquanto os sem aditivos apresentaram maior equilíbrio de abundância entre esses grupos (J). Para a área 2 (Figura 32), a soma dos eixos atingiu 94,6%, e esses dois tratamentos só exibem relevância para esses mesmos índices, porém em o maior H' foi observado para os abrigos sem adicionais e J para os abrigos com flavonoide. A área 3 apresentou 90,6% da relação total entre os parâmetros, mostrando o maior equilíbrio de abundância de grupos taxonômicos e diversidade foi observado para o tratamento controle (Figura 33).

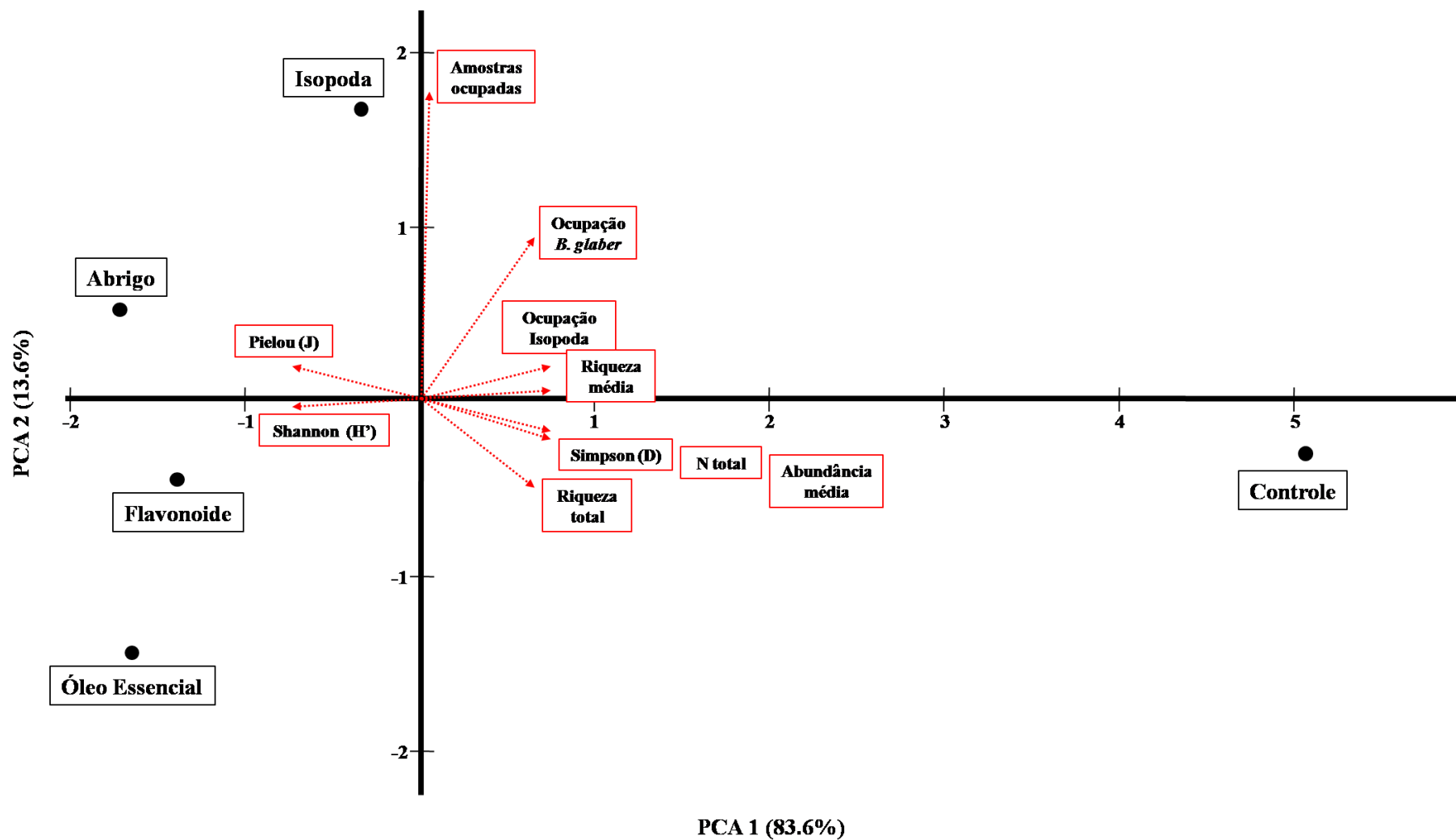


Figura 31. Análise de Componentes Principais (PCA) relacionando os parâmetros levantados para os diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 1, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

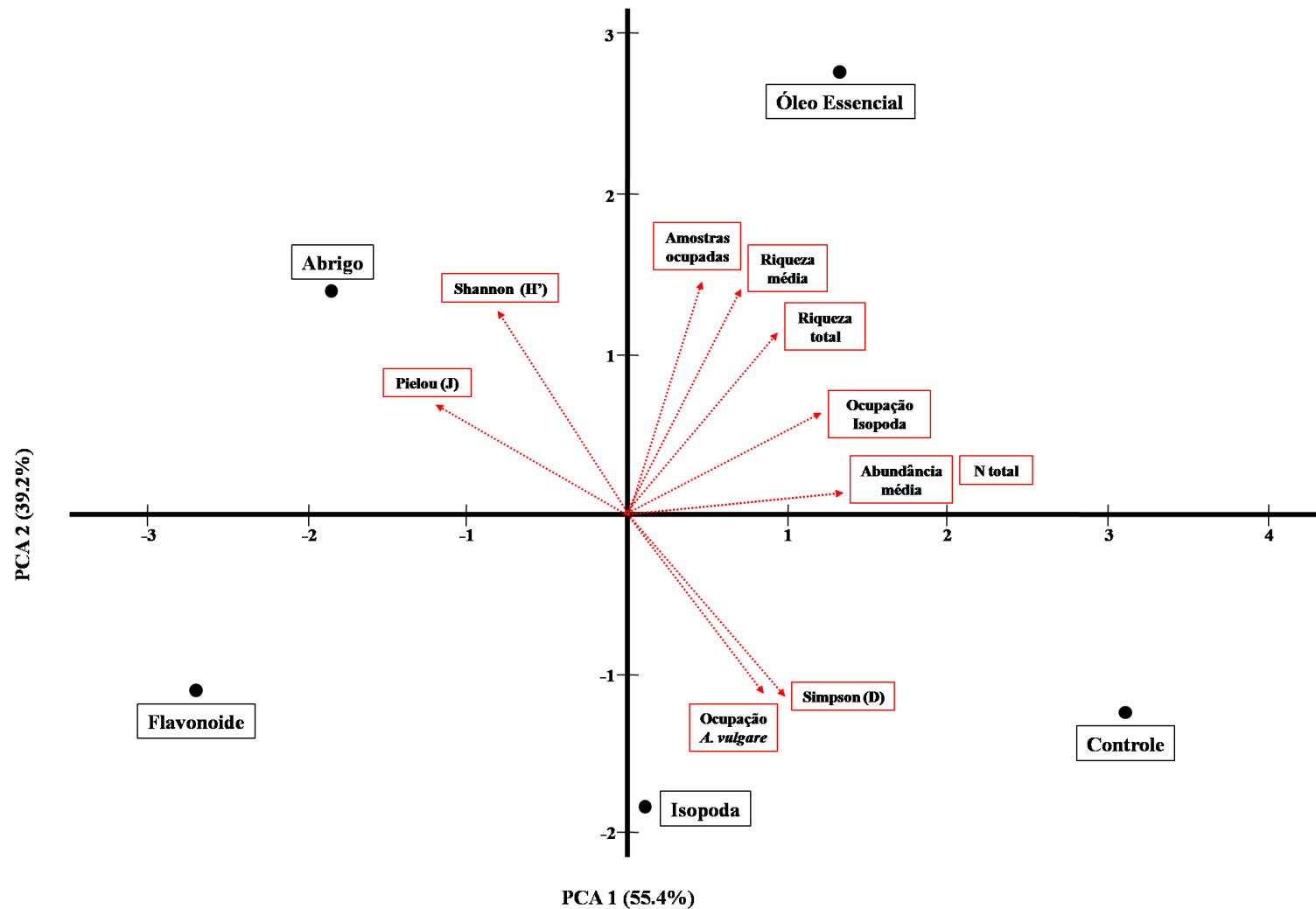


Figura 32. Análise de Componentes Principais (PCA) relacionando os parâmetros levantados para os diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 2, na Zona Sul de Porto Alegre, RS, Brasil. Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tulle com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

