

Alberto Moreira Da Silva Neto

“Efeito do tamanho, da alimentação na fase adulta e da idade no sucesso de cópula de machos de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae).”

Universidade Federal da Bahia



Salvador

2007

Alberto Moreira Da Silva Neto

“Efeito do tamanho, da alimentação na fase adulta
e da idade no sucesso de cópula de machos de
Ceratitis capitata (Diptera: Tephritidae)”

Dissertação apresentada ao Instituto
de Biologia da Universidade Federal
da Bahia, para a obtenção de Título
de Mestre em Ecologia e
Biomonitoramento.

Orientador (a): Iara Sordi Joachim
Bravo

Salvador

2007

Ficha Catalográfica

Moreira silva-Neto, Alberto

Efeito do tamanho, da alimentação na fase adulta e da idade no sucesso de cópula de machos de *Ceratitis capitata* (Díptera : Tephritidae).

Número de páginas

Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia.

1. *Ceratitis capitata* 2. Comportamento reprodutivo 3. Sucesso de cópula
Universidade Federal da Bahia. Instituto de Biologia.

Comissão Julgadora:

Antonio Souza do Nascimento

Prof. Dr.

Maria Aparecida Castellani

Prof^{ta} Dra.

Iara Sordi Joachim Bravo

Prof^{ta} Dra.

Orientadora

Dedicatória

Dedico aos meus pais.

Eles me deram força, carinho e patrocínio durante toda a minha vida, para que eu conseguisse chegar até aqui hoje e realizasse esse sonho.

Epígrafe

- Os homens esqueceram essa verdade – disse ainda a raposa. - Mas tu não deves esquecer. Tu te tornas eternamente responsável por aquilo que cativas. Tu és responsável pela tua rosa...
- Eu sou responsável pela minha rosa... - repetiu o príncipezinho, para não se esquecer.

Saint-Exupéry em O Pequeno Príncipe
(tradução. Dom Marcos Barbosa)

Agradecimentos

Agradeço ao universo e suas multífaces, aos meus pais Manuel Cardoso Moreira Da Silva e Rosa Santana Da Silva, por todo o amor que deram ao longo de todos esses anos. Agradeço a Raquel Mei por ter sido minha companheira e meu amor desde que a conheci até hoje. Agradeço a Minha família por todo o amor dedicado a minha pessoa, principalmente minha irmã Raquel Santos Costa. Agradeço a minha nova família que ganhei recentemente Regina, Juliana, Raíssa, Patrícia e seu Dado por terem me acolhido como parte desta linda família. Agradeço a brilhante orientação e amizade prestada a mim pela minha eterna orientadora e mãe científica Iara Sordi Joachim Bravo. Ainda me lembro quando eu cheguei em 1999 com uma boina na cabeça e uma mochila jeans nas costas perguntando se ela trabalhava com baratas e ela me transformou em um aprendiz de cientista e me fez amar as moscas. Agradeço também a equipe maravilhosa do LENI (Laboratório de ecologia nutricional de insetos), por terem se transformado em partes inseparáveis de minha vida. Dentre elas Lenildes minha avó de consideração que muito amo, Kelly minha eterna companheira e amiga, Anne minha grande pequena amiga, Fernanda a cantora, Cintya a garota organização, Claudia e sua mania de falar moço, Aninha e o seu amor pela biologia marinha, Francis a menina oi, Évila a menina que fala alto, seu Luís o nosso professor pardal, Tatiana a garota bactéria, Analice a ativista animal, Agacy a senhora desconcertante, Carminha a mãe conselheira e por último aquela pesquisadora que merecia receber ao meu lado o título de mestre, pois foi ela que esteve comigo em 99% das vezes, ajudando na manutenção das moscas, na realização dos experimentos, na medição das 9341 asas, enfim sem ela eu não conseguiria fazer a quantidade e qualidade dos experimentos que fiz. O nome dela vocês ainda vão escutar por aí nos meios científicos, Vanessa Simões Dias. Agradeço também a todos os amigos da farofa, dentre eles em especial Thiago Siriema, Taty Fonfon, Marcos, Rosa e Dani. Agradeço também ao meu eterno amigo que foi o grande responsável pela minha colocação de entrada no mestrado, pois estudamos juntos e aprendi muito com ele, Fábio ATP. Agradeço a todos os amigos do mestrado, dentre eles em especial, Betânia Figueiredo e Catarina Marcolin, pela ajuda prestada com a estatística, Milena pelas ligações de madrugada, Augustin pelo apoio moral e todos os outros que me ajudaram de alguma forma, nesta minha caminhada. Agradeço aos professores do mestrado por todo conhecimento passado a mim por eles, em especial Pedro Rocha e Francisco Barros, pela ajuda estatística a mim prestada. Agradeço ao Instituto de Biologia e ao Programa de Pós Graduação em Ecologia da UFBA, por possibilitar a realização do meu mestrado. Agradeço a Fapesb (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia) pela bolsa de mestrado concedida, e pelo apoio regular cedido ao meu projeto de mestrado, pois sem isso eu não teria conseguido realizá-lo da forma como o fiz. Agradeço a todos os meus amigos do Instituto de Biologia. Agradeço aos meus amigos, que conquistei e mantive na vida, dentre eles a pirâmide, Theo, Alexandre e Vitor. Agradeço a meu amigo Gob e seus súditos pelos momentos de alegria compartilhados. Enfim agradeço a todos aqueles que inclusive não agradei aqui porque esqueci. Amarei eternamente todos vocês. Pois assim como um homem ao pisar na Lua falou, que deu um pequeno passo para ele e um enorme passo para a humanidade, eu sinto que ao final deste mestrado, dou um pequeno passo para pessoas que não são ligadas a mim, e um enorme passo para todas aquelas que amo.

