

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

**Influência da idade sobre aspectos do comportamento alimentar,  
seleção de substratos artificiais para oviposição e comportamento de cópula  
em *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera, Tephritidae)**

Thamara Alessandra Braz da Silva Leal  
Orientador: Prof. Dr. Fernando Sérgio Zucoloto

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia,  
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como  
parte das exigências para a obtenção do título de  
Doutor em Ciências, Área: Entomologia

RIBEIRÃO PRETO – SP

2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citadas da fonte.

## FICHA CATALOGRÁFICA

Leal, Thamara Alessandra Braz da Silva

Influência da idade sobre aspectos do comportamento alimentar, seleção de substratos artificiais para oviposição e comportamento de cópula em *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera, Tephritidae). Ribeirão Preto, 2009.

100 p. : il. ; 30cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Entomologia.

Orientador: Fernando Sérgio Zucoloto.

1. Moscas-das-frutas. 2. Efeito da idade. 3. Comportamento alimentar 4. Nutrição 5. Oviposição. 6. Acasalamento. 7. *Anastrepha*

*Dedico...*

*aos meus pais Sonia e João, à minha irmã  
Nara e ao Leandro pelo sentimento que  
não consigo expressar neste momento,  
com amor;*

*e aos meus tios Dinalva e Tarcísio, pelo  
exemplo de força de vontade e  
generosidade.*

## **Agradecimentos**

Gostaria de registrar meus agradecimentos a todas as pessoas e instituições que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho. Sou muito grata...

Ao Prof. Dr. Fernando Sérgio Zucoloto pela orientação, oportunidade de aprendizagem, confiança em mim depositada, pelos conselhos, exemplo profissional e amizade.

À Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, ao Departamento de Biologia e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia pelas condições de trabalho oferecidas.

À Renata, Vera e Carlos da Secretaria da Pós-Graduação e aos funcionários da Seção de Pós-Graduação pela ajuda na parte burocrática.

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Garófalo e Profa. Dra. Suzete Bressan Nascimento pelas informações sobre a contagem de espermatozóides.

Ao Prof. Dr. Ronaldo Zucchi pelo equipamento utilizado na medida da nervura das asas.

À Giovana Felippotti pela disposição em me ensinar a usar este equipamento.

Ao Sidnei Mateus por algumas fotografias aqui contidas.

À Cidinha pela limpeza do Bloco 7 e acolhedores “bons dias”.

À Ana Paula pela confecção de dietas no primeiro semestre do meu doutorado (2º semestre/2005).

Ao Laércio pela sempre dedicada ajuda nas coletas de frutos e pupas, pelas agradáveis conversas e cafezinhos vespertinos.

Às companheiras de laboratório Alessandra, Helen, Juliana, Luanda, Luzia, Rebecca, Rosana, por tornarem muito agradável e animado nosso ambiente de trabalho, pelas conversas, risadas, cafezinhos, afinal, pela convivência.

Às minhas “mestras” Carla e Tânia pelo apoio e disposição em me ajudar desde o começo de meu trabalho no laboratório, pela generosidade e amizade.

E também às novatas no laboratório Maria Izabel e Laura pela oportunidade de ensinar (e aprender também).

À grande profissional e amiga Maria Izabel Balbi pelas informações técnicas sobre microscópios, estereomicroscópios, contagem de espermatozóides, montagem de lâminas com asas, e pelas conversas, conselhos e apoio.

Aos colegas e ex-colegas de pós-graduação: Adolfo Calor, Ana Emília Siegloch, Ana Kaminsky, André Esguícero, Charles Morphy, Ivan Akatsu, Márcia Spies, Rafaela Falaschi, Renato Capellari, Sarah Oliveira e Yumi Oki pelo companheirismo ao longo desta caminhada.

À minha amiga Camila pelas ajudas com a estatística.

À amiga Lílian pela ajuda no inglês, tanto no resumo da proficiência quanto no abstract da tese.

À minha madrinha Terezinha, minha avó Esmeralda, meus tios Tarcísio, Joel, Dinalva e Cléia pelo carinho e palavras de incentivo.

À minha irmã Nara pelos recursos terapêuticos manuais, alongamentos, apoio, amizade e amor.

Ao meu noivo Leandro pelo amor, incentivo, companheirismo, pela paciência e compreensão das minhas ausências.

Aos meus pais pela oportunidade de estudo, de crescimento, por mostrarem sempre que sou capaz, pelo amor e dedicação, enfim, por tudo.

Aos proprietários do pomar residencial em Bonfim Paulista por permitirem as coletas de frutos de cajá-manga.

Ao CNPq pela bolsa de doutorado concedida.

- Índice -

**RESUMO**

**ABSTRACT**

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>23</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>25</b>
3.1. Obtenção das moscas.....	26
3.2. Dietas artificiais.....	27
3.3. Substratos artificiais para oviposição .....	27
3.4. Fase 1: Influência da idade sobre a performance de machos e fêmeas selvagens de <i>A. obliqua</i> (Diptera: Tephritidae) .....	28
3.4.1. Medidas de ingestão .....	28
3.4.2. Número de óvulos depositados.....	29
3.4.3. Número de espermatozóides nos testículos.....	29
3.4.4. Mortalidade.....	30
3.4.5. Análise de dados.....	30
3.5. Fase 2: Efeito da privação de uma fonte protéica ou de sacarose sobre a performance de fêmeas adultas selvagens de <i>A. obliqua</i> (Diptera: Tephritidae) de diferentes faixas etárias .....	31
3.5.1. Parâmetros avaliados .....	32
3.5.2. Análise de dados.....	32
3.6. Fase 3: Efeito da idade da fêmea sobre a seleção de substratos artificiais para oviposição em <i>A. obliqua</i> (Diptera: Tephritidae) selvagem.....	33
3.6.1. Performance de imaturos.....	34
3.6.2. Análise de dados.....	35
3.7. Fase 4: Influência da idade sobre o comportamento de cópula em fêmeas selvagens de <i>A. obliqua</i> (Diptera: Tephritidae).....	35
3.7.1. Preferência entre machos com idades diferentes.....	36
3.7.2. Preferência entre macho com diferentes estados nutricionais.....	37
3.7.3. Manutenção das fêmeas e parâmetros analisados após o contato com o macho....	37
3.7.4. Análise de dados.....	38

<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>40</b>
4.1. Fase 1: Influência da idade sobre a performance de machos e fêmeas selvagens de <i>A. obliqua</i> (Diptera: Tephritidae) .....	41
4.2. Fase 2: Efeito da privação de uma fonte protéica ou de sacarose sobre a performance de fêmeas adultas selvagens de <i>A. obliqua</i> (Diptera: Tephritidae) de diferentes faixas etárias .....	47
4.2.1. Privação de lêvedo .....	48
4.2.2. Privação de sacarose .....	56
4.3. Fase 3: Efeito da idade da fêmea sobre a seleção de substratos artificiais para oviposição em <i>A. obliqua</i> (Diptera: Tephritidae) selvagem .....	63
4.3.1. Preferência por substratos para oviposição .....	63
4.3.2. Performance de imaturos .....	65
4.4. Fase 4: Influência da idade sobre o comportamento de cópula em fêmeas selvagens de <i>A. obliqua</i> (Diptera: Tephritidae) .....	66
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	<b>71</b>
5.1. Fase 1: Influência da idade sobre a performance de machos e fêmeas selvagens de <i>A. obliqua</i> (Diptera: Tephritidae) .....	72
5.2. Fase 2: Efeito da privação de uma fonte protéica ou de sacarose sobre a performance de fêmeas adultas selvagens de <i>A. obliqua</i> (Diptera: Tephritidae) de diferentes faixas etárias .....	77
5.2.1. Privação de lêvedo .....	77
5.2.2. Privação de sacarose .....	79
5.3. Fase 3: Efeito da idade da fêmea sobre a seleção de substratos artificiais para oviposição em <i>A. obliqua</i> (Diptera: Tephritidae) selvagem .....	80
5.4. Fase 4: Influência da idade sobre o comportamento de cópula em fêmeas selvagens de <i>A. obliqua</i> (Diptera: Tephritidae) .....	83
5.5. Considerações finais .....	86
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	<b>88</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>91</b>



***RESUMO***

---

As necessidades nutricionais dos insetos variam com o estágio de desenvolvimento, a idade e a história nutricional dos mesmos. Com o aumento da idade, parâmetros comportamentais e fisiológicos eventualmente declinam em qualidade.

O presente estudo teve como propósito investigar alguns aspectos da biologia de adultos selvagens da espécie *Anastrepha obliqua* em duas faixas etárias: do 15º ao 30º dia (15-30) e do 60º ao 75º dia (60-75) após a emergência. Constatou-se 4 fases, as quais tiveram por objetivo verificar: performance de fêmeas e machos (Fase 1); efeito da privação de uma fonte protéica ou de carboidrato sobre a performance de fêmeas (Fase 2); preferência das fêmeas por diferentes substratos artificiais para oviposição (Fase 3); taxa de acasalamento e preferência de fêmeas por parceiros para cópula (Fase 4).

As fêmeas 15-30 ingeriram maior quantidade de dieta de lêvedo (fonte protéica) que as 60-75. Relacionamos isto ao fato de *A. obliqua* ser uma espécie anautógena. A semelhante ingestão de sacarose entre as fêmeas 15-30 e as 60-75 foi associada à semelhante deposição de óvulos pelas fêmeas desses dois grupos. No entanto, os resultados desses dois parâmetros variaram nos experimentos das Fases 1 e 2. Levantamos a hipótese que a ingestão de sacarose por fêmeas 60-75 poderia estar associada às atividades do comportamento de oviposição. Entre machos 15-30 e 60-75, houve influência da idade na ingestão de sacarose: os primeiros ingeriram mais dessa dieta possivelmente por parecerem mais ativos que os últimos. Notou-se, com a idade, uma tendência ao aumento no número de espermatozoides nos testículos, sendo significativa a diferença entre os com 15-17 dias e os com 73-75 dias. Esse aumento pode ser explicado pelo acúmulo desses gametas produzidos ao longo da vida dos machos, uma vez que eles não acasalaram. Nos dois sexos, não houve diferença na taxa de mortalidade entre moscas 15-30 e 60-75. Supomos que mudanças fisiológicas relacionadas à idade que ocorreram no período 60-75 não levaram a aumento da mortalidade em relação à faixa etária 15-30.

Fêmeas 15-30 e 60-75 se comportaram de maneira diferente tanto na situação “privação de proteína” (lêvedo) como na “privação de carboidrato” (sacarose). Fêmeas 15-30 privadas de proteína compensaram a falta deste nutriente ingerindo, no dia seguinte à privação, maior quantidade de lêvedo que as 15-30 não privadas. Já as 60-75 privadas não exibiram esse mecanismo de compensação nutricional. Na “privação de carboidrato”, independentemente da idade, as fêmeas privadas de carboidrato ingeriram, no dia seguinte ao período de privação, mais dieta de sacarose que as não privadas. No entanto, as fêmeas 15-30 privadas ingeriram mais sacarose que as 60-75 de mesma condição. No processo de compensação nutricional relacionada a um nutriente específico, maior resposta dos

quimiorreceptores à estimulação com o nutriente em falta pode ocorrer. Uma explicação para o observado nas duas situações de privação seria um declínio nesta mudança de resposta ao nutriente ausente com a idade da mosca.

Nas três situações de escolha por substratos artificiais para oviposição, houve em apenas uma delas, mudança na preferência da fêmea com a idade da mesma. Enquanto as fêmeas 15-30 não demonstraram preferência por um dos substratos, as 60-75 o fizeram. Foi suposto um declínio da sensibilidade à sacarose com a idade, o que faria o substrato menos preferido (o com maior quantidade de sacarose) tornar-se menos atraente à oviposição pelas fêmeas 60-75. Também foi sugerida a hipótese que uma possível maior carga de ovos das fêmeas 15-30 poderia ter causado um declínio na seletividade das fêmeas durante a escolha por substratos.

Poucos acasalamentos foram observados nos experimentos da Fase 4. O maior número (11) foi observado no grupo cujas fêmeas 15-30 tiveram que selecionar entre machos 15-30 com estados nutricionais diferentes. Supomos que o pequeno número de acasalamentos nos demais grupos possa estar associado à receptividade sexual das fêmeas 60-75, à formação de *leks* com machos de idades diferentes (15-30 e 60-75) e também às caixas experimentais utilizadas.

***ABSTRACT***

---

The nutritional necessities of insects vary according to their developmental stage, age and nutritional history. Behavioral and physiological parameters eventually decline in quality with age.

The present study had as purpose to investigate some biological aspects of adults of *Anastrepha obliqua* wild in two ages: from the day 15 to day 30 (15-30) after emergence and from the day 60 to day 75 (60-75). It consisted of four phases, which had as aim to verify: females and males performance (Phase 1); effect of protein or carbohydrate deprivation on female performance (Phase 2); female preference for different artificial substrates for oviposition (Phase 3); mating rate and female preference for sexual partners (Phase 4).

15-30 females ingested more quantity of brewer's yeast (protein source) diet than 60-75 females. We related it with the fact of *A. obliqua* be anautogenous species. Similar sucrose ingestion between 15-30 and 60-75 females was associated to similar egg deposition by females from these two groups. However, the results from these two parameters varied among experiments of Phases 1 and 2. We proposed the hypothesis that sucrose ingestion by 60-75 females may be associated to oviposition behavior activities. Between 15-30 and 60-75 males, there was influence of age on sucrose ingestion: the first males ingested more diet, possibly because they may seem more active than the last one. It was noted, with age, a tendency for an increase in number of spermatozoa in the testis, being significant the difference between 15-17-day males and 73-75-day males. This increase may be explained by the storage of spermatozoa produced during male life, since they had no mating. In both sexes, there was not difference in mortality rate between 15-30 and 60-75 flies. It was supposed that physiological changes related to age that occurred during the period from day 60 to day 75 did not increase mortality rate in relation to the other period analyzed.

15-30 and 60-75 females behaved in a different way even in "protein deprivation" situation (brewer's yeast) as in "carbohydrate deprivation" situation (sucrose). Protein deprived 15-30 females compensated the lack of this nutrient by increasing brewer's yeast diet ingestion in relation to non-protein deprived 15-30 females, on the day after the deprivation period. On the other hand, protein deprived 60-75 females did not present this compensatory mechanism. In "carbohydrate deprivation", independently of age, carbohydrate deprived females ingested, on the day after the deprivation period, more sucrose diet than non-deprived females. However, carbohydrate deprived 15-30 females ingested more sucrose than 60-75 females in same condition. In the process of nutritional compensation related to a nutrient-specific deprivation, a larger responsiveness of chemoreceptors to stimulation with

the lacking nutrient may occur. An explanation for the observed in both situations would be the decline in this responsiveness change for the lacking nutrient with fly age.

Besed on three choice situations for artificial substrates for oviposition, there was change in female preference with her age, in one of them. While 15-30 female did not show preference for any substrate, 60-75 did it. We supposed a decrease of sensibility to sucrose with age, which would make the substrate less preferred (the one with more quantity of sucrose) become less attractive to oviposition by 60-75 females. It was also suggested that a possible larger egg load of 15-30 females may have caused a decline in their selectivity during the choice for substrate.

Few mating were observed in experiments from Phase 4. The major number (11) was verified in group whose 15-30 females had to select between 15-30 males with different nutritional conditions. We supposed that this low quantity of mating in other groups may be associated to sexual receptivity of 60-75 females, to leks formation with males from different ages (15-30 and 60-75) and also to experimental boxes utilized.

## ***1. INTRODUÇÃO***

---

O ciclo de vida dos organismos multicelulares pode ser dividido em duas fases. A fase inicial, após a embriogênese, caracteriza-se pelo crescimento e aumento na eficiência adaptativa do organismo, culminando na maturidade sexual e atividade reprodutiva (Sohal, 1985). Esta fase é seguida por um declínio gradual e irreversível na capacidade funcional de vários sistemas fisiológicos, havendo uma progressiva perda na habilidade de restabelecer a homeostase em resposta a perturbações (Sohal, 1985).

Após revisar definições de outros autores, Arking (2008) define envelhecimento como um conjunto de mudanças estruturais e funcionais, as quais são cumulativas, progressivas, intrínsecas e deletérias. Tais mudanças geralmente começam a se manifestar na maturidade reprodutiva e por fim culminam na morte (Arking, 2008).

Arking (2008) faz uma distinção entre “tempo biológico” e “tempo sideral”. Este se baseia na relação entre a Terra e o Sol, e tem como unidades fundamentais o dia e a noite. O primeiro é medido pelas cascatas físicas e químicas que ocorrem no organismo, e estaria relacionado diretamente ao envelhecimento. Assim, indivíduos que possuem mesma idade cronológica, podem ter idades fisiológicas diferentes (Arking, 2008).

O envelhecimento ocorre de forma diferente entre indivíduos de uma mesma população. Além disso, como é o resultado cumulativo de diversos processos fisiológicos e tais processos podem ocorrer com taxas distintas dentro do mesmo indivíduo, o envelhecimento também é um mosaico em âmbito individual. Ou seja, um organismo pode ser funcionalmente mais velho do que sua idade cronológica em um atributo fisiológico (acuidade auditiva) e não em outro (força muscular) (Arking, 2008).

Comportamento é uma expressão de processos neurais modificada por fatores fisiológicos e ambientais, por isso é central para entender as interações dos organismos (Bernays, 2001). Através dessa capacidade de reação aos estímulos externos e internos, o animal pode se adaptar momentaneamente às pressões do meio (Sugayama & Malavasi, 2000).

Os insetos apresentam uma ampla gama de comportamentos que podem ser estereotipados ou variáveis, conforme a estratégia de ciclo de vida da espécie (Sugayama & Malavasi, 2000). O comportamento exploratório (*searching behavior*) envolve movimentos através dos quais os insetos buscam recursos, ou seja, através dos quais adquirem alimentos, parceiros sexuais, sítios para oviposição e construção de ninho e abrigo (Bell, 1990). Mecanismos exploratórios eficientes são cruciais para a sobrevivência e reprodução dos insetos, uma vez que os recursos acima citados são absolutamente essenciais para o crescimento, desenvolvimento e manutenção do indivíduo, e também para assegurar o sucesso



de gerações futuras (Bell, 1990). Características biológicas e habilidades de um inseto (padrões locomotores e percepção sensorial das informações), fatores ambientais externos que determinam a disponibilidade de recursos e os riscos inerentes à aquisição dos mesmos, e fatores internos (como privação ou receptividade sexual) que determinam as necessidades do inseto em um dado momento, têm influência sobre o comportamento exploratório (Bell, 1990).

Durante sua vida, um inseto toma várias “decisões” que têm, geralmente, uma base nutricional – o momento de a larva eclodir do ovo; o que, quando e quanto comer; quantos e quais tipos de nutrientes estocar para o período de pupação; quando, quanto e que tipo de ovos colocar, entre outras (Slansky, 1982). O alimento é um dos principais fatores do meio ambiente que determinam a abundância e distribuição dos insetos (Tsitsipis, 1989). Tem como funções induzir a ingestão pelos insetos devido às características que possui (fagoestimulante, deterrente) e oferecer os nutrientes necessários que fornecem energia e elementos construtores (Tsitsipis, 1989).

Os insetos, como os outros animais, parecem ter um padrão geral de necessidades nutricionais (Zucoloto, 1987). Tais requerimentos podem ser qualitativos ou quantitativos. Os primeiros dizem respeito às diferentes classes de substâncias que servem como nutrientes (por exemplo, proteínas, carboidratos); os segundos referem-se à quantidade de tais substâncias na dieta. Os nutrientes requeridos para um ótimo crescimento e desenvolvimento são designados como essenciais (Tsitsipis, 1989). Os nutrientes requisitados pelos insetos são uma fonte protéica ou uma mistura adequada de aminoácidos, uma fonte de carboidratos, vitaminas do complexo B, esterol, alguns ácidos graxos e sais minerais; dependendo da espécie, são necessárias as vitaminas A e C e/ou uma fonte de lipídeos (Dadd, 1985).

A teoria do ótimo forrageamento consiste em modelos que tentam prever o padrão de forrageamento dos animais com base no ganho energético líquido (associando custos e benefícios) por unidade de tempo (Goodenough *et al*, 2001). Alguns dos fatores considerados incluem o valor calórico do alimento, a quantidade de energia requerida para digeri-lo, o tempo gasto para encontrá-lo e manuseá-lo. De acordo com essa teoria, indivíduos que forrageiam otimamente são mais prováveis de deixarem mais descendentes do que os que não o fazem (Goodenough *et al*, 2001). Os mais recentes modelos de ótimo forrageamento reconhecem que a maximização tem restrições e que a auto-seleção alimentar pode ocorrer (Waldbauer & Friedman, 1991). A auto-seleção alimentar (*self-selection*) consiste em contínua regulação, pelo animal, da ingestão de dois ou mais alimentos em proporções que

levam a um balanço de nutrientes mais favorável do que o animal obteria caso se alimentasse de apenas um item (Waldbauer & Friedman, 1991).

No modelo geométrico para estudos de nutrição, as relações entre nutrição de um animal e seu ambiente são construídas ao redor de um espaço nutricional com “n” dimensões, no qual cada dimensão representa um nutriente (Raubennheimer & Simpson, 1993; Simpson & Raubenheimer, 1995). Raubennheimer & Simpson (1993) denominam de “alvo nutricional” o requerimento dos tecidos de um animal por um determinado nutriente ou mistura de nutrientes em um dado momento. A quantidade e proporção ideal de nutrientes que são necessários serem ingeridos para que se atinja o alvo nutricional é tida com “alvo de ingestão” (Raubennheimer & Simpson, 1993). Esses “alvos” seriam pontos ótimos dentro do espaço nutricional multidimensional acima citado (Raubennheimer & Simpson, 1993).

Atingir o alvo de ingestão envolve regular o tipo de alimento selecionado e a quantidade a ser comida de cada alimento (Simpson *et al*, 1995). Os mecanismos que regulam a ingestão de nutrientes guiam o inseto pelo espaço nutricional através da integração de informações sobre o estado nutricional do animal naquele instante e sobre a qualidade do alimento (Simpson *et al*, 1995).

Uma vez que sua composição varia conforme o tempo desde a última refeição do inseto, a qualidade e quantidade de alimento ingerido em tal refeição e demanda dos tecidos, a hemolinfa fornece informações sobre o estado nutricional do inseto (Simpson *et al*, 1995). Já a qualidade do alimento é percebida através de receptores sensoriais (Chapman, 1998).

As necessidades nutricionais variam através da vida de um inseto com, por exemplo, a demanda de crescimento, desenvolvimento, reprodução, diapausa e migração (Simpson & Simpson, 1990). Não só a qualidade dos nutrientes requeridos muda através do tempo conforme o desenvolvimento e história nutricional, mas também a combinação desses nutrientes (Simpson & Raubenheimer, 1996).

Em espécies que se reproduzem diversas vezes, o consumo de alimentos durante o estágio de vida adulta é importante, por exemplo, para a produção de ovos (Slansky, 1982). Modificações fisiológicas associadas com a maturação dos ovários e desenvolvimento de ovos são usadas para explicar mudanças nas respostas de fêmeas de vários insetos aos alimentos que são importantes para a reprodução (Cresoni-Pereira & Zucoloto, 2001a). A taxa de ingestão por fêmeas, de um modo geral, varia em relação às necessidades de nutrientes para manter o desenvolvimento ovariano (Barton-Browne, 1993).

Há situações em que os insetos têm que lidar com variações na disponibilidade e adequabilidade de alimento. Eles o fazem através de mecanismos pré-ingestivos (mudanças

no comportamento) ou pós-ingestivos (alteração da eficiência de utilização ou desenvolvimento de mecanismos fisiológicos de eliminação do excesso de substâncias no organismo) (Medeiros *et al* 2008).

Um alimento não balanceado nutricionalmente não permite ao animal satisfazer, simultaneamente, seus requerimentos ótimos por todos os nutrientes, mas o força a fazer ajustes entre ingerir mais de alguns nutrientes e menos outros, com seus custos associados. Outra opção é misturar a ingestão de um e outro alimento que contém nutrientes complementares (Simpson & Raubenheimer, 2007). Quando nem alimento nutricionalmente balanceado nem itens complementares estão disponíveis, o animal não pode balancear a ingestão de seus nutrientes, mas pode utilizar um alimento não balanceado e excretar seletivamente o excesso ingerido. No entanto, se o grau de desbalanço excede a capacidade de eliminação do animal, este é limitado a aceitar o excesso de alguns nutrientes e/ou o déficit de outros (Simpson & Raubenheimer, 2007).

De uma forma geral, a privação de um dado recurso afeta o comportamento exploratório, como por exemplo, aumentando a probabilidade de resposta a sinais relacionados ao recurso; entendendo a duração de busca local por alimento ou sítio de oviposição; no caso da privação de alimento, há maior possibilidade do animal mover seu lugar de tocaia (Bell, 1990).

A privação de alimento aumenta a atividade locomotora, dependendo do nível de reserva metabólica mantida pelo inseto (Simpson & Simpson, 1990). O envelhecimento ou aumento da idade é geralmente relacionado a um declínio funcional combinado com uma progressiva redução da capacidade do organismo em resistir a situações de estresse (Casper, 1995). Como, de maneira geral, há declínio na disposição e velocidade de locomoção com a idade do inseto, (Sohal, 1995), uma situação de privação de alimento pode tornar-se mais estressante com o aumento da idade.

A seleção de um hospedeiro para a oviposição é um estágio crítico da vida de insetos holometábolos cuja larva tem pequena mobilidade. Afinal, o imaturo depende das fontes nutricionais do hospedeiro selecionado pela fêmea adulta (Singer, 1986).

Os fatores que moldam o uso de plantas hospedeiras são bastante diversos, com padrões que vão desde o extremo conservacionismo à extrema plasticidade. Duas forças principais guiam a evolução do uso de hospedeiros: a coevolução fitoquímica entre plantas e herbívoros e a pressão seletiva por inimigos naturais generalistas (Aluja & Mangan, 2008).

No momento da escolha do sítio de oviposição, vários aspectos podem ser avaliados pela fêmea, tais como tamanho da planta, a forma da folha, cor, odor, gosto e presença de

outros ovos (Slansky, 1982). A discriminação dos hospedeiros por insetos se dá, em grande parte dos casos, através da percepção de estímulos provenientes de aleloquímicos vegetais. Nos insetos polívoros, o papel dos nutrientes no encontro e seleção do hospedeiro é importante, podendo o das substâncias químicas vegetais secundárias ser menos definido. Os insetos certamente respondem a diferentes concentrações de nutrientes e isso pode ajudar na localização da parte da planta mais adequada (Edwards & Wratten, 1981).

Segundo Singer (1986), preferência é a probabilidade relativa de aceitação de hospedeiros que são encontrados. Já aceitabilidade é um termo usado para descrever a probabilidade de um hospedeiro ser aceito se for encontrado e a palavra adequabilidade é usada quando se quer abordar os vários aspectos qualitativos do hospedeiro que afetam a performance dos insetos (Singer, 1986).

No comportamento de oviposição, com o aumento da idade, as fêmeas tornam-se menos seletivas na escolha do hospedeiro; esse fato pode ampliar sua gama de hospedeiros (Sadeghi & Gilbert, 2000).

A preferência de oviposição entre diferentes frutos por fêmeas de moscas-das-frutas da espécie *Ceratitis capitata* foi testada no começo do período de oviposição e a seguinte hierarquia de preferência foi verificada: papaia>banana>maçã>laranja (Joaquim-Bravo *et al*, 2001). Tal resultado foi modificado quando se estudou a influência da idade sobre a hierarquia de preferência de frutos para oviposição: não houve diferença significativa entre a quantidade de ovos depositados nos diferentes frutos por fêmeas com 20 dias de vida adulta (Joaquim-Bravo *et al*, 2001). Houve maior distribuição de ovos através dos hospedeiros, sugerindo que as fêmeas devem ter menor discriminação na fase mais avançada da vida adulta que na mais jovem (Joaquim-Bravo *et al*, 2001).

Estudo com coleópteros da espécie *Adalia bipunctata* demonstrou que as fêmeas velhas depositam mais ovos em sítios com feromônio deterrente à oviposição do que as jovens (Frechette *et al*, 2004). A causa dessa mudança, com a idade, no comportamento, não é determinada. Os autores supõem que isso possa ser devido à perda da eficácia dos quimiorreceptores associada ao aumento da idade (Frechette *et al*, 2004). Pode ser assumido que a probabilidade de morte aumenta com a idade, então, fêmeas velhas, teoricamente, teriam menos tempo para ovipositar que as jovens e seriam menos seletivas (Mangel, 1989 *apud* Frechette *et al*, 2004). Nos experimentos realizados por Frechette *et al* (2004) com os coleópteros da espécie acima citada, as fêmeas tornaram-se também menos ativas com a idade. Esta seria uma outra razão para que se tornassem menos seletivas: com o aumento da idade levam mais tempo para localizar uma outra presa (Frechette *et al*, 2004).