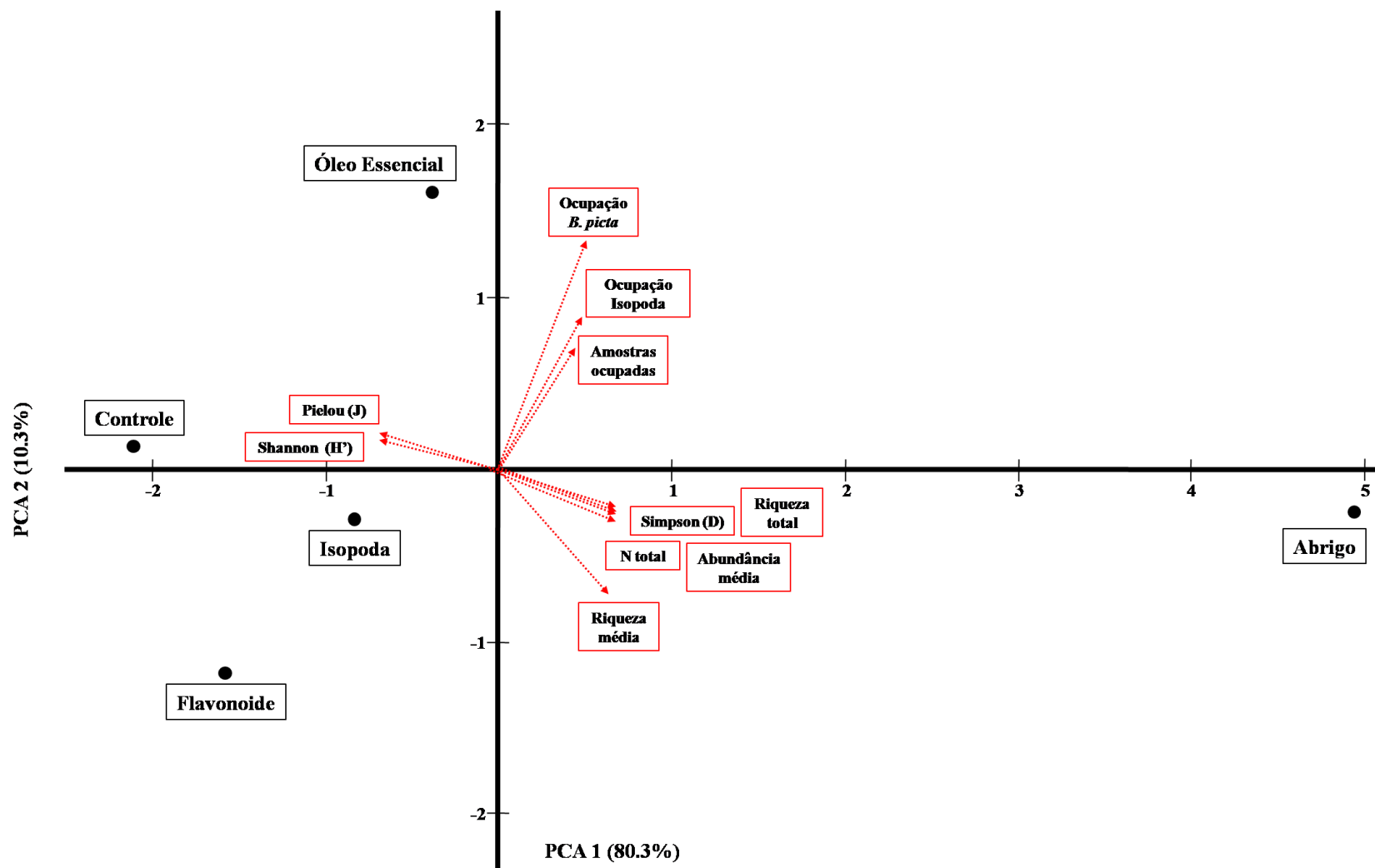


Figura 33. Análise de Componentes Principais (PCA) relacionando os parâmetros levantados para os diferentes abrigos e tratamento controle do experimento em campo da área 3, no Parque Henrique Luiz Roesler, Novo Hamburgo, RS, Brasil. Tratamentos: Abrigo – Papelão; Flavonoide – Papelão cobrindo alimento artificial com flavonoide rutina; Isopoda – Papelão cobrindo bolsa de tule com agregação já formada por isópodos coespecíficos; Óleo Essencial – Papelão cobrindo serapilheira artificial com óleo essencial de *E. saligna*; Controle – Amostras de serapilheira natural sem cobertura do papelão.

DISCUSSÃO

Considerando todas as amostragens realizadas na área 1, os principais parâmetros avaliados indicaram que a fauna edáfica se demonstrou indiferente à presença de microhabitats artificiais combinados à distintos elementos que poderiam motivar a intensificação da sua ocupação. As coletas de serapilheira (tratamento controle) apresentaram um número muito elevado de colêmbolos, fato pelo qual os dados obtidos podem ter enviesado os cálculos de abundância média total e de detritívoros totais. Sabe-se que colêmbolos vivem agrupados graças à sinalização química de feromônios (Verhoef et al. 1977, Liu & Wu 2017) e a grande densidade de indivíduos coletados na serapilheira se explica pela sua notável participação na decomposição da matéria orgânica vegetal (Rusek 1998, Chernova et al. 2007). Conseqüentemente, o valor calculado para o índice D foi o mais alto para o tratamento controle, enquanto que os de J e de H' foram os mais baixos, mesmo que a riqueza de grupos taxonômicos observados tenha sido a maior nessas amostras de serapilheira. Além disso, a baixa similaridade apresentada pelos índices de Morisita e Jaccard, separando o tratamento controle dos demais em relação à abundância e à composição dos grupos taxonômicos, corrobora a contribuição significativa da quantidade de colêmbolos coletados.

Observando o mesmo cenário, mas avaliando apenas as diferenças entre os abrigos, o tratamento com a pré-agregação de *B. glaber* foi o que se destacou quanto à abundância média total de indivíduos, com maior proporção de amostras com fauna edáfica, com isópodos totais e com *B. glaber*. Também apresentou a maior frequência de detritívoros, de abundância média de *A. floridana* e de *B. glaber*, além da única recaptura para esta última espécie. O maior número de isópodos nesse tratamento provavelmente ocorreu pela sinalização do feromônio de agregação (Takeda 1980), emitidos pelos tatuzinhos já presentes no abrigo. Evolutivamente, o comportamento de agregação em Oniscidea foi fundamental na colonização do ambiente terrestre, pois limita a perda de água pela superfície corporal, evitando a dessecação, e reduz o consumo de oxigênio (Loureiro et al. 2006, Broly et al. 2013). Além disso, uma simples evidência da presença de coespecíficos (fezes, por exemplo) em determinados locais pode sinalizar *hotspots* para proteção contra predadores, estímulos para eventos de reprodução e pistas de fonte alimentar

adequada no ambiente em questão (Takeda 1980, Robinson et al. 2011, Beauché & Richard 2013, Broly et al. 2013). A preferência pela ocupação dos abrigos com tatuzinhos ainda é ratificada por mais três evidências estatísticas. Pelo teste Qui-quadrado para os isópodos coletados foi constatada disparidade na distribuição da abundância entre os abrigos. O valor de J, o mais baixo entre os tratamentos com abrigos, apontou desigualdade no número de indivíduos entre os grupos encontrados nos abrigos com a pré-agregação de *B. glaber*. Por fim, o D calculado, indicou que o número de indivíduos de alguns grupos pode ter se sobressaído aos demais, que neste caso foi Isopoda.

Quanto à ausência de *B. glaber* nos abrigos com serapilheira artificial e óleo essencial de *E. saligna*, ocorreu como a hipótese levantada neste trabalho. *Clingers* apresentam certo nível de sensibilidade sensorial em relação ao ambiente que habitam, em consequência da espessura da sua cutícula do exoesqueleto, do tamanho do segundo par de antenas e do seu comportamento antipredatório (Schmalfuss 1984, Hild et al. 2008, Wood et al. 2017). Kenne et al. (B, em preparação), trabalhando com exposição individual de *B. glaber* ao mesmo óleo utilizado nos abrigos em campo do presente estudo, observaram a espécie ocupando locais opostos ao volátil de *E. saligna*. Outros trabalhos também relatam o comportamento de repulsa por parte artrópodos em relação a óleos essenciais (Koschier & Sedy 2003, Yang & Ma 2005, Erler et al. 2006, Batish et al. 2008, Louppe et al. 2008, Mousa et al. 2013).