Índice

Introdução geral	09
Veiculo de futura publicação do artigo 1	13
Título e autores do artigo 1	14
Título do artigo 1	15
Abstract artigo 1	16
Resumo artigo 1	17
Introdução artigo 1	18
Material e métodos artigo 1	19
Resultados artigo 1	24
Discussão artigo 1	29
Agradecimentos artigo 1	36
Referências artigo 1	36
Veiculo de futura publicação do artigo 2	43
Título e autores artigos 2	44
Título do artigo 2	45
Abstract artigo 2	46
Resumo artigo 2	47
Introdução artigo 2	48
Material e métodos artigo 2	49
Resultados artigo 2	54
Discussão artigo 2	59
Agradecimentos artigo 2	64

Referências artigo 1	64
Veículo de futura publicação do artigo 3	71
Título e autores artigos 3	72
Título do artigo 3	73
Abstract artigo 3	74
Resumo artigo 3	75
Introdução artigo 3	76
Material e métodos artigo 3	77
Resultados artigo 3	81
Discussão artigo 3	84
Agradecimentos artigo 3	88
Referências artigo 3	88
Conclusão geral dos três artigos	95
Referências da introdução geral	97
Apêndice 1: tabelas do tamanho das asas dos machos do artigo 2	102
Apêndice 1: tabelas do tamanho das asas dos machos do artigo 3:	103
Anexo 1: normas para publicação na Neotropical Entomology	104

Introdução geral

De acordo com a seleção sexual proposta por Darwin (1859,1871), existem dois tipos de processos que podem ocorrer para a evolução das características sexuais. Um é a seleção intra-sexual, que acontece entre os machos, privilegiando aqueles que apresentam características mais exuberantes e, portanto, são supostamente mais aptos para lutar e vencer os outros machos pela conquista das parceiras. O outro é a seleção inter-sexual que consiste na escolha de indivíduos de um sexo pelos indivíduos do outro, sendo que, usualmente, as fêmeas escolhem os machos (Alcock & Gwynne 1991). Assim, os machos com características mais evidentes, mais simétricos ou mais atrativos são propensos a ter uma vantagem seletiva porque são, provavelmente, os mais escolhidos pelas fêmeas e devem obter maior sucesso de acasalamento (Moller & Pomarkowski 1993, Moller 1990).

O sistema de “lek” constitui um dos inúmeros tipos de sistemas de acasalamentos, cuja seleção é do tipo inter-sexual, sendo presente em muitas espécies de vertebrados e invertebrados, no quais machos defendem certo território visitado pelas fêmeas, competindo entre si, com o único objetivo de copularem (Hoglund & Atalo 1995, Shelly & Whittier 1997). Uma das vantagens para a evolução desse tipo de sistema seria o fato da possibilidade da fêmea comparar machos adjacentes, reduzindo custos em buscar parceiros sexuais e ainda tendo a possibilidade de realizar comparações entre eles (Thornhill & Alcock 1983).

Entre os insetos, a maioria dos comportamentos de agregação em “leks” ocorre na ordem Diptera, mais precisamente na família Tephritidae (Shelly & Whittier 1997).

Os insetos da família Tephritidae são bastante conhecidos em todo o mundo por infestarem frutos de grande interesse econômico (Malavasi *et al.* 2000, Zucchi 2000). Dentre as espécies desta família encontra-se a *Ceratitis capitata* (Wiedemann) conhecida como a

mosca do Mediterrâneo, sendo considerada entre os Tephritidae, como a mais prejudicial praga agrícola da fruticultura mundial (Metcalf 1995). Essa espécie possui uma ampla diversidade de hospedeiros, causando sérios danos aos mesmos pelo seu comportamento de oviposição, no qual a fêmea injeta seus ovos no fruto, as larvas eclodem e se alimentam da polpa deste, escavando galerias internas e prejudicando a viabilidade de comercialização dos mesmos (Fletcher 1989).

No Brasil a *C. capitata* foi registrada pela primeira vez em 1901, no Estado de São Paulo (Ihering 1901). Desde então, devido a sua alta capacidade de adaptabilidade a novos hospedeiros, tem se espalhado por todas as regiões do Brasil, auxiliada pelas ações antrópicas ou por dispersão natural (Malavasi *et al.* 1980, Azevedo *et al.* 1998, Garcia *et al.* 2003, Gonçalves *et al.* 2006).