A seleção sexual pode ocorrer através de dois mecanismos: intrasexual e intersexual. Na seleção intrasexual, indivíduos do mesmo sexo, geralmente machos, competem para ter acesso a parceiros (fêmeas) para acasalar. Intensas lutas e competições por acasalamentos podem levar a seleção de aumento no tamanho de organismos e elaborados adornos (“armas”), tais como os “chifres” de alguns besouros machos. A seleção intersexual envolve escolha do parceiro, na qual indivíduos de um sexo (geralmente fêmeas) escolhem parceiros que possuem determinadas características. Portanto, de maneira geral, os machos não só lutam com outros para terem acesso às fêmeas, mas também competem para atrair as fêmeas através de elaboradas estruturas ou padrões comportamentais (Goodenough *et al* 2001).

O estudo dos mecanismos de seleção sexual depende da identificação de características que influenciam a escolha intersexual e/ou a competição intrasexual na cópula em uma dada população (Aluja *et al*, 2001). A teoria da seleção sexual prediz que a escolha no acasalamento, comumente feita pelas fêmeas, evolui por causa da variação nos benefícios providos pela cópula com determinado parceiro (Moore & Moore, 2001). Fatores endógenos influenciam o comportamento sexual de insetos, dentre eles: a idade, o estado nutricional e a história de acasalamentos (Barton-Browne, 1993).

Com a idade da fêmea, parâmetros comportamentais e fisiológicos eventualmente declinam em qualidade (Mack *et al*, 2002). Em estudo realizado com baratas (*Nauphoeta cinerea*), foi verificado que fêmeas com idade superior a idade reprodutiva ótima (6 dias após a emergência) exigiram menos cortejo dos machos que as mais jovens, ou seja, as primeiras foram menos seletivas. Além disso, as mais velhas tiveram menos descendentes por postura e menor número de posturas do que as mais jovens (Moore & Moore, 2001).

Trabalhando com grilos onívoros da espécie *Teleogryllus commodus*, Maklakov *et al* (2009) acharam que o padrão de performance reprodutiva específico da idade difere entre os sexos. A fecundidade da fêmea declina rapidamente com a idade; ao passo que os machos mostram um aumento no esforço de chamamento (*calling*) com a idade, e evidência de envelhecimento reprodutivo foi restrita a idade muito avançada. Os autores sugerem, então que, como uma consequência da seleção sexual, os sinais do envelhecimento reprodutivo devem ser frequentemente mais fracos em machos que em fêmeas.

No presente estudo, foi investigada a influência da idade sobre alguns aspectos da biologia de moscas-das-frutas da espécie *Anastrepha obliqua* – comportamento alimentar, de oviposição e comportamento de cópula.

As moscas-das-frutas pertencem à ordem Diptera, família Tephritidae (Zucchi, 2000). Essa designação “moscas-das-frutas” é o nome comum exclusivo de representantes desta família (Zucchi, 2000). São insetos de importância econômica, uma vez que seu ciclo de vida, em especial o período de larva, está relacionado ao desenvolvimento dos frutos hospedeiros (Cresoni-Pereira & Zucoloto, 2009).

O gênero *Anastrepha* provavelmente teve sua origem no continente sul-americano (Aluja, 1994). Sugere-se que muitas de suas espécies são relativamente jovens e que a especiação tem sido rápida e recente (Aluja, 1994). O gênero *Anastrepha* possui a maioria dos indivíduos distribuídos na Região Neotropical (América do Sul, América Central e Caribe, no México e sul dos Estados Unidos) com algumas ocorrências no sul da região Neártica (Malavasi *et al*, 2000).

Espécies de *Anastrepha* têm alta mobilidade, exibem alto potencial reprodutivo e a maioria é multivoltina (Aluja, 1994). Completam seu ciclo de desenvolvimento através de quatro estágios: ovo, larva, pupa e adulto. As fêmeas adultas ovipositam seus ovos no epi ou mesocarpo de frutos (Aluja, 1994). As larvas passam por três instares antes de deixarem o fruto e se enterrarem para a pupação. (Aluja, 1994; Aluja *et al*, 2000).

As necessidades nutricionais dos tefritídeos são satisfeitas através das dietas que ingerem, e/ou pela transferência de nutrientes de estágios iniciais da vida, e/ou pela atividade da microflora simbiótica (Tsitsipis, 1989).

A alimentação no estágio larval é considerada muito importante, uma vez que os nutrientes são requeridos, qualitativa e quantitativamente, não só para fornecer energia e substâncias estruturais necessárias a sobrevivência, crescimento e desenvolvimento, mas também para armazenamento de substâncias que serão utilizadas no estágio de pupa (Tsitsipis, 1989). Na pupa, os nutrientes são necessários para a metamorfose e uma parte é transferida para o estágio do adulto (Tsitsipis, 1989). Após a emergência do adulto, as moscas passam por um período de maturação durante o qual precisam de dieta contendo carboidrato e água para a sobrevivência e uma fonte protéica de modo a permitir a maturação das gônadas (Bateman, 1972; Braga & Zucoloto, 1981; Aluja, 1994; Fontellas & Zucoloto, 2003). Na natureza, os tefritídeos adultos adquirem os nutrientes necessários a partir de uma grande variedade de itens alimentares: secreções de plantas, néctar, exudatos de seiva, frutos caídos, pólen, *honeydew*, fezes de pássaros, bactérias nas superfícies de folhas e frutos (Christenson & Foote, 1960; Drew & Lloyd, 1989).

O comportamento de oviposição das moscas-das-frutas é constituído por uma série de etapas: chegada ao fruto, análise das características físicas e químicas do fruto, punctura

(inserção do acúleo) e deposição de ovos (Aluja, 1994). Se um ovo é depositado, há o arrastamento do acúleo com a deposição de feromônio de marcação (Aluja *et al*, 2000). Aparentemente, estímulos olfativos e visuais guiam as fêmeas ao substrato para oviposição (Aluja, 1994). Há tefritídeos que não infestam frutos; nesses casos, as fêmeas depositam seus ovos em raízes, troncos, botões florais, folhas, sementes ou flores, e as larvas consomem esses órgãos (Prokopy & Roitberg, 1984).

Com relação à evolução do uso de hospedeiros em Tephritoidea (superfamília na qual Tephritidae está inserida), Díaz-Fleisher *et al* (2000) propõem que a fitofagia surgiu quando o nicho ecológico ocupado por ancestrais saprófagos deu oportunidade à fitofagia, especificamente quando grupos saprófagos começaram a utilizar substratos de origem vegetal em decomposição. No contexto desta hipótese, duas inovações teriam facilitado o uso de plantas vivas: mudanças no ovipositor e modificações que permitiram às larvas o desenvolvimento em dieta de tecido vegetal (Díaz-Fleisher *et al*, 2000).

A hipótese da preferência de oviposição/performance do imaturo prediz que a preferência de oviposição estaria correlacionada com o hospedeiro adequado para o desenvolvimento dos descendentes. Deste modo, a fêmea adulta estaria maximizando seu *fitness* ao ovipositar em hospedeiros que otimizam a performance da larva (Thompson, 1988; Scheirs, 2002; Nufio & Papaj, 2004). No entanto, vários fatores podem contribuir para que não seja encontrada uma forte relação entre preferência da fêmea e performance da larva (Nufio & Papaj, 2004).

Alguns dos mais importantes fatores que influenciam o comportamento de oviposição das moscas-das-frutas são: qualidade do hospedeiro (tamanho, cor, penetrabilidade, grau de maturação, presença de feromônios de marcação de hospedeiro e de perfurações de oviposição), fatores genéticos (variabilidade dentro e entre populações), aprendizagem, número de ovariolos (fecundidade potencial), dinâmica ovariana (carga de ovos, habilidade para reabsorção de ovos, limitação de ovos x tempo), desgaste do acúleo, idade, contexto social (facilitação, competição), contexto químico (presença de voláteis de frutos ou feromônios sexuais) e variação individual na decisão de oviposição (Dukas *et al*, 2001; Aluja & Mangan, 2008). A baixa discriminação durante o comportamento de oviposição e a habilidade das larvas para sobreviverem e se desenvolverem em novos hospedeiros podem facilitar a expansão de hospedeiros em moscas-das-frutas (Zucoloto, 2000).

De modo geral, dois padrões básicos de comportamento sexual são reportados em *Anastrepha*. No primeiro, o comportamento acontece no fruto hospedeiro, no qual o macho estabelece território e força a cópula em fêmeas (ou seja, estas não escolhem o parceiro) que vão ao fruto para ovipositar. Esta estratégia é comum em espécies monófagas, univoltinas e,

geralmente, de clima temperado. No segundo caso, os machos formam agregados, denominados *leks* ou arenas de chamamento, nas folhas de plantas hospedeiras ou não hospedeiras. Nesses *leks*, os machos executam comportamento de chamada às fêmeas, emitindo sinais acústicos e químicos, e defendem pequenos territórios contra a invasão de outros machos. As fêmeas visitam as arenas de chamamento, desprovidas de qualquer recurso, e escolhem um parceiro para cópula. Esta estratégia é comum em espécies tropicais e subtropicais com ampla gama de hospedeiros e multivoltinas (Aluja, 1994; Aluja *et al*, 2000; Sugayama & Malavasi, 2000; Selivon, 2000)

O comportamento de acasalamento de *Anastrepha* frequentemente inclui: recurso de defesa (comumente, formação de *leks* pelos machos), emissão de feromônio pela glândula pleural e membrana anal evaginada dos mesmos, deposição de feromônio nas folhas, sinais (sons) produzidos por movimentos das asas dos machos antes e durante a cópula, extensão das partes bucais dos machos e outras atividades durante a cópula (Aluja *et al*, 2000).

Em espécies de insetos cujos machos vivem mais que um ou dois dias, as reservas energéticas trazidas do período larval são raramente suficientes para garantir o sucesso reprodutivo (Yuval *et al*, 1998). Machos dessas espécies devem forragear por recursos, e o sucesso na coleta de itens alimentares deve estar ligado ao empenho nas atividades reprodutivas (Yuval *et al*, 1998). O efeito da dieta do adulto sobre a atividade sexual dos machos tem sido documentado em várias espécies de insetos (Aluja *et al*, 2001). Em tefritídeos, por exemplo, tal efeito foi evidenciado na participação no *lek*, na emissão de feromônio, na qualidade dos “presentes nupciais” oferecidos à fêmea, na transferência de espermatozóides (Blay & Yuval, 1997; Yuval, *et al*, 1998; Mangan, 2003).

Moscas-das-frutas são organismos biologicamente interessantes pois ocorrem em diversos habitats, utilizam vários recursos alimentares e apresentam notável plasticidade comportamental (Cresoni-Pereira & Zucoloto, 2009). Estudos nutricionais e de comportamentos em diferentes faixas etárias de *A. obliqua* são interessantes para a detecção das variações relacionadas à idade. Essas informações podem contribuir para um melhor entendimento da ecologia e evolução do grupo.

Os hospedeiros de *A. obliqua* pertencem a famílias de plantas nativas do continente americano (Malavasi *et al*, 2000), sendo os frutos de tais vegetais (geralmente interessantes economicamente) bastante utilizados por essas moscas. Assim, estudos de Biologia básica com moscas-das-frutas são também importantes do ponto de vista econômico por gerarem conhecimentos que podem ser utilizados como base para implantação estratégias de manejo desses insetos.



## ***2. OBJETIVOS***

---

O presente estudo teve como propósito investigar alguns aspectos da biologia de adultos selvagens da espécie *A. obliqua* em duas faixas etárias: do 15º ao 30º dia (15-30) e do 60º ao 75º dia (60-75) após a emergência. Este trabalho constou de quatro fases, as quais tiveram os seguintes objetivos:

- *Fase 1*: Estudar a performance de fêmeas e machos nessas duas faixas etárias, através dos parâmetros: ingestão diária de dieta, número de óvulos depositados pelas fêmeas, número de espermatozoides nos testículos dos machos e taxa de mortalidade no período.
- *Fase 2*: Estudar o efeito da privação de uma fonte protéica ou de carboidrato sobre a performance de fêmeas nas duas faixas etárias.
- *Fase 3*: Verificar a preferência das fêmeas 15-30 e 60-75 por substratos artificiais para oviposição com composição nutricional diferente.
- *Fase 4*: Verificar a taxa de acasalamento e testar a escolha de fêmeas 15-30 e 60-75 por parceiros para cópula.

### ***3. MATERIAL E MÉTODOS***

---

### 3.1. Obtenção das moscas

Adultos selvagens de *A. obliqua* provenientes de frutos de cajá-mirim (*Spondias lutea* L) e cajá-manga (*S. venulosa* Mart. ex Engl.) foram utilizados nos experimentos. Os frutos de cajá-manga foram coletados em um pomar residencial localizado no distrito de Bonfim Paulista, Ribeirão Preto, SP (distante aproximadamente 20km da FFCLRP-USP); e os frutos de cajá-mirim, no Museu Municipal de Ribeirão Preto e na Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP (FFCLRP-USP)

Após as coletas, os frutos foram mantidos em recipientes plásticos (60x40x10cm) com areia de média granulação até os insetos atingirem estágio de pupa. As pupas foram transferidas para caixas de acrílico (11x11x3,5cm) contendo areia esterilizada e aí permaneceram até a emergência dos adultos.

Os experimentos foram conduzidos em caixas de acrílico (11x11x3,5cm) (Figura 1) mantidas em estufa para a manutenção de temperatura ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ) e umidade relativa ( $70 \pm 5\%$ ). Os insetos permaneceram sob ciclos de 12 horas de luz e de 12 horas de escuro, através da utilização de lâmpadas fluorescentes de 400lux.

As caixas de acrílico possuem orifícios (1cm de diâmetro) em suas paredes através dos quais dietas sólidas e água foram oferecidas: a água fornecida através de tubetes de vidro vedados com algodão umedecido e as dietas, em pedaços presos com um alfinete entomológico em uma rolha de cortiça.

Estabeleceu-se que os experimentos seriam conduzidos com moscas de idade entre o 15° e o 30° dias após a emergência do adulto (moscas 15-30), e com idade entre o 60° e o 75° dias (moscas 60-75). Em experimentos com *A. obliqua* conduzidos em laboratório, o início do período de oviposição se deu no 16° dia após a emergência, e a deposição de ovos perdurou por mais 149 dias (Joaquim-Bravo *et al*, 2003). *A. obliqua* apresentou dois picos de oviposição: um entre o 21° e o 25° dias e outro entre o 45° e o 55° dia. Além disso, o número de ovos por fêmea apresentou-se relativamente baixo e constante a partir do 66°-70° dias (Joaquim-Bravo *et al*, 2003). Essas informações nos deram base para a escolha dos períodos experimentais: o 15° dia por ser próximo do início do período de oviposição e o 60° dia por ser após o último pico de oviposição.

### 3.2. Dietas artificiais

Dois tipos de dietas artificiais foram oferecidas às moscas (Figura 2):

- Dieta de Lêvedo: 100ml de água destilada; 2,5g de ágar (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil); 6,5g de lêvedo de cerveja (Oficina de Ervas, Ribeirão Preto, Brasil); e 1,5ml de Nipagin (metilparabeno, Merck, Darmstadt, Alemanha) em solução alcoólica 20%.
- Dieta de Sacarose: 100ml de água destilada; 2,5g de ágar; 11,0g de sacarose (Synth, Diadema, Brasil) e 1,5ml de Nipagin em solução alcoólica 20%.

As dietas foram preparadas misturando os ingredientes (com exceção do Nipagin) até sua homogeneização. Em seguida, foram colocadas em Erlenmeyer (200ml) e autoclavadas (120°C por 20 minutos). O anti-fúngico foi, então, acrescentado e as dietas distribuídas em placas de Petri® (50x12mm) e armazenadas sob refrigeração.

### 3.3. Substratos artificiais para oviposição

Os substratos artificiais para oviposição utilizados foram assim constituídos:

- Substrato de ágar = 100ml de água destilada e 2,5g de ágar. Esse substrato foi usado na Fase 1 e 2 (Figura 3).
- Substrato 0g L = 100ml de água destilada, 2,5g de ágar, 2,7g de farinha de trigo (Dona Benta, Brasil) e 7,0g de sacarose. Este substrato foi usado na Fase 3.
- Substrato 2,7g L = 100ml de água destilada, 2,5g de ágar, 2,7g de farinha de trigo, 4,3g de sacarose e 2,7g de lêvedo de cerveja. Este substrato foi usado na Fase 3.
- Substrato 4g L = 100ml de água destilada, 2,5g de ágar, 2,7g de farinha de trigo, 3,0g de sacarose e 4,0g de lêvedo de cerveja. Este substrato foi usado na Fase 3.
- Substrato de lêvedo e sacarose = 100ml de água destilada, 2,5g de ágar, 6,5g de lêvedo de cerveja e 11,0g de sacarose. Esse substrato foi usado na Fase 4.

Os substratos para oviposição foram preparados misturando e aquecendo os ingredientes até sua homogeneização em fogão convencional. A mistura foi então colocada em formas ovais com volume de 6ml. Os substratos foram envolvidos com película de Parafilm (American Can Company, Detroit, EUA), de modo a oferecer resistência para o ovipositor da fêmea como ocorre com a casca dos frutos hospedeiros.

### **3.4. Fase 1: Influência da idade sobre a performance de machos e fêmeas selvagens de *A. obliqua* (Diptera: Tephritidae)**

Nesta fase, pretendeu-se verificar a performance de adultos - machos e fêmeas - de *A. obliqua* com idades diferentes.

Cinco fêmeas e 5 machos de mesma idade foram colocados em cada caixa experimental, porém indivíduos de sexos diferentes foram mantidos separados por uma divisória inserida em uma das diagonais da caixa (Figura 4). Tal divisória era constituída por material plástico transparente contendo alguns furos, semelhante a utilizada em estudo anterior (Cresoni-Pereira & Zucoloto, 2006). Os machos e as fêmeas foram alimentados com os mesmos tipos de dieta (dieta de lêvedo e dieta de sacarose).

Seis grupos experimentais (três para cada sexo) foram montados, todos constituídos por 10 caixas experimentais como as descritas acima. Os grupos de fêmeas foram: Fêmeas 15-30 (15-30♀); Fêmeas 60-75 não privadas de substrato para oviposição (60-75♀ NP) e Fêmeas 60-75 privadas de substrato para oviposição (60-75♀ P). As fêmeas dos grupos 15-30♀ e 60-75♀ NP tiveram substrato para oviposição à disposição a partir do 15º dia de vida do adulto, já as do grupo 60-75♀ P, a partir do 60º dia. Com relação aos machos, os grupos foram: Machos 15-30 (15-30♂); Machos 60-75 na presença de fêmeas 60-75 não privadas de substrato para oviposição (60-75♂ + ♀NP) e Machos 60-75 na presença de fêmeas 60-75 privadas de substrato para oviposição (60-75♂ + ♀P).

A performance foi analisada nos períodos pré-estabelecidos de vida das moscas. Os parâmetros avaliados foram: ingestão diária de dieta, número de óvulos depositados pelas fêmeas no período, estimativa do número de espermatozóides contidos nos testículos de machos e mortalidade no período.

#### **3.4.1. Medidas de ingestão**

As medidas de ingestão das dietas foram feitas de acordo com Cangussu & Zucoloto (1995): um pedaço de 400mg de cada dieta (dieta de lêvedo e dieta de sacarose) foi oferecido às moscas, e a mesma quantidade foi colocada em uma caixa sem moscas para se verificar a

matéria seca total (MST). Após 24h, os pedaços de dietas foram colocados para secar em estufa à temperatura de  $80\pm 1^\circ\text{C}$  por 24h e então pesados em balança analítica.

A ingestão foi calculada através da fórmula (Cangussu & Zucoloto, 1995):  $I = \text{MST} - \text{MSR}/N$ ; em que I = ingestão, MST = matéria seca total (caixa sem moscas), MSR = matéria seca restante (caixa com moscas), N = número de indivíduos do mesmo sexo vivos na caixa.

### 3.4.2. Número de óvulos depositados

A partir do 15º dia nos Grupos 15-30♀, 60-75♀ NP, 15-30♂, 60-75♂ + ♀NP, e do 60º dia nos Grupos 60-75♀ NP e 60-75♂ + ♀P, foi colocado, em cada caixa, um substrato artificial para oviposição (substrato de ágar) à disposição das fêmeas. Os substratos foram trocados diariamente, e os óvulos neles depositados pelas fêmeas dos grupos 15-30♀, 60-75♀ NP e 60-75♀ P, nos respectivos períodos experimentais, foram contados com auxílio de um estereomicroscópio.

### 3.4.3. Número de espermatozóides nos testículos

Para se obter a estimativa do número de espermatozóides contidos nos testículos, machos foram criados em condições semelhantes às dos machos usados na análise de performance e dissecados nos dias de vida estabelecidos: 15–17 dias, 28–30 dias, 60–62 dias e 73–75 dias. Houve machos dissecados com 60–62 dias e 73–75 dias mantidos com fêmeas de mesma idade privadas e não privadas de substrato artificial para oviposição. Tivemos, então, para a contagem de espermatozóides 6 grupos: 15-17 dias, 28-30 dias, 60-62 dias + ♀NP, 60-62 dias + ♀P, 73-75 dias + ♀NP e 73-75 dias + ♀P.

O procedimento de dissecação e contagem de espermatozóides foi baseado no realizado por Bressan (1995). Dez machos de cada grupo foram mortos e dissecados em solução fisiológica de NaCl 0,9%. Cada macho teve seus testículos retirados e imediatamente esmagados em  $1000\text{mm}^3$  de solução aquosa 0,005% de aditivo para radiadores (monoetilenoglicol e anti-corrosivos - Bardahl Rad Cool, São Paulo, Brasil). Após agitação, uma gota do homogeneizado foi depositada em uma Câmara de Neubauer (Neubauer

improved, 0,0025mm<sup>2</sup>, Optik Labor), sendo esta coberta com a lamínula específica para uso em tal câmara (20x26mm). A contagem dos espermatozóides foi realizada utilizando-se 9 unidades contidas no quadrante C da lâmina coberta pela lamínula (volume de 1 unidade = 0,004mm<sup>3</sup>) e o número de espermatozóides foi estimado através da média das 9 unidades e da seguinte regra de três:

$$\begin{array}{r} 0,004\text{mm}^3 \text{ _____ Média das 9 unidades} \\ 1000\text{mm}^3 \text{ _____ Número total de espermatozóides} \end{array}$$

#### 3.4.4. Mortalidade

Durante o período experimental de cada grupo, foram feitos registros diários das fêmeas e machos mortos. Assim, a taxa de mortalidade foi dada pela razão entre o número de indivíduos do mesmo sexo mortos até o final do período experimental o número de indivíduos do mesmo sexo vivos no início de tal período (no caso 5) multiplicada por 100.

#### 3.4.5. Análise de dados

Nas comparações de ingestão de dietas entre diferentes grupos do mesmo sexo e de número de espermatozóides entre machos de idades diferentes acompanhados por fêmeas não privadas de hospedeiro (♀NP) foi utilizado o teste ANOVA 1 fator, seguido do teste de comparações múltiplas de Student-Newman-Keuls (SNK) quando houve diferença significativa entre os grupos.

O teste Mann-Whitney foi usado para detectar diferenças significativas na ingestão de dietas entre grupos de sexos diferentes.

O teste t foi usado nas comparações de número de espermatozóides entre machos de mesma idade acompanhados por fêmeas privadas ou não privadas de hospedeiro para oviposição.

Para verificar diferença entre os grupos de fêmeas com relação ao número de óvulos depositados foi utilizado o teste Kruskal-Wallis, seguido do método de comparações múltiplas



de Dunn. O teste de Friedman foi usado na análise dos dados do padrão de oviposição, para comparar o número de óvulos depositados em cada dia do período experimental em um mesmo grupo de fêmeas. O teste de Kruskal-Wallis foi aplicado na análise da porcentagem de caixas com fêmeas ovipositando no substrato artificial em cada dia do período experimental nos três grupos.

Com relação à taxa de mortalidade, comparações entre grupos de mesmo sexo foram realizadas através do teste Kruskal-Wallis; e entre sexos diferentes, através do Mann-Whitney.

Os teste foram realizados através do programa SigmaStat for Windows Version 2.03 da Jandel Corporation, adotando-se o nível de significância de 5%.

### **3.5. Fase 2: Efeito da privação de uma fonte protéica ou de sacarose sobre a performance de fêmeas adultas selvagens de *A. obliqua* (Diptera: Tephritidae) de diferentes faixas etárias**

Nesta fase, pretendeu-se verificar a performance de fêmeas 15-30 e 60-75 de *A. obliqua* quando privadas de determinado nutriente.

Duas situações de privação foram experimentadas: privação de uma fonte protéica (lêvedo) e privação de carboidrato (sacarose). Para cada situação foram montados, ao todo, 4 grupos: fêmeas 15-30 controles (15-30 Ctl); fêmeas 15-30 privadas (15-30 Priv); fêmeas 60-75 controles (60-75 Ctl) e fêmeas 60-75 privadas (60-75 Priv).

Como na Fase 1, todas as caixas experimentais desta fase foram montadas com 5 fêmeas e 5 machos de mesma idade sendo os indivíduos de sexos diferentes separados por uma divisória de material plástico transparente inserida em uma das diagonais da caixa. Os experimentos foram conduzidos do 15° ao 30° dia de vida dos adultos nos grupos de fêmeas 15-30 e do 60° ao 75° dia nos grupos de fêmeas 60-75.

As fêmeas controles (15-30 Ctl Lev, 60-75 Ctl Lev, 15-30 Ctl Sac e 60-75 Ctl Sac) foram alimentadas com dieta de lêvedo e dieta de sacarose durante todo o período experimental. As fêmeas privadas não tiveram uma dessas dietas disponíveis durante determinados dias do período experimental (conforme descrito abaixo). Os machos de todos os grupos foram alimentados com dieta de lêvedo e dieta de sacarose.

Na situação “privação de lêvedo”, as fêmeas privadas não tiveram   disposi o durante 5 dias (do 15  ao 19  dia de vida adulta para as fêmeas 15-30 Priv Lev e do 60 ao 64  dia para as fêmeas 60-75 Priv Lev) a dieta de lêvedo, e depois deste período tal dieta foi disponibilizada.

Na situa o “priva o de sacarose”, as fêmeas privadas ficaram dois dias (15  e 16  dias para as 15-30 Priv Sac e 60  e 61  dias para as 60-75 Priv Sac) sem a dieta de sacarose. O período de priva o de sacarose foi menor que o de fonte protéica pois baixa taxa de sobrevivência foi verificada em estudos anteriores (Fontellas & Zucoloto, 1999; 2003) quando a ausência de sacarose na dieta se estendeu por mais de 2 dias. Isso impossibilitaria a coleta de dados dos outros parâmetros de performance além da taxa de mortalidade.

Em todos os grupos, substratos artificiais para oviposi o (substrato de ágar) foram colocados   disposi o das fêmeas a partir do 15  dia de vida do adulto e trocados por semelhantes diariamente.

### **3.5.1. Parâmetros avaliados**

Os parâmetros avaliados em fêmeas Ctl e Priv foram: ingestão de dietas após o período de priva o de nutriente, número de óvulos depositados pelas fêmeas e mortalidade no período experimental. O modo como tais medidas foram tomadas foi semelhante ao descrito nos itens 3.4.1, 3.4.2 e 3.4.4.

### **3.5.2. Análise de dados**

Nas duas situa es de priva o de dieta, foi utilizado o teste ANOVA 2 fatores seguido do teste de compara es múltiplas de SNK para a análise dos dados de ingestão de dietas e óvulos depositados.

Nas compara es da taxa de mortalidade entre os grupos, utilizou-se o teste Kuskal-Wallis.

Os teste foram realizados através do programa SigmaStat for Windows Version 2.03 da Jandel Corporation, adotando-se o nível de significância de 5%.

### 3.6. Fase 3: Efeito da idade da fêmea sobre a seleção de substratos artificiais para oviposição em *A. obliqua* (Diptera: Tephritidae) selvagem

Na terceira fase, foi testada a preferência das fêmeas 15-30 e 60-75 quanto a substratos artificiais com composição nutricional diferente para oviposição.

Adultos recém-emergidos foram, inicialmente, mantidos em grupos de 5 indivíduos de cada sexo por caixa. No 15º dia após a emergência, foram inseridos, nas caixas, os substratos artificiais para oviposição (combinações de dois substratos entre 0g L, 2,7g L e 4g L). No dia seguinte à detecção de ovos nos substratos de uma dada caixa, as moscas foram separadas em um casal por caixa e então iniciados os testes de preferência.