Na área 2, cada tratamento exibiu alguma particularidade em relação aos parâmetros calculados com os dados observados. Quantitativamente foi registrada alta similaridade entre os tratamentos na abundância entre todos os grupos taxonômicos coletados, exceto por Isopoda nos abrigos com agregação pré-formada de *A. vulgare*, nos abrigos com óleo essencial e no controle. Esse fato é corroborado pelo baixo índice de Bray-Curtis, separando Isopoda dos demais grupos taxonômicos, e pelo teste Qui-quadrado. Consequentemente, Isopoda foi o táxon que representou a alta proporção de detritívoros nessa área experimental. Embora as amostras do controle tenham apresentado a maior abundância total, o tratamento do óleo essencial foi o que exibiu maior abundância média da fauna edáfica em decorrência do maior número de abrigos ocupados. Óleo essencial de

espécies vegetais como *E. saligna* geralmente tem efeitos de repelência para a grande maioria dos artrópodos (Yi et al. 2007, Toloza et al. 2008), principalmente para insetos fitófagos como já citado anteriormente (Tarelli et al. 2009, Gillilan 2012, Regnault-Roger et al. 2012), e também para isópodos terrestres (Singh et al. 1991). Porém, Kenne et al. (B, em preparação) relacionaram a presença de tatuzinhos em serapilheira natural de eucalipto como uma estratégia alternativa de evitar contato com predadores de oniscídeos em potencial. Curiosamente, *B. sellowii* e *A. floridana* (*clinger* e *runner*, respectivamente) foram as espécies que exibiram maior contribuição no total de isópodos para esse tratamento. Fisiologicamente, esses dois grupos ecomorfológicos são menos resistentes a esse tipo de exposição química ambiental do que *rollers* (*A. vulgare*) visto suas características relacionadas à espessura da cutícula e aos receptores sensoriais (Wood et al. 2017, Kenne et al. 2019, Kenne et al. A, B, em preparação). A fauna de solo presente no assoalho florestal de origem de espécies de eucalipto é adaptada a microhabitats repletos de compostos orgânicos, originários de eventos de lixiviação e armazenamento de água no solo (Siqueira et al. 2016) e que, inclusive, a solubilização desses metabólitos secundários presentes nesse material vegetal é uma das principais motivações para a colonização desses locais por detritívoros (Tonello et al. 2014). Nota-se também que óleos essenciais são voláteis em constante liberação, e a sua quantidade acumulada presente no ambiente é inversamente proporcional ao tempo transcorrido (se não houver uma fonte renovável no local), além de que a sua influência nos diversos organismos dependem da sinergia de fatores ambientais e da espécie vegetal de origem (Nerio et al. 2010, Isman et al. 2011, Anderson & Coats 2012).

Predadores (aranhas na sua totalidade) foram registrados em maior abundância nos microhabitats com óleo essencial. Para aracnídeos generalistas, a utilização de artefatos caídos no assoalho florestal como esconderijo aumentam as chances de encontros com as suas presas (Schmalhofer 2001, Romero & Vasconcellos-Neto, 2004, 2007). Possivelmente a quantidade de óleo essencial utilizadas nos abrigos artificiais nessa área experimental (~8µl) não surtiu efeito negativo para as aranhas coletadas, tornando esses microhabitats passíveis de exploração por esses indivíduos. Provavelmente, a motivação se reflete na abundância de oniscídeos nos mesmos abrigos, visto que tatuzinhos são itens

alimentares de aranhas (Řezáč & Pekár 2007, Souza-Silva & Ferreira 2014, Tuf et al. 2015).

Ainda que não tenha apresentado diferença estatística significativa (o que vai de encontro à hipótese deste estudo para a espécie), a maior abundância de *A. vulgare* da área 2 foi registrada nos abrigos com seus coespecíficos pré-agregados (considerando apenas os tratamentos dos abrigos), como o que ocorreu na área 1 com *B. glaber*. Essa observação só reforça o fato de que os meios utilizados para a sinalização em Isopoda têm grande importância espécie-específica (Hassall & Dangerfield 1989, Jeanson & Deneubourg 2007, Yao et al. 2009).

Para a área 3, o tratamento com maior proporção de amostras ocupadas por fauna edáfica foram os abrigos sem aditivos. Além da maior abundância total de indivíduos coletados (porém não estatisticamente significativa), esses microhabitats também se destacaram pela grande frequência de Formicidae. Formigas são organismos dominantes em muitas comunidades ecológicas, exibem diversas formas de forrageamento para maximizar o aproveitamento dos recursos, ocupando todos os espaços disponíveis e geralmente apresentam elevada abundância e riqueza de espécies, além de desempenharem uma variedade de serviços ecossistêmicos (Majer 1983, Hölldobler & Wilson 1990, Silva & Brandão 1999, Fonseca & Diehl 2004). Utilizando telhas de barro como microhabitats críticos, Podgaiski et al. (2007) observaram uma grande quantidade de formigas coletadas embaixo desses abrigos. Os autores ressaltaram a importância desses microambientes para forrageamento e nidificação para esses organismos. No presente estudo, conseqüentemente à grande abundância desse grupo nos abrigos sem aditivos, foram calculados valores baixos para H' e J e alto para D nesse tratamento, além de distingui-lo dos demais microhabitats artificiais pelo índice de Morisita.

A distribuição da abundância de isópodos totais (e por conseqüência, a dos detritívoros) se concentrou entre os abrigos sem aditivos e os abrigos com agregação pré-formada de *B. picta*, fato que foi corroborado pela ausência de *A. floridana* nos abrigos com óleo essencial de *E. saligna* e no tratamento controle. Curiosamente, as duas espécies de Isopoda mais abundantes nesta área experimental são *runners* e exibiram distinção na ocupação nos abrigos e nas

amostragens de serapilheira. Diferenças entre o comportamento observado de *B. picta* e *A. floridana* frente à exposição da mesma quantidade de óleo de *E. saligna* foram também registrados por Kenne et al. (B, em preparação). Nesse trabalho, os autores justificaram a mortalidade constada para *A. floridana* pela impossibilidade de os indivíduos usufruírem do artifício de dispersão em alta velocidade devido ao menor espaço disponível nas placas de Petri, enquanto que *B. picta* demonstrou maior resistência ao volátil em arenas maiores. Além disso, o intervalo de tempo entre a instalação e a retirada dos abrigos em campo na área 3 foi diferente das demais áreas, pois todos foram colocados no assoalho florestal no primeiro dia e apenas 1/4 foi retirado a cada dia subsequente. Com isso, infere-se que os últimos abrigos recolhidos no quarto dia já estariam expostos a uma quantidade de óleo reduzida, tornando-os potencialmente mais habitáveis para invertebrados mais sensíveis (Isman 2000). Mesmo que, dos isópodos registrados, apenas *B. picta* tenha ocupado os abrigos com serapilheira artificial com o volátil, a semelhança da composição qualitativa de espécies da fauna edáfica entre esse tratamento com os da pré-agregação apresentou a maior valor do índice de similaridade de Jaccard.

O monitoramento do deslocamento das três espécies de isópodos terrestres não foi possível devido ao baixo número de indivíduos recapturados. Embora alguns estudos relatarem que a utilização de técnicas de marcação com esmalte de unha não sejam viáveis com oniscídeos devido à abrasão e influência negativa no ritmo das atividades dos animais (Drahokoupilová & Tuf 2012, Tuf et al 2013), Kenne et al. (2019) demonstram que a durabilidade do material perdura por pelo menos 15 dias (em laboratório). Além disso, Kenne et al. (C, em preparação) acompanharam a dinâmica de percepção individual de três espécies de isópodos e seus coespecíficos antes e depois da marcação, bem como a eventual influência dessa técnica no hábito alimentar das mesmas espécies de tatuzinhos testadas também no presente estudo (Kenne et al. 2019). Os autores não registraram nenhum aspecto negativo do processo de marcação com esmalte de unha para os parâmetros avaliados. Dentre os oniscídeos coletados durante os experimentos, nenhum apresentou resquícios de material colorido, tão pouco os dois indivíduos recapturados exibiram algum indício de alteração morfológica que fosse visivelmente perceptível devido ao processo de marcação.

Furukawa et al. (2017) obtiveram uma taxa aproximada de 26% de recaptura (indivíduos marcados) em seu estudo de observação do deslocamento de *A. vulgare* entre os prédios de uma Universidade, através da procura ativa em pontos específicos e por amostragem por tempo. A área experimental incluía estruturas de concreto e era atravessada por ruas de asfalto. Os autores registraram a espécie atingindo a marca de deslocamento de 24 metros em um dia, ultrapassando o que foi relatado por Paris (1965) (25 metros em 20 dias). Nesse mesmo trabalho, foi observado que *A. vulgare* pode percorrer até 49 metros em uma hora (em laboratório), e associando à atividade noturna de aproximadamente três horas contínuas (Drahokoupilová & Tuf 2012), inferiram que a espécie potencialmente atinge uma distância de 150 metros de um dia para o outro (Furukawa et al. 2017). Longas distâncias percorridas também já foram registradas para o isópodo do deserto *Hemilepistus reaumuri* (Milne-Edwards, 1840), o qual Warburg et al. (1984) observaram indivíduos atingindo a marca de 548 metros em 5 dias (mais de 100 metros por dia). No presente estudo, o espaçamento entre os abrigos dispostos em campo pode ter sido suficiente para os 20 indivíduos iniciais de cada réplica terem seguido a direção entre esses pontos e não terem percebido a presença dos microhabitats artificiais, se distanciando para fora da área experimental até o dia seguinte, antes do primeiro evento de inspeção dos abrigos. Além disso, as matrizes do assoalho florestal das áreas experimentais não eram inteiramente homogêneas, apresentando alguns artefatos físicos (galhos, volume desigual de serapilheira) distribuídos de forma aleatória, o que pode ter influenciado no direcionamento da dispersão dos isópodos marcados inicialmente.

Independentemente de não ter sido uma das espécies foco da tentativa de monitoramento de dispersão e deslocamento de isópodos terrestres entre os abrigos devido ao seu tamanho diminuto em relação às demais espécies de oniscídeos tratadas no presente estudo, *A. floridana* se destacou pela sua presença em todas as três localidades dos experimentos. Nas áreas 1 e 2 a abundância total dessa espécie foi maior do que a de *B. glaber* e *A. vulgare*, respectivamente. *Atlantoscia floridana* já é registrada como espécie muito comum e abundante em florestas naturais e em cenários antropizados, além de áreas com altos índices de resíduos de carvão mineral (Araujo & Bond-Buckup 2005, Lopes et al. 2005, Quadros et al. 2009, Podgaiski et al. 2011).