Assim como boa parte dos Tephritideos, a *C. capitata* possui seu sistema de acasalamento baseado em “leks” (Prokopy & Hendrichs 1979, Arita & Kaneshiro 1989, Whittier *et al.* 1992). Nesses “leks”, os machos disputam entre si para copularem com uma fêmea (Arita & Kaneshiro 1989, Whittier *et al.* 1992, Kaspi *et al.* 2000, Briceño & Eberhard 2002). Os “leks” contêm entre 2 a 10 machos, os quais soltam uma gota de feromônio sexual através da elevação da parte posterior de seu abdome e eversão da porção membranosa de seu epitélio retal. (Feron 1962, Liimatainen *et al.* 1997, Calcagno *et al.* 1999, Briceño *et al.* 1997, Briceño & Eberhard 2000). O sucesso de cópula de um macho de *C. capitata* depende da sua presença no “lek” e, posteriormente, dele ser escolhido pela fêmea entre todos os machos ali presentes para copular (Kaspi *et al.* 2000).

As fêmeas de *C. capitata* discriminam entre os machos do “lek” e rejeitam a maioria das manifestações de corte, conduzindo a uma cópula diferencial com machos mais bem sucedidos (Whittier & Kaneshiro 1995). Esse fato leva a crer que deve existir uma grande

variação no sucesso reprodutivo dos machos presentes, envolvendo uma forte seleção sexual (Shuster & Wade 2003).

Os machos presentes nos “leks”, por sua vez, devem variar muito quanto a vários fatores, os quais podem ser importantes no momento dos mesmos serem selecionados pelas fêmeas. Dentre esses fatores pode-se citar: o tamanho do corpo, intensidade de emissão de feromônio, idade e sucesso de forrageamento por alimento (principalmente proteína) antes da sua entrada no “lek” (Thorhill & Alcock 1983, Hoglund & Atalo 1995, Shelly & Whittier 1997, Blay & Yuval 1997, Kaspi & Yuval 2000, Kaspi *et al.* 2000).

Dentre as principais técnicas de controle da *C. capitata*, que não utilizam defensivos agrícolas, destaca-se a técnica do inseto estéril (TIE) (Hendrichs *et al.* 2002). Ela consiste na liberação de um grande número de machos estéreis na natureza, para que eles copulem com as fêmeas selvagens tornando os ovos destas inviáveis, diminuindo os níveis populacionais desta praga geração a geração (Briceño *et al.* 2007). Essa técnica permite um controle populacional da praga em questão, sendo utilizada em larga escala em muitas partes do mundo (Hendrichs *et al.* 2002). Para o sucesso da técnica é imperativo que os machos estéreis soltos em campo consigam formar ou participar de “leks”, atraiam e cortejem as fêmeas selvagens, copulem com elas inseminando-as e que ,finalmente ,inibam a receptividade delas a realizarem cópulas futuras com outros machos, tudo isso enquanto competem com machos selvagens (Yuval *et al.* 2007). Essa técnica utiliza machos de linhagens específicas de laboratório, os quais são facilmente produzidos, aos milhões por semana, em biofábricas (Hendrichs *et al.* 1995).

O Brasil ocupa a terceira posição na produção mundial de frutos, porém a exportação desta produção enfrenta dificuldades impostas pelos países importadores, quanto às restrições quarentenárias (Santos 2003). A região Nordeste destaca-se em relação à produção de frutos in natura, principalmente os frutos adaptados a condições tropicais, sendo que na Região do Sub-médio São Francisco (Juazeiro(Bahia)/Petrolina(Pernambuco)) encontra-se o maior pólo

de fruticultura irrigada do nordeste do país (Santos 2003). Nesta região, devido a sua importância estratégica citada acima, foi implantada recentemente a Biofábrica Moscamed Brasil, com a finalidade da utilização da técnica do macho estéril no combate a *C.capitata*.

Uma das preocupações constantes com relação aos machos oriundos dessas criações em laboratório e em biofábricas, é que eles, geralmente, podem ter menor habilidade de copular com as fêmeas selvagens quando comparados aos machos selvagens (Briceno & Eberhard 2002, Briceño *et al.* 2007). Sendo assim, trabalhos com relação à análise de fatores e características que possam influenciar ou, até mesmo, dar certa vantagem para o sucesso de cópula desses machos estéreis, ou pelo menos diminuir a desvantagem deles frente aos selvagens, são de grande importância.

Neste trabalho analisou-se a influência do tamanho, da idade e da ingestão ou não de proteína na fase adulta dos machos de *C. capitata*, criados em laboratório, no seu sucesso de cópula.

Veículo para qual o artigo 1 será submetido:

Revista: Neotropical Entomology (Formerly Anais da Sociedade Entomológica do Brasil).

Alberto Moreira Da Silva Neto

E-mail: Bio.alberto@gmail.com

Comportamento Reprodutivo de *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae): Efeito do Tamanho dos Machos Sobre o Seu Sucesso de Cópula.

Alberto M. Da Silva Neto¹ e Iara S. Joachim-Bravo²

^{1,2} Depto. Biologia Geral, Instituto de Biologia, Univ. Federal da Bahia. Rua Barão de Geremoabo, s/n. Campus Universitário de Ondina, 40.170-290. Salvador, BA.

¹ bio.alberto@gmail.com ² iara_bravo@yahoo.com.br

Comportamento Reprodutivo de *Ceratitis capitata* Wiedemann (Díptera: Tephritidae): Efeito do Tamanho dos Machos Sobre o Seu Sucesso de Cópula.