Segundo Prokopy & Reynolds (1998), em trabalho com a espécie de moscas-das-frutas *Rhagoletis pomonella*, a oviposição é facilitada na presença de outras fêmeas ovipositando. Assim, o procedimento supracitado foi adotado porque o efeito de grupo parece contribuir para o início da oviposição em *A. obliqua* (Cresoni-Pereira, Leal & Zucoloto, dados não publicados).

A escolha dos substratos 0g L, 2,7g L e 4g L deveu-se ao fato de terem sido utilizados como dietas para larvas de *A. obliqua* em experimentos em que se verificou a performance das mesmas (Message & Zucoloto, 1980). Nesse estudo, tais dietas apresentaram, respectivamente, 0% de emergência, a melhor performance dentre as testadas e emergência relativamente baixa (6,6% em dois de três testes).

Nos testes de escolha, foram feitas combinações de dois substratos. A preferência por substratos para oviposição foi analisada em dois períodos de vida dos mesmos indivíduos: a) entre o dia seguinte à detecção de ovos nos substratos e o 30º dia após a emergência (15-30) e entre 60º e 75º dia após a emergência (60-75). Assim tivemos 3 grupos: Grupo 0g L x 2,7g L, constituído por 10 caixas experimentais contendo um casal de moscas cada, com a combinação de substratos 0g L x 2,7g L; Grupo 0g L x 4g L, constituído por 10 caixas experimentais contendo um casal de insetos cada, com a combinação de substratos 0g L x 4g L; Grupo 2,7g L x 4g L, constituído por 10 caixas experimentais contendo um casal de moscas cada, com a combinação de substratos 2,7g L x 4g L.

As moscas de todos os grupos tiveram à disposição, na caixa experimental, os substratos artificiais desde o 15º dia de vida adulta até o 75º dia. As 10 caixas experimentais consideradas em cada grupo foram as 10 primeiras cujas fêmeas permaneceram vivas até o

75º dia de vida adulta e depositaram ovos em, pelo menos, cinco dias dos períodos experimentais.

Os substratos foram trocados diariamente e os ovos depositados em cada um, nos períodos experimentais, contados com auxílio de estereomicroscópio. A preferência de oviposição, neste estudo, foi considerada através da quantidade de ovos depositados em cada substrato artificial. A Figura 5 mostra uma fêmea de *A. obliqua* em atividade de oviposição.

### 3.6.1. Performance de imaturos

Apesar de os substratos artificiais terem sido escolhidos com base em dietas para larva cuja performance foi analisada em trabalho anterior (Message & Zucoloto, 1980), segundo Cangussu & Zucoloto (1995) pode haver mudança na performance das moscas em decorrência de diferenças na composição do lêvedo de cerveja de lotes diferentes. É possível que o mesmo aconteça com a farinha de trigo. Assim, achamos conveniente fazer a performance larval no presente trabalho pois, deste modo, utilizamos lêvedo de cerveja e farinha de trigo provenientes de um mesmo lote para a elaboração dos substratos artificiais e dietas larvais.

Foram utilizadas larvas recém-eclodidas obtidas através do cruzamento de adultos selvagens provenientes de frutos de cajá-manga. Tais adultos foram mantidos em laboratório em gaiolas (20x20x20cm) e alimentados com as dietas artificiais de lêvedo e sacarose. Também foram colocados à disposição das moscas substratos artificiais para oviposição. Os ovos encontrados nestes substratos artificiais foram retirados e transferidos para placas de Petri com água. As larvas recém-eclodidas foram colocadas, em grupos de 10, em placas de Petri (60x14mm) contendo 25ml da dieta a ser testada. Foram montadas 15 placas para cada dieta.

No 15º dia após a eclosão das larvas, as placas de Petri com dieta foram colocadas sem tampa em caixas de acrílico (11x11x3,5cm) contendo areia esterilizada, de modo a permitir a dispersão das larvas até a areia para a pupação. Diariamente foi vistoriada e registrada a existência de novas pupas, que foram, então, pesadas em balança analítica e transferidas para tubos de ensaio (10x40mm) contendo areia esterilizada. Tais pupas foram separadas conforme a dieta de origem e data de pupação e mantidas nos tubos de ensaio até a emergência dos adultos.

A composição das dietas foi a mesma dos substratos artificiais para oviposição utilizados nos testes de preferência – 0g L, 2,7g L e 4g L – acrescida de 1ml de Nipagin em

solução alcoólica 20% e 0,7ml de ácido propiônico (Analyticals, Milão, Itália). As dietas foram preparadas misturando todos os componentes, com exceção do Nipagin e do ácido propiônico, até sua homogeneização. Em seguida, foram colocadas em Erlenmeyer (200 ml) e autoclavadas (120°C por 20 minutos). O Nipagin e o ácido propiônico foram, então, acrescentados e as dietas distribuídas nas placas de Petri.

Os seguintes parâmetros foram avaliados: porcentagem de pupação (obtida para cada placa através da razão pupas/larvas multiplicada por 100), porcentagem de emergência (razão adultos/larvas multiplicada por 100), duração do estágio larval, do estágio pupal e do desenvolvimento larva-adulto e peso das pupas (24h).

### **3.6.2. Análise de dados**

Para a análise dos dados dos experimentos de preferência de oviposição foi usado o teste ANOVA 1 fator com medidas repetidas, uma vez que, em um mesmo grupo, os casais de moscas foram utilizados durante os dois períodos experimentais. Foi usado o teste de comparações múltiplas de SNK.

Nos experimentos de performance dos imaturos, usou-se o teste Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn para as comparações de porcentagem de pupação e porcentagem de emergência. Como não houve pupas e adultos originados das larvas que se alimentaram da dieta 0g L, o teste t foi usado para comparar as dietas 2,7g L e 4g L com relação aos demais parâmetros de performance.

Os teste foram realizados através do programa SigmaStat for Windows Version 2.03 da Jandel Corporation, adotando-se o nível de significância de 5%.

### **3.7. Fase 4: Influência da idade sobre o comportamento de cópula em fêmeas selvagens de *A. obliqua* (Diptera: Tephritidae)**

Nesta fase, pretendeu-se verificar a influência da idade da fêmea sobre dois aspectos do comportamento de cópula – taxa de acasalamento e preferência por parceiros com base na

idade e estado nutricional do macho. Também foi visado analisar parâmetros de performance de fêmeas 15-30 e 60-75 acasaladas com cada grupo de macho.

Após a emergência e até o período experimental, os adultos foram mantidos em grupos de dez indivíduos do mesmo sexo por caixa. As fêmeas foram agrupadas conforme a idade e alimentadas com dietas de lêvedo e sacarose. Assim tivemos: Fêmeas 15-30 (15-30♀) e Fêmeas 60-75 (60-75♀). Os machos foram divididos conforme a idade e o estado nutricional: Machos 15-30 alimentados com lêvedo e sacarose (15-30♂ LS); Machos 60-75 alimentados com lêvedo e sacarose (60-75♂ LS); Machos 15-30 alimentados somente com sacarose (15-30♂ S).

Um dia antes do início do período experimental (14º para as 15-30♀ e 59º para as 60-75♀), as fêmeas foram individualizadas nas caixas de acrílico. A preferência por parceiros para cópula foi registrada através da observação das cópulas (Figura 6). O procedimento foi o seguinte: ficou estipulado, como período de “exposição aos machos”, 5 horas (14-19h) nos dias do período experimental (15º ao 30º para as fêmeas 15-30 e 60º ao 75º para as 60-75). No período de exposição aos machos, foram colocados, em cada caixa com a fêmea, 6 machos (3 de um grupo e 3 de outro) para escolha. Os machos foram marcados no tórax com tinta atóxica (tinta plástica, Acrilex, São Bernardo dos Campos, Brasil) de cores diferentes conforme seu grupo.

A taxa de acasalamento foi obtida através do registro do número de “exposições aos machos” e do número de cópulas observadas. O tempo de duração de cada cópula foi anotado.

### **3.7.1. Preferência entre machos com idades diferentes**

Para testar a preferência das fêmeas com relação à idade do macho para cópula foram montados dois grupos: Grupo 15-30♀ idade♂: constituído por caixas experimentais com uma fêmea 15-30♀ em cada; Grupo 60-75♀ idade♂: constituído por caixas experimentais com uma fêmea 60-75♀ em cada. Durante o período de exposição ao macho, foram colocados, à disposição de cada fêmea desses grupos, 3 machos 15-30♂ LS e 3 machos 60-75♂ LS.

### 3.7.2. Preferência entre macho com diferentes estados nutricionais

A preferência das fêmeas com relação ao estado nutricional do macho para cópula foi verificada através da formação de dois grupos: Grupo 15-30♀ nutrição♂: constituído por caixas experimentais com uma fêmea 15-30♀ em cada; Grupo 60-75♀ nutrição♂: constituído por caixas experimentais com uma fêmea 60-75♀ em cada. Durante o período de observação, cada fêmea desses grupos tiveram que escolher entre machos 15-30♂ LS e 15-30♂ S.

### 3.7.3. Manutenção das fêmeas e parâmetros analisados após o contato com o macho

Após a cópula, as fêmeas foram mantidas individualizadas em uma caixa e continuaram sendo alimentadas com dieta de lêvedo e de sacarose. Foi colocado à disposição de cada fêmea um substrato artificial para oviposição (substrato de lêvedo e sacarose) até a sua morte, sendo diariamente trocado. Os ovos foram retirados dos substratos artificiais, contados e colocados em placas de Petri com água. Diariamente, essas placa foram verificadas sob estereomicroscópio para o registro das larvas eclodidas.

Foram registrados os seguintes dados: a) deposição diária de ovos nos 50 dias após a cópula; b) período de eclosão de larvas (data da eclosão da última larva subtraída da data da cópula); c) porcentagem de eclosão de larvas (razão entre o número de larvas eclodidas e o número de ovos depositados no período de eclosão de larvas multiplicada por 100); d) data da morte de cada fêmea para o cálculo da longevidade.

Para a análise estatística dos parâmetros de performance de 15-30♀ nutrição♂ que acasalaram, foi necessária a obtenção de mais cópulas com 15-30♂ S, além das obtidas nas situações de escolha entre machos de grupos diferentes. Para isso, o mesmo procedimento citado em 3.7 e 3.7.2 foi realizado, porém não houve teste de preferência: seis 15-30♂ S foram colocados à disposição da fêmea (15-30♂ S extra).

Das fêmeas 15-30♀ nutrição♂ que foram expostas aos machos e não copularam, 12 foram mantidas sobre condições semelhantes as das copuladas para o registro dos seguintes parâmetros: a) deposição diária de óvulos nos 30 dias após a última exposição aos machos; b) data da morte de cada fêmea para o cálculo da longevidade.

Os machos 15-30♂ LS e 15-30♂ S que copularam e não copularam foram congelados e tiveram a nervura m-cu da asa direita medida como uma estimativa do tamanho do macho. Esse procedimento foi realizado através da montagem das asas em lâminas para microscópio, em seguida imagens foram captadas através de estereomicroscópio com sistema de captação de imagem digital acoplado a um computador. A captação de imagens e medidas da nervura m-cu foram realizadas através do programa Leica IM50 Version 4.0 Release 117.

### 3.7.4. Análise de dados

As análises aqui citadas são referentes aos dados do grupo 15-30♀ nutrição♂.

Para verificar a existência de diferença no número de cópulas entre fêmeas 15-30♀ com machos 15-30♂ LS e 15-30♂ S foi utilizado o teste Binomial para amostras pequenas ( $n \leq 35$ ) (Siegel & Castellan Jr., 2006). Testou-se a hipótese nula de que a amostra teria sido extraída de uma população em que a probabilidade de acasalamento com machos 15-30♂ LS ( $p$ ) e 15-30♂ S ( $q$ ) não era diferente ( $H_0: p=q=1/2$ ), com hipótese alternativa de que tal probabilidade era diferente ( $H_1: p \neq q$ ). Adotou-se nível de significância de 5%.

O teste ANOVA 1 fator foi usado para comparar as medidas das nervuras m-cu dos machos 15-30♂ LS e 15-30♂ S que copularam e não copularam, inclusive aqueles 15-30♂ S que não participaram de testes de preferência (15-30♂ S extra).

O teste ANOVA 1 fator foi usado nas comparações do número de ovos e longevidade entre as fêmeas Cop 15-30♂ LS, Cop 15-30♂ S e virgens. Quando houve diferença significativa entre os grupos, foi utilizado o teste de comparações múltiplas de SNK.

Nas comparações dos parâmetros idade da fêmea no momento da cópula, número de ovos depositados, duração da cópula, período de eclosão de larvas, número de larvas eclodias e porcentagem de eclosão entre as fêmeas Cop 15-30♂ LS e Cop 15-30♂ S realizou-se o teste t.

Os testes (com exceção do teste Binomial) foram realizados através do programa SigmaStat for Windows Version 2.03 da Jandel Corporation, adotando-se o nível de significância de 5%.



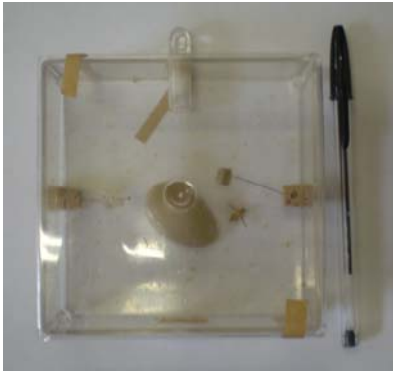


Figura 1: Caixa experimental utilizada nos experimentos das Fases 3 e 4. Foto: Thamara Leal.



Figura 4: Caixa experimental com divisória de plástico transparentes, através da qual fêmeas e machos de *A. obliqua* eram mantidos separados. Foto: Thamara Leal.

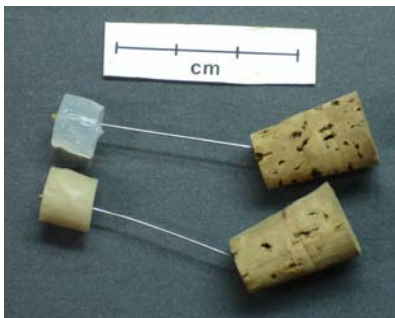


Figura 2: Dietas artificiais oferecidas às moscas: sacarose (acima) e lêvedo (abaixo). Foto: Sidnei Mateus.



Figura 5: Fêmea de *A. obliqua* em atividade de oviposição (inserção do acúleo no substrato). Foto: Thamara Leal.



Figura 3: Substrato artificial para oviposição (ágar) utilizado nas Fases 1 e 2. Foto: Sidnei Mateus.



Figura 6: Macho e fêmea de *A. obliqua* durante acasalamento. Foto: Thamara Leal.

## ***4. RESULTADOS***

---

#### 4.1. Fase 1: Influência da idade sobre a performance de machos e fêmeas selvagens de *A. obliqua* (Diptera: Tephritidae)

Os resultados referentes à ingestão total e separada das dietas de lêvedo de cerveja e de sacarose por indivíduos de ambos os sexos de *A. obliqua* estão representados na Tabela 1.

A ingestão total de dietas pelas fêmeas dos três grupos foi significativamente diferente ( $F=8,572$ ;  $p=0,001$ ): as fêmeas 60-75♀P ingeriram menos dieta que as 15-30♀ (SNK:  $p=0,004$ ) e as 60-75♀NP (SNK:  $p=0,002$ ). Não houve diferença significativa entre a ingestão total das fêmeas deste dois últimos grupos (SNK:  $p=0,445$ ).

Houve diferença significativa entre os três grupos de fêmeas com relação à ingestão de dieta de lêvedo de cerveja ( $F=6,250$ ;  $p=0,006$ ) e de sacarose ( $F=8,099$ ;  $p=0,002$ ). Fêmeas 15-30♀ ingeriram quantidade maior de lêvedo de cerveja que as 60-75♀NP (SNK:  $p=0,019$ ) e que as 60-75♀P (SNK:  $p=0,006$ ). Não houve diferença significativa entre a quantidade ingerida desta dieta pelas 60-75♀NP e 60-75♀P (SNK:  $p=0,369$ ). Com relação à ingestão de dieta de sacarose, houve diferença significativa entre 15-30♀ e 60-75♀P (SNK:  $p=0,017$ ), e entre 60-75♀NP e 60-75♀P (SNK:  $p=0,001$ ), sendo a ingestão pelas 60-75♀P menor em ambas comparações. Não houve diferença significativa entre 15-30♀ e 60-75♀NP na ingestão de sacarose (SNK:  $p=0,169$ ).

Ao analisar a ingestão total de dietas, bem como a ingestão somente de dieta de lêvedo de cerveja, pelos machos, nota-se que não houve diferença significativa entre 15-30♂, 60-75♂+♀NP e 60-75♂+♀P ( $F=3,317$ ;  $p=0,052$  e  $F=0,303$ ;  $p=0,741$  para ingestão total e de lêvedo respectivamente). A ingestão de dieta de sacarose foi significativamente diferente entre os três grupos ( $F=4,304$ ;  $p=0,024$ ): os 15-30♂ ingeriram maior quantidade desta dieta que os 60-75♂+♀NP (SNK:  $p=0,034$ ), e que os 60-75♂+♀P (SNK:  $p=0,027$ ). Não foi notada diferença significativa na ingestão de sacarose entre 60-75♂+♀NP e 60-75♂+♀P (SNK:  $p=0,608$ ).

Comparações de ingestão entre fêmeas e machos de mesma idade e condição foram feitas, ou seja, entre 15-30♀ x 15-30♂, 60-75♀NP x 60-75♂+♀NP e 60-75♀P x 60-75♂+♀P. Com relação à ingestão total de dietas e à ingestão de sacarose, houve diferença significativa entre 60-75♀NP e 60-75♂+♀NP (Mann-Whitney:  $p=0,006$  e  $p=0,009$ , respectivamente), sendo que as fêmeas ingeriram mais dieta que os machos. Não houve diferença significativa, na ingestão total e na de sacarose, entre os sexos nas comparações 15-30♀ x 15-30♂ (Mann-Whitney:  $p=0,237$  e  $p=0,910$ , para ingestão total e de sacarose respectivamente) e 60-75♀P x

60-75♂+♀P (Mann-Whitney:  $p=1,000$  e  $p=0,678$ , para ingestão total e de sacarose respectivamente). As 15-30♀ ingeriram maior quantidade de lêvedo que os 15-30♂ (Mann-Whitney:  $p<0,001$ ). A diferença não foi significativa quando se comparou a ingestão de lêvedo entre 60-75♀NP e 60-75♂+♀NP (Mann-Whitney:  $p=0,571$ ), e entre 60-75♀P x 60-75♂+♀P (Mann-Whitney:  $p=0,734$ ).

Tabela 1- Ingestão total e separada da dieta de lêvedo de cerveja e de sacarose por indivíduos 15-30 (15 – 30 dias após emergência do adulto) e 60-75 (60 – 75 dias após a emergência do adulto) de ambos os sexos de *A. obliqua*.

Grupo	Ingestão (mg/mosca/dia)		
	Total	Lêvedo	Sacarose
15-30♀	1,32±0,36 a, 1	0,25±0,08 a, 1	1,07±0,32 a, 1
♀ 60-75♀NP	1,44±0,48 a, 1	0,16±0,10 b, 1	1,28±0,46 a, 1
60-75♀P	0,81±0,16 b, 1	0,13±0,04 b, 1	0,68±0,17 b, 1
15-30♂	1,12±0,21 a, 1	0,12±0,03 a, 2	1,00±0,20 a, 1
♂ 60-75 ♂ + ♀NP	0,91±0,32 a, 2	0,13±0,05 a, 1	0,78±0,28 b, 2
60-75 ♂ + ♀P	0,85±0,18 a, 1	0,12±0,04 a, 1	0,73±0,17 b, 1

Valores seguidos por letras diferentes em uma mesma coluna representam diferença significativa entre grupos de mesmo sexo (SNK:  $p<0,05$ ). Valores seguidos por números diferentes em uma mesma coluna representam diferença significativa entre fêmeas x machos correspondentes (Mann-Whitney:  $p<0,05$ ). Os valores representam média ± desvio padrão de  $n=10$ . ♀NP=fêmeas não privadas de substrato artificial para oviposição; ♀P=fêmeas privadas de substratos para oviposição até o 59º dia de vida adulta.

Com relação à quantidade de óvulos depositados nos períodos experimentais houve diferença significativa entre os três grupos de fêmeas (Kruskal-Wallis:  $p=0,016$ ). Fêmeas 15-30♀ depositaram número maior de óvulos que as 60-75 ♀P (Dunn:  $p<0,05$ ). Tal número não diferiu significativamente do depositado por 60-75♀NP (Dunn:  $p>0,05$ ). Também não houve diferença significativa na quantidade de óvulos quando se comparou 60-75♀NP e 60-75♀P (Dunn:  $p>0,05$ ) (Figura 7). No grupo 15-30♀, o número total de óvulos depositados por fêmea no período experimental variou entre 6,8 a 103,4; no grupo 60-75♀NP, entre 3,4 e 78,8; e no grupo 60-75♀P, entre 1,6 e 40,6 óvulos/fêmea.

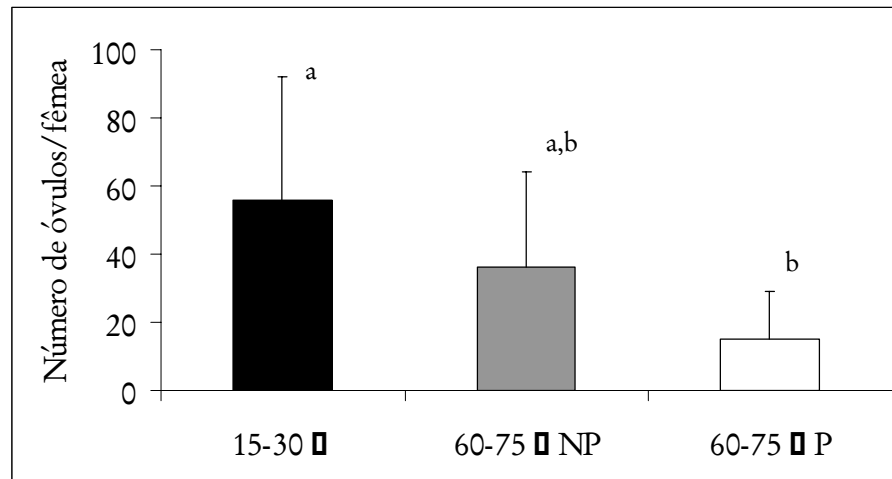


Figura 7 - Número total de óvulos depositados por *A. obliqua* durante dois períodos da vida adulta: entre o 15° e o 30° dia após a emergência por fêmeas do grupo 15-30♀ e entre o 60° e o 75° dia após a emergência por fêmeas dos grupos 60-75♀NP e 60-75♀P. Barras seguidas por letras diferentes representam diferença significativa entre os grupos (Dunn:  $p < 0,05$ ). Os valores representam média e desvio padrão ( $\sigma$ ) de  $n=10$ . ♀NP=fêmeas não privadas de substrato artificial para oviposição; ♀P=fêmeas privadas de substratos para oviposição até o 59° dia de vida adulta.

Considerando os óvulos depositados nos substratos artificiais, foi possível construir figura com o número médio de oviposição diária por fêmea de cada grupo durante os respectivos períodos experimentais (Figura 8). No grupo 15-30♀, a linha do gráfico iniciou com valores baixos de óvulos por fêmea, os quais se mantiveram por alguns dias. A partir do 20° dia após a emergência, os valores tenderam a aumentar. No 28° dia, houve uma queda e nos dias seguintes, um aumento superior ao observado anteriormente. Houve diferença significativa entre a quantidade de óvulos depositados ao longo dos dias (Friedman:  $\chi^2=74,353$ ;  $gl=15$ ;  $p < 0,001$ ). O início do período de oviposição das 15-30♀ ocorreu em média no  $19,3 \pm 3,02$  dia após a emergência do adulto, com extremos no 15° e 25° dia. Nos grupos 60-75♀NP e 60-75♀P, a tendência de aumento nos valores de óvulos por fêmea no decorrer dos dias não foi notada. Não houve diferença significativa no número de óvulos depositados por fêmeas no decorrer dos dias (Friedman:  $\chi^2=19,784$ ;  $gl=15$ ;  $p=0,180$  e  $\chi^2=21,788$ ;  $gl=15$ ;  $p=0,115$  para os grupos 60-75♀NP e 60-75♀P respectivamente).

A Figura 9 mostra a porcentagem, para cada um dos três grupos, de caixas experimentais que continham fêmeas depositando óvulos no substrato artificial em cada dia do respectivo período experimental. No grupo 15-30♀, houve uma média de  $58,1 \pm 30,81\%$  de caixas com fêmeas ovipositando em cada dia no período experimental, com extremos de 0% e 90%. No grupo 60-75♀NP, a média foi  $63,9 \pm 9,46\%$  com extremos de 50% e 80%. E no grupo 60-75♀P, a média foi  $36,9 \pm 13,02\%$  com extremos de 10% e 60%. Houve diferença significativa entre os grupo (Kruskal-Wallis:  $p < 0,001$ ). Os grupos 15-30♀ e 60-75♀NP não diferiram quanto a porcentagem de caixas com fêmeas ovipositando em cada dia (Dunn:  $p > 0,05$ ), mas estes dois mostraram-se diferente do grupo 60-75♀P (Dunn:  $p < 0,05$ ).