Muitos táxons foram registrados em baixa abundância nos abrigos, como nos casos de blatódeos, opiliões, neurópteros, coleópteros, ácaros, moluscos, dermápteros, diplópodos, hemípteros e pseudoescorpiões. Opiliões, por exemplo, são onívoros que utilizam o mesmo abrigo por longos períodos, e forrageiam alternando de comportamento entre a tática de “senta-e-espera” e a procura ativa por alimento, sempre retornando para o mesmo esconderijo (Acosta & Machado 2007, Grether & Donaldson 2007, Dos Santos et al. 2013). Mudanças repentinas na paisagem natural podem influenciar diretamente no reconhecimento do espaço por esses indivíduos (Dos Santos et al. 2013). Blatódeos também estabelecem relação similar no processo de forrageio e retorno para um mesmo abrigo, onde normalmente são ocupados por um grande número de coespecíficos, e é nesse momento em que os animais realizam trocas de informações químicas do ambiente ao redor (Lihoreau & Rivault 2011, Lihoreau et al. 2012). O registro de poucos indivíduos representando esses dois táxons pode estar relacionado ao curto período de amostragem do presente experimento e, possivelmente, às distintas dinâmicas de dispersão entre microhabitats favoráveis e premissas de estabelecimento de populações viáveis para esses grupos.

De modo geral, os principais grupos taxonômicos colonizadores dos abrigos do presente estudo nas três áreas foram Araneae e Isopoda. A presença desses organismos em todas as variedades disponíveis de microhabitats artificiais indica que essas estruturas, e as combinações de simulações de elementos químicos e físicos do ambiente, podem servir como modeladores da (re)estruturação de comunidades de invertebrados de solo. Para Melo et al. (2009), predadores e detritívoros ocupam os principais nichos das cadeias tróficas da serapilheira e da camada superficial do solo. As aranhas têm um importante papel como predadores, atuando no controle populacional de invertebrados menores (Maloney et al. 2003, Melo et al. 2009). Além disso, Podgaiski et al (2007) inferiram que provavelmente esses animais podem ser beneficiados pela presença de abrigos crípticos no que diz respeito à sua utilização como substrato para deposição de ovos, *hotspots* para acasalamento e proteção contra eventos abióticos.

Papelão como abrigo artificial tem sido empregado em estudos que almejam descrições de perfis populacionais de determinadas espécies, para

observações sobre diversidade de grupos taxonômicos comparando áreas distintas, ou ainda funcionando como armadilhas para controle de pragas em plantações (Ferguson & Berube 2004, Horton et al. 2006, Sucking et al. 2006, Logan et al. 2007, Kawashima & Jung 2010). Para Isopoda, frente ao grande papel que os tatuzinhos têm como colonizadores primários, a técnica com abrigos artificiais de papelão demonstrou grande relevância no objetivo de ocupação direcionada ao grupo, o que pode inferir êxito da metodologia em experimentos de restauração de áreas degradadas em estágios iniciais de sucessão ecológica. Sabe-se da importância dos detritívoros e dos demais invertebrados edáficos no processo de recuperação das funções do solo (Syner & Hendrix 2008, Menta 2012, Souty-Grosset & Faberi 2018), e por essa razão, a iniciativa da utilização de abrigos artificiais que simulam microhabitats próximos da realidade potencializam a dinâmica de colonização e estabelecimento de comunidades estáveis nesses locais. Todo esse processo induz a aceleração da chegada de novas espécies que vão compor tanto a fauna e a flora local, enriquecendo a diversidade, ocupando novos nichos, restabelecendo interações intra e interespecíficas, e agregando ao ciclo de nutrientes do espaço recuperado (Hooper et al. 2000, Wardle et al. 2004, 2006, Podgaiski et al. 2007, Syner & Hendrix 2008, Podgaiski & Rodrigues 2010, Menta 2012).

Mesmo que o período em que os abrigos estiveram disponíveis em campo tenha sido relativamente curto para responder questões sobre estabilidade de populações habitando essas estruturas, as variadas combinações de papelão com elementos físicos e químicos influentes para isópodos terrestres cumpriram o objetivo de fornecer informações sobre a eficiência da atratividade e ocupação desses microhabitats artificiais em ambientes naturais. Embora não tenha sido possível o monitoramento do deslocamento individual dos isópodos entre os abrigos, estudos com esse enfoque ainda são necessários com oniscídeos. Conhecer a habilidade de locomoção, dispersão e migração das espécies é importante para estimar os padrões de sua distribuição e determinar a estrutura de comunidades (Hubbel 2001, Koike & Iwasaki 2011). O aprimoramento do método, que descreva a dinâmica de locomoção a favor (ou contra) de diferentes artefatos combinados, por períodos prolongados, em áreas de distintas matrizes florestais, contribuirá para a compreensão de estratégias de recolonização de habitats, inclusive, com outros invertebrados de solo.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudos ao DCK, PBA e GLGS, ao Instituto de Biociências da UFRGS pela assistência, aos colegas do Laboratório de Carcinologia e do Laboratório de Evolução, Ecologia Química e Quimiotaxonomia (Leeqtax) pela ajuda na realização dos experimentos, ao Augusto F. Huber pela digitalização dos desenhos de *Balloniscus glaber*, ao Diego S. de Oliveira pela edição do mapa dos municípios de realização dos experimentos em campo e à secretaria do Parque Henrique Luiz Roesler pela permissão de coleta de isópodos terrestres na área do parque.

REFERÊNCIAS

- Acosta, LE & Machado, G. 2007. Diet and foraging. *In*: Pinto-da-Rocha, R; Machado, G & Giribet, G. (eds.) Harvestmen: The Biology of Opiliones. *Harvard Univ. Press*, Cambridge, MA, 309–338.
- Anderson, JA & Coats, JR. 2012. Acetylcholinesterase inhibition by nootkatone and carvacrol in arthropods. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 102(2): 124–128.
- Anselme, P. 2013. Preference for rich, random tactile stimulation in woodlice (*Porcellio scaber*). *Learning and Motivation*, 44: 326–336.
- Anselme, P. 2018. Rotational stress influences sensitized, but not habituated, exploratory behaviors in the woodlouse, *Porcellio scaber*. *Learning and Behavior*, 46(3): 294–305.
- Araujo PB & Bond-Buckup G. 2005. Population structure and reproductive biology of *Atlantoscia floridana* (van Name, 1940) (Crustacea, Isopoda, Oniscidea) in southern Brazil. *Acta Oecologica*, 28: 289–298.
- Araujo, PB; Augusto, MM & Bond-Buckup, G. 2004. Post-marsupial development of *Atlantoscia floridana* (van Name, 1940) (Crustacea, Isopoda, Oniscidea): the manca stages. *Journal of Natural History*, 31: 951–965.
- Batish, DR; Singh, HP; Kohli, RK & Kaur, S. 2008. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, 256: 2166–2174.
- Beauché, F & Richard, F-J. 2013. The best timing of mate search in *Armadillidium vulgare* (Isopoda, Oniscidea). *PLoS ONE*, 8: e57737.
- Belkair, SA; Mazzia, C; Pasquet, A & Capowiez, Y. 2018. Temporal activity of spiders and earwigs during winter in apple trees under a Mediterranean climate. *Biocontrol Science and Technology*, 28(9): 823–836.
- Bråten, AT; Flø, D; Hågvar, S; Hanssen, O; Mong, CE & Aakra, K. 2012. Primary succession of surface-active beetles and spiders in an Alpine Glacier Foreland, Central South Norway. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 44: 2–15.
- Broly, P; Deneubourg, J-L & Devigne, C. 2013. Benefits of aggregation in woodlice: a factor in the terrestrialization process? *Insect Sociaux*, 60: 419–435.
- Broly, P; Mullier, R; Deneubourg, J & Devigne, C. 2012. Aggregation in woodlice: social interaction and density effects. *ZooKeys*, 176: 133–144.