Reproductive Behavior of *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) : Effect of the Male Size on the Copula Success.

ABSTRACT- This work evaluated the influence of size on the copula success in *Ceratitis capitata*. To assure the production of different adult sizes (big and small), two groups of larvae had been fed with different protein concentrations. Subsequently, adult males of both groups had been compared in terms of copula success and amount of males who showed the first step of courtship (emission of sexual pheromone). The copula success in laboratory was evaluated with males in some ratios, which the number of big males with 5 days of life (an unique male) in relation to a gradual increase of small males with same age kept constant. The tested ratios had been 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, and 1:10. In the experiments of copula success in the 1:1 ratio and the ones of pheromone emission, they had been tested small male of different ages (5, 9 or 13 days), whereas the age of the big males kept constant (5 days). Experiments of copula success in the 1:1 ratio had been also carried through in field cage. It was prove that the big males had taken advantage in all the parameters analyzed in laboratory, emitting pheromone and having a bigger copula success, exactly when the age of the small males was varied. The size effect was so significant, that in the ratio of 1 big male for 10 small males, the females had still chosen the big males. In field cage, the results had been similar to the ones of laboratory.

KEY WORDS: Fruit Fly, Sexual Selection , Courtship.

RESUMO - Neste trabalho avaliou-se a influência do tamanho de machos de *Ceratitis capitata* no seu sucesso de cópula. Para assegurar a produção de machos adultos de diferentes tamanhos (grandes e pequenos), dois grupos de larvas foram alimentados com diferentes concentrações de proteína. Subseqüentemente, machos adultos de ambos os grupos foram comparados em termos de seu sucesso de cópula (estimado pela capacidade de ser escolhido pela fêmea) e de quantidade de machos que emitiram feromônio. O sucesso de cópula em laboratório foi avaliado com machos em várias proporções, nas quais se manteve constante o número de machos grandes com 5 dias de idade (um único macho) em relação a um aumento progressivo de machos pequenos com mesma idade. As proporções testadas foram 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, e 1:10. Nos experimentos de sucesso de cópula na proporção 1:1 e nos de emissão de feromônio, foram testados machos pequenos de diferentes idades (5, 9 ou 13 dias), enquanto que a idade dos machos grandes se manteve constante (5 dias). Experimentos de sucesso de cópula na proporção 1:1 também foram realizados em gaiola de campo. Evidenciou-se que os machos grandes levaram vantagem em todos os parâmetros analisados em laboratório, emitindo mais feromônio e tendo um maior sucesso de cópula, mesmo quando a idade dos machos pequenos foi variada. O efeito de tamanho foi tão significativo, que na proporção de 1 macho grande para 10 machos pequenos, as fêmeas ainda escolheram os machos grandes. Em gaiola de campo os resultados foram similares aos de laboratório.

PALAVRAS-CHAVE: Mosca-das-frutas, Seleção sexual, Corte

Muitas espécies de vertebrados e invertebrados possuem um sistema de acasalamento em “lek”, no qual machos defendem certo território visitado pelas fêmeas, com o único objetivo de copularem. (Hoglund & Atalo 1995, Shelly & Whittier 1997). Entre os insetos a maioria dos comportamentos de agregação em leks ocorre na ordem Díptera, mais precisamente na família Tephritidae (Shelly & Whittier 1997). A mosca das frutas *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae), que é uma praga agrícola de importância mundial (Malavasi *et al.* 1980), possui seu sistema de acasalamento baseado em leks. (Prokopy & Hendrichs 1979, Arita & Kaneshiro 1989, Whittier *et al.* 1992). Esses “leks” contêm entre 2 à 10 machos, os quais soltam uma gota de feromônio sexual a partir de suas respectivas glândulas anais evertidas, para atraírem as fêmeas. (Flath *et al.* 1993, Eberhard 1999). O sucesso de cópula de um macho de *C. capitata* depende, da sua presença no “lek” e, posteriormente, dele ser escolhido pela fêmea entre todos os machos ali presentes para copular (Kaspi *et al.* 2000;).

Os machos presentes nos “leks” podem variar muito quanto a vários fatores, que podem ser importantes no momento dos mesmos serem selecionados pelas fêmeas. Dentre esses fatores pode-se citar: o tamanho do corpo, comprimento (asas e tórax) e largura (olhos e face) de determinadas partes do corpo, intensidade de emissão de feromônio, posição no “lek” e sucesso de forrageamento por alimento antes da sua entrada no “lek”. (Thorhill & Alcock 1983, Hoglund & Atalo 1995, Blay & Yuval 1997, Shelly & Whittier 1997, Kaspi *et al.* 2000, Kaspi & Yuval 2000, Rodriguero *et al.* 2002).

Nos insetos, de modo geral, o tamanho do corpo é um fator importante na competitividade reprodutiva do adulto, o qual pode influenciar na capacidade de dispersão, na escolha do parceiro e no sucesso de acasalamento (Slansky & Scriber 1985). Em insetos holometábolos, essa característica, assim como outras – tempo de desenvolvimento e amadurecimento sexual – são fortemente influenciadas pela ingestão de proteína na fase imatura (Zucoloto 1988, Bruzzone *et al.* 1990, Economopoulos *et al.* 1990, Kaspi *et al.*

2001), o que indica que a qualidade nutricional na fase larval também deve ser um fator relevante no sucesso de cópula dos machos.