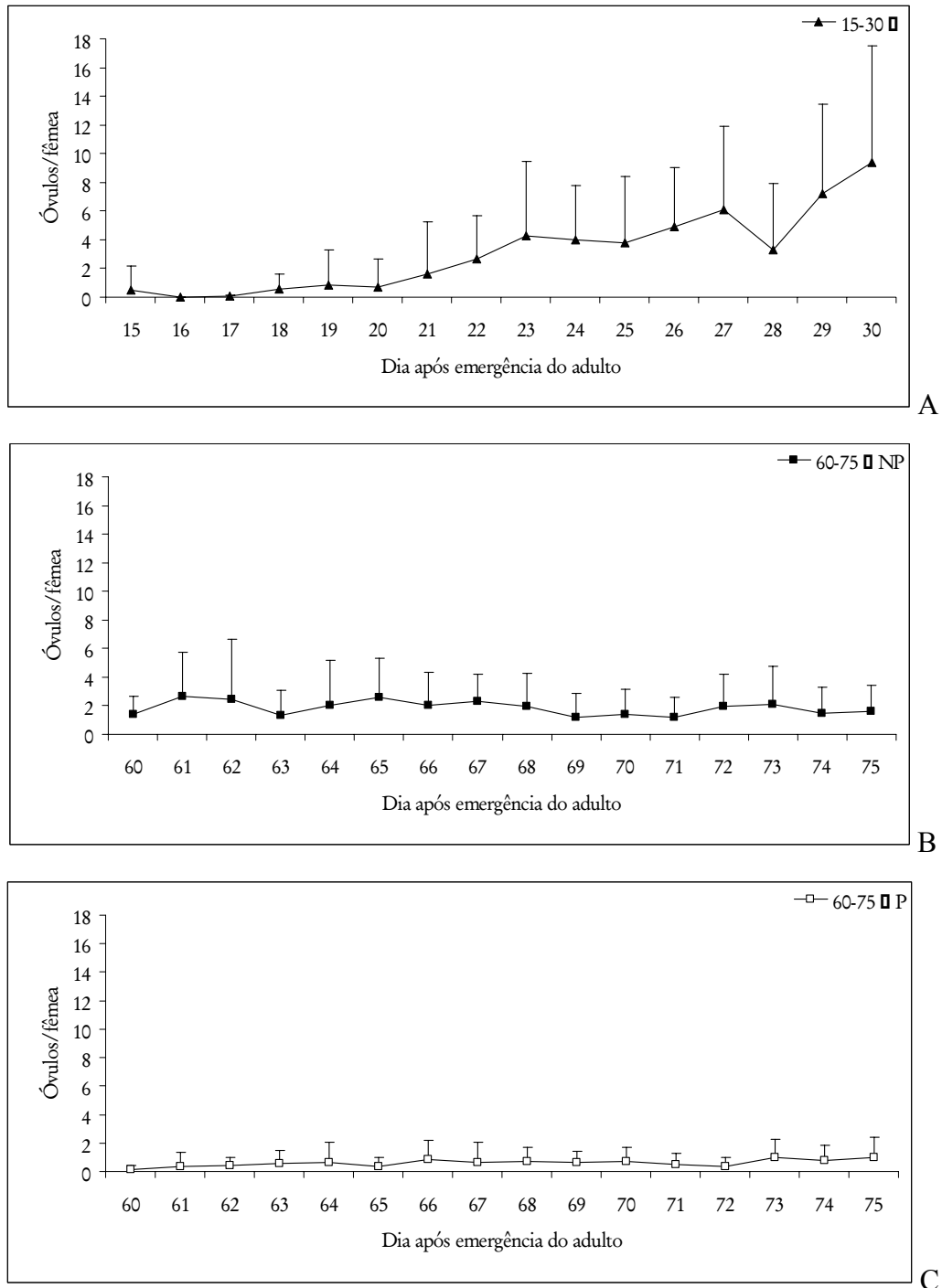
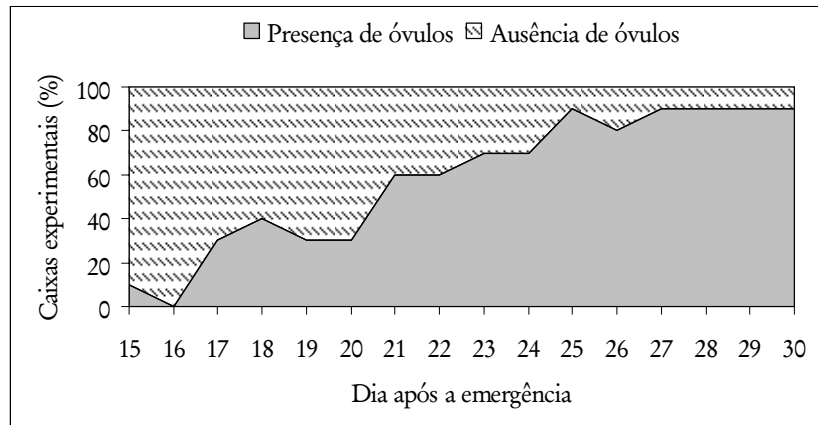
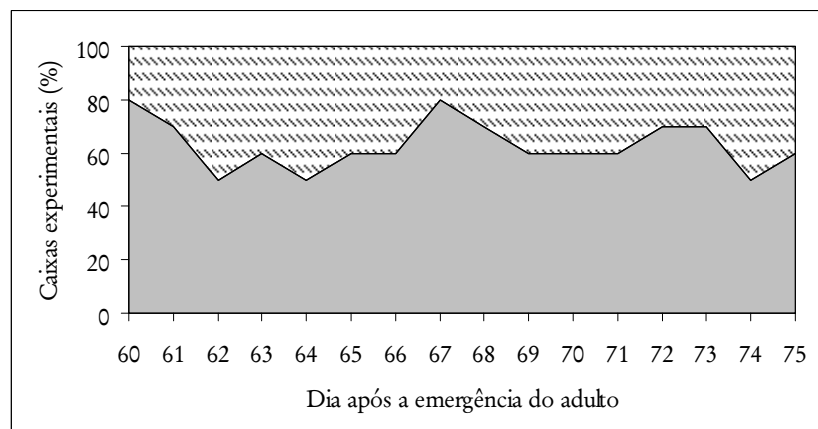


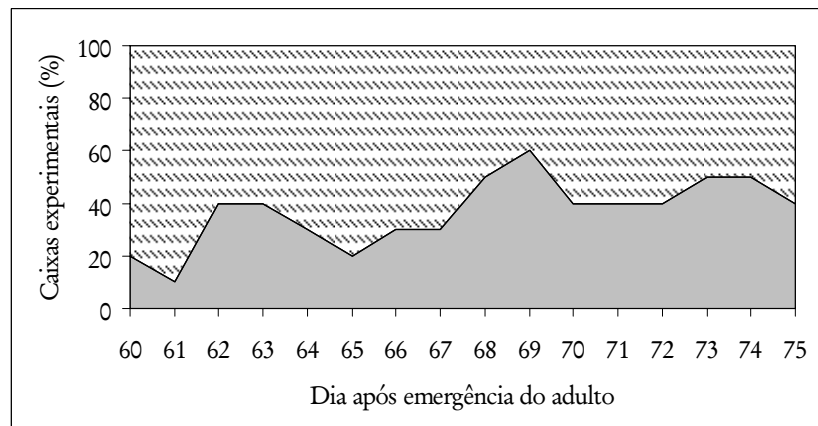
Figura 8 - Óvulos depositados por dia em substratos artificiais por *A. obliqua* durante dois períodos da vida adulta: entre o 15º e o 30º dia após a emergência por fêmeas do grupo 15-30♀ (A) e entre o 60º e o 75º dia após a emergência por fêmeas dos grupos 60-75 ♀NP (B) e 60-75 ♀P (C). Os valores representam média e desvio padrão (T) de n=10. ♀NP=fêmeas não privadas de substrato artificial para oviposição; ♀P=fêmeas privadas de substratos para oviposição até o 59º dia de vida adulta.



A



B



C

Figura 9 - Porcentagem diária de caixas experimentais que continham ou não óvulos depositados nos substratos artificiais para oviposição por *A. obliqua* durante dois períodos da vida adulta: entre o 15º e o 30º dia após a emergência por fêmeas do grupo 15-30♀ (A) e entre o 60º e o 75º dia após a emergência por fêmeas dos grupos 60-75 ♀NP (B) e 60-75 ♀P (C). Os valores representam % de um total n=10. ♀NP=fêmeas não privadas de substrato artificial para oviposição; ♀P=fêmeas privadas de substratos para oviposição até o 59º dia de vida adulta.

A quantidade de espermatozóides nos testículos de machos com idades diferentes e mantidos na presença de fêmeas não privadas de substrato artificial para oviposição, ou seja, machos com 15-17 dias x 28-30 dias x 60-62 dias + ♀NP x 73-75 dias + ♀NP, mostrou-se significativamente diferente entre tais grupos ( $F=4,599$ ;  $p=0,008$ ). Machos com 73-75 dias + ♀NP apresentaram número maior de espermatozóides que os com 15-17 dias (SNK:  $p=0,004$ ). Não houve diferença significativa entre os demais pares de grupos: 15-17 dias x 28-30 dias (SNK:  $p=0,062$ ), 15-17 dias x 60-62 dias + ♀NP (SNK:  $p=0,082$ ), 28-30 dias x 60-62 dias + ♀NP (SNK:  $p=0,582$ ), 28-30 dias x 73-75 dias + ♀NP (SNK:  $p=0,198$ ) e 60-62 dias + ♀NP x 73-75 dias + ♀NP (SNK:  $p=0,163$ ) (Tabela 2).

Tabela 2 - Número de espermatozóides contidos nos testículos de machos de *A. obliqua* com idades diferentes e mantidos na presença de fêmeas não privadas de substrato para oviposição (♀NP).

<i>Grupo</i>	<i>Espermatozóides (x 10<sup>6</sup>)</i>
15-17 dias	3,850 ± 2,446 a
28-30 dias	6,197 ± 2,131 a
60-62 dias + ♀NP	5,641 ± 1,881 a
73-75 dias + ♀NP	7,511 ± 2,446 b

Os valores representam média ± desvio padrão de n=10. Valores seguidos por letras diferentes representam diferença significativa (SNK:  $p<0,05$ ).

O número de espermatozóides também foi comparado entre machos de mesma idade, mas que ficaram na presença de fêmeas privadas ou não de substrato artificial para oviposição. Diferença significativa neste parâmetro não foi verificada entre machos com 60-62 dias (teste t;  $p=0,923$ ). Já machos com 73-75 dias + ♀NP continham nos testículos quantidade maior de espermatozóides que os com 73-75 dias + ♀P (teste t;  $p=0,012$ ) (Tabela 3).

Tabela 3 - Número de espermatozóides contidos nos testículos de machos de *A. obliqua* com mesma idade porém mantidos ou na presença de fêmeas não privadas de substrato para oviposição (♀NP) ou na de fêmeas privadas de substrato até o 59º dia após a emergência do adulto (♀P).

<i>Grupo</i>	<i>Espermatozóides (x 10<sup>6</sup>)</i>
60-62 dias + ♀NP	5,641 ± 1,881 a
60-62 dias + ♀P	5,549 ± 2,171 a
73-75 dias + ♀NP	7,511 ± 2,446 a
73-75 dias + ♀P	5,087 ± 1,249 b

Os valores representam média ± desvio padrão de n=9 no grupo 60-62 dias + ♀P e n=10 nos demais. Valores seguidos por letras diferentes representam diferença significativa entre machos de mesma idade (Teste t:  $p<0,05$ ).



A taxa de mortalidade nos períodos experimentais não diferiu significativamente em nenhuma das comparações analisadas: a) fêmeas: 15-30♀, 60-75 ♀NP e 60-75 ♀P (Kruskal-Wallis:  $p=0,860$ ); b) machos: 15-30♂, 60-75♂ +♀NP e 60-75♂ +♀P (Kruskal-Wallis:  $p=0,835$ ); c) fêmeas x machos: 15-30♀ e 15-30♂ (Mann-Whitney:  $p=0,969$ ), 60-75 ♀NP e 60-75♂ +♀NP (Mann-Whitney:  $p=0,819$ ), 60-75 ♀P e 60-75♂ +♀P (Mann-Whitney:  $p=0,788$ ) (Figura 10).

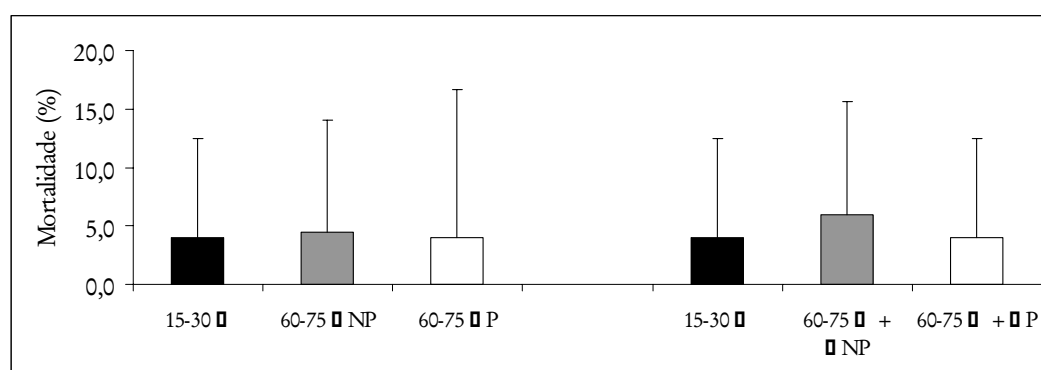


Figura 10 - Taxa de mortalidade de *A. obliqua* durante dois períodos da vida adulta: entre o 15º e o 30º dia nos grupos 15-30♀ e 15-30♂ e entre o 60º e o 75º dia nos grupos 60-75♀NP, 60-75♀P, e 60-75♂+♀NP e 60-75♂+♀P. Não houve diferença significativa nas comparações entre grupos de mesmo sexo (Kruskal-Wallis:  $p>0,05$ ) e nem entre fêmeas x machos de mesma idade e condição (Mann-Whitney:  $p>0,05$ ). Os valores representam média e desvio padrão ( $\sigma$ ) de ( $n=10$ ). ♀NP=fêmeas não privadas de substrato artificial para oviposição; ♀P=fêmeas privadas de substratos para oviposição até o 59º dia de vida adulta.

#### 4.2. Fase 2: Efeito da privação de uma fonte protéica ou de sacarose sobre a performance de fêmeas adultas selvagens de *A. obliqua* (Diptera: Tephritidae) de diferentes faixas etárias

Os dados de ingestão foram analisados levando-se em consideração: a) o dia seguinte ao período de privação (“privação de lêvedo”: 20º dia após a emergência nas fêmeas 15-30 e 65º dia nas fêmeas 60-75; “privação de sacarose”: 17º dia após a emergência nas fêmeas 15-30 e 62º dia nas fêmeas 60-75); b) os demais dias após o período de privação (“privação de lêvedo”: do 21º ao 30º dia nas fêmeas 15-30 e do 66º ao 75º dia nas fêmeas 60-75; “privação de sacarose”: do 18º ao 30º dia nas fêmeas 15-30 e do 63º ao 75º dia nas fêmeas 60-75).

Com relação aos óvulos, considerou-se: a) o número total depositado por fêmea durante os respectivos períodos experimentais (fêmeas 15-30: do 15º ao 30º dia; fêmeas 60-75: do 60º ao 75º dia); b) a quantidade de óvulos por fêmea por dia depositada durante o

período de privação (“privação lêvedo”: do 15º ao 19º dia nas fêmeas 15-30 e do 60º ao 64º dia nas fêmeas 60-75; “privação sacarose”: nos 15º e 16º dias nas fêmeas 15-30 e nos 60º e 61º dias nas fêmeas 60-75); c) nos dias do período experimental após a privação (“privação lêvedo”: do 20º ao 30º dia nas fêmeas 15-30 e do 65º ao 75º dia nas fêmeas 60-75; “privação sacarose”: do 17º ao 30º dia nas fêmeas 15-30 e do 62º ao 75º dia nas fêmeas 60-75).

A taxa de mortalidade foi analisada considerando todos os dias do período experimental de cada grupo.

Na ANOVA dois fatores, se a interação entre os fatores é significativa, não se deve considerar os efeitos de qualquer deles sem considerar o efeito do outro (Triola, 1999). Deste modo, nas tabelas que apresentam os resultados dos testes ANOVA dois fatores (Tabelas 4 a 7), os valores com significância estatística considerados estão em negrito.

#### 4.2.1. Privação de lêvedo

A interação entre os fatores “Idade” e “Condição” foi estatisticamente significativa somente sobre a ingestão de lêvedo de cerveja no dia seguinte ao período de privação. O fator “Idade” foi significativo sobre a ingestão total e de sacarose no dia seguinte ao período de privação, bem como nos demais dias após o período de privação. O fator “Condição” foi significativo sobre a ingestão de sacarose no dia seguinte ao período de privação (Tabela 4).

Tabela 4 - Valores de F e p para as medidas de ingestão diária analisadas em fêmeas de *A. obliqua* dos grupos da situação “privação de lêvedo” no período após privação por 5 dias de dieta de lêvedo de cerveja (ANOVA 2 fatores).

<i>Variável dependente</i>	<i>Dia seguinte ao período de privação</i>			<i>Demais dias após período de privação</i>		
	<i>Ingestão total</i>	<i>Ingestão lêvedo</i>	<i>Ingestão sacarose</i>	<i>Ingestão total</i>	<i>Ingestão lêvedo</i>	<i>Ingestão sacarose</i>
<i>Fator</i>						
Idade	<b>F=11,633</b> <b>p=0,003*</b>	F=5,611 p=0,028	<b>F=6,663</b> <b>p=0,018*</b>	<b>F=7,806</b> <b>p=0,011*</b>	F=1,563 p=0,226	<b>F=7,204</b> <b>p=0,014*</b>
Condição	F=1,140 p=0,298	F=8,894 p=0,007	<b>F=5,700</b> <b>p=0,027*</b>	F=0,143 p=0,709	F=0,0613 p=0,807	F=0,245 p=0,626
Idade x Condição	F=0,551 p=0,466	<b>F=9,396</b> <b>p=0,006*</b>	F=0,270 p=0,609	F=0,415 p=0,527	F=0,0272 p=0,871	F=0,580 p=0,455

\* representa significância estatística

No dia seguinte ao período de privação, a ingestão total de dietas foi significativamente diferente entre os grupos 15-30 Priv Lev x 60-75 Priv Lev (SNK:  $p=0,008$ ), sendo a maior ingestão verificada no primeiro. Tal diferença não foi notada entre os demais pares de grupos comparados: 15-30 Ctl Lev x 15-30 Priv Lev (SNK:  $p=0,821$ ), 15-30 Ctl Lev x 60-75 Ctl Lev (SNK:  $p=0,074$ ) e 60-75 Ctl Lev x 60-75 Priv Lev (SNK:  $p=0,215$ ). A ingestão de lêvedo pelas fêmeas 15-30 Priv Lev foi maior do que pelas 15-30 Ctl Lev (SNK:  $p<0,001$ ) e do que pelas 60-75 Priv Lev (SNK:  $p=0,001$ ). Não houve diferença significativa na ingestão de lêvedo quando se comparou 15-30 Ctl Lev e 60-75 Ctl Lev (SNK:  $p=0,628$ ), e nem este último e 60-75 Priv Lev (SNK:  $p=0,954$ ). A ingestão de sacarose deferiu significativamente entre o par de grupos Ctl Lev (SNK:  $p=0,040$ ), sendo maior a ingestão pelo grupo 15-30. Não houve diferença entre: 15-30 Ctl Lev x 15-30 Priv Lev (SNK:  $p=0,053$ ), 15-30 Priv Lev x 60-75 Priv Lev (SNK:  $p=0,161$ ) e 60-75 Ctl Lev x 60-75 Priv Lev (SNK:  $p=0,202$ ) (Figura 11).

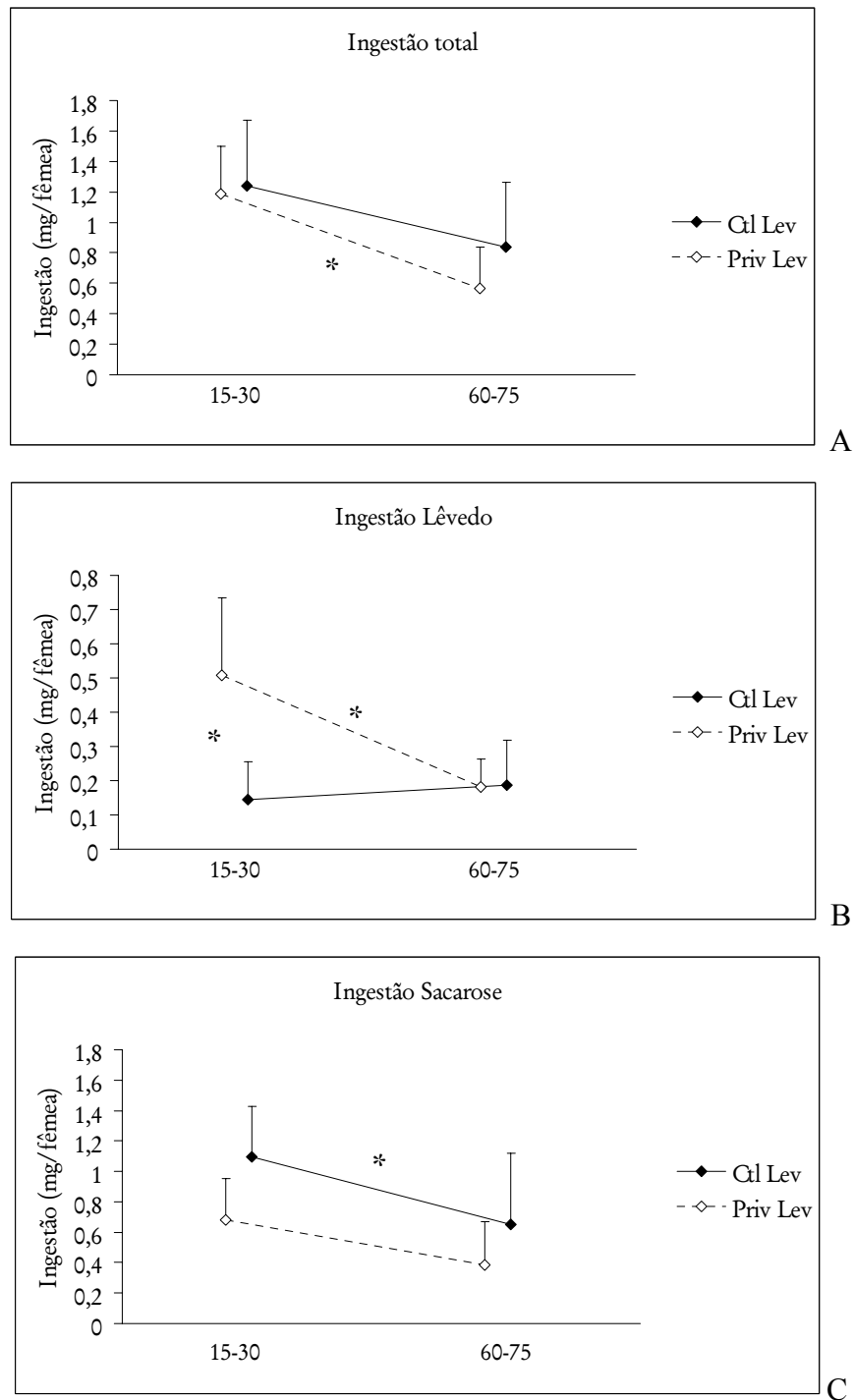


Figura 11 - Ingestão total (A), de lêvedo (B) e de sacarose (C), no dia seguinte ao período de privação, por fêmeas de *A. obliqua* 15-30 (15-30 dias após a emergência) e 60-75 (60-75 dias após emergência) controles (Ctl Lev) e privadas (Priv Lev) de lêvedo de cerveja durante os 5 primeiros dias dos respectivos períodos experimentais. \* indica diferença significativa entre pares comparados (SNK:  $p < 0,05$ ). Os resultados representam média e desvio padrão ( $\top$ ) de  $n=6$ .

Com relação às medidas de ingestão total e de sacarose nos demais dias dos períodos experimentais, houve diferença significativa somente entre os grupos 15-30 Ctl Lev e 60-75 Ctl Lev (SNK:  $p=0,025$  e  $p=0,024$  para ingestão total e de sacarose respectivamente), sendo os maiores valores atribuídos ao primeiro grupo. Não houve diferença significativa na ingestão de lêvedo entre os pares de grupos comparados (SNK:  $p>0,05$ ) (Figura 12).

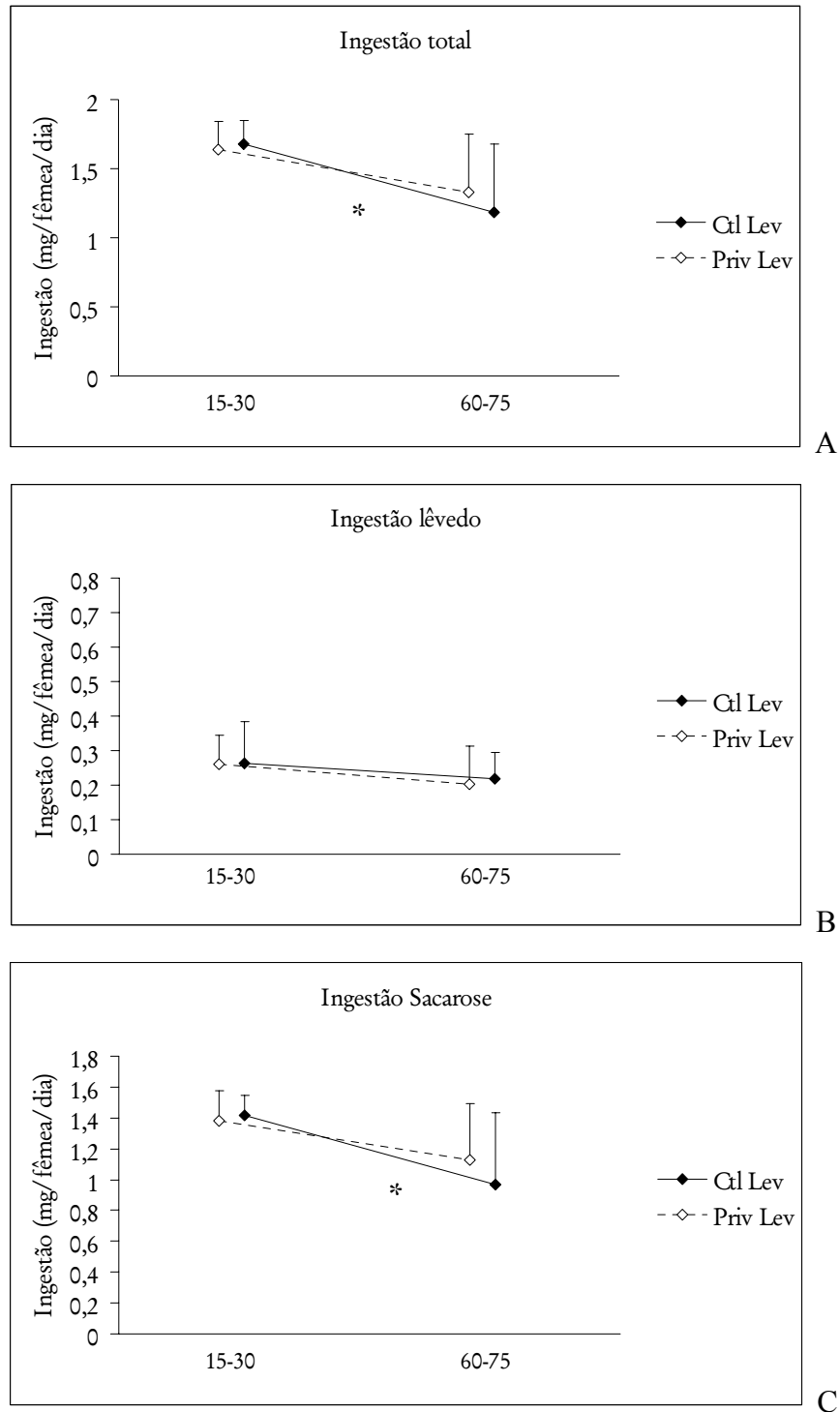


Figura 12: Ingestão total (A), de sacarose (B) e de lêvedo (C), após dia seguinte ao período de privação, por fêmeas de *A. obliqua* 15-30 (15-30 dias após a emergência) e 60-75 (60-75 dias após emergência) controles (Ctl Lev) e privadas (Priv Lev) de lêvedo de cerveja durante os 5 primeiros dias dos respectivos períodos experimentais. \* indica diferença significativa entre 15-30 Ctl Lev x 60-75 Ctl Lev na ingestão total (A) e de sacarose (C) (SNK:  $p=0,025$  e  $p=0,024$ , respectivamente), não houve diferença entre os demais pares de grupos comparados (SNK:  $p>0,05$ ). Os resultados representam média e desvio padrão ( $\bar{x}$ ) de  $n=6$ .

A interação entre os fatores “Idade” e “Condição” não foi estatisticamente significativa sobre o número total de óvulos depositados, nem sobre o número médio depositado por dia no período de privação e nem nos dias após tal período . O fator “Idade” foi significativa sobre o total de óvulos no período experimental e sobre a média diária depositada após o período de privação. O fator “Condição” foi significativa a quantidade de óvulos após o período de privação (Tabela 5).

Tabela 5 - Valores de F e p para o número de óvulos depositados por fêmeas de *A. obliqua* dos grupos da situação “privação de lêvedo” (ANOVA 2 fatores).

<i>Fator</i>	<i>Variável dependente</i>	<i>Óvulos/fêmea/dia</i>		
		<i>Total de óvulos/fêmea (16 dias)</i>	<i>Período de privação</i>	<i>Após período de privação</i>
Idade		<b>F=16,307</b>	F=0,526	<b>F=17,655</b>
		<b>P&lt;0,001*</b>	p=0,477	<b>p&lt;0,001*</b>
Condição		F=4,088	F=0,499	<b>F=4,717</b>
		p=0,057	p=0,488	<b>p=0,042*</b>
Idade x Condição		F=2,063	F=0,388	F=2,286
		p=0,166	p=0,540	p=0,146

\* representa significância estatística

A quantidade total de óvulos depositados por fêmea do grupo 15-30 Ctl Lev foi maior que a do grupo 15-30 Priv Lev (SNK: p=0,024) e que a do grupo 60-75 Ctl Lev (SNK: p=0,001). Diferença significativa nesta quantidade não foi verificada entre os grupos 15-30 Priv Lev x 60-75 Priv Lev (SNK: p=0,081) e nem entre 60-75 Ctl Lev x 60-75 Priv Lev (SNK: p=0,683) (Figura 13).

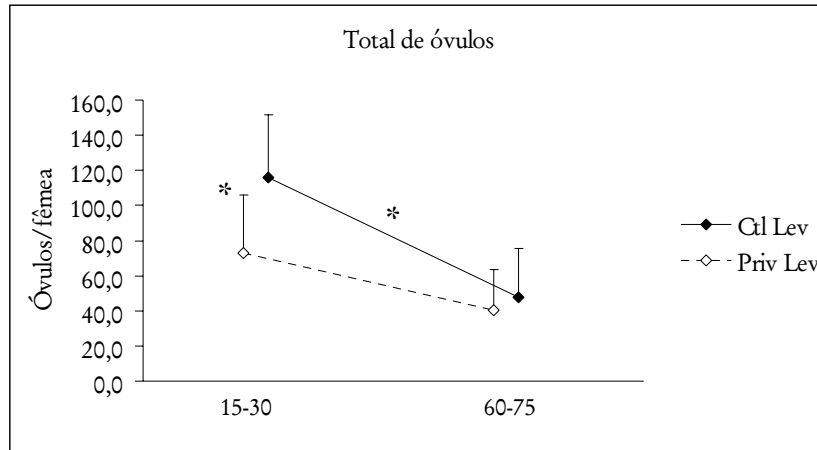


Figura 13 - Total de óvulos depositados durante o período experimental por fêmeas de *A. obliqua* 15-30 (15-30 dias após a emergência) e 60-75 (60-75 dias após emergência) controles (Ctl Lev) e privadas (Priv Lev) de lêvedo de cerveja durante os 5 primeiros dias dos respectivos períodos experimentais. \* indica diferença significativa entre pares comparados (SNK:  $p < 0,05$ ). Os resultados representam média e desvio padrão ( $\bar{T}$ ) de  $n=6$ .