- Brooker, RM & Dixon, DL. 2017. Intertidal crustaceans use seaweed-derived chemical cues to mitigate predation risk. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 71: 47.
- Broza, M & Izhaki, I. 1997. Post-fire arthropod assemblages in Mediterranean forest soils in Israel. *International Journal of Wildland Fire*, 7(4): 317–325.
- Brussaard, L. 1998. Soil fauna, guilds, functional groups and ecosystem processes. *Applied Soil Ecology*, 9: 123–135.
- Calderón-Cortés, N; Quesada, M & Escalera-Vázquez, LH. 2011. Insects as stem engineers: interactions mediated by the twig-girdler *Oncideres albomarginata chamela* enhance arthropod diversity. *PLoS ONE*, 6(4): e19083.
- Canhoto, CM & Graça, MAS. 1999. Leaf barriers to fungal colonization and shredders (*Tipula lateralis*) consumption of decomposing *Eucalyptus globules*. *Microbial Ecology*, 37: 163–172.
- Chernova, NM; Bokova, AI; Varshav, EV; Goloshchapova, NP & Savenkova, YY. 2007. Zoophagy in Collembola. *Entomological Review*, 87: 799–811.
- Cornelissen, T; Cintra, F & Santos, JC. 2016. Shelter-building insects and their role as ecosystem engineers. *Neotropical Entomology* 45: 1–12.
- Cornelissen, TG & Boechat, IG. 2001. Seleção de habitats por *Porrmosa lagotis* (Mello-Leitão, 1941) (Araneae, Lycosidae) em área de cerrado em Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Zoociências*, 3(2):147–1548.
- Courtney, R; O’neill, N; Harrington, T & Breen, J. 2010. Macro-arthropod succession in grassland growing on bauxite residue. *Ecological Engineering*, 36: 1666–1671.
- Croak, BM; Pike, DA; Webb, JK & Shine, R. 2010. Using artificial rocks to restore nonrenewable shelter sites in human-degraded systems: colonization by fauna. *Restoration Ecology*, 18(4): 428–438.
- Csonka, D; Halasy, K; Szabó, P; Mrak, P; Štrus, J & Hornung, E. 2013. Eco-morphological studies on pleopodal lungs and cuticle in *Armadillidium* species (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). *Arthropod Structure and Development*, 42: 229–35.
- Drahokoupilová, T & Tuf, IH. 2012. The effect of external marking on the behaviour of the common pill woodlouse *Armadillidium vulgare*. *Zookeys*, 176: 145–154.
- Durier, V & Rivault, C. 2001. Effects of spatial knowledge and feeding experience on foraging choices in German cockroaches. *Animal Behaviour*, 62: 681–688.
- Dyck, HV & Baguette, M. 2005. Dispersal behaviour in fragmented landscapes: routine or special movements? *Basic and Applied Ecology*, 6: 535–545.
- Erler, F; Ulug, I & Yalcinkaya, B. 2006. Repellent activity of five essential oils against *Culex pipiens*. *Fitoterapia*, 77: 491–494.
- Farr, JA. 1978. Orientation and social behavior in the supralittoral isopod *Ligia exotica* (Crustacea: Oniscoidea). *Bulletin of Marine Science*, 28: 659–666.
- Ferguson, SH & Berube, DKA. 2004. Invertebrate diversity under artificial cover in relation to boreal forest habitat characteristics. *Canadian Field-Naturalist*, 118(3): 386–392.
- Fonseca, RC & Diehl, E. 2004. Riqueza de formigas (Hymenoptera, Formicidae) epigéicas em povoamentos de *Eucalyptus* spp. (Myrtaceae) de diferentes idades no Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 48(1): 95–100.

- Frouz, J; Lobinske, R; Kalcik, J & Ali, A. 2008. Effects of the exotic Crustacean, *Armadillidium vulgare* (Isopoda), and other macrofauna on organic matter dynamics in soil microcosms in a hardwood Forest in Central Florida. *Florida Entomologist*, 91(2): 328–331.
- Furukawa, T; Mizushima, M; Horinosono, S & Karasawa, S. 2017. Estimation of the walking ability of an exotic terrestrial isopod *Armadillidium vulgare* Latreille by field and laboratory measurements. *Edaphologia*, 101: 27–32.
- Gillilan, J. 2012. Improvement of U.S. EPA Minimum Risk Essential Oils' Pesticide Activity through Surfactant Enhancement and Synergy (Ph.D. dissertation). *The Ohio State University*, Columbus, OH.
- Goldsbrough, CL; Hochuli, DF & Shine, R. 2003. Invertebrate biodiversity under hot rocks: habitat use by the fauna of sandstone outcrops in the Sydney region. *Biological Conservation*, 109: 85–93.
- Gong, B & Zhang, G. 2014. Interactions between plants and herbivores: a review of plant defense. *Acta Ecologica Sinica*, 34: 325–336.
- Grether, GF & Donaldson, ZR. 2007. Communal roost site selection in a Neotropical harvestman: habitat limitation versus tradition. *Ethology*, 113: 290–300.
- Gurarie, E; Andrews, RD & Laidre, KL. 2009. A novel method for identifying behavioural changes in animal movement data. *Ecology Letters*, 12: 395–408.
- Hågvar, S. 2010. Primary succession of springtails (Collembola) in a Norwegian Glacier Foreland. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 42(4): 422–429.
- Hågvar, S; Solhøy, T & Mong, CE. 2009. Primary succession of soil mites (Acari) in a Norwegian Glacier Foreland, with Emphasis on Oribatid Species. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 41(2): 219–227.
- Hamilton, GS; Mather, PB & Wilson, JC. 2006. Habitat heterogeneity influences connectivity in a spatially structured pest population. *Journal of Applied Ecology*, 43: 219–226.
- Hassall, M & Dangerfield, JM. 1989. Inter-specific competition and the relative abundance of grassland isopods. *Monitore Zoologico Italiano - Italian Journal of Zoology*, 4: 379–397.
- Hassall, M & Tuck, JM. 2007. Sheltering behavior of terrestrial isopods in grasslands. *Invertebrate Biology*, 126: 46–56.
- Hild, S; Marti, O & Ziegler, A. 2008. Spatial distribution of calcite and amorphous calcium carbonate in the cuticle of the terrestrial crustaceans *Porcellio scaber* and *Armadillidium vulgare*. *Journal of Structural Biology*, 163: 100–108.
- Holdich, DM. 1984. The cuticular surface of woodlice: a search for receptors. *In*: Sutton, SL & Holdich, DM (eds.) *The Biology of terrestrial Isopods*, Clarendon Press, Oxford, 1–6.
- Hölldobler, B & Wilson, EO. 1990. *The ants*. Belknap Press, Cambridge, MA.
- Hooper, DU; Bignell, DE; Brussaard, L; Dangerfield, JM; Wall, BH; Wardle, DA; Coleman, DC; Giller, KE; Lavelle, P; van der Putten, WH; Rüter, PC; Rusek, J; Silver, WL; Tiedje, JM & Wolters. V. 2000. Interactions between aboveground and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems: patterns, mechanisms, and feedbacks. *Bioscience*, 50: 1049–1061.
- Hornung, E & Warburg, MR. 1996. Intra-habitat distribution of terrestrial isopods. *European Journal of Soil Biology*, 32: 179–185.

- Hornung, E. 2011. Evolutionary adaptation of oniscidean isopods to terrestrial life: structure, physiology and behavior. *Terrestrial Arthropod Reviews*, 4: 95–130.
- Horton, DR; Broers, DA; Hinojosa, T; Lewis, TM; Miliczky, ER & Lewis, RR. 2002. Diversity and phenology of predatory arthropods overwintering in cardboard bands placed in pear and apple orchards of Central Washington State. *Annals of the Entomological Society of America*, 95(4): 469–480.
- Hubbell, SP. 2001. The unified neutral theory of biodiversity and biogeography. *Princeton University Press*, Princeton.
- Isman, MB. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19: 603–608.
- Isman, MB; Miresmailli, S & Machial, C. 2011. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochemistry Reviews*, 10: 197–204.
- Jasen, A. 1997. Terrestrial invertebrate community structure as an indicator of the success of a tropical rainforest restoration project. *Restoration Ecology*, 5(2): 115–124.
- Jeanson, R & Deneubourg, J-L. 2007. Conspecific attraction and shelter selection in gregarious insects. *The American Naturalist*, 170: 47–58.
- Johnson, MTJ. 2011. Evolutionary ecology of plant defences against herbivores. *Functional Ecology*, 25: 305–311.
- Kawashima, M & Jung, C. 2010. Artificial ground shelters for overwintering phytoseiid mites in orchards. *Experimental & Applied Acarology*, 52: 35–47.
- Kenne, DC; Araujo PB & Soares GLG. 2019. External marking of terrestrial isopods (Isopoda, Oniscidea): efficiency of materials and influence on feeding behavior. *Nauplius*, 27: e2019018.
- Koike, F & Iwasaki, K. 2011. A simple range expansion model of multiple pathways: the case of nonindigenous green crab *Carcinus aestuarii* in Japanese waters. *Biological Invasions*, 13: 459–470.
- Koschier, E & Sedy, K. 2003. Labiate essential oils affecting host selection and acceptance of *Thrips tabaci* Lindeman. *Crop Protection*, 22: 929–934.
- Kramer-Schadt, S; Revillaa, E & Wiegand, T. 2005. Lynx reintroductions in fragmented landscapes of Germany: projects with a future or misunderstood wildlife conservation? *Biological Conservation*, 125: 169–182.
- Lehmitz, R; Russell, D; Hohberg, K; Christian, A & Xylander, WER. 2012. Active dispersal of oribatid mites into young soils. *Applied Soil Ecology*, 55: 10–19.
- Lemos de Castro A. 1971. Isópodos terrestres introduzidos no Brasil (Isopoda, Oniscoidea). *Boletim do Museu Nacional, Nova Série, Zoologia*, 282: 1–14.
- Lihoreau, M & Rivault, C. 2011. Local enhancement promotes cockroach feeding aggregations. *PLoS ONE*, 6(7): e22048.
- Lihoreau, M; Costa, JT & Rivault, C. 2012. The social biology of domiciliary cockroaches: colony structure, kin recognition and collective decisions. *Insectes Sociaux*, 59(4): 445–452.
- Liu, J & Wu, D. 2017. Chemical attraction of conspecifics in *Folsomia candida* (Collembola). *Journal of Insect Behavior*, 30(3): 331–341.
- Logan, DP; Maher, BJ & Rowe, CA. 2017. Predation of diaspidid scale insects on kiwifruit vines by European earwigs, *Forficula auricularia*, and steel-blue ladybirds, *Halmus chalybeus*. *BioControl*, 62: 469–479.