Em *C. capitata* a questão dos machos maiores serem sexualmente mais competitivos e atraírem mais as fêmeas em relação aos machos menores têm sido bastante discutida (Partridge & Farquhar 1983), especialmente em criação massal (Burk & Webb 1983, Churchill Stanland *et al.* 1986). No entanto, os efeitos do tamanho do macho de *C. capitata* sobre a receptividade da fêmea para cópula, ainda são controversos. Uma série de estudos demonstra uma ampla vantagem de sucesso de cópula para os machos maiores (Churchill-Stanland *et al.* 1986, Blay & Yuval 1997, Taylor & Yuval 1999), entretanto, em outros trabalhos esta vantagem não foi estabelecida (Arita & Kaneshiro 1988, Whittier *et al.* 1994, Whittier & Kaneshiro 1995).

Um método de controle da espécie *Ceratitidis capitata* utilizado em larga escala em algumas partes do mundo é a técnica do inseto estéril (Hendrichs *et al.* 1995). Para que essa técnica tenha sucesso é fundamental que os machos estéreis de laboratório soltos na natureza consigam competir com sucesso com os machos selvagens e copulem com as fêmeas selvagens. (Knipling *et al.* 1989). Dessa forma, estudos que analisem os fatores que influenciam o sucesso de cópula dos machos de *C. capitata* são de fundamental importância.

Neste trabalho analisou-se o efeito do tamanho dos machos de *C. capitata* sobre o seu sucesso de cópula sob condições de laboratório e em gaiola de campo.

Material e métodos

A população de *C. capitata* utilizada nos experimentos foi mantida sob condições de laboratório, sem a introdução de moscas selvagens desde 1980, de acordo com Zucoloto (1987). Os adultos receberam diariamente água e uma dieta artificial contendo 6.5 g de lêvedo (Mãe-Terra, Mãe-Terra Produtos Naturais Ltda.), 11.0 g de açúcar (União, União de Refinadores do Brasil), 2.0 g de agar-agar (Isofar, Isofar Indústria e Comércio de Produtos

Químicos Ltda.), 1.0 g ácido cítrico (Vetec, Vetec Química Fina Ltda.), 1.0 g de nipagin (Isofar), e 100 mL de água destilada (Zucoloto *et al.* 1979).

Para obtenção de machos adultos de diferentes tamanhos, dois grupos de larvas foram criados em uma de duas dietas contendo concentrações distintas de lêvedo (fonte de proteína): uma com 7,0g de lêvedo por 100mL de dieta (dieta de alta concentração protéica) e outra com 3,0g de lêvedo por 100mL de dieta (dieta de baixa concentração protéica). Todos os outros componentes foram mantidos nas mesmas proporções da dieta dos adultos.

Todas as larvas eram retiradas da dieta e colocadas na areia para puparem após 6 dias de eclosão da larva, que é o tempo médio observado para a duração do estágio larval dos imaturos criados na dieta de alta concentração de proteína. Esse procedimento foi realizado para evitar que as larvas mantidas na dieta de baixa concentração de lêvedo conseguissem compensar este déficit de proteína, passando mais tempo ingerindo dieta e emergissem com tamanho similar aos oriundos da dieta de 7,0g de lêvedo.

Machos recém-emergidos, oriundos da dieta de alta concentração protéica, foram denominados de “machos grandes” e os da dieta de baixa concentração foram designados “machos pequenos”.

Em todos os experimentos, machos recém-emergidos, de ambos os grupos foram separados em gaiolas plásticas (16x11x10cm) nas quais receberam um tratamento idêntico aos dos adultos da criação. Os machos grandes foram mantidos nessas gaiolas plásticas por quatro dias, enquanto que os machos pequenos, foram mantidos por quatro, oito ou doze dias a depender do experimento que foi realizado. As fêmeas foram provenientes de uma dieta com a mesma concentração protéica dos machos grandes e receberam o mesmo tratamento desses.

Machos de cada grupo foram previamente marcados, na porção dorsal do tórax com tinta atóxica de diferentes cores, 24 horas antes de cada experimento, para futura identificação. As cores foram alternadas em cada repetição.

Os experimentos foram divididos em duas partes: experimentos em laboratório e em gaiola de campo.

Experimentos em laboratório.

Em laboratório foram feitos testes de seleção sexual da fêmea entre machos de diferentes tamanhos e testes de comparação do número de machos de diferentes tamanhos que emitiam feromônio sexual. Todos os experimentos foram realizados na temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e com, aproximadamente, 70% de umidade relativa.

1. Seleção sexual

1a) Escolha da fêmea na proporção de machos 1:1. Nesse experimento dois machos adultos (um grande com cinco dias de idade e outro pequeno com cinco, nove ou treze dias de idade) foram colocados em uma caixa plástica (10x5cm) juntamente com uma fêmea bem nutrida na fase larval com cinco dias de idade. Foram testados machos pequenos de diferentes idades, porque se sabe que a deficiência protéica na fase imatura, além de causar uma diminuição de tamanho, também pode causar o retardamento da maturação sexual (Kaspi 2002). A ocorrência de cópulas foi monitorada a cada 5 minutos das 08:00 às 15:00h durante 2 dias consecutivos. A finalização dos experimentos ocorreu as 15:00h, porque em observações prévias notaram-se poucas ou nenhuma cópula em laboratório a partir desse horário. Cada casal em cópula foi retirado para identificação do macho. Foram feitas 100 repetições com gerações alternadas.