Não houve diferença significativa entre os pares de grupos comparados com relação ao número médio de óvulos depositados por fêmea por dia durante o período de privação (SNK:  $p > 0,05$ ) (Figura 14A). Após o período de privação, as fêmeas do grupo 15-30 Ctl Lev depositaram número médio de óvulos por dia maior que as do grupo 15-30 Priv Lev (SNK:  $p=0,017$ ) e que as do grupo 60-75 Ctl Lev (SNK:  $p < 0,001$ ). Não foi verificada diferença significativa neste parâmetro entre os grupos 15-30 Priv Lev x 60-75 Priv Lev (SNK:  $p=0,072$ ) e nem entre 60-75 Ctl Lev x 60-75 Priv Lev (SNK:  $p=0,646$ ) (Figura 14B).



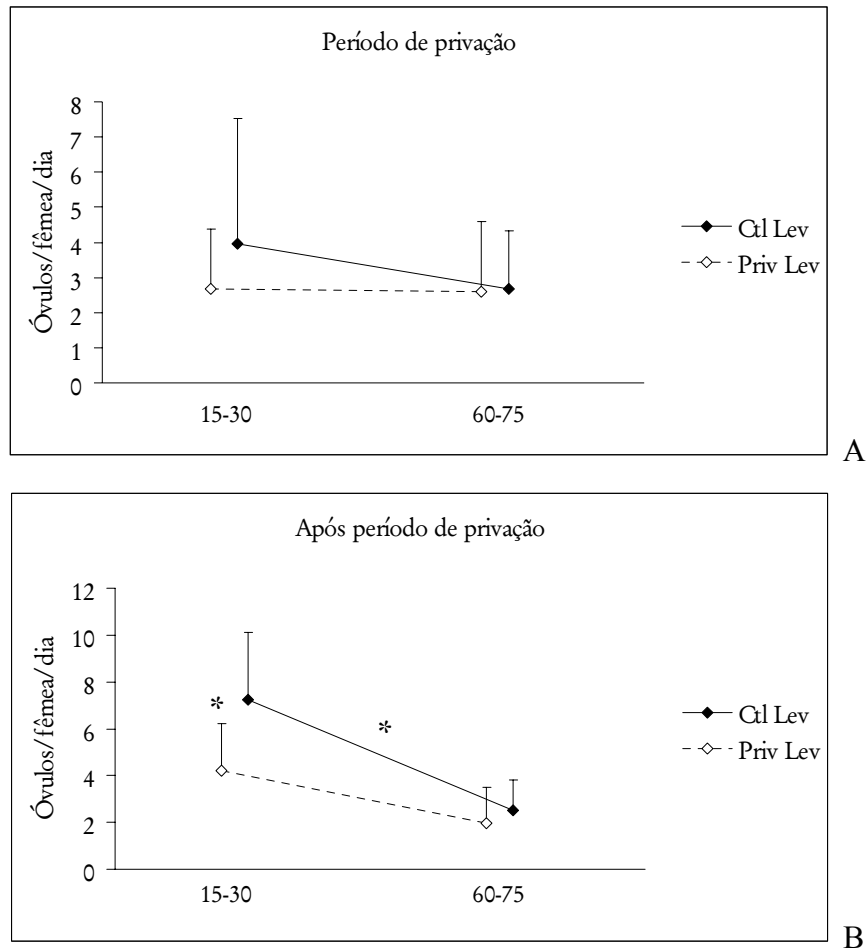


Figura 14 - Número de óvulos/fêmea/dia depositados nos 5 dias do período de privação (A) e nos dias seguintes a estes até o término do período experimental (B) por fêmeas de *A. obliqua* 15-30 (15-30 dias após a emergência) e 60-75 (60-75 dias após emergência) controles (Ctl Lev) e privadas (Priv Lev) de lêvedo de cerveja durante os 5 primeiros dias dos respectivos períodos experimentais. \* indica diferença significativa entre pares comparados (SNK:  $p < 0,05$ ). Os resultados representam média e desvio padrão ( $\bar{T}$ ) de  $n=6$ .

Não houve diferença significativa na taxa de mortalidade nos períodos experimentais entre os grupos (Kruskal-Wallis:  $p=0,806$ ) (Figura 15).

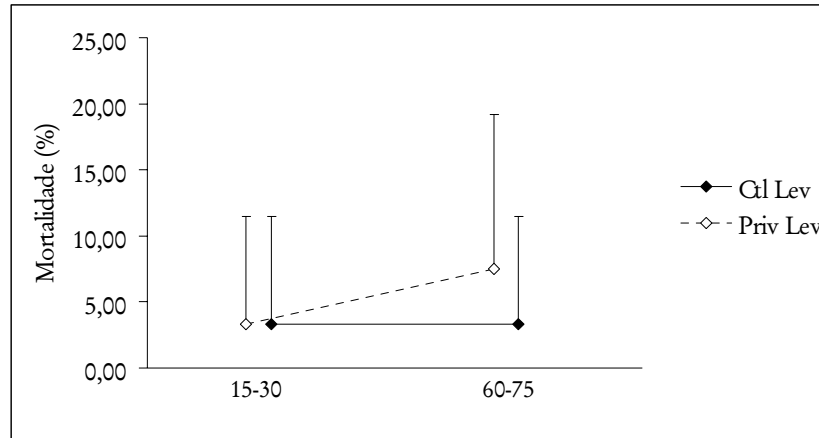


Figura 15: Taxa de mortalidade durante o período experimental para fêmeas de *A. obliqua* 15-30 (15-30 dias após a emergência) e 60-75 (60-75 dias após emergência) controles (Ctl Lev) e privadas (Priv Lev) de lêvedo de cerveja durante os 5 primeiros dias dos respectivos períodos experimentais. Não houve diferença significativa entre os grupos (Kruskal-Wallis:  $p=0,806$ ). Os resultados representam média e desvio padrão ( $\Gamma$ ) de  $n=6$ .

#### 4.2.2. Privação de sacarose

Analisando a ingestão de dietas no dia seguinte ao período de privação de sacarose, nota-se que a interação entre os fatores “Idade” e “Condição” foi estatisticamente significativa somente sobre a ingestão de sacarose. O fator “Idade” teve efeito significativo sobre a ingestão total. Já o fator “Condição” teve significância estatística sobre a ingestão total e de lêvedo. A interação entre os fatores e seus efeitos isolados não foram estatisticamente significantes sobre a ingestão total de dietas, ingestão de lêvedo e de sacarose nos demais dias após o período de privação (Tabela 6).

Tabela 6 - Valores de F e p para as medidas de ingestão diária analisadas em fêmeas de *A. obliqua* dos grupos da situação “privação de sacarose” no período após privação por 2 dias de dieta de sacarose (ANOVA 2 fatores).

<i>Variável dependente</i>	<i>Dia seguinte ao período de privação</i>			<i>Demais dias após período de privação</i>		
	<i>Ingestão total</i>	<i>Ingestão lêvedo</i>	<i>Ingestão sacarose</i>	<i>Ingestão total</i>	<i>Ingestão lêvedo</i>	<i>Ingestão sacarose</i>
<i>Fator</i>						
Idade	<b>F=13,365</b> <b>p=0,002*</b>	F=2,185 p=0,155	F=11,992 p=0,002	F=0,0445 p=0,835	F=0,00580 p=0,981	F=0,0577 p=0,813
Condição	<b>F=41,226</b> <b>p&lt;0,001*</b>	<b>F=11,813</b> <b>p=0,003*</b>	F=51,837 p<0,001	F=0,142 p=0,710	F=0,343 p=0,565	F=0,0517 p=0,823
Idade x Condição	F=4,101 p=0,056	F=0,742 p=0,399	<b>F=4,971</b> <b>p=0,037*</b>	F=0,0465 p=0,831	F=0,396 p=0,536	F=0,242 p=0,628

\* representa significância estatística

No dia seguinte ao período de privação, as fêmeas 15-30 Priv Sac tiveram maior ingestão total de dietas que as 15-30 Ctl Sac (SNK:  $p<0,001$ ) e que as 60-75 Priv Sac (SNK:  $p<0,001$ ). Houve também diferença significativa nesta ingestão entre os grupo 60-75 Ctl Sac e 60-75 Priv Sac (SNK:  $p=0,006$ ), sendo maior neste último. Não houve diferença significativa entre as fêmeas 15-30 Ctl Sac e 60-75 Ctl Sac (SNK:  $p=0,263$ ). A ingestão de lêvedo neste dia diferiu entre os grupos 15-30 Ctl Sac e 15-30 Priv Sac (SNK:  $p=0,007$ ), sendo menor no primeiro. Entre os demais grupos comparados, não houve diferença significativa: 15-30 Ctl Sac x 60-75 Ctl Sac (SNK:  $p=0,114$ ), 15-30 Priv Sac x 60-75 Priv Sac (SNK:  $p=0,668$ ), 60-75 Ctl Sac x 60-75 Priv Sac (SNK:  $p=0,084$ ). Com relação à ingestão de sacarose, os resultados foram semelhantes ao da ingestão total. As fêmeas 15-30 Priv Sac ingeriram quantidade maior que as 15-30 Ctl Sac (SNK:  $p<0,001$ ) e que as 60-75 Priv Sac (SNK:  $p<0,001$ ); e estas últimas ingeriram quantidade maior que as 60-75 Ctl Sac (SNK:  $p=0,002$ ). Não houve diferença significativa entre 15-30 Ctl Sac e 60-75 Ctl Sac (SNK:  $p=0,0394$ ) (Figura 16).

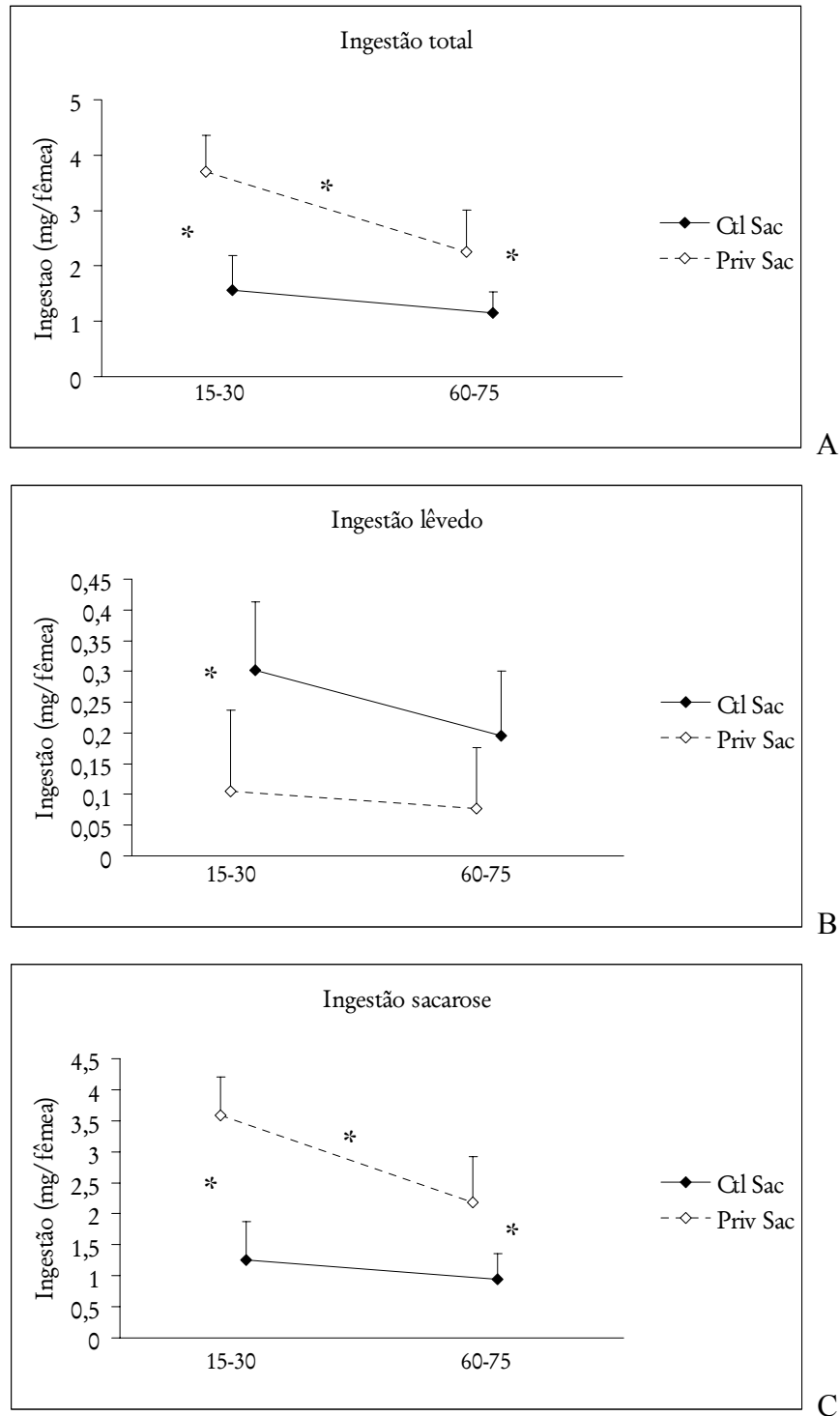


Figura 16 - Ingestão total (A), de lêvedo (B) e de sacarose (C), no dia seguinte ao período de privação, por fêmeas de *A. obliqua* 15-30 (15-30 dias após a emergência) e 60-75 (60-75 dias após emergência) controles (Ctl Sac) e privadas (Priv Sac) de sacarose durante os 2 primeiros dias dos respectivos períodos experimentais. \* indica diferença significativa entre pares comparados (SNK:  $p < 0,05$ ). Os resultados representam média e desvio padrão ( $\bar{T}$ ) de  $n=6$ .

Como mostrado na Tabela 6, os fatores “Idade” e “Condição”, bem como a interação entre eles, não tiveram efeito significativo sobre a ingestão diária total, de lêvedo e de sacarose após o dia seguinte ao período de privação. Os resultados estão ilustrados nas Figura 17.

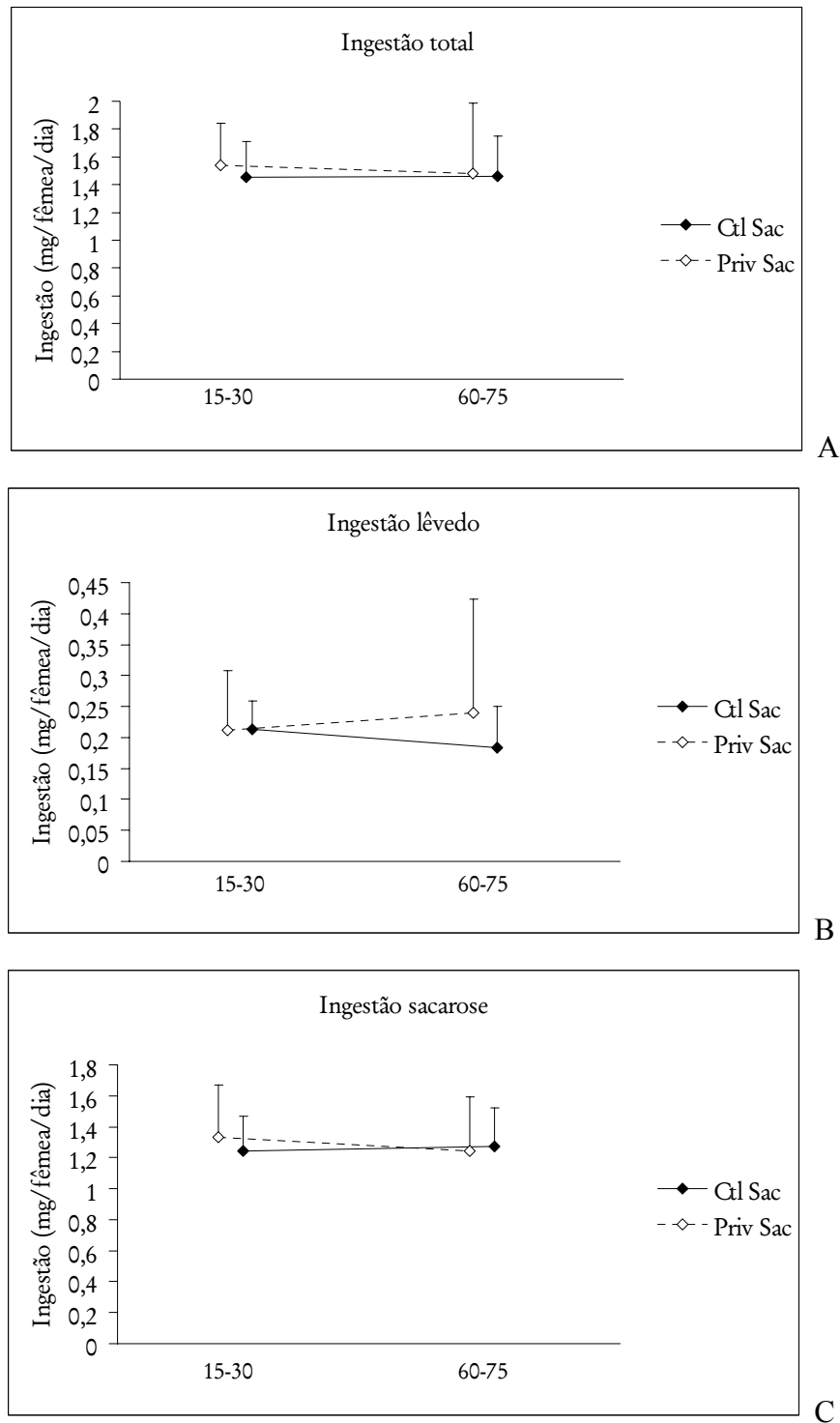


Figura 17 - Ingestão total (A), de lêvedo (B) e de sacarose (C), após dia seguinte ao período de privação, por fêmeas de *A. obliqua* 15-30 (15-30 dias após a emergência) e 60-75 (60-75 dias após emergência) controles (Ctl Sac) e privadas (Priv Sac) de sacarose durante os 2 primeiros dias dos respectivos períodos experimentais. Não houve diferença significativa entre grupos comparados (ANOVA 2 fatores:  $p < 0,05$ ). Os resultados representam média e desvio padrão ( $\sigma$ ) de  $n=6$ .

A interação entre os fatores foi significativa sobre a quantidade total de óvulos depositados pelas fêmeas durante os respectivos períodos experimentais e também quando se analisou a quantidade diária depositada após o período de privação. O fator “Idade” mostrou-se significativo sobre o número de óvulos durante o período de privação. O fator “Condição” não foi estatisticamente significativa sobre o total de óvulos depositados, nem sobre o número diário depositado no período de privação e nem após este (Tabela 7).

Tabela 7 - Valores de F e p para o número de óvulos depositados por fêmeas de *A. obliqua* dos grupos da situação “privação de sacarose” (ANOVA 2 fatores).

<i>Fator</i>	<i>Variável dependente</i>	<i>Óvulos/fêmea/dia</i>		
		<i>Total de óvulos/fêmea (16 dias)</i>	<i>Período de privação**</i>	<i>Após período de privação</i>
Idade		F=2,000	<b>F=15,020</b>	F=1,322
		P=0,173	<b>p&lt;0,001*</b>	P=0,264
Condição		F=0,0139	F=0,836	F=0,000228
		p=0,907	p=0,371	p=0,988
Idade x Condição		<b>F=5,581</b>	F=1,092	<b>F=4,838</b>
		<b>p=0,028*</b>	p=0,308	<b>p=0,040*</b>

\* representa significância estatística; \*\*  $\log_{10}(x+1)$

Com relação ao total de óvulos depositados no período experimental (Figura 18) e a quantidade diária depositada após o período de privação (Figura 19B), nota-se que enquanto as fêmeas 15-30 Priv Sac depositaram mais óvulos que as 60-75 Priv Sac (SNK: total  $p=0,015$ ; após privação:  $p=0,028$ ), as fêmeas 15-30 Ctl Sac e 60-75 Ctl Sac depositaram quantidades semelhantes (SNK: total  $p=0,510$ ; após privação:  $p=0,467$ ). Também não houve diferença significativa nas comparações entre grupos de condições diferentes e mesma idade: 15-30 Ctl Sac x 15-30 Priv Sac (SNK: total  $p=0,128$ ; após privação:  $p=0,133$ ) e 60-75 Ctl Sac x 60-75 Priv Sac (SNK: total  $p=0,095$ ; após privação:  $p=0,138$ ). No período de privação (Figura 19A), a diferença no número de óvulos foi entre os grupos 15-30 Ctl Sac e 60-75 Ctl Sac (SNK:  $p=0,003$ ), sendo menor nas fêmeas mais jovens. Não houve diferença significativa entre os demais grupos comparados: 15-30 Priv Sac x 60-75 Priv Sac (SNK:  $p=0,059$ ), 15-30 Ctl Sac x 15-30 Priv Sac (SNK:  $p=0,927$ ) e 60-75 Ctl Sac x 60-75 Priv Sac (SNK:  $p=0,181$ ).

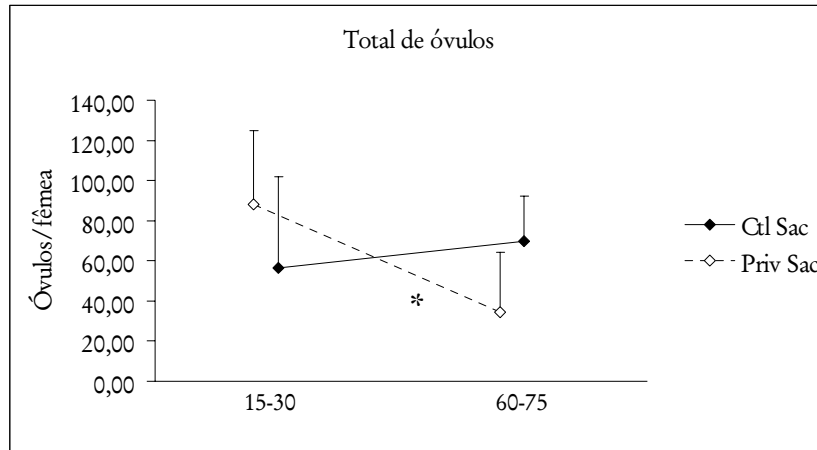
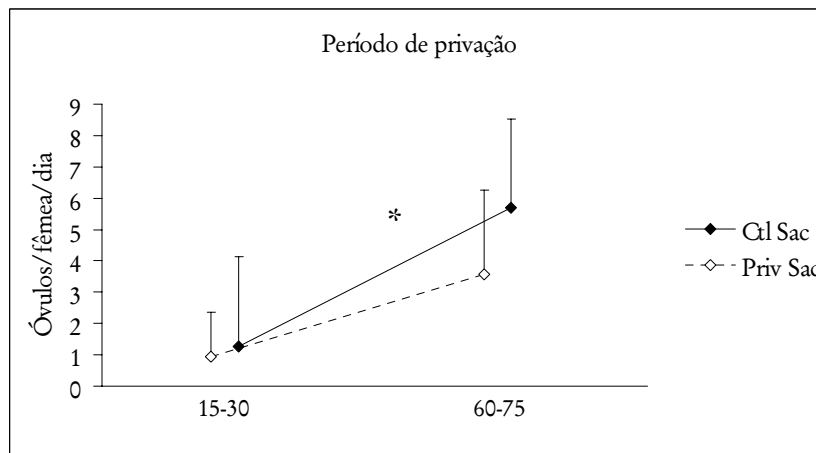
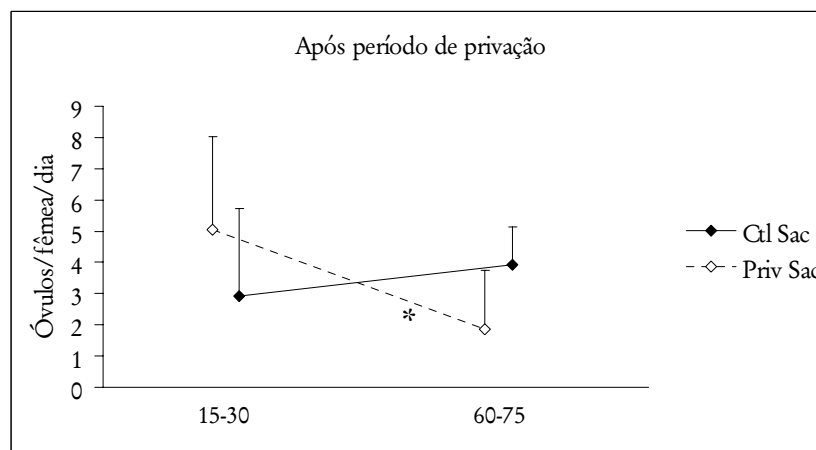


Figura 18 - Total de óvulos depositados durante o período experimental por fêmeas de *A. obliqua* 15-30 (15-30 dias após a emergência) e 60-75 (60-75 dias após emergência) controles (Ctl Sac) e privadas (Priv Sac) de sacarose durante os 2 primeiros dias dos respectivos períodos experimentais. \* indica diferença significativa entre os grupos 15-30 Priv Sac x 60-75 Priv Sac (SNK:  $p=0,015$ ); não houve diferença significativa entre os demais pares de comparados (SNK:  $p>0,05$ ). Os resultados representam média e desvio padrão ( $\sigma$ ) de  $n=6$ .



A



B

Figura 19 - Número de óvulos/fêmea/dia depositados nos 2 dias do período de privação (A) e nos dias seguintes a estes até o término do período experimental (B) por fêmeas de *A. obliqua* 15-30 (15-30 dias após a emergência) e 60-75 (60-75 dias após emergência) controles (Ctl Sac) e privadas (Priv Sac) de sacarose durante os 2 primeiros dias dos respectivos períodos experimentais. \* indica diferença significativa entre os grupos 15-30 Ctl Sac x 60-75 Ctl Sac em A (SNK:  $p=0,003$ ); e entre os grupos 15-30 Priv Sac x 60-75 Priv Sac em B (SNK:  $p=0,028$ ); não houve diferença significativa entre os demais pares de comparados (SNK:  $p>0,05$ ). Os resultados representam média e desvio padrão ( $\sigma$ ) de  $n=6$ .



Não houve diferença significativa na taxa de mortalidade nos períodos experimentais entre os grupos (Kruskal-Wallis:  $p=0,931$ ) (Figura 20).

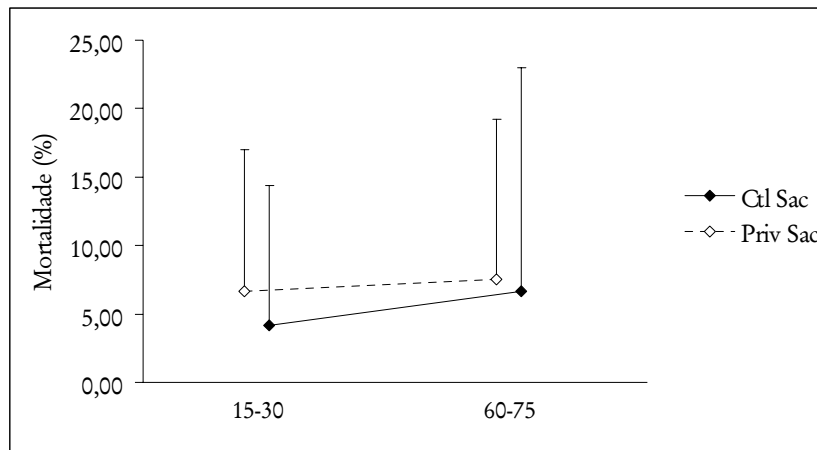


Figura 20 - Taxa de mortalidade durante o período experimental para fêmeas de *A. obliqua* 15-30 (15-30 dias após a emergência) e 60-75 (60-75 dias após emergência) controles (Ctl Sac) e privadas (Priv Sac) de sacarose durante os 2 primeiros dias dos respectivos períodos experimentais. Não houve diferença significativa entre os grupos (Kruskal-Wallis:  $p=0,931$ ). Os resultados representam média e desvio padrão ( $\tau$ ) de  $n=6$ .