- Logan, DP; Maher, BJ; Connolly, PG & Pettigrew, MJ. 2007. Effect of cardboard shelter traps on predation of diaspidid scale insects by european earwigs, *Forficula auricularia*, in kiwifruit. *New Zealand Plant Protection*, 60: 241–248.
- Lopes, ERC; Souza, M; Bond-Buckup, G & Araujo, PB. 2005. Oniscidea diversity across three environments in an altitudinal gradient in northeastern Rio Grande do Sul, Brazil. *European Journal of Soil Biology*, 41: 99–107.
- Louppe, D; Oteng-Amoako, AA & Brink, M. 2008. Timbers 1. *Wageningen, Netherlands: PROTA Foundation*.
- Loureiro, S; Sampaio, A; Brandão, A; Nogueira, AJA & Soares, AMVM. 2006. Feeding behaviour of the terrestrial isopod *Porcellionides pruinosus* Brandt, 1833 (Crustacea, Isopoda) in response to changes in food quality and contamination. *Science of the Total Environment*, 369: 119–128.
- Machado, DN. 2016. Fauna edáfica em campo nativo, *Eucalyptus dunnii* e *Acacia mearnsii* em área de mineração, Candiota, RS. (Ph.D. dissertation) - *Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS*.
- Majer, JD. 1983. Ants – Bio-indicators of mine site rehabilitation, land-use, and land conservation. *Environmental Management*, 7(4): 375–383.
- Maloney, D; Drummond, FA & Al-Ford, R. 2003. Spider predation in agroecosystems: Can spiders effectively control pest populations? *Technical Bulletin*, 190: 32p.
- Meiners, T. 2015. Chemical ecology and evolution of plant–insect interactions: a multitrophic perspective. *Current Opinion in Insect Science*, 8: 22–28.
- Melo, FV; Brown, GG; Constantino, R; Louzada, JNC; Luizão, FJ; Moraes, JW & Zanetti, R. 2009. Importância da meso e macrofauna do solo na fertilidade e como bioindicadores. *Boletim Informativo da SBCS*, 38–43.
- Menta, C. 2012. Soil Fauna Diversity - Function, Soil Degradation, Biological Indices, Soil Restoration. *Biodiversity Conservation and Utilization in a Diverse World*, Gbolagade Akeem Lameed, IntechOpen.
- Mitchell, C; Brennan, RM; Graham, J & Karley, AJ. 2016. Plant defense against herbivorous pests: exploiting resistance and tolerance traits for sustainable crop protection. *Frontiers in Plant Science*, 7: 1132.
- Moço, MKS; Gama-Rodrigues, EF; Gama-Rodrigues, AC & Correia, MEF. 2005. Caracterização da fauna edáfica em diferentes coberturas vegetais na região Norte Fluminense. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, 29: 555–564.
- Mola, JM & Williams, NM. 2019. A review of methods for the study of bumble bee movement. *Apidologie*, 50: 497–514.
- Mousa, KM; Khodeir, IA; El-Dakhakhni, TN & Youssef, AE. 2013. Effect of garlic and eucalyptus oils in comparison to organophosphate insecticides against some piercing-sucking faba bean insect pests and natural enemies populations. *Egypt Academic Journal of Biological Science*, 5: 21–27.
- Nathan, R; Getz, WM; Revilla, E; Holyoak, M; Kadmonr; Saltz, D & Smouse, PE. 2008. A movement ecology paradigm for unifying organismal movement research. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(49): 19052–19059.
- Nerio, LZ; Olivero-Verbel, J & Stashenko, E. 2010. Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology*, 101: 372–378.
- Oliveira, LHM. 2013. Métricas de diversidade em comunidades: Diversidade alfa ou local. 2013. Disponível em: <<https://ecologiaparatodos.wordpress.com/>>

2013/02/26/metricas-de-diversidade-em-comunidades-diversidade-alfa-ou-local/>.

- Otero-Ferrera, F; Mannarà, E; Cosme, M; Falace, A; Montiel-Nelson, JÁ; Espino, F; Haroun, R & Tuya, F. 2019. Early-faunal colonization patterns of discrete habitat units: a case study with rhodolith-associated vagile macrofauna. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 218: 9–22.
- Paris, H. 1965. Vagility of P32-labeled isopods in grassland. *Ecology*, 46: 635–648.
- Pillar, VD. 1996. Variações espaciais e temporais na vegetação; métodos analíticos. Disponível em: < <http://ecoqua.ecologia.ufrgs.br>>.
- Pinheiro, IEG & Castello, JP. 2010. Caracterização e comparação da abundância e diversidade de peixes recifais em diferentes enseadas da ilha do arvoredo: considerações sobre a “Reserva Biológica Marinha (rebiomar) do arvoredo”. *Atlântica, Rio Grande*, 32(2): 127–140.
- Podgaiski, LR & Rodrigues, GG. 2010. Leaf-litter decomposition of pioneer plants and detritivore macrofaunal assemblages on coal ash disposals in southern Brazil. *European Journal of Soil Biology*, 46(6): 394–400.
- Podgaiski, LR; Ott, R & Ganade, G. 2007. Ocupação de microhabitats artificiais por invertebrados de solo em um fragmento florestal no sul do Brasil. *Neotropical Biology and Conservation*, 2(2): 71–79.
- Podgaiski, LR; Quadros, AF; Araujo, PB & Rodrigues, GG. 2011. Neotropical woodlice (Isopoda) colonizing leaf-litter of pioneer plants in a coal residue disposal environment. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, 35: 743–750.
- Quadros, AF; Caubet, Y & Araujo, PB. 2009. Life history comparison of two terrestrial isopods in relation to habitat specialization. *Acta Oecologica*, 35: 243–249.
- Randlkofer, B; Obermaier, E; Hilker, M & Meiners, T. 2010. Vegetation complexity - The influence of plant species diversity and plant structures on plant chemical complexity and arthropods. *Basic and Applied Ecology*, 11: 383–395.
- Regnault-Roger, C; Vincent, C & Thor, J. 2012. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annual Review of Entomology*, 57: 405–424.
- Revilla E, Wiegand T, Palomares F, Ferreras P & Delibes M. 2004. Effects of matrix heterogeneity on animal dispersal: from individual behavior to metapopulation-level parameters. *The American Naturalist*, 164(5): E130–E153.
- Revilla, E & Wiegand, T. 2008. Individual movement behavior, matrix heterogeneity, and the dynamics of spatially structured populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(49): 19120–19125.
- Řezáč, M & Pekár, S. 2007. Evidence for woodlice-specialization in *Dysdera* spiders: behavioural versus developmental approaches. *Physiological Entomology*, 32: 367–371.
- Robinson, BG; Larsen, KW & Kerr, HJ. 2011. Natal experience and conspecifics influence the settling behaviour of the juvenile terrestrial isopod *Armadillidium vulgare*. *Canadian Journal of Zoology*, 89: 661–667.
- Romero, GQ & Vasconcellos-Neto, J. 2004. Foraging by the flower-dwelling spider, *Misumenops argenteus* (Thomisidae), at high prey density sites. *Journal of Natural History*, 38(10): 1287–1296.
- Romero, GQ & Vasconcellos-Netto, J. 2007. Aranhas sobre plantas: dos comportamentos de forrageamentos às associações específicas. *In:*