1b) Os testes com diferentes proporções de machos foram realizados quando as fêmeas, no experimento anterior, exibiram preferência sexual por machos grandes de 5 dias de idade em relação a machos pequenos de 5 dias. A montagem desse experimento seguiu a metodologia empregada no experimento 1a, com a única diferença de que, em cada caixa experimental, era colocado um único macho do grupo preferido no experimento 1a e adicionava-se uma proporção crescente de machos do grupo não preferido. Esses

experimentos foram realizados para determinar a capacidade da fêmea escolher o macho do grupo preferido dentro de um conjunto crescente de machos do grupo não preferido. As proporções (macho grande: macho pequeno) testadas foram: 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:10. Para cada proporção foram realizadas 30 repetições com gerações alternadas.

2. Emissão de feromônio.

As frequências de emissão de feromônio sexual entre machos dos dois grupos de tamanhos foram comparadas em experimentos realizados em uma gaiola de laboratório disposta sobre uma bancada. A gaiola (68x68x90cm) era feita de PVC, revestida com tela, e apresentava uma abertura lateral para a entrada dos braços e cabeça do observador. Dentro dela era acondicionada uma muda de pitanga (*Eugenia uniflora*) envasada, com 60 cm de altura e 40cm de raio de copa e pedaços de maçã (*Malus domestica*) dispostos nas extremidades dos galhos. Quarenta machos, previamente marcados, sendo vinte grandes com 5 dias de idade e vinte pequenos com 5 dias de idade, foram acondicionados nesta gaiola e monitorados quanto à emissão de feromônio por um período de 1 hora (08:00h as 09:00h). Esse horário foi escolhido por ter sido considerado o período de pico de ocorrência de cópulas, em experimentos preliminares. Cada macho que liberava a gota de feromônio era retirado para identificação e posterior medição do tamanho da asa. Após a finalização do experimento, os machos que não emitiram feromônio, também foram fixados e medidos. Foram feitas 5 repetições com gerações alternadas. A metodologia para testar cada uma das comparações entre o número de machos grandes de 5 dias e os machos pequenos com 9 ou 13 dias que emitiam feromônio foi a mesma descrita acima. A única diferença é que, nesse caso, foram comparados machos grandes de 5 dias com relação a machos pequenos com 8 dias de idade e machos grandes de 5 dias com relação a machos pequenos com 13 dias de idade.

Experimentos em gaiola de campo.

Esses experimentos foram realizados em gaiola de campo (230X150X230cm), no Campus de Ondina da Universidade Federal da Bahia, Salvador/Bahia, no período de janeiro de 2006 a janeiro de 2007. Os experimentos foram montados somente em dias ensolarados com temperatura entre 26 a 37°C. A umidade relativa variou entre 60% e 77%.

Seleção sexual em gaiola de campo.

Foram utilizadas gaiolas (230X150X230cm), nas quais era acondicionada uma muda de pitanga (*Eugenia uniflora*), com, aproximadamente, 107cm de altura e raio de copa em torno de 40cm, colocada sobre um banco de madeira com 60 cm de altura, com pedaços de maçã (*Malus domestica*) dispostos nas extremidades dos galhos. Nessas gaiolas foram introduzidos cem machos (cinquenta grandes com 5 dias de idade e cinquenta pequenos com 5 dias de idade de idade, previamente marcados por tinta atóxica com cores distintas), juntamente, com cinquenta fêmeas de 5 dias de idade, oriundas da dieta de 7g de lêvedo. A ocorrência de cópulas foi monitorada a cada 5 minutos, das 08:00h às 13:00h. Cada casal em cópula era gentilmente retirado para identificação do macho e posterior medição do tamanho da asa. Sempre que um casal era retirado observava-se a origem do macho em cópula e retirava-se um macho do grupo oposto. Este procedimento visou manter dentro da gaiola sempre a proporção de machos com diferentes tamanhos em 1:1. Foram feitas 5 repetições com gerações alternadas. Ao final do experimento todos os machos que não copularam também foram coletados e fixados para medidas biométricas. A metodologia utilizada para testar cada uma das comparações entre o número de machos grandes de 5 dias e os machos pequenos com 9 ou 13 dias que emitiam feromônio foi a mesma descrita acima, com a única diferença que nesses testes foram comparados machos grandes de 5 dias com relação a machos pequenos com 9 dias de idade e machos grandes de 5 dias com relação a machos pequenos com 13 dias de idade.

Medidas biométricas.

Ao final dos experimentos todos os machos foram fixados em álcool à 70%, para medição do tamanho da asa esquerda (distância entre a nervura R4+5 a m-cu), como estimativa do tamanho do corpo (Zucoloto,1987). Estas medidas foram feitas com auxílio de um estereomicroscópio munido de ocular micrométrica com conversão de 0,5mm em um aumento de 20 vezes.

Análise estatística.