### 4.3. Fase 3: Efeito da idade da fêmea sobre a seleção de substratos artificiais para oviposição em *A. obliqua* (Diptera: Tephritidae) selvagem

#### 4.3.1. Preferência por substratos para oviposição

Na situação de escolha entre substratos artificiais para oviposição 0g L x 2,7g L, houve diferença significativa entre os grupos no número de ovos depositados (ANOVA 1 fator de medidas repetidas:  $F= 8,049$ ;  $p<0,001$ ). O número de ovos depositados em substratos 0g L e 2,7g L pelas fêmeas 15-30 não foi significativamente diferente (SNK:  $p=0,115$ ). Já as fêmeas 60-75 depositaram quantidade significativamente diferente nesses substratos (SNK:  $p=0,013$ ), tal quantidade foi maior nos substratos 2,7g. Houve diferença significativa no número de ovos depositados por fêmeas 15-30 e 60-75 em substratos 0g L: as primeiras depositaram maior número (SNK:  $p=0,010$ ). Tal diferença não foi notada com relação aos substratos 2,7g L (SNK:  $p=0,096$ ) (Figura 21).

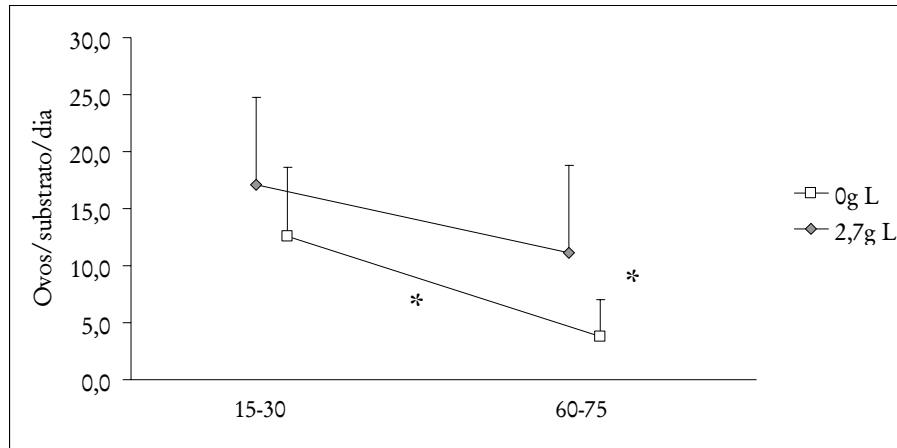


Figura 21 - Número de ovos/substrato/dia depositados durante o período experimental por fêmeas de *A. obliqua* 15-30 (15 – 30 dias após emergência do adulto) e 60-75 (60 – 75 dias após a emergência do adulto) em testes de preferência por substratos artificiais para oviposição 0g L x 2,7g L. \* representa diferença significativa entre pares comparados (SNK:  $p < 0,05$ ). Os resultados representam média e desvio padrão de  $n=10$ .  $\top$  = desvio padrão.

Quando a combinação foi com os substratos 0g L e 4g L, também houve diferença significativa entre os grupos no número de ovos depositados em cada substrato (ANOVA 1 fator de medidas repetidas:  $F = 59,664$ ;  $p < 0,001$ ). Nesta situação, tanto as fêmeas 15-30 (SNK:  $p < 0,001$ ) quanto as 60-75 (SNK:  $p < 0,001$ ) depositaram maior quantidade de ovos nos substratos 4g L do que nos 0g L. O número de ovos nos substratos 0g L diferiu entre os grupos de idade diferentes (SNK:  $p = 0,004$ ): as fêmeas 15-30 depositaram maior quantidade que as 60-75. O mesmo aconteceu com os substratos 4g L (SNK:  $p < 0,001$ ) (Figura 22).

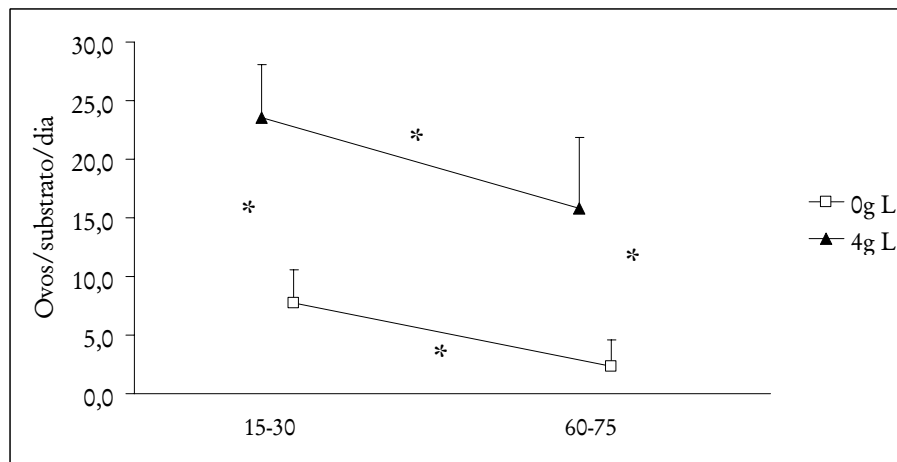


Figura 22 - Número de ovos/substrato/dia depositados durante o período experimental por fêmeas de *A. obliqua* 15-30 (15 – 30 dias após emergência do adulto) e 60-75 (60 – 75 dias após a emergência do adulto) em testes de preferência por substratos artificiais para oviposição 0g L x 4g. \* representa diferença significativa entre pares comparados (SNK:  $p < 0,05$ ). Os resultados representam média e desvio padrão de  $n=10$ .  $\top$  = desvio padrão.

Com relação aos testes de escolha entre 2,7g L e 4g L, mais uma vez houve diferença significativa na quantidade de ovos depositados nos substratos pelas fêmeas dos diferentes grupos (ANOVA 1 fator de medidas repetidas:  $F= 5,070$ ;  $p=0,006$ ). Houve diferença significativa entre as fêmeas 15-30 e 60-75 no número de ovos nos substratos 4g L (SNK: $p=0,021$ ), sendo maior o depositado pelas 15-30. Não houve diferença significativa entre estes dois grupos com relação às oviposições nos substratos 2,7g L (SNK:  $p=0,074$ ). Também não houve diferença significativa entre os dois substratos na quantidade de ovos neles depositados por fêmeas de mesma idade (SNK:  $p=0,237$  e  $p=0,533$  para fêmeas 15-30 e 60-75 respectivamente) (Figura 23).

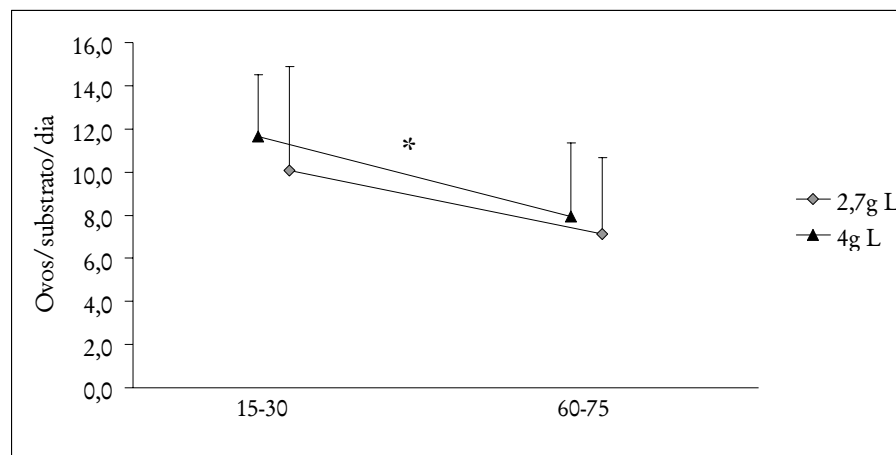


Figura 23 - Número de ovos/substrato/dia depositados durante o período experimental por fêmeas de *A. obliqua* 15-30 (15 – 30 dias após emergência do adulto) e 60-75 (60 – 75 dias após a emergência do adulto) em testes de preferência por substratos artificiais para oviposição 2,7g L x 4g L. \* representa diferença significativa entre 15-30 e 60-75 em substratos 4g L (SNK:  $p=0,021$ ). Os resultados representam média e desvio padrão de  $n=10$ .  $\top$  = desvio padrão.

#### 4.3.2. Performance de imaturos

Os resultados referentes aos parâmetros de performance analisados estão dispostos da Tabela 8.

Houve diferença entre as dietas 0g L, 2,7g L e 4g L nos parâmetros porcentagem de pupação (Kruskal-Wallis:  $p<0,001$ ) e porcentagem de emergência (Kruskal-Wallis:  $p<0,001$ ). Nenhuma larva alimentada na dieta 0g L atingiu o estágio de pupa, logo a porcentagem de pupação e emergência foram iguais a zero. Não houve diferença significativa entre as dietas

2,7g L e 4g L com relação à porcentagem de pupação (Dunn:  $p>0,05$ ), mas houve diferença entre estas e a dieta 0g L (Dunn:  $p<0,05$ ). Houve diferença na porcentagem de emergência entre as dietas 0g L e 4g L, mas não entre estas e a 2,7g L (Dunn:  $p<0,05$ ).

Comparando as dietas 2,7g L e 4g L, as diferenças apresentadas foram com relação à duração do estágio larval (Teste t:  $p=0,005$ ), desenvolvimento larva-adulto (Teste t:  $p=0,007$ ) (ambos menores na dieta 4g L) e peso pupal (Teste t:  $p=0,019$ ) (maior na dieta 4g L). Não houve diferença significativa entre essas dietas com relação à duração do estágio pupal (Teste t:  $p=0,850$ ).

Tabela 8 - Performance de imaturos de *A. obliqua* em dietas artificiais com composição semelhante a dos substratos artificiais utilizados em teste de preferência de oviposição.

Dieta	% Pupação*	% Emergência*	Duração (dias)			Peso pupal (mg)
			Estágio larval	Estágio pupal	Desenvolvimento larva-adulto	
0g L	0 ± 0 a	0 ± 0 a	-	-	-	-
2,7g L	20,7±16,24b	4,0±7,37 ab	24,4±2,93a	14,4±1,65a	39,8±3,30a	15,5±1,66a
4g L	29,3±14,86b	8,7±8,34 b	21,2±2,36b	14,3±1,49a	34,2±2,77b	17,0±1,33b

Valores seguidos por letras diferentes em uma mesma coluna representam diferença significativa entre as dietas (Teste Dunn\* ou Teste t:  $p<0,05$ ). Os valores representam média ± desvio padrão.

#### 4.4. Fase 4: Influência da idade sobre o comportamento de cópula em fêmeas selvagens de *A. obliqua* (Diptera: Tephritidae)

Para o Grupo 15-30♀ idade♂, foi realizado um total de 62 exposições de machos 15-30♂ LS e 60-75♂ LS a fêmeas 15-30♀. Verificou-se apenas uma cópula com 15-30♂ LS (taxa de acasalamento: 1,61%), a qual teve duração de 40 minutos. A fêmea em questão viveu 177 dias, sendo que o acasalamento aconteceu no 30º dia de vida adulta. Houve deposição de, respectivamente, 613 e 811 ovos nos 30 e 50 dias após a cópula. O período de eclosão de larvas durou 19 dias, eclodindo um total de 179 larvas, o que representou 43,0% da quantidade de ovos depositados neste período.

Para o Grupo 60-75♀ idade♂, 55 exposições de machos 15-30♂ LS e 60-75♂ LS a fêmeas 60-75♀ foram realizadas, sendo duas cópulas observadas (taxa de acasalamento:

3,64%): uma com 15-30♂ LS (60 minutos de duração) e outra com 60-75♂ LS (60 minutos de duração). A 60-75♀ copulada com o 15-30♂ LS teve longevidade de 150 dias, sendo que a cópula aconteceu no 73º dia de vida adulta; além disso, ela ovipositou nos 30 e 50 dias após o acasalamento 342 e 579 vezes, respectivamente. Tal acasalamento resultou na eclosão de 364 larvas, representando 51,2% do total de ovos depositados nos 61 dias de período de eclosão. A fêmea que acasalou com o 60-75♂ LS o fez no 64º dia após a emergência e viveu 185 dias. A quantidade de ovos por ela depositados nos 30 e 50 dias após a cópula foi 157 e 298, respectivamente. O período de eclosão de larvas foi de 79 dias, no qual eclodiram 182 larvas, o que correspondeu a 41,8% dos ovos depositados no período. É válido citar que essas duas fêmeas não ovipositaram nos primeiros dias após o acasalamento: a primeira fêmea depositou ovos a partir do 6º dia depois da cópula e a segunda, a partir do 12º.

Para o Grupo 60-75♀ nutrição♂, foram realizadas 23 exposições de fêmeas 60-75♀ a machos 15-30♂ LS e 15-30♂ S, sendo que nenhuma cópula foi observada (taxa de acasalamento: 0%).

Para o Grupo 15-30♀ nutrição♂, 42 exposições de fêmeas 15-30♀ a machos 15-30♂ LS e 15-30♂ S foram realizadas, observando-se 11 acasalamentos (taxa de acasalamento: 26,19%): 7 com 15-30♂ LS e 4 com 15-30♂ S. A hipótese nula não foi rejeitada, ou seja, a probabilidade de acasalamento com 15-30♂ LS e 15-30♂ S não foi significativamente diferente (Teste Binomial:  $p=0,548$ ). No dia da cópula, a idade das fêmeas copuladas com 15-30♂ LS era  $18,3 \pm 2,56$  dias (média±desvio padrão) e das fêmeas copuladas com 15-30♂ S era  $19,3 \pm 1,71$  dias. Não houve diferença significativa entre tais valores (Teste t:  $p=0,523$ ).

Não houve diferença significativa no tamanho da nervura m-cu entre machos não copulados 15-30♂ LS ( $0,393 \pm 0,0161$ mm) x não copulados 15-30♂ S ( $0,406 \pm 0,169$ mm) x não copulados 15-30♂ S extra ( $0,411 \pm 0,0221$ mm) x copulados 15-30♂ LS ( $0,403 \pm 0,0150$ mm) x copulados 15-30♂ S ( $0,407 \pm 0,0236$ mm) x copulados 15-30♂ S extra ( $0,411 \pm 0,0200$ mm) ( $F=2,090$ ;  $p=0,084$ ).

Devido ao número reduzido número de acasalamentos observados nos Grupos 15-30♀ idade♂ e 60-75♀ idade ♂ e a ausência deles no Grupo 60-75♀ nutrição♂, somente foi possível fazer a análise estatística dos dados provenientes do Grupo 15-30♀ nutrição♂. Neste tivemos, então, três subgrupos de fêmeas: Fêmeas copuladas com 15-30♂LS (Cop 15-30♂LS), Fêmeas copuladas com 15-30♂S (Cop 15-30♂ S) e Fêmeas virgens.

Houve diferença significativa no número total de ovos depositados pelas fêmeas dos três subgrupos nos 30 primeiros dias após a cópula para as fêmeas copuladas e 30 dias após último contato com os machos para as fêmeas virgens (ANOVA:  $F=13,907$ ;  $p<0,001$ ).

Fêmeas Cop 15-30♂LS depositaram número de ovos maior que as Cop 15-30♂S (SNK:  $p=0,002$ ) e que as fêmeas virgens (SNK:  $p<0,001$ ). Não houve diferença significativa em tal quantidade quando se comparou fêmeas copuladas com machos 15-30♂S e fêmeas virgens (SNK:  $p=0,176$ ) (Figura 24). O número total de ovos depositados por fêmea no período analisado variou entre 511 e 1143 nas Cop 15-30♂LS, entre 132 e 784 nas Cop 15-30♂S e entre 94 e 654 ovos/fêmea nas fêmeas virgens.

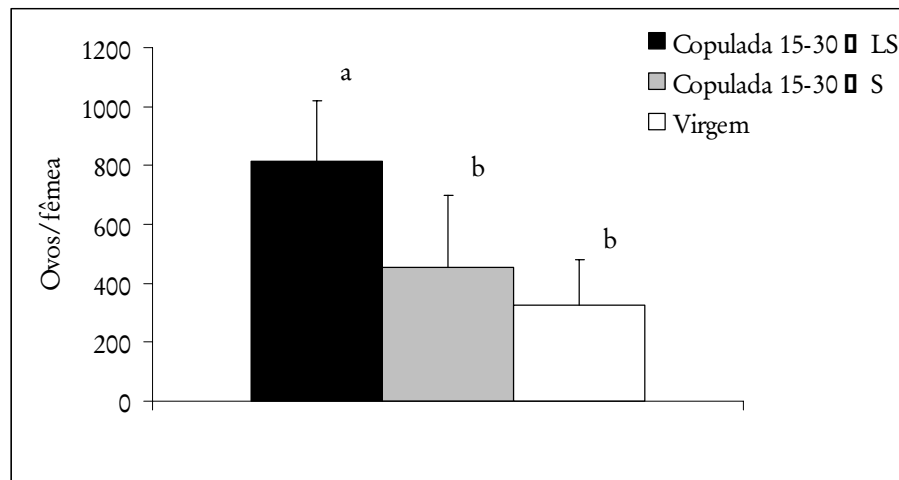


Figura 24 - Ovos depositados durante os 30 primeiros dias de após a cópula ou última exposição aos machos por fêmeas de *A. obliqua* copuladas com machos 15-30♂LS, com machos 15-30♂S e virgens. Barras acompanhadas por letras diferentes representam diferença significativa (SNK:  $p<0,05$ ). Os valores representam média e desvio padrão ( $\tau$ ) de  $n=7$ ,  $n=7$  e  $n=12$  para fêmeas copuladas com 15-30♂LS, com 15-30♂S e virgens, respectivamente. LS=alimentados com lêvedo e sacarose; S=alimentados apenas com sacarose.

A longevidade não diferiu significativamente entre as fêmeas destes três subgrupos ( $F=0,507$ ;  $p=0,609$ ) (Figura 25). Tal parâmetro variou entre 76 e 205 dias nas Cop 15-30♂LS, entre 32 e 159 dias; nas Cop 15-30♂S e entre 36 e 289 dias nas virgens.

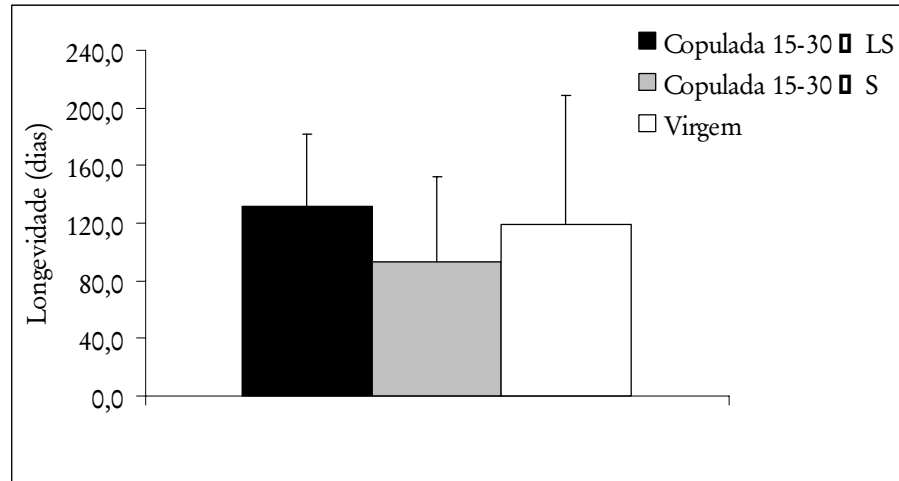


Figura 25 - Longevidade de fêmeas de *A. obliqua* copuladas com machos 15-30♂ LS, com machos 15-30♂ S e virgens. Não houve diferença significativa entre os grupos (ANOVA:  $p < 0,05$ ). Os valores representam média e desvio padrão ( $\tau$ ) de  $n=7$ ,  $n=7$  e  $n=12$  para fêmeas copuladas com 15-30♂ LS, com 15-30♂ S e virgens, respectivamente.  $\tau$  = desvio padrão. LS=alimentados com lêvedo e sacarose; S=alimentados apenas com sacarose.

Comparando-se as fêmeas copuladas: Cop 15-30♂LS x Cop 15-30♂S, a diferença significativa se manteve quando foi analisado o número total de ovos depositados nos 50 dias após a cópula (Teste t:  $p=0,015$ ), sendo que a quantidade variou de 548 a 1532 ovos/fêmea no primeiro grupo e de 132 a 1209 ovos/fêmea no segundo. Não foi detectada diferença significativa nos parâmetros: a) duração da cópula (Teste t,  $p=0,392$ ); b) período de eclosão de larvas (Teste t,  $p=0,305$ ); c) número de larvas eclodidas/fêmea (Teste t,  $p=0,064$ ); d) porcentagem eclosão de larvas (razão entre o número de larvas e o número de ovos depositados no período de eclosão de larvas) (Teste t,  $p=0,148$ ). Tais resultados estão dispostos na Tabela 9. A duração da cópula variou entre 38 e 71 minutos nas Cop 15-30♂LS e entre 20 e 75 minutos nas Cop 15-30♂S. O período de eclosão de larvas foi de 0 a 39 dias nas Cop 15-30♂LS e de 0 a 38 dias nas Cop 15-30♂S. No primeiro subgrupo, uma fêmea colocou ovos dos quais nenhuma larva eclodiu. O mesmo aconteceu com duas fêmeas Cop 15-30♂S. Desde modo, o número total de larvas eclodidas por fêmea variou de zero larvas a 999 e de zero a 601 nas Cop 15-30♂ LS e Cop 15-30♂ S, respectivamente; e a porcentagem de eclosão, de 0% a 81,9% e de 0% a 79,0%, respectivamente.

Tabela 9 - Parâmetros de performance analisados em fêmeas 15-30♀ copuladas com machos alimentados com lêvedo e sacarose (Cop 15-30♂ LS) ou machos alimentados somente com sacarose (Cop 15-30♂ S).

<i>Fêmea</i>	<i>Duração da cópula (minutos)</i>	<i>Total de ovos/fêmea (50 dias)</i>	<i>Período de eclosão de larvas (dias)</i>	<i>Total de larvas eclodidas/fêmea a</i>	<i>% eclosão de larvas/fêmea</i>
Cop 15-30♂ LS	60,1±18,97	1088,3±328,1a	23,1±12,55	489,0±309,84	59,9±27,03
Cop 15-30♂ S	51,3±18,36	567,0±361,8 b	15,3±14,80	182,1±251,11	34,0±34,55

Valores representam média ± desvio padrão de n=7. Valores seguidos por letras diferentes em uma mesma coluna representam diferença significativa entre as fêmeas (Teste t: p<0,05).



## ***5. DISCUSSÃO***

---

### 5.1. Fase 1: Influência da idade sobre a performance de machos e fêmeas selvagens de *A. obliqua* (Diptera: Tephritidae)

No presente trabalho, notou-se a influência da idade somente sobre a ingestão de lêvedo de cerveja por fêmeas de *A. obliqua*: as 15-30♀ ingeriram mais desta dieta que as 60-75♀ (independente da privação ou não de substrato para a oviposição). A necessidade de proteína para o desenvolvimento dos ovários e produção de óvulos pode explicar tal resultado. Segundo Barton-Browne (2001), em fêmeas anautógenas de Diptera, mecanismos hormonais são de importância primária na determinação do desenvolvimento dos folículos ovarianos em direção à maturação, e o número de oócitos maturados é determinado, totalmente ou em grande parte, pela disponibilidade de nutrientes, em especial fontes de nitrogênio. A maioria dos tefritídeos é anautógena, ou seja, requer uma fonte de proteína na fase adulta para a produção de ovos (Zucoloto, 2000). Cresoni-Pereira & Zucoloto (2001a) consideraram a ingestão de uma fonte protéica entre o 1º e o 20º dias após a emergência do adulto essencial, uma vez que determina o começo da produção de ovos.

As fêmeas 60-75♀NP apresentaram número de óvulos depositados semelhante ao das 15-30♀. As atividades incluídas no complexo comportamento de oviposição (chegada ao substrato, análise das características físicas e químicas do mesmo, inserção do acúleo) devem ter requerido um gasto energético das 60-75♀NP semelhante ao das 15-30♀, o que resultou em uma ingestão semelhante de sacarose e, conseqüentemente, em uma também semelhante ingestão total pelas fêmeas destes dois grupos.

A disponibilidade e qualidade do hospedeiro têm influência no padrão de oviposição e produção de ovos em muitos insetos (Papaj, 2000). Alguns insetos, como é o caso da mariposa *Plutella xylostella*, dependem do estímulo da planta hospedeira para o início da produção de ovos (Asman & Ekbem, 2006). Isso não acontece com *A. obliqua*, ou seja, as fêmeas começam a produzir ovos mesmo na ausência de hospedeiro. Foi verificado, através da presença de óvulos nas paredes das caixas experimentais antes do 60º dia, que, mesmo privadas de hospedeiro para oviposição, as 60-75♀P depositaram óvulos antes deste dia.

Um retardo no encontro de um hospedeiro para oviposição provavelmente limita o tempo disponível para a deposição de ovos, e pode resultar em mudanças fisiológicas no organismo da fêmea (Asman & Ekbem, 2006). A carga de ovos, denominação dada ao número total de oócitos maduros nos ovários, exerce efeito sobre o comportamento de oviposição. Em alguns insetos, a privação de hospedeiro não leva a efeito detectável sobre a

carga de ovos da fêmea; em outros, há o acúmulo de ovos na cavidade abdominal; em outros ainda, a privação é associada a menor carga de ovos, o que, em alguns casos, pode ser resultado da reabsorção de ovos pela fêmea (Papaj, 2000).

Geralmente, a disponibilidade de hospedeiro restaura a maturação de ovos. No entanto, se o período de privação continua por um longo período, o desenvolvimento ovariano pode não se restabelecer e a fêmea não depositar ovos novamente, um fenômeno denominado “castração ecológica” (Papaj, 2000).

De modo geral, espécies altamente polífagas dentro dos gêneros *Anastrepha*, *Bactrocera* e *Ceratitidis* têm mais ovariolos (maior fecundidade) que oligófagas e monófagas (mais especializadas) do mesmo gênero. Além disso, espécies especializadas são comumente mais capazes de reabsorver oócitos e o fazem quando privadas de seus hospedeiros preferidos (Fit, 1986 *apud* Aluja & Mangan, 2008). No entanto, Bressan (1996) observou oócitos em reabsorção a partir do 7º dia de vida em fêmeas de *A. obliqua* liberadas na natureza e recapturadas, e também relatou dados não publicados de Costa Teles sobre a ocorrência desse processo a partir dos 30 dias de idade em *A. obliqua* mantidas em cativeiro. A reabsorção em insetos é uma estratégia reprodutiva que possibilita a retenção de nutrientes necessários para o indivíduo (Bressan, 1996).

A utilização do hospedeiro pode variar dentro de uma espécie de insetos ou em um indivíduo, em resposta a mudanças no estado fisiológico. Estas mudanças podem ser causadas pela ausência de hospedeiros preferidos ou pela experiência prévia com hospedeiros (Aluja & Mangan, 2008). É possível que elas ocorram ou pela alteração da sensibilidade de receptores periféricos a um estímulo particular, coincidente com um aumento na carga de ovos; ou pela redução do limiar de respostas particulares (Aluja & Mangan, 2008). Fêmeas com grande carga de ovos geralmente despendem mais esforços com o forrageamento por hospedeiros e são menos seletivas com relação à qualidade do hospedeiro usado (Papaj, 2000). Em experimentos laboratoriais conduzidos na ausência de substrato para oviposição, a motivação da fêmea para ovipositar aumenta gradativamente e, com o passar do tempo, o descarregamento de ovos acontece (Aluja & Mangan, 2008).

Então, o menor número de ovos depositados pelas 60-75♀P em relação às 15-30♀P pode ter acontecido devido à ocorrência de reabsorção de ovos pelas primeiras, ou por descarregamento de óvulos por elas em período anterior ao analisado (antes dos 60 dias); uma ou outra situação teriam sido resultado do efeito conjunto da idade e da privação de hospedeiro.

Uma vez que se reduz a deposição de óvulos, as atividades comportamentais relacionadas à oviposição também devem diminuir. Deste modo, uma menor atividade de oviposição das 60-75♀P com relação às 15-30♀, ou seja, uma diminuição do gasto energético é uma explicação para a diferença observada na ingestão total e de sacarose entre estes dois grupos.