- Gonzaga, MO; Santos, AJ & Japyanssú, HF (eds.) Ecologia e comportamento de aranhas. *Interciência*, Rio de Janeiro, 67-87.
- Rusek, J. 1998. Biodiversity of Collembola and their functional role in the ecosystem. *Biodiversity and Conservation*, 7: 1207–1219.
- Santos, GC; Hogan, JA & Willemart, RH. 2013. Associative learning in a harvestman (Arachnida, Opiliones). *Behavioural Processes*, 100: 64–66.
- Schmalfuss, H. 1984. Eco-morphological strategies in terrestrial isopods. *In: Sutton, SL & Holdich, DM (eds.) The Biology of Terrestrial Isopods. The Zoological Society of London. Clarendon Press*, 49–63.
- Schmalhofer, VR. 2001. Tritrophic interactions in a pollination system: impacts of species composition and size of flower patches on the hunting success of a flower-dwelling spider. *Oecologia*, 129: 292–303.
- Silva, ER; Lazarotto, DC; Schwambach, J; Overbeck, GE & Soares, GLG. 2017. Phytotoxic effects of extract and essential oil of *Eucalyptus saligna* (myrtaceae) leaf litter on grassland species. *Australian Journal of Botany*, 65: 172–182.
- Silva, RR & Brandão, CRF. 1999. Formigas (Hymenoptera: Formicidae) como indicadoras da qualidade ambiental e da biodiversidade de outros invertebrados terrestres. *Biotemas*, 12(2): 55–73.
- Singh, D; Kohli, RK & Saxena, DB. 1991. Effect of eucalyptus oil on germination and growth of *Phaseolus aureus* Roxb. *Plant and Soil*, 137: 223–227.
- Siqueira, GM; Silva, EFF; Moreira, MM; Santos, GAA & Silva, RA. 2016. Diversity of soil macrofauna under sugarcane monoculture and two different natural vegetation types. *African Journal of Agricultural Research*, 11(30): 2669–2677.
- Snyder, BA & Hendrix, PF. 2008. Current and potential roles of soil macroinvertebrates (earthworms, millipedes and isopods) in ecological restoration. *Restoration Ecology*, 16: 629–636.
- Souty-Grosset, C & Faberi, A. 2018. Effect of agricultural practices on terrestrial isopods: a review. *In: Hornung, E; Taiti, S & Szlavecz, K (eds.) Isopods in a Changing World. ZooKeys*, 801: 63–96.
- Souza-Silva, M & Ferreira, RL. 2014. *Loxosceles* spiders (Araneae: Sicariidae) preying on invertebrates in Brazilian caves. *Speleobiology Notes*, 6: 27–32.
- Suckling, DM; Burnip, GM; Hackett, J & Daly, JC. 2006. Frass sampling and baiting indicate European earwig (*Forficula auricularia*) foraging in orchards. *Journal of Applied Entomology*, 130(5), 263–267.
- Takeda, N. 1980. The aggregation pheromone of some terrestrial isopod crustaceans. *Experientia*, 36: 1296–1297.
- Takeda, N. 1984. The aggregation phenomenon in terrestrial isopods. *In: Sutton, SL & Holdich, DM (eds.) The Biology of Terrestrial Isopods: Symposium of the Zoological Society of London, Clarendon, Oxford. Clarendon Press, Oxford, UK*, 53: 381–404.
- Tarelli, G; Zerba, EN & Alzogaray, RA. 2009. Toxicity to vapor exposure and topical application of essential oils and monoterpenes on *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Journal of Economic Entomology*, 102: 1383–1388.
- Thienen, WV; Metzler, D & Witte, V. 2016. How memory and motivation modulate the responses to trail pheromones in three ant species. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 70: 393–407.

- Thomas, CD. 2000. Dispersal and extinction in fragmented landscapes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 267: 139–145.
- Toloza, AC; Lucia, A; Zerba, E; Masuh, H & Picollo, MI. 2008. Interspecific hybridization of eucalyptus as a potential tool to improve the bioactivity of essential oils against permethrin-resistant head lice from Argentina. *Bioresource Technology*, 99: 7341–7347.
- Tonello, G; Loureiro, RC; Krause, P; Silva, C; Ongaratto, RM; Sepp, S; Restello, RM & Hepp, LU. 2014. Colonização de invertebrados durante a decomposição de diferentes detritos vegetais em um riacho subtropical. *Revista Brasileira de Biociências*, 12(2): 98–105.
- Tuf, IH; Drábková, L & Šipoš, J. 2015. Personality affects defensive behaviour of *Porcellio scaber* (Isopoda, Oniscidea). *ZooKeys*, 515: 159–171.
- Tuf, IH; Petr, H; Mačát, Z; Machač, O; Rendoš, M; Trnka, F & Vokálová, A. 2013. Suitability of nail polish for marking the common rough woodlouse, *Porcellio scaber* (Oniscidea). *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae*, 77: 159–163.
- Verhoef, HA; Nagelkerke, CJ & Joosse, ENG. 1977. Aggregation pheromones in Collembola. *Journal of Insect Physiology*, 23(8): 1009–1013.
- Wanner, M & Dunger, W. 2002. Primary immigration and succession of soil organisms on reclaimed opencast coal mining areas in eastern Germany. *European Journal of Soil Biology*, 38: 137–143.
- Warburg, MR; Linsenmair, KE & Bercovitz, K. 1984. The effect of climate on the distribution and abundance of isopods. In: Sutton, SL & Holdich, D (eds.) *The Biology of Terrestrial Isopods*. Oxford University Press, Oxford, 339–367.
- Wardle, DA; Yeates, GW; Barker, GM & Bonner, KI. 2006. The influence of plant diversity on decomposer abundance and diversity. *Soil Biology and Biochemistry*, 38: 1052–1062.
- Wardle, DA; Bardgett, RD; Klironomos, JN; Setälä, H; van der Putten, WH & Wall, DH. 2004. Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, 304: 1629–1633.
- Wood, CT; Kostanjšek, R; Araujo, PB & Štrus, J. 2017. Morphology, microhabitat selection and life-history traits of two sympatric woodlice (Crustacea: Isopoda: Oniscidea): A comparative analysis. *Zoologischer Anzeiger*, 268, 1–10.
- Wood, CT; Schlindwein, CCD; Soares, GLG & Araujo, PB. 2012. Feeding rates of *Balloniscus sellowii* (Crustacea, Isopoda, Oniscidea): the effect of leaf litter decomposition and its relation to the phenolic and flavonoid content. *ZooKeys*, 176: 231–245.
- Yang, LH; Ostrovsky, D; Rogers, MC & Welker, JM. 2016. Intra-population variation in the natal origins and wing morphology of overwintering western monarch butterflies *Danaus plexippus*. *Ecography*, 39: 998–1007.
- Yang, P & Ma, Y. 2005. Repellent effect of plant essential oils against *Aedes albopictus*. *Journal of Vector Ecology*, 30: 231–234.
- Yao, M; Rosenfeld, J; Attridge, S; Sidhu, S; Aksenov, V & Rollo, CD. 2009. The ancient chemistry of avoiding risks of predation and disease. *Evolutionary Biology*, 36: 267–281.

- Yeates, LV & Barmuta, LA. 1999. The effects of willow and eucalypt leaves on feeding preference and growth of some Australian aquatic macroinvertebrates. *Australian Journal Ecology*, 24: 593–598.
- Yi, CG; Kwon, M; Hieu, TT; Jang, YS & Ahn, YJ. 2007. Fumigant toxicity of plant essential oils to *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) and *Cotesia glomerata* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of the Asia Pacific Entomology*, 10: 157–163.
- Zimmer, M. 2006. The role of animal-microbe interactions in isopod ecology and evolution. *Acta Biologica Benrodis*, 13: 127–168.
- Zimmer, M; Kautz, G & Topp, W. 1996. Olfaction in terrestrial isopods (Crustacea: Oniscidea): responses of *Porcellio scaber* to the odour of litter. *European Journal of Soil Biology*, 32: 141–147.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No âmbito da ecologia do movimento, a qual objetiva entender a dinâmica do antes, durante e depois do deslocamento dos seres (Nathan et al. 2008, Thurfjell et al. 2014), a presente tese trouxe aspectos comportamentais de isópodos terrestres e a relação com influências químicas e físicas do ambiente relacionados ao deslocamento dos oniscídeos no processo de locomoção na seleção de microhabitats artificiais, além de questões de possíveis interações interespecíficas com a fauna edáfica presente nos cenários estudados. Para tal, cada capítulo deste trabalho contribuiu com uma parcela para o entendimento dos resultados observados, tanto de forma metodológica (Capítulos 1 & 2), como de forma avaliativa de parâmetros indicadores (Capítulos 2, 3 & 4) para o experimento final em campo (Capítulo 5).

De acordo com Hagler & Jackson (2001), em estudos de marcação-recaptura de animais, a durabilidade da marca é considerada o principal aspecto de uma técnica para que o material seja considerado “eficiente”. Além disso, Southwood & Henderson (2000) ressaltaram que a sobrevivência e o comportamento dos animais não devem ser afetados pelo processo de marcação para que uma técnica seja considerada plausível e confiável. No Capítulo 1 foi possível observar a eficiência de materiais para a utilização do método de marcação-recaptura em isópodos terrestres em laboratório. Comparando a sobrevivência dos indivíduos de três grupos ecomorfológicos distintos de oniscídeos, constatou-se que esmalte de unha foi o material que afetou os isópodos de forma “menos negativa”, e exibiu durabilidade adequada para estudos que não ultrapassassem 15 dias de observação. Além disso, tomando como base um dos comportamentos mais importantes para os seres vivos – a habilidade de ingerir alimento – certificou-se que os isópodos marcados com esmalte se alimentaram de forma similar aos que não passaram pelo processo de marcação. Porém, o que seria interessante testar em trabalhos futuros é o percentual de taxa de recaptura em campo, em áreas cercadas não muito extensas (algo em torno de 1 x 1 metro), através da procura ativa de indivíduos. Visto que a taxa de recaptura no Capítulo 5 foi extremamente baixa (mesmo que o método tenha sido por inspeção de *hotspots*), esse tipo de ensaio poderia responder se o resultado observado no capítulo final da tese foi devido a

algum tipo de abrasão ambiental (perda da marca) ou se corroboraria ao fato de que os isópodos marcados inicialmente (e os durante o experimento) simplesmente seguiram se deslocando entre os abrigos artificiais dispostos em campo.