Todos os dados dos experimentos de seleção sexual em laboratório foram analisados usando o teste do Qui-quadrado com auxílio do programa StatSoft, Inc. (2001). STATISTICA (data analysis software system), version 6. A frequência de cópulas esperada para cada tipo de macho (Esperado) utilizada em todos os teste de Qui-quadrado foi calculada pela seguinte fórmula - $Esperado = Nr/TM \times Mi$, na qual “Nr” é número total de repetições, “TM” o número total de machos dentro de cada caixa experimental e “MI” número de machos do tipo em interesse dentro de cada caixa do experimento. Para análise dos dados de emissão de feromônio e de seleção sexual em gaiola de campo, foi utilizado o teste t não pareado, com o auxílio do programa GraphPad InStat version 3.00 for Windows 95, GraphPad Software, San Diego California USA. Para comparação entre o tamanho das asas dos diferentes grupos de idades em cada experimento, utilizou-se também o teste t não pareado. Todos os dados, nos quais o teste t foi aplicado, passaram no teste de normalidade de Kolmogorov e Smirnov. Em alguns casos nos quais os dois grupos comparados não possuíam homogeneidade de variâncias, a correção de Welch foi aplicada para possibilitar a utilização do teste t. Em todos os testes estatísticos utilizados assumiu-se o alfa de 5%.

Resultados

Seleção sexual em laboratório.

Nesses experimentos (Fig. 1), as fêmeas preferiram copular com os machos grandes de 5 dias em relação aos machos pequenos de 5, 9 ou 13 dias de idade (teste do Qui-quadrado:

grande 5 dias *versus* pequeno 5 dias $X^2= 81,00000$ $df=1$ $p < 0,00001$ – (Fig. 1a); grande 5 dias *versus* pequeno 9 dias $X^2= 51,84000$ $df=1$ $p < 0,00001$ – (Fig. 1b) e grande 5 dias *versus* pequeno de 13 dias $X^2= 77,44000$ $df=1$ $p < 0,00001$ – (Fig. 1c).

Como ocorreu uma preferência da fêmea para copular com os machos grandes de 5 dias em relação aos machos pequenos de mesma idade, na proporção 1:1 (grande:pequeno), foram realizados os experimentos de escolha da fêmea entre um macho grande de 5 dias frente a uma proporção crescente de machos pequenos, também de 5 dias. Em todas as proporções (macho grande: macho pequeno) testadas, as fêmeas preferiram copular com os machos grandes em relação aos pequenos (Fig. 2) (teste do Qui-quadrado – proporção 1:2, $X^2 = 38,40000$ $df=1$ $p < 0,000000$; proporção 1:3, $X^2 = 67,60000$ $df=1$ $p < 0,000000$; proporção 1:4, $X^2 = 67,50000$ $df=1$ $p < 0,000000$; proporção 1:5, $X^2 = 77,76000$ $df=1$ $p < 0,000000$ e proporção 1:10, $X^2 = 134,5088$ $df=1$ $p < 0,000000$).

As medidas biométricas evidenciaram que as medidas das asas dos machos grandes sempre foram maiores do que as dos machos pequenos, (tabela 1), confirmando a diferença de tamanho dos machos confrontados.

Emissão de feromônio.

Os resultados desses experimentos mostraram que o número de machos grandes de 5 dias que emitiram feromônio foi superior ao de machos pequenos de 5, 9 ou 13 dias de idade, que efetuaram esse comportamento (Fig. 3) (teste t não pareado: machos grandes de 5 dias *versus* machos pequenos de 5 dias, $p = 0.0014$; machos grandes de 5 dias *versus* machos pequenos de 9 dias, $p = 0.0008$; machos grandes de 5 dias *versus* machos pequenos de 13 dias, $p= 0.0067$).

Em todas as gaiolas de emissão de feromônio, os machos grandes sempre apresentaram asas maiores do que os machos pequenos (teste t não pareado) (Tabela 2).

Seleção sexual em gaiola de campo.

Em gaiolas de campo (Fig. 4) as fêmeas também preferiram copular com os machos grandes de 5 dias em relação aos machos pequenos de mesma idade (teste t não pareado a 5% de significância; $p=0.0003$).

Assim como nos outros experimentos, os machos grandes testados sempre apresentaram asas maiores do que os machos pequenos (teste t não pareado) (Tabela 3).