Bressan (1996), estudando o desenvolvimento do sistema reprodutor de fêmeas de *A. obliqua* liberadas na natureza e posteriormente recapturadas, constatou que os pequenos ovários, envoltos por uma grande quantidade de tecido adiposo e inúmeras ramificações de traquéolas, encontrados nas fêmeas de até 2 dias, cresceram até o 16º dia. A partir desta idade, o crescimento tornou-se estável até o 28º dia. Em fêmeas desta mesma espécie, mantidas em laboratório, registrou-se um acentuado desenvolvimento ovariano entre os 10º e 20º dias, o qual tornou-se estável a partir do 30º dia (Silva, 1978 *apud* Bressan, 1996; Poloni, 1981). Os resultados obtidos no presente trabalho sobre o padrão de oviposição (número de oviposições em cada dia do período experimental) das 15-30♀ podem ser tomados como uma continuação do processo de desenvolvimento ovariano. As fêmeas que, em torno dos 10º e 20º dias, teriam os ovários desenvolvidos, iniciariam o comportamento de oviposição. Tal comportamento, de acordo com o observado no padrão de oviposição das fêmeas 15-30♀, mostrou uma tendência a um aumento na deposição de óvulos por fêmea com o passar dos dias. Não só o número de óvulos depositados aumentou, como também o número de caixas com fêmeas ovipositando; ou seja, possivelmente ao longo desses dias, mais fêmeas atingiram a estabilidade do crescimento dos ovários e começaram as atividades de oviposição. Já o padrão de oviposição das 60-75♀NP e 60-75♀P mostrou uma estabilidade no número de óvulos depositados por fêmea durante os dias do período experimental. A porcentagem de caixas com fêmeas ovipositando foi semelhante entre 15-30♀ e 60-75♀NP, no entanto, os valores extremos deste parâmetro para esses dois grupos (0% e 90% para 15-30♀ e 50% e 80% para 60-75♀NP) demonstraram a constância da quantidade de fêmeas ovipositando no último grupo. O menor valor de tal porcentagem apresentado pelas 60-75♀P também foi um indício da ocorrência de mudanças fisiológicas associadas à ausência de hospedeiro e que levaram a diminuição ou supressão da oviposição.

Com relação à ingestão de dietas por machos, a diferença entre os três grupos foi notada apenas na dieta de sacarose entre machos de idades diferentes. A maior ingestão de sacarose por 15-30♂ pode estar associada a um maior requerimento de fontes energéticas decorrente de gastos de energia. Observou-se que os machos desta faixa etária eram bastante

ativos e não era raro encontrá-los em comportamento de exibição às fêmeas (*advertisement*), mesmo estando separados delas pela divisória da caixa experimental.

Martínez et al (1995), estudando o desenvolvimento e maturação sexual em *A. serpentina*, verificaram que, nos machos recém-emergidos, o processo de espermatogênese já havia começado. Aos seis dias, notou-se uma zona na base do testículo, a zona de espermatozoides livres, a qual continha espermatozoides em abundância. A maturação se conclui em um período de 6 dias, quando foi observado grande número espermatozoides na base dos testículos e nos ductos deferentes (Martínez et al, 1995).

No presente estudo, foi notada, com a idade, uma tendência ao aumento do número de espermatozoides nos testículos dos machos na presença de fêmeas não privadas de hospedeiros para oviposição, sendo significativa a diferença entre os com 15-17 dias e os com 73-75 dias + ♀NP. Esse aumento pode ser explicado pelo acúmulo de espermatozoides produzidos ao longo da vida do macho, uma vez que eles não acasalaram.

A influência da condição da fêmea (privada ou não de hospedeiro para oviposição) sobre o número de espermatozoides nos machos com os quais foram mantidas não foi observada nos de idade 60-62 dias, mas sim nos de idade 73-75 dias. A presença do fruto hospedeiro estimula a oogênese e aumenta a carga de ovos em moscas-das-frutas da espécie *R. juglandis* (Alonso-Pimentel *et al*, 1998). E a carga de ovos, nesta espécie, tem influência direta sobre a propensão à cópula se maior carga de ovos for induzida pela exposição ao fruto (Carsten & Papaj, 2005). Em estudos realizados com *A. obliqua*, fêmeas com maior carga de ovos também tiveram maior receptividade sexual a machos (Medeiros, 2008). Se supormos que as fêmeas 60-75 ♀P tinham menor carga de ovos que as 60-75 ♀ NP (uma vez que o número de óvulos depositados tendeu a ser menor), as primeiras seriam menos receptivas que as últimas. A presença de fêmeas pouco receptivas poderia ter desestimulado a produção e/ou maturação de espermatozoides nos machos 73-75 dias + ♀P. Assim, suporíamos produção e acúmulo das células reprodutivas ao longo da vida, com diminuição e até mesmo estagnação da produção e/ou maturação próxima a tal idade.

Os números médios de espermatozoides contidos nos testículos dos machos foram menores do que os encontrados por Bressan em estudo com *Anastrepha* spp. (1995). No presente trabalho, os machos foram oriundos de frutos de *S. lutea* (cajá-mirim) e mantidos em laboratório, em caixas de acrílico, sem contato físico com fêmeas, nem hospedeiros naturais. No estudo de Bressan (1995), os machos foram obtidos a partir de frutos de *Averrhoa carambola*, marcados, liberados e recapturados através de armadilhas. A área na qual os insetos foram liberados foi um pomar (23400m<sup>2</sup>) com 127 variedades de fruteiras, algumas

delas hospedeiros naturais de *Anastrepha*. Ou seja, os machos analisados estiveram em contato com alimentos naturais, experimentaram maior atividade locomotora e de voo e, possivelmente, tiveram contato com fêmeas e acasalamentos. A diferença acima citada na quantidade de espermatozóides pode estar relacionada às diferentes condições a que os machos dos dois estudos estiveram submetidos.

Diferenças entre os sexos no consumo e utilização do alimento são esperadas (Simpson & Simpson, 1990). Vários estudos apontaram que os machos de moscas-das-frutas atingem a maturidade sexual em um período mais curto que as fêmeas (geralmente entre o 5º e 7º dia após a emergência) (Martínez et al, 1995). Possivelmente, o grande diferencial nas necessidades nutricionais entre os sexos em moscas-das-frutas seja os requerimentos para o desenvolvimento ovariano e produção de ovos nas fêmeas. Assim, é compreensível a diferença na ingestão de lêvedo entre os sexos na idade 15-30: as fêmeas estavam em uma época de elevada produção de óvulos, logo neste período de tempo suas necessidades por fontes protéicas foram maiores que as dos machos de mesma idade. Além disso, Cresoni-Pereira & Zucoloto (2001b) citam que é possível a utilização de compostos protéicos como fagoestimulantes por fêmeas de *A. obliqua*, justamente por causa da dependência desses nutrientes para a produção de ovos. Com relação à maior ingestão de sacarose pelas fêmeas 60-75 ♀NP em comparação aos machos 60-75 ♂ + ♀NP, essa diferença pode ser pela maior necessidade de nutriente energético decorrente das atividades de oviposição ainda elevadas nessas fêmeas.

Independente do sexo das moscas, modificações fisiológicas relacionadas à idade que ocorreram durante o período do 60º ao 75º dias após a emergência do adulto não levaram a um aumento da mortalidade com relação à faixa etária do 15º ao 30º dia. É possível que picos de mortalidade de indivíduos dos dois sexos de *A. obliqua* ocorram em períodos da vida adulta diferentes dos aqui analisados. Além disso, na natureza, talvez as mortes nesses dois períodos da vida adulta se devam a razões não relacionadas com a idade, como por exemplo, acidente, predação ou doenças não específicas do envelhecimento (Hughes & Reynolds, 2005).

## **5.2. Fase 2: Efeito da privação de uma fonte protéica ou de sacarose sobre a performance de fêmeas adultas selvagens de *A. obliqua* (Diptera: Tephritidae) de diferentes faixas etárias**

### **5.2.1. Privação de lêvedo**

Um dos tipos básicos de resposta compensatória a um desbalanço nutricional é dado quando um inseto altera a taxa de consumo de alimento. Essa alteração pode se dar através do aumento do tamanho da primeira refeição seguinte à privação e/ou do aumento da ingestão durante tal refeição (Simpson & Simpson, 1990).

Quando se analisa os dados referentes ao dia seguinte ao período de privação de lêvedo, nota-se que fêmeas 15-30 Priv Lev e 60-75 Priv Lev se comportaram de modo diferente à privação de proteína no que diz respeito a ingestão de dieta de lêvedo de cerveja. As fêmeas 15-30 Priv Lev ingeriram mais dieta que as 15-30 Ctl Lev, demonstrando assim que elas compensaram o período de privação através de uma maior ingestão de dieta contendo tal nutriente. Já as fêmeas 60-75 Priv Lev não apresentaram tal comportamento de compensação quando a fonte protéica tornou-se disponível. Este fato pode ser explicado por uma maior necessidade de proteína pelas fêmeas 15-30. A maior ingestão pelas fêmeas 15-30 Priv Lev teve reflexo na ingestão total de dietas, que foi maior neste grupo quando comparado ao 60-75 Priv Lev.

Estudos sugerem que mudanças na sensibilidade periférica a nutrientes específicos poderiam desempenhar um papel no processo de compensação alimentar decorrente da privação de proteína e carboidrato. Ou seja, maior resposta dos receptores ao estímulo do nutriente em falta ocorreria (Simpson & Simpson, 1990). Deste modo, além de um menor requerimento de proteína, uma outra explicação para o fato de as fêmeas 60-75 não apresentarem comportamento de compensação poderia ser a diminuição de tal alteração na sensibilidade periférica ao nutriente em falta com a idade da mosca.

Ainda a respeito da ingestão de dietas, notou-se que, no período posterior ao dia seguinte à privação, a quantidade de lêvedo ingerida pelas 15-30 Priv Lev se igualou à quantidade ingerida pelas 15-30 Ctl Lev. Deste modo, o efeito da privação de lêvedo sobre a ingestão desta dieta não foi notado após o dia seguinte ao período de privação. Isto refletiu-se na ingestão total, que também se igualou entre os grupos.

A deposição de óvulos pelas fêmeas dos quatro grupos foi semelhante durante o período de privação de lêvedo (5 dias). O efeito não significativo da idade pode ser explicado pelo fato desses 5 dias coincidirem com o início da oviposição nas fêmeas 15-30 e com uma época em que já se nota uma redução de postura de óvulos nas 60-75. A ausência de lêvedo (condição) também não afetou o número de óvulos depositados durante os 5 dias.

O efeito da privação sobre o comportamento de oviposição se deu após o período de ausência da fonte protéica, fazendo com que o número de óvulos das fêmeas 15-30 Priv Lev diminuísse em relação ao das 15-30 Ctl Lev. Supomos o seguinte: as fêmeas, nesta idade, estavam no período de desenvolvimento ovariano e, conseqüentemente, fazendo uso de fontes de nitrogênio ingeridas e presentes no organismo. No caso das fêmeas 15-30 Priv Lev, a privação e utilização das reservas corpóreas de nitrogênio possivelmente levaram a uma queda nos níveis desse elemento. Essas fêmeas, então, tendo novamente disponível uma fonte protéica na dieta, necessitaram de certo tempo para restabelecer os níveis de nitrogênio corpóreo, o que resultou em redução na produção e deposição de óvulos. Tal redução também se refletiu na produção total de óvulos no período experimental. Já nas fêmeas 60-75 Priv Lev, como a produção ovariana era menor, os níveis de nitrogênio no corpo foram utilizados em quantidade menor, logo não foi verificada diminuição na deposição de óvulos quando comparadas as 60-75 Ctl Lev.

O efeito da idade sobre a deposição de óvulos foi notada nas 15-30 Ctl e 60-75 Ctl, com um menor número de oviposições realizado pelas últimas. Essa influência da idade também foi notada no total de deposições nos respectivos períodos experimentais. Aqui é interessante comparar os resultados obtidos na Fase 1 (15-30♀ x 60-75♀ NP) e estes da Fase 2 (grupos Ctl). Na Fase 2, a diminuição de oviposições das 60-75 Ctl Lev em relação às 15-30 Ctl Lev foi tal que houve diferença significativa entre os grupos. É válido observar que na Fase 1 não houve diferença na deposição de óvulos e a ingestão de sacarose pelas fêmeas dos dois grupos citados foi semelhante. Já na Fase 2, a ingestão de sacarose foi menor pelas fêmeas 60-75 Ctl.

Fontellas & Zucoloto (1999) observaram que, de 12 fêmeas de *A. obliqua* recém-emergidas colocadas em cada caixa experimental,  $8,3 \pm 4,04$  (média  $\pm$  desvio padrão) sobreviveram os 18 dias de experimentos com dieta sem fonte protéica. Cresoni-Pereira & Zucoloto (2001a) realizaram experimentos nos quais as fêmeas passaram até 40 dias privadas de fonte protéica. Deste modo, a ausência de efeito da privação de lêvedo sobre a taxa de mortalidade observada no presente trabalho não é surpreendente.



### 5.2.2. Privação de sacarose

Os resultados de ingestão de sacarose no dia seguinte ao período de privação de sacarose estão de acordo com o citado Simpson & Simpson (1990) sobre a mudança na taxa de ingestão de alimentos que contenham o nutriente previamente em déficit. Independentemente da idade, fêmeas privadas ingeriram mais dieta de sacarose que as controles, demonstrando uma compensação da privação através de maior ingestão de dieta contendo carboidrato. Entretanto, fêmeas 15-30 Priv Sac e 60-75 Priv Sac se comportaram diferentemente: as 15-30 ingeriram maior quantidade de sacarose que as 60-75.

Poderíamos explicar a menor taxa de ingestão de sacarose durante a compensação pelas fêmeas 60-75 Priv Sac por uma menor necessidade de fontes energéticas decorrente de um menor gasto de energia. No entanto, as fêmeas 15-30 Ctl Sac e 60-75 Ctl Sac apresentaram ingestão de sacarose semelhante no dia seguinte ao período de privação e também nos demais dias do período experimental. Como discutido anteriormente (comparação entre Fase 1 e Fase 2 – privação de lêvedo), a ingestão de sacarose pode estar relacionada à atividade de oviposição nas fêmeas na faixa etária 60-75. As fêmeas 15-30 Ctl Sac e 60-75 Ctl Sac apresentaram número de deposição de óvulos semelhante (total, no período de privação e após este). Talvez uma explicação melhor para a menor ingestão de sacarose pelas 60-75 Priv Sac seja a ocorrência de diminuição, com a idade, da sensibilidade dos receptores sensoriais a sacarose.

Uma vez que os carboidratos são fonte importante de energia para os insetos, a privação de tais compostos por determinado tempo pode resultar em modificações fisiológicas no organismo, como a compensação nutricional. Outro exemplo de alteração fisiológica decorrente da privação de sacarose foi observado também em *A. obliqua* por Fontellas & Zucoloto (2003). Esses pesquisadores verificaram que fêmeas recém-emergidas de *A. obliqua* que não se alimentaram de dieta de sacarose foram capazes de perceber esse carboidrato em quantidade menor na dieta do que aquelas que foram alimentadas, ou seja, houve alteração no limiar de percepção desta substância em decorrência da privação.

A menor quantidade de lêvedo ingerida pelas fêmeas 15-30 Priv Sac, no dia seguinte ao período de privação, pode estar associada à alta ingestão de sacarose. É possível que a taxa de ingestão de sacarose, por fatores volumétricos provenientes da distensão do papo, tenha levado à menor ingestão de lêvedo. Receptores de extensão são mecanorreceptores que monitoram a distensão abdominal quando o inseto se alimenta e regulam o tamanho das

refeições (Chapman, 1998). Outra possibilidade, que não exclui a ocorrência conjunta com a primeira, é diminuição de ingestão de lêvedo causada por elevados níveis de aminoácidos no corpo decorrentes da alimentação por 2 dias somente com dieta de lêvedo.

Após o dia seguinte ao período de privação, a taxa de ingestão de dietas (total, lêvedo e sacarose) mostrou-se semelhante entre todos os grupos, ou seja, as fêmeas privadas voltam a ingerir dietas no mesmo nível que as controles.

Durante o período de privação, a deposição de ovos sofreu influência da idade. Pode-se associar este resultado, assim como foi feito na situação de “privação de lêvedo”, ao fato das fêmeas 15-30 estarem, durante o período de privação de sacarose, iniciando as atividades de oviposição. No entanto, nesta situação, houve diferença significativa. A menor deposição de óvulos pelas 60-75 Priv Sac com relação às 15-30 Priv Sac, após o período de privação e no total do período experimental, talvez seja decorrente da privação de sacarose e sua associação à oviposição nas fêmeas 60-75.

A privação de sacarose durante 2 dias não influenciou a taxa de mortalidade das moscas nos dois períodos experimentais. A ausência de carboidrato possivelmente afetaria a sobrevivência das moscas se esse período tivesse sido maior (Fontellas & Zucoloto, 1999). É válido citar que, ao final do período de privação, independente da idade, foi notado que algumas moscas exibiam notável atividade de locomoção; outras se mostravam bastante debilitadas e com mobilidade reduzida. Estas duas situações observadas podem ser decorrentes de diferenças individuais em relação ao intervalo de tempo decorrido desde a última refeição com sacarose (Simpson & Simpson, 1990).

### **5.3. Fase 3: Efeito da idade da fêmea sobre a seleção de substratos artificiais para oviposição em *A. obliqua* (Diptera: Tephritidae) selvagem**

Diversos fatores podem influenciar a seleção de hospedeiros para oviposição em insetos: características físicas e químicas da planta, disponibilidade de hospedeiro adequado, o recurso alimentar utilizado pelo adulto, experiência prévia do inseto, presença de competidores e predadores (Dethier, 1982; Prokopy & Roitberg, 1984; Thompson, 1988; Scheirs, 2002; Fontellas-Brandalha & Zucoloto, 2004; Leal & Zucoloto, 2008) e também a idade da fêmea (Joaquim-Bravo *et al*, 2001; Frechette *et al*, 2004).

Uma vez que se encontra em um hospedeiro potencial para oviposição, a fêmea de tefritídeo utiliza várias informações acumuladas a respeito da planta para determinar se tal hospedeiro é aceitável. Estímulos sobre as características físicas e químicas do hospedeiro são recebidos e avaliados (Díaz-Fleisher *et al*, 2000). O ovipositor de fêmeas adultas de tefritídeos contém receptores gustatórios (quimiorreceptores de contato), mecanorreceptores e higrorreceptores (Rice, 1989). Estímulos provenientes de quimiorreceptores de contato localizados nos tarsos e labelo também influenciam na oviposição (Rice, 1989). Determinadas sensilas gustatórias dos tarsos de *R. pomonella*, por exemplo, demonstraram grande sensibilidade ao feromônio deterrente de oviposição (Crnjar & Prokopy, 1982). O valor nutritivo dos frutos pode ser o determinante final para a escolha do hospedeiro (Zucoloto, 1993).

Em insetos polípagos, embora haja a possibilidade de oviposição em vários hospedeiros diferentes, é comum as fêmeas exibirem preferência por alguns deles (Thompson, 1988). No presente estudo, esperava-se mudança no comportamento de oviposição com relação à preferência pelos substratos artificiais, em decorrência de um suposto declínio na seletividade das fêmeas com a idade. Deste modo, as fêmeas 60-75 diminuiriam a discriminação pelos substratos e ovipostariam quantidades semelhantes de ovos nos mesmos.

Na situação 0g L x 4g L, a preferência pelo substrato 4g L apresentada pelas fêmeas 15-30 permaneceu no período de 60-75 dias, ou seja não houve mudança com a idade. Fontellas-Brandalha & Zucoloto (2004) supõem que o lêvedo (fonte protéica) deve conter substâncias estimulantes à oviposição. No caso da situação de escolha em questão, é possível que a presença de lêvedo em 4g L tenha estimulado a maior oviposição nesse substrato. Além disso, a preferência por 4g L pode estar relacionada à performance larval, uma vez que a dieta 4g L apresentou-se mais adequada para a larva que a dieta 0g L.

No grupo 2,7g L x 4g L não houve preferência entre os substratos tanto nas fêmeas 15-30 quanto nas 60-75., ou seja, também não houve mudança na preferência. Os insetos generalistas fazem escolhas entre um grande número de opções, e o fazem com um sistema nervoso limitado em sua capacidade de lidar com impulsos múltiplos (Bernays, 2001). Segundo alguns autores, os insetos polípagos têm uma menor capacidade, quando comparados aos especialistas, de discriminação de hospedeiros (Joaquim-Bravo & Silva-Neto, 2004). Isso poderia explicar a quantidade semelhante de ovos depositados em 2,7g L e 4g L. Essa menor capacidade de discriminação de hospedeiros seria vantajosa em ambientes imprevisíveis, contribuiria para a mudança e adaptação a novos hospedeiros (Joaquim-Bravo & Silva-Neto, 2004) e aumentaria as oportunidades de invasão de outros nichos (Duyck *et al*., 2008).

Embora a dieta 2,7g L tenha apresentado parâmetros de desenvolvimento larval inferiores aos da 4g L, ela possibilitou a pupação da larva e emergência de adultos. A existência da correlação entre preferência de oviposição e performance larval é uma questão polêmica (Joaquim-Bravo & Silva-Neto, 2004). Há casos em que as fêmeas depositam ovos em hospedeiros que servem de alimento para o adulto e lhe conferem melhor performance, sendo sub-ótimos para a performance da larva (Scheirs *et al*, 2000; Mayhew, 2001). Em experimentos realizados com dípteros da espécie oligófaga *Chromatomyia nigra*, as fêmeas depositaram ovos onde se alimentaram, e tal hospedeiro conferiu melhor performance para o adulto e não para a larva (Scheirs *et al*, 2000). Assim, não se pode excluir a possibilidade do resultado obtido no grupo 2,7g L x 4g L estar relacionado à performance do adulto, caso tais dietas conferissem performance similar a indivíduos adultos. A hipótese de associação da preferência por 4g L na situação 0g L x 4g L com a performance larval também não exclui a possibilidade da relação com a performance do adulto. Nestes dois casos, seria necessária a realização de outros experimentos com o fim de verificar a performance do adulto alimentado com tais dietas.

Os resultados obtidos no grupo 0g L x 2,7g L foram os mais surpreendentes. Houve mudança na preferência com a idade: as fêmeas 15-30 não demonstraram preferência entre os substratos, já as 60-75 depositaram mais ovos em 2,7g L. As mudanças fisiológicas associadas à idade são bastante complexas, variam entre indivíduos e entre órgãos de um mesmo indivíduo (Arking, 2008). Talvez a diminuição da sensibilidade dos receptores que respondem a substâncias diferentes aconteça de maneira e/ou em momentos diferentes da vida do inseto. Pode-se supor que o menor número de ovos depositados pelas fêmeas 60-75 em substratos 0g L seja devido à diminuição da sensibilidade à sacarose, e conseqüente menor atração pelo substrato 0g L (o qual contém 7,0g de sacarose em 100ml de água). A ampla distribuição de carboidratos e a nem sempre abundante presença de proteína nos hospedeiros naturais de moscas-das-frutas (Bateman, 1972) poderiam ter contribuído para essa diminuição da sensibilidade à sacarose e manutenção da sensibilidade de receptores a outras substâncias (como, por exemplo, aminoácidos) com a idade, ao longo da história evolutiva da espécie. Outra hipótese seria que uma possível maior carga de ovos das fêmeas 15-30 poderia ter causado um declínio da seletividade das fêmeas durante a escolha para oviposição, então elas depositaram quantidade similar de ovos em ambos substratos.

Através da análise dos parâmetros de performance larval, foi possível distinguir entre as três dietas e propor a seguinte hierarquia de adequabilidade: 4g L > 2,7g L > 0g L.

Larvas de *C. capitata* (Canato & Zucoloto, 1998) e *A. obliqua* (Message & Zucoloto 1980) não sobrevivem em dietas constituídas unicamente de carboidratos. A ausência de pupas e adultos originados da dieta 0g L pode ser explicada pela baixa quantidade de proteína na constituição da mesma (0,27g em 100ml de água, decorrente da proteína presente na farinha de trigo). Zucoloto *et al.* (1979) mostraram que uma dieta a base de lêvedo de cerveja foi adequada para larvas de *A. obliqua*. O lêvedo, possivelmente, fornece a maioria macro e micro nutrientes necessários ao desenvolvimento destes insetos (Moreno *et al.* 1997).

A maior duração do estágio larval, e o conseqüente maior tempo de desenvolvimento total, apresentados pelos imaturos alimentados na dieta 2,7g L em relação aos da dieta 4g L podem ser devidos à tentativa das larvas de compensar a menor quantidade de lêvedo na dieta, aumentando a ingestão e demorando mais tempo para atingir o estágio de pupa. Mesmo assim, ainda pupariam com um peso inferior. Duyck *et al* (2008) observaram uma relação positiva entre peso pupal e fecundidade em quatro espécies de moscas-das-frutas. Deste modo, o maior peso pupal das larvas alimentadas na dieta 4g L pode ser um indício de melhor fecundidade da fêmea adulta.

#### **5.4. Fase 4: Influência da idade sobre o comportamento de cópula em fêmeas selvagens de *A. obliqua* (Diptera: Tephritidae)**

A maior quantidade de cópulas verificadas aconteceu no grupo 15-30♀ nutrição♂, no qual os indivíduos em experimento tinham idade 15-30 dias. Nos demais grupos, moscas das duas faixas etárias foram colocadas juntas durante as exposições aos machos. Algumas possibilidades podem ser sugeridas para explicar o número de acasalamentos verificados.

Das duas estratégias de acasalamento reportadas em *Anastrepha*, a estratégia da formação de *leks* pelos machos parece ser a mais freqüente, já que a estratégia da defesa de recursos foi reportada apenas para a espécie *A. bistrigata* (Aluja *et al.*, 2000). A formação dos *leks* é mediada por feromônios produzidos pelos machos (Vilela & Kovaleski, 2000). Machos de *C. capitata* participantes de *leks* continham em seu corpo maior quantidade de açúcar e proteína que os que estavam em repouso (Yuval *et al.*, 1998). A variação na habilidade de forragear por recursos alimentares deve afetar o sucesso reprodutivo dos indivíduos, assim sendo, um bom forrageamento torna-se um pré-requisito para a participação dos machos nos *leks* (Yuval *et al.*, 1998).

Neste contexto, a primeira possibilidade seria a formação de *leks* com machos de faixas etárias diferentes (grupos 15-30♀ idade♂, 60-75♀ idade♂ e 60-75♀ nutrição♂). Como foi suposto que a menor ingestão de sacarose por machos 60-75 em relação aos 15-30 poderia ser devido uma menor atividade dos primeiros (Fase 1), nessas atividades poderiam estar as participações em *leks*. Assim, um número menor de machos participando da formação de *leks*, poderia-los pouco atrativo à fêmea.

A segunda hipótese seria a receptividade sexual das fêmeas 60-75 (grupos 60-75♀ idade♂, 60-75♀ idade♂) que poderia estar baixa nesta faixa etária, talvez por influência de uma menor carga de óvulos (Carsten & Papaj, 2005) ou de alguma outra modificação fisiológica ou comportamental relacionada à idade.

Poloni (1981) verificou que fêmeas de *A. obliqua* mantidas em gaiolas recobertas com nylon (20x20x20cm) iniciaram os comportamentos de oviposição e de cópula mais precocemente que as mantidas em caixas de madeira de dimensões menores (6x11x11cm ou 8x18x18cm). Atribuiu-se tal maturação sexual mais rápida, às condições mais próximas às naturais oferecidas pelas gaiolas (Poloni, 1981). Outra explicação, esta independente do grupo e pode ser entendida aos quatro desta Fase, seria que as caixas experimentais usadas no presente trabalho teriam diminuído a propensão das moscas a acasalamentos.

Apesar dos poucos acasalamentos observados, alguns resultados referentes aos grupos 15-30♀ idade♂ e 60-75♀ idade♂ são interessantes de serem abordados.

Fêmeas no 73º dia de vida ainda são capazes de acasalar e o fazem com macho de idade diferente (15-30♂ LS). Tal encontro na natureza é possível, uma vez que esses indivíduos foram obtidos a partir de frutos de um mesmo indivíduo de cajá-manga. Acasalamento de parceiros com idade 60-75 também ocorre. Foi interessante notar que as duas fêmeas 60-75♀ que copularam apresentaram um período de eclosão de larvas maior que o da fêmea acasalada do grupo 15-30♀ idade♂ e maior também que os extremos das do grupo 15-30♀ nutrição♂. Talvez isso se deva a um mecanismo mais lento de liberação de espermatozoides das espermatecas para a fertilização dos óvulos. A cópula poderia também ter agido, nas fêmeas 60-75♀, como um “disparador” da produção e deposição de ovos (Chapman, 1998), já que ambas fêmeas acasaladas não depositaram ovos nos dias seguintes à cópula e depois de uns dias o fizeram.

Acredita-se que produção de feromônio sexual pelos machos das moscas-das-frutas ocorre nas glândulas salivares (Lima *et al.* 1996 *apud* Vilela & Kovaleski, 2000). É possível que as proteínas sejam imprescindíveis para o desenvolvimento das glândulas responsáveis pela síntese dos feromônios sexuais, como demonstrado em *A. obliqua* (Ferro & Zucoloto,

1989). Blay & Yuval (1997) observaram que machos de *C. capitata* não alimentados de proteína copularam numa taxa menor que os alimentados. No presente estudo, não houve diferença significativa no número de cópulas entre machos 15-30♂ LS e 15-30♂ S.