No Capítulo 2, foi dado continuidade aos testes de comportamento sob influência da marcação com esmalte de unha com os diferentes grupos ecomorfológicos de isópodos terrestres. A agregação é um evento essencial para a existência dos oniscídeos, pois é através dela que os indivíduos podem aumentar a taxa de sobrevivência, encontrar parceiros reprodutivos e diminuir a perda de água para o ambiente (Hornung & Warburg 1996, Broly et al. 2012, 2013). Através dos experimentos foi possível perceber que os isópodos não perderam a habilidade de encontrar coespecíficos depois de serem marcados com esmalte de unha, além de conseguirem integrar agregações em processo de formação. Esse resultado corroborou para o uso do material para a marcação sem prejudicar o comportamento gregário dos animais. Da mesma forma que no Capítulo 1, um mesmo desenho experimental poderia ser replicado em campo em estudos futuros, em áreas cercadas de pequenas dimensões, com observações em intervalos de tempo maiores, a fim de confirmar e comparar a estabilidade dos isópodos marcados com não-marcados em agregações pré-formadas, ou observar a dinâmica de agregação de indivíduos de ambos os status (com/sem marca).

Em relação à atratividade alimentar referente a diferentes concentrações de flavonoide isolado presente em um alimento artificial, o terceiro capítulo da tese demonstrou que as três espécies de isópodos têm maior afinidade (ingerem maiores quantidades) às menores doses de rutina. Sabe-se que as características químicas da serapilheira, no que diz respeito ao teor de metabólitos secundários vegetais, refletem ao tempo que o material está no assoalho florestal em decomposição (Zimmer 2002, Wood et al. 2012). Essas informações podem servir para aprimorar estratégias de manejo de paisagens, visto que a remoção física da serapilheira em espaços naturais depende dos detritívoros (Lindenmayer & Franklin, 2002). O grande destaque desse capítulo foram os diferentes efeitos na alteração de biomassa dos três grupos ecomorfológicos de oniscídeos, mostrando que mesmo pertencendo a um mesmo grupo taxonômico, cada espécie assimila o que foi ingerido de uma forma distinta. Quanto à metodologia utilizada, outros desenhos experimentais

podem ser desenvolvidos em experimentos futuros, para outras formas de análise de dados, como por exemplo, em arenas de dupla escolha de alimento artificial com duas concentrações distintas de flavonoide, ou ainda com flavonoides diferentes.

Sobre a potencial toxicidade de óleos essenciais para isópodos terrestres, no Capítulo 4 foi possível observar que, novamente, o comportamento de agregação tem grande importância na sobrevivência de oniscídeos. Além disso, individualmente os isópodos são mais exploradores, se colocando em maior exposição aos locais com foco de volatilização de óleo, enquanto que em grupo se estabilizam em pontos opostos, com maior proteção. De acordo com os atributos morfológicos e as estratégias fisiológicas de cada espécie de cada grupo ecomorfológico de isópodos testadas, diferentes níveis de adaptações foram verificados. Em ambientes naturais, a presença de oniscídeos em serapilheira de *Eucalyptus* spp. pode ser explicada por diversos outros fatores, como por exemplo, uma alternativa de proteção contra predadores, já que as folhas dessa espécie vegetal não são consideradas itens alimentares para isópodos, devido a sua rigidez e a possível presença de outros metabólitos secundários vegetais (Martins et al. 2013, Tonello et al. 2014). Tatuzinhos que colonizam esse tipo de assoalho florestal podem também indicar níveis baixos de voláteis no ambiente.

Considerando que a distribuição espaço-temporal dos indivíduos é influenciada pela sinalização química e física do ambiente, bem como pelo nível das interações intra e interespecíficas (Jeanson & Deneubourg 2007), o capítulo final da tese apresentou resultados promissores quanto à compilação dos parâmetros e técnicas testadas nos capítulos anteriores para os atributos dos abrigos artificiais. Porém, frente às diferenças de escala entre laboratório e campo, algumas adaptações foram necessárias, como o aumento das quantidades de óleo essencial de *E. saligna* e das concentrações de flavonoide utilizadas em associação aos microhabitats artificiais. Além disso, o monitoramento do deslocamento dos isópodos nas áreas experimentais não foi possível, não devido à inefetividade da técnica de marcação-recaptura, mas muito provavelmente pela dinâmica (amostragem por ponto e não procura ativa), intervalo de tempo entre as coletas de dados (diária, por quatro dias) e o espaçamento entre os abrigos disponíveis em campo. Apesar do intuito deste experimento ter sido a sua aplicabilidade como

ferramenta em processos de restauração em áreas degradadas, o presente estudo foi desenvolvido em locais de matrizes florestais com pequenas pressões antrópicas (depósito de entulhos, próximos a trilhas de pedestres e em área de parque). Desse modo, a distribuição do papelão nessas áreas teve efeito somatório aos abrigos naturais já disponíveis nesses locais. A fauna edáfica naturalmente teve acesso a outros artefatos florestais para a utilização como refúgio, como troncos e pedras, e não apenas a serapilheira do local, que também foi coletada durante as observações de campo e considerada como tratamento controle. Mesmo nessas condições, a utilização de abrigos artificiais de papelão comportando uma agregação pré-formada de isópodos terrestres foi a combinação que se destacou dentre os tratamentos, visto a significativa presença de coespecíficos nesses microhabitats na maioria das áreas estudadas. Ainda assim, esse resultado reforça ainda mais o grande papel da comunicação química entre coespecíficos de isópodos terrestres em ambientes naturais. Para outros táxons, a ocupação dos abrigos artificiais foi variada.

Para projetos futuros, provavelmente a realização desse último experimento, com o mesmo objetivo (intensificar a atratividade de abrigos artificiais para colonizadores primários) em locais com diferentes níveis de impacto ambiental (desmatamento e erosão do solo, por exemplo), promoverá resultados mais robustos para um modelo experimental eficaz na reestruturação das comunidades edáficas em ambientes em processo de restauração. Além disso, mais abrigos podem ser dispostos em outras configurações no assoalho florestal, bem como o intervalo de tempo entre as inspeções dos microhabitats artificiais pode ser maior. Associado a esse protocolo, o monitoramento do deslocamento dos isópodos terrestres pode ser através da procura ativa, ampliando a probabilidade de recaptura.

Referências

- Broly, P; Deneubourg, J-L & Devigne, C. 2013. Benefits of aggregation in woodlice: a factor in the terrestrialization process? *Insectes Sociaux*, 60: 419–435.
- Broly, P; Mullier, R; Deneubourg, J & Devigne, C. 2012. Aggregation in woodlice: social interaction and density effects. *ZooKeys*, 176: 133–144.
- Hagler, JR & Jackson, CG. 2001. Methods for Marking Insects: Current techniques and future prospects. *Annual Review of Entomology*, 46: 511–543.
- Hornung, E & Warburg, MR. 1996. Intra-habitat distribution of terrestrial isopods. *European Journal of Soil Biology*, 32: 179–185.
- Jeanson, R & Deneubourg, J-L. 2007. Conspecific attraction and shelter selection in gregarious insects. *The American Naturalist*, 170: 47–58.
- Lindenmayer, D & Franklin, JF. 2002. Conserving forest biodiversity: a comprehensive multiscaled approach. *Island Press*, Washington, DC.
- Martins, C; Natal-da-Luz, T; Sousa, JP; Gonçalves, MJ; Salgueiro, L & Canhoto, C. 2013. Effects of Essential Oils from *Eucalyptus globulus* Leaves on Soil Organisms Involved in Leaf Degradation. *PLoS ONE*, 8(4): e61233.
- Nathan, R; Getz, WM; Revilla, E; Holyoak, M; Kadmonr; Saltz, D & Smouse, PE. 2008. A movement ecology paradigm for unifying organismal movement research. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(49): 19052–19059.
- Southwood, TRE & Henderson, PA. 2000. Ecological Methods (3rd edition). *Blackwell Science Ltd.*, Oxford, 576p.
- Thurfjell, H; Ciuti, S & Boyce, MS. 2014. Applications of step-selection functions in ecology and conservation. *Movement Ecology*, 2: 4.
- Tonello, G; Loureiro, RC; Krause, P; Silva, C; Ongaratto, RM; Sepp, S; Restello, RM & Hepp, LU. 2014. Colonização de invertebrados durante a decomposição de diferentes detritos vegetais em um riacho subtropical. *Revista Brasileira de Biociências*, 12(2): 98–105.
- Wood, CT; Schlindwein, CCD; Soares, GLG & Araujo, PB. 2012. Feeding rates of *Balloniscus sellowii* (Crustacea, Isopoda, Oniscidea): the effect of leaf litter decomposition and its relation to the phenolic and flavonoid content. *ZooKeys*, 176: 231–245.
- Zimmer, M. 2002. Nutrition in terrestrial isopods (Isopoda: Oniscidea): an evolutionary ecological approach. *Biological Reviews*, 77: 455–493.