Presentes nupciais englobam qualquer forma de nutriente transferido do macho para fêmea durante ou imediatamente depois da corte e/ou cópula (Vahed, 1998). Discute-se se tais presentes nupciais têm função de investimento parental (aumentar o *fitness*) ou esforço de acasalamento (atrair fêmeas, facilitar a cópula e/ou maximizar a transferência de esperma), embora as duas hipóteses não sejam mutuamente exclusivas (Vahed, 1998).

Durante a transferência de esperma, secreções das glândulas acessórias do macho são transferidas para a fêmea e devem ter vários efeitos no comportamento e fisiologia da fêmea (Chapman, 1998). Em algumas espécies, os presentes nupciais provêm nutrientes extras para as fêmeas; esses materiais permitem às fêmeas produzir maiores e, em algumas espécies, mais ovos (Chapman, 1998). Em alguns tetigonídeos (como por exemplo, *Raquena verticalis*), as fêmeas se alimentam de uma porção do espermatóforo (*spermatophylax*). Mais de 80% do peso seco do *spermatophylax* é proteína, e os aminoácidos destas proteínas são incorporados aos tecidos das fêmeas, o que leva a um aumento do peso dos oócitos nos ovários (Chapman, 1998).

Em adição aos possíveis efeitos nutricionais sobre a fêmea que acompanham a transferência de esperma em muitos insetos, a cópula pode também ser um “disparador” da oviposição e às vezes oogênese (Chapman, 1998). Fêmeas virgens em geral não depositam ovos, ou depositam relativamente poucos. Acasalamento, ou injeção experimental de componentes das glândulas acessórias dos machos, causam oviposição (Chapman, 1998). No presente trabalho, o maior número de ovos depositados pelas fêmeas copuladas com machos nutridos em relação às não copuladas pode ser atribuído aos efeitos citados dos presentes nupciais sobre as fêmeas copuladas: “disparadores” da oviposição e incremento nutritivo.

Em moscas-das-frutas, a ingestão de fonte protéica na fase larval é importante, dentre outros, para a estocagem e utilização na fase adulta (Zucoloto, 2000). Os estoques de fontes protéicas da fase larval possivelmente possibilitaram a síntese de feromônios sexuais pelos 15-30♂ S, assim eles conseguiram copular com as fêmeas. No entanto, esse estoque de tais machos foi possivelmente inferior ao dos 15-30♂ LS para o incremento nutritivo dos presentes nupciais oferecidos às fêmeas com eles acasaladas. Desse modo, quando comparada com as fêmeas copuladas com 15-30♂ S, a deposição de maior número de ovos pelas fêmeas copuladas com 15-30♂ LS pode ser atribuída a uma melhor constituição nutricional dos presentes nupciais transferidos por estes últimos.

A partir do número de ovos depositados pelas fêmeas copuladas com 15-30♂ S e pelas fêmeas virgens, pode-se inferir que o efeito dos presentes nupciais de tais machos sobre a produção de ovos é praticamente nulo, já que tal parâmetro não diferiu significativamente entre esses dois sub-grupos de fêmeas.

Vahed (1998) citam estudos com *Panorpa* (Mecoptera) nos quais a duração da cópula com machos que ofereceram presentes nupciais foi consideravelmente maior do que com aqueles que não o fizeram. Em *P. vulgaris* a quantidade de esperma transferida para a fêmea estava linearmente relacionado à duração do acasalamento (Vahed, 1998). Já em *C. capitata*, machos privados de proteína transferiram mais esperma para as fêmeas que os não privados e prolongam a cópula para prevenir a imediata re-cópula das fêmeas, incidentalmente transferindo mais esperma (Blay & Yuval, 1997). Diferentemente desses estudos, a duração da cópula de fêmeas de *A. obliqua* com machos 15-30♂LS e machos 15-30♂S foi semelhante.

O número de larvas bem como a porcentagem de eclosão das mesmas foram considerados como uma estimativa da capacidade de fertilização dos machos. Não houve diferenças significativas nesses parâmetros entre fêmeas copuladas com 15-30♂ LS e 15-30♂ S. No entanto, pode-se verificar que os desvios-padrões são valores grandes e essas não diferenças encontradas devem ser interpretadas com cautela.

## 5.5. Considerações finais

Segundo Arking (2008), o processo de envelhecimento inclui mudanças fisiológicas nos organismos, as quais podem variar entre indivíduos e entre sistemas de um mesmo indivíduo. Neste trabalho, foram notadas diferenças comportamentais e fisiológicas em *A. obliqua* entre as duas faixas etárias analisadas. Outras investigações são necessárias para se obter mais informações sobre as modificações relacionadas à idade nesta espécie.

Gostaríamos, então, de registrar algumas ideias para estudos futuros, tendo como base algumas questões geradas por este trabalho.

A partir dos resultados obtidos nas Fases 1 e 2 a respeito da ingestão de sacarose e quantidade de óvulos depositados pelas fêmeas de faixa etária 60-75, fizemos a suposição de uma possível associação entre a ingestão de sacarose (ou carboidratos em geral) e atividades de oviposição nessa idade. Relacionam-se os carboidratos à sobrevivência, à longevidade (Zucoloto, 2000; Fontellas & Zucoloto, 2003) e à produção de óvulos (Zucoloto, 1992). Em



uma população de *C. capitata* criada em laboratório, por exemplo, fêmeas alimentadas com baixa concentração de carboidrato (2g/100ml de dieta) no período de pré-oviposição não produziram óvulos; diferentemente das alimentadas com 6g e 12g/100ml (Zucoloto, 1992). Seria interessante que se investigasse mais profundamente o papel do carboidrato (ou da proporção carboidrato:proteína) no comportamento de oviposição de *A. obliqua* na faixa etária 60-75 (ou maior).

Um outro aspecto que também poderia ser pesquisado é a reabsorção de óvulos. Bressan (1995) verificou óocitos em reabsorção em *A. obliqua*. No presente estudo, foi notada menor deposição de óvulos em 60-75♀ P. Sugerimos, então, a realização de experimentos nos quais se investigue, nesta espécie, a ocorrência de reabsorção de óvulos em diferentes faixas etárias e/ou diferentes condições de disponibilidade de hospedeiros para oviposição.

Seria válida a montagem de experimentos com comportamento de cópula semelhantes aos aqui realizados, utilizando gaiolas em *greenhouse*. Isto poderia aumentar a propensão das moscas à cópula, contribuindo para investigações de fatores que influenciam a preferência por parceiros sexuais, em especial os associados à idade.

## ***6. CONCLUSÃO***

---

As principais conclusões obtidas a partir dos experimentos realizados no presente trabalho são:

- *Fase 1:* As fêmeas 15-30 ingeriram maior quantidade de dieta de fonte protéica que as 60-75, o que pode ser relacionado à necessidade de proteína para o desenvolvimento ovariano e produção de óvulos. Não houve diferença na quantidade de sacarose ingerida pelas fêmeas 15-30 e as 60-75 e isso foi associado à semelhante deposição de óvulos por elas apresentada. No entanto, os resultados desses dois parâmetros variaram nos experimentos das Fases 1 e 2. Levantamos a hipótese que a ingestão de sacarose por fêmeas 60-75 poderia estar associada às atividades do comportamento de oviposição.

- *Fase 1:* Entre machos 15-30 e 60-75, houve influência da idade na ingestão de sacarose: os primeiros ingeriram mais dessa dieta possivelmente por parecerem mais ativos que os últimos. Com relação ao número de espermatozoides nos testículos, com a idade, notou-se uma tendência ao aumento, sendo significativa a diferença entre machos com 15-17 dias e os com 73-75 dias. Esse aumento pode ser explicado pelo acúmulo desses gametas produzidos ao longo da vida, uma vez que os machos não copularam.

- *Fase 1:* Em fêmeas e machos, não houve diferença na taxa de mortalidade entre moscas 15-30 e 60-75. Supomos que mudanças fisiológicas relacionadas à idade que ocorreram no período 60-75 não levaram a aumento da mortalidade em relação à faixa etária 15-30.

- *Fase 2:* Fêmeas 15-30 e 60-75 se comportaram de maneira diferente tanto na situação “privação de proteína” (lêvedo) como na “privação de carboidrato” (sacarose). As fêmeas 15-30 Priv Lev compensaram privação de proteína aumentando a ingestão de lêvedo no dia seguinte ao período de privação. As fêmeas 60-75 Priv Lev não exibiram mecanismo de compensação. Já na situação “privação de carboidrato”, fêmeas privadas das duas faixas etárias compensaram a privação ingerindo maior quantidade de dieta de sacarose que as respectivas controles. No entanto, as 15-30 Priv Sac ingeriram mais desta dieta que as 60-75 Priv Sac. No processo de compensação nutricional relacionada a um nutriente específico, maior resposta dos quimiorreceptores à estimulação com o nutriente em falta pode ocorrer. Sugerimos um declínio nesta mudança de resposta ao nutriente ausente com a idade da mosca.

- *Fase 3:* Apenas em uma das três situações de escolha por substrato para oviposição verificou-se mudança na preferência da fêmea com a idade. Enquanto as fêmeas 15-30 não demonstraram preferência por um dos substratos, as 60-75 o fizeram. Foi suposto um declínio da sensibilidade à sacarose com a idade, diminuindo a atratividade à oviposição

do substrato com mais sacarose pelas fêmeas 60-75. Também foi sugerida a hipótese que uma possível maior carga de ovos das fêmeas 15-30 poderia ter causado um declínio na seletividade das fêmeas durante a escolha por substratos.

- *Fase 4*: Poucos acasalamentos foram observados nos experimentos da Fase 4. O maior número (11) foi observado no grupo cujas fêmeas 15-30 tiveram que selecionar entre machos 15-30 com estados nutricionais diferentes. Supomos que o pequeno número de acasalamentos nos demais grupos possa estar associado à receptividade sexual das fêmeas 60-75, à formação de *leks* com machos de idades diferentes (15-30 e 60-75) e também às caixas experimentais utilizadas.

## ***7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

---

ALONSO-PIMENTEL, H.; KORER, J. B.; NUFIO, C. & PAPA, D. Role of colour and shape stimuli in host-enhanced oogenesis in the walnut fly, *Rhagoletis juglandis*. **Physiological Entomology**. v. 23, p. 97-104, 1998.

ALUJA, M. Bionomics and management of *Anastrepha*. **Annual Review of Entomology**. v. 39, p. 155-178, 1994.

ALUJA, M.; JÁCOME, I. & MACÍAS-ORDÓÑEZ, R. Effect of adult nutrition on male sexual performance in four neotropical fruit fly species of the genus *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). **Journal of Insect Behavior**. v. 14, n. 6, p. 759-775, 2001a.

ALUJA, M. & MANGAN, R. L. Fruit fly (Diptera: Tephritidae) host status determination: critical conceptual, methodological, and regulatory considerations. **Annual Review of Entomology**. v. 53, p. 473-502, 2008.

ALUJA, M.; PIÑERO, J. JÁCOME, I; DÍAZ-FLEISCHER, F. & SIVINSKI, J. Behavior of flies in the genus *Anastrepha* (Trypetinae: Toxotrypanini). In: ALUJA, M. & NORRBOOM, A. L. (Ed.) **Fruit flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior**. NY: CRC Press, 2000. cap. 15, p. 375-410.

ARKING, R. **Biologia do envelhecimento**. Ribeirão Preto: FUNPEC – Editora, 2008. 570p.

ASMAN, K. & EKBOM, B. Responses of oviposition moths to host plant deprivation: life history aspects and implications for intercropping. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 8, p. 213-219, 2006.

BARTON-BROWNE, L. B. Physiologically induced changes in resource-oriented behavior. **Annual Review of Entomology**, v. 38, p. 1-25, 1993.

BARTON-BROWNE, L. B. Quantitative aspects of regulation of ovarian development in selected anautogenous Diptera: integration of endocrinology and nutrition. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. v. 100, p. 137-149, 2001.

BATEMAN, M. A. The ecology of fruit flies. **Annual Review of Entomology**, v. 17, p.493-518, 1972.

BELL, W. J. Searching behavior patterns in insects. **Annual Review of Entomology**, v. 35, p. 447-467, 1990.

BERNAYS, E. A. Neural limitations in phytophagous insects: implications for breadth and evolution of host affiliation. **Annual Review of Entomology**. v. 46, p 703-727, 2001.

BLAY, S. & YUVAL, B. Nutritional correlates of reproductive success of male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). **Animal Behaviour**, v. 54, p. 59-66, 1997.

BRAGA, M. I. S. & ZUCOLOTO, F. S. Estudos sobre a melhor concentração de aminoácidos para moscas adultas de *Anastrepha obliqua* (Diptera, Tephritidae). **Revista Brasileira de Biologia**. v. 41, n. 1, p. 75-79, 1981.

BRESSAN, S. Desenvolvimento e potencial reprodutivo do macho de *Anastrepha* spp. (Diptera, Tephritidae) em condições naturais. **Revista Brasileira de Entomologia**. . v. 39, n. 4, p. 849-854, 1995.

BRESSAN, S. Desenvolvimento e potencial reprodutivo das fêmeas de *Anastrepha obliqua* (Macquart, 1835) (Diptera, Tephritidae) em condições naturais. **Revista Brasileira de Entomologia**. . v. 40, n. 1, p. 11-16, 1996.

CANATO, C. M. & ZUCOLOTO, F. S. Feeding behavior of *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae): Influence of carbohydrate ingestion. **Journal of Insect Physiology**. v. 44, n. 2, p. 149-155, 1998.

CANGUSSU, J. A. & ZUCOLOTO, F. S. Self-selection and perception threshold in adults females of *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). **Journal of Insect Physiology**. v. 41, n. 3, p. 223-227, 1995.

CARSTEN, L. D. & PAPA, D. Effects of reproductive state and host resource experience on mating decisions in a walnut fly. **Behavioral Ecology**. v. 16, p. 528-533, 2005.

CASPER, R. Nutrition and its relationship to aging. **Experimental Gerontology**. v. 30, p 299-314, 1995.

CHAPMAN, R. F. **The insects: structure and function**. Cambridge: University Press, 1998. 770p.

CHRISTENSON, L. D. & FOOTE, R. H. Biology of fruit flies. **Annual Review of Entomology**. v. 5, p. 171-192, 1960.

CRESONI-PEREIRA, C. & ZUCOLOTO, F. S. Dietary self-selection and discrimination threshold in wild *Anastrepha obliqua* females (Diptera: Tephritidae). **Journal of Insect Physiology**, v. 47, p. 1127-1132, 2001a.

CRESONI-PEREIRA, C. & ZUCOLOTO, F. S. Influence of quantities of brewer yeast on the performance of *Anastrepha obliqua* wild females (Diptera, Tephritidae). **Iheringia, Série Zoológica**, v. 91, p. 53-60, 2001b.

CRESONI-PEREIRA, C. & ZUCOLOTO, F. S. Influence of male nutritional conditions on the performance and alimentary selection of wild females of *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera, Tephritidae). **Revista Brasileira de Entomologia**. v. 50, n. 2, p. 278-292, 2006.

CRESONI-PEREIRA, C. & ZUCOLOTO, F. S. Moscas-das-frutas (Diptera). In: PANIZZI, A. R. & PARRA, J. R. P. (Ed.). **Bioecologia e nutrição de insetos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. cap. 18, p. 733-766.

CRNJAR, R. M. & PROKOPY, R. J. Morphological and electrophysiological mapping of tarsal chemoreceptors of oviposition-detering pheromone in *Rhagoletis pomonella* flies. **Journal of Insect Physiology**, v. 28, n. 5, p. 393-400, 1982.

DADD, R. H. Nutrition: Organisms. In: KERKUT, G. A. & GILBERT, L. I. (Ed.). **Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology**. Oxford: Pergamon Press, 1985. v.4, p.313-389.

DETHIER, V. G. Mechanism of host-plant recognition. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. v. 31, p. 49-56, 1982.

DÍAZ-FLEISCHER, F.; PAPAJ, D. R.; PROKOPY, R. J.; NORRBOM, A. L. & ALUJA, M. Evolution of fruit fly oviposition behavior. In: ALUJA, M. & NORRBOM, A. L. (Ed.). **Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior**. NY: CRC Press, 2000. cap. 30, p. 811-841.

DREW, R. A. I. & LLOYD, A. C. Bacteria associated with fruit flies and their host plants. In: ROBINSON, A. S. & HOOPER, G. (Ed.). **Fruit Flies Their Biology, Natural Enemies and Control – vol. 3A**. Amsterdam: Elsevier, 1989. cap. 3.1.3, p. 131-140.

DUKAS, R.; PROKOPY, R. J.; PAPAJ, D. R. & DUAN, J. J. Egg laying behavior of mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae): is social facilitation important? **Florida Entomologist**. v. 84, n. 4, p 665-671, 2001.



DUYCK, P. F.; DAVID, P.; PAVOINE, S. & QUILICI, S. Can host-range allow niche differentiation of invasive polyphagous fruit flies (Diptera: Tephritidae) in La Réunion? **Ecological Entomology**, v. 33, p. 439-452, 2008.

EDWARDS, P. J. & WRATTEN, S. D. **Ecologia das interações entre insetos e plantas**. São Paulo: Editora Pedagógica Universitária Ltda, 1981. 65p.

FERRO, M. I. T. & ZUCOLOTO, F. S. Influência da nutrição protéica no desenvolvimento da glândula salivar de machos de *Anastrepha obliqua*. **Científica**. v. 17, p. 1-5, 1989.

FONTELLAS, T. M. L. & ZUCOLOTO, F. S. Nutritive value of diets with different carbohydrates for adult *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae). **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 16, n. 4, p. 1135-1147, 1999.

FONTELLAS, T. M. L. & ZUCOLOTO, F. S. Effect of sucrose ingestion on the performance of wild *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae), **Neotropical Entomology**. v. 32, n. 2, p 209-216, 2003.

FONTELLAS-BRANDALHA, T. M. L. & ZUCOLOTO, F. S. Selection of oviposition sites by wild *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae) based on the nutritional composition. **Neotropical Entomology**. v. 33, n. 5, p 557-562, 2004.

FRECHETTE, B.; DIXON, A. F. G.; ALAUZET, C. & HEMTINNE, J. L. Age and experience influence patch assessment for oviposition by an insect predator. **Ecological Entomology**, v. 29, p. 578-583, 2004.

GOODENOUGH, J.; McGUIRE, B. & WALLACE, R. A. **Perspectives on animal behavior**. New York: John Wiley & Sons, Inc. 2001. 542p.

HUGHES, K. & REYNOLDS, R. M. Evolutionary and mechanistic theories of aging. **Annual Review of Entomology**, v. 50, p. 421-445, 2005.

JOAQUIM-BRAVO, I. S.; FERNANDES, O. A.; BORTOLI, S.A. & ZUCOLOTO, F. S. Oviposition preference hierarchy in *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae): Influence of female age and experience. **Iheringia, Série Zoológica**, v. 91, p. 93-100, 2001.

JOAQUIM-BRAVO, I. S.; MAGALHÃES, T. C.; SILVA-NETO, A. M.; GUIMARÃES, A. N. & NASCIMENTO, A. S. Longevity and fecundity of four species of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). **Neotropical Entomology**. v.32, n.4, p.543-549, 2003.

JOAQUIM-BRAVO, I. S. & SILVA-NETO, A. M. Aceitação e preferência de frutos para oviposição em duas populações de *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). **Iheringia Série Zoológica**. v. 94, n. 2, p. 171-176, 2004.

LEAL, T. A. B. S., ZUCOLOTO, F. S. Selection of artificial hosts for oviposition by wild *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae): influence of adult food and effect of experience. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.52, n.3, p.467-471, 2008.

MACK, P. D.; PRIEST, N. K. & PROMISLOW, D. E. L. Female age and sperm competition: last-male precedence declines as age increases. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences**, v. 270, p 159-165, 2002.

MAKLAKOV, A. A.; HALL, M. D.; SIMPSON, S. J.; DESSMANN, J.; CLISSOLD, F. J.; ZAJITSCHECK, F.; LAILVAUX, S. J.; RAUBENHEIMER, D.; BONDURIANSKY, R. & BROOKS, R. Sex differences in nutrient-dependent reproductive ageing. **Aging Cell**, v. 8, p. 324-330, 2009.

MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. & SUGAYAMA, R. L. Biogeografia. In: MALAVASI, A. & ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil – Conhecimento Básico e Aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. cap. 10, p. 93-98.

MANGAN, R. L. Adult diet and male-female contact effects on female reproductive potential in Mexican fruit fly (*Anastrepha ludens* Loew) (Diptera Tephritidae). **Ecology and Behavior**. v. 96, n. 2, p. 341-347, 2003.

MARTÍNEZ, I.; HERNÁNDEZ-ORTIZ, V. & LUNA, R. Desarrollo y maduration sexual em *Anastrepha serpentina* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Acta Zoológica Mexicana**, v. 65, p. 75-88, 1995.

MAYHEW, P. J. Herbivore host choice and optimal bad motherhood. **Trends in Ecology & Evolution**. v. 16, n. 4, p. 165-167, 2001.

MEDEIROS, L. **Influência da ingestão de uma fonte protéica na produção de ovos e na receptividade sexual de fêmeas adultas selvagens de *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae)**. 2008. 70f. Tese (Doutorado em Ciências – Área Entomologia) – Faculdade de Filosofia, Ciência e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

MEDEIROS, L.; CRESONI-PEREIRA, C. & ZUCOLOTO, F. S. Insects making choice: physiology related to choices in feeding, mating and oviposition. In: MAES, R. P. (Ed.). **Insect Physiology: New research**. Nova Science Publishers, Inc, 2008. cap. 4, p. 143-183.

MESSAGE, C.M. & ZUCOLOTO, F.S. Valor nutritivo do levedo de cerveja para *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae). **Ciência e Cultura**. v.32, n.8, p1091-1094, 1980.

MOORE, P. J. & MOORE, A. J. Reproductive aging and mating: The ticking of the biological clock in female cockroaches. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.98, n. 16, p. 9171-9176, 2001.

MORENO, D. S., ZALETA, D. A. O. & MANGAN R. L. Development of artificial diets for West Indian fruit fly (Diptera: Tephritidae). **J. Econ. Entomol.**, v. 90, p. 427-434, 1997.

NUFIO, C. R. & PAPA, D. R. Superparasitism of larval hosts by the walnut fly, *Rhagoletis juglandis*, and its implications for female and offspring performance. **Oecologia**. v. 141, p. 460-467, 2004.

PAPA, D. R. Ovarian dynamics and host use. **Annual Review of Entomology**. v. 45, p. 423-448, 2000.

POLONI, Y. J. **Aspectos do comportamento reprodutivo de algumas espécies de moscas-das-frutas do gênero *Anastrepha* Schiner, 1868 (Diptera: Tephritidae) em laboratório.** 1981. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Área Genética) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

PROKOPY, R. J. & REYNOLDS, A. H. Ovipositional enhancement through social facilitated behavior in *Rhagoletis pomonella* flies. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. v. 86, n. 3, p. 281-286, 1998.

PROKOPY, R. J. & ROITBERG, B. D. Foraging behavior of true fruit flies. **American Scientist**. v. 72, p. 41-49, 1984.

RAUBENHEIMER, D. & SIMPSON, S.J. The geometry of compensatory feeding in the locust. **Animal Behavior** .v. 45, p. 953-964, 1993.

RICE, M. J. The Sensory Physiology of Pest Fruit Flies: Conspectus and Prospectus. In: ROBINSON, A. S. & HOOPER, G. (Ed.). **Fruit Flies Their Biology, Natural Enemies and Control – vol. 3A.** Amsterdam: Elsevier, 1989. cap. 3.9, p. 249-272.

SADEGHI, H. & GILBERT, F. Oviposition preferences of aphidophagous hoverflies. **Ecological Entomology**, v. 25, p. 91-100, 2000.

SCHEIRS, J. Integrating optimal foraging and optimal oviposition theory in plant-insect research. **Oikos**. v 96, n. 1, p 187-191, 2002.

SCHEIRS, J.; DE BRUYN, L. & VERHAGEN, R. Optimization of adult performance determines host choice in a grass miner. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences** v. 267, n. 1457, p 2065-2069, 2000.

SELIVON, D. Biologia e padrões de especiação. In: MALAVASI, A. & ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil – Conhecimento Básico e Aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. cap. 2, p. 25-28.

SIEGEL, S. & CASTELLAN JR., N. J. **Estatística não paramétrica para ciências do comportamento**. São Paulo: Artmed Editora S.A., 2006. 448p.

SIMPSON, S. J. & RAUBENHEIMER, D. The geometric analysis of feeding and nutrition: a user's guide. **Journal of Insect Physiology**. v. 41, n. 7, p. 545-553, 1995.

SIMPSON, S. J. & RAUBENHEIMER, D. Feeding behaviour, sensory physiology and nutrient feedback: a unifying model. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 80, p. 55-64, 1996.

SIMPSON, S. J. & RAUBENHEIMER, D. Caloric restriction and aging revisited: the need for a geometric analysis of the nutritional bases of aging. **Journal of Gerontology: Biological Sciences**, v. 62A, n. 7, p. 707-713, 2007.

SIMPSON, S. J.; RAUBENHEIMER, D. & CHAMBERS, P. G. The mechanisms of nutritional homeostasis. In: CHAPMAN, R. F. DE BOER, G. (Eds.) **Regulatory mechanisms in insect feeding**. . NY: Chapman & Hall, 1995. cap. 9, p. 251-278.

SIMPSON, S. J. & SIMPSON, C. L. The mechanisms of nutritional compensation by phytophagous insects. In: BERNAYS, E. A. (Ed.) **Insect-Plant Interactions**. FL: CRC Press, Boca Raton, 1990. cap. 5, p. 111-160.

SINGER, M. C. The definition and measurement of oviposition preference in plant-feeding insects. In: MILLER, J. R. & MILLER, F. A. (Ed.). **Insect-Plant Interaction**. NY: Springer-Verlag, 1986. cap.3, p. 66-94.

SLANSKY, F., JR. Insect nutrition: an adaptationist's perspective. **Florida Entomologist**, v.65, n.1, p.45-71, 1982.

SOHAL, R. S. Aging in insects. In: KERKUT, G. A. & GILBERT, L. I. (Ed.). **Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology**. Oxford: Pergamon Press, 1985. v.10, p.595-631.

SUGAYAMA, R. L. & MALAVASI, A. Ecologia Comportamental. In: MALAVASI, A. & ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil – Conhecimento Básico e Aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. cap. 12, p. 103-108.

THOMPSON, J. N. Evolution ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. v. 47, p. 3-14, 1988.

TRIOLA, M. F. **Introdução à estatística**. Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora S. A., 1999. 410p.

TSITSIPIS, J. A. Nutrition. In: ROBINSON, A. S. & HOOPER, G. (Ed.). **Fruit Flies Their Biology, Natural Enemies and Control – vol. 3B**. Amsterdam: Elsevier, 1989. cap. 3.1, p. 103-119.

VAHED, K. The function of nuptial feeding in insects: a review of empirical studies. **Biol. Rev.** v. 73, p. 43-78, 1998.

VILELA, E. F. & KOVALESKI, A. Feromônios. In: MALAVASI, A. & ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil – Conhecimento Básico e Aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. cap. 11, p. 99-102.

WALDBAUER, G. P. & FRIEDMAN, S. Self-selection of optimal diets by insects. **Annual Review of Entomology**. v. 36, p. 43-63, 1991.

YUVAL, B.; KASPI, R.; SHLOUSH, S. & WARBURG, M. S. Nutritional reserves regulate male participation in Mediterranean fruit fly leks. **Ecological Entomology**, v. 23, p. 211-215, 1998.

ZUCCHI, R. Taxonomia. In: MALAVASI, A. & ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil – Conhecimento Básico e Aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. cap. 1, p. 13-24.

ZUCOLOTO, F. S. Feeding habitat of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae): Can larvae recognize a nutritionally effective diet? **Journal of Insect Physiology**. v.33, n.5, p. 349-353, 1987.

ZUCOLOTO, F. S. Egg production by *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) fed with different carbohydrates. **Revista Brasileira de Entomologia**. v. 36, n. 1, p 235-240, 1992.

ZUCOLOTO, F. S. Acceptability of different Brazilian fruits to *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) and fly performance on each species. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 26, p 291-298, 1993.

ZUCOLOTO, F. S. Alimentação e Nutrição. In: MALAVASI, A. & ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil – Conhecimento Básico e Aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. cap. 7, p. 67-80.

ZUCOLOTO, F. S.; PUSHEL, S. & MESSAGE, C. M. Valor nutritivo de algumas dietas artificiais para *Anastrepha obliqua*. **Boletim de Zoologia da Universidade de São Paulo**, v. 4, p. 75-80, 1979.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)