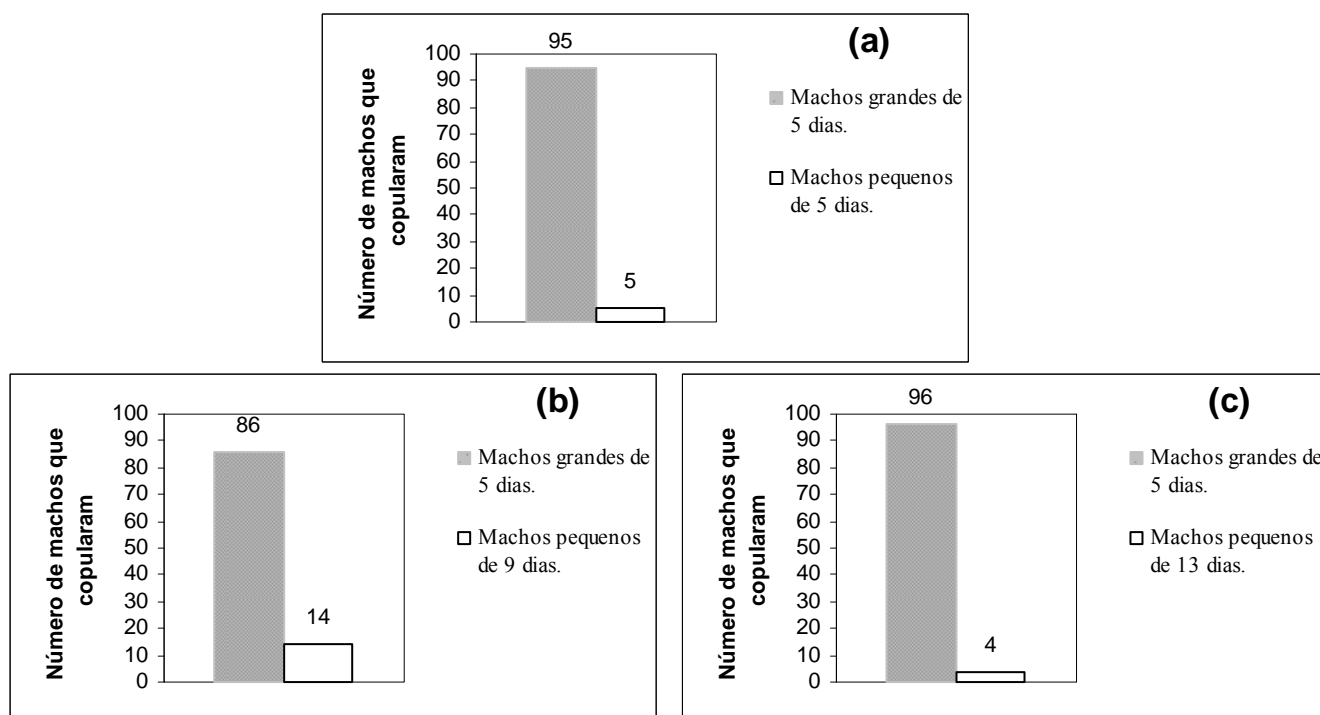


Figura 1. Escolha da fêmea para cópula na proporção 1:1. (a) Machos grandes de 5 dias *versus* machos pequenos da mesma idade. (b) Machos grandes de 5 dias *versus* machos pequenos de 9 dias. (c) Machos grandes de 5 dias *versus* machos pequenos de 13 dias. Os resultados representam o número de machos de cada grupo que copularam. Foram feitas 100 repetições para cada idade de macho pequeno. Houve diferença estatística em todos os casos. (Qui-quadrado com $\infty = 0,05$).

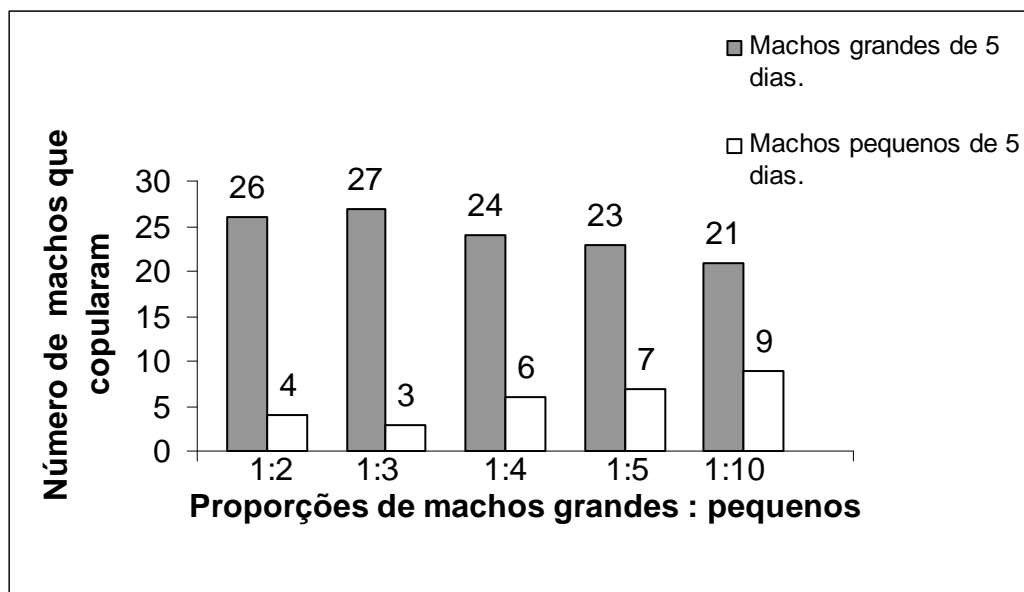


Figura 2. Capacidade da fêmea para escolher (avaliado pela aceitação de cópula) o macho grande frente a um crescente número de machos pequenos. Os resultados representam o número de cópula dos machos de cada grupo de tamanho em 30 repetições para cada proporção. Todos os machos testados tinham 5 dias de idade. Houve diferença significativa em todas as proporções. (Qui-quadrado com $\alpha = 0,05$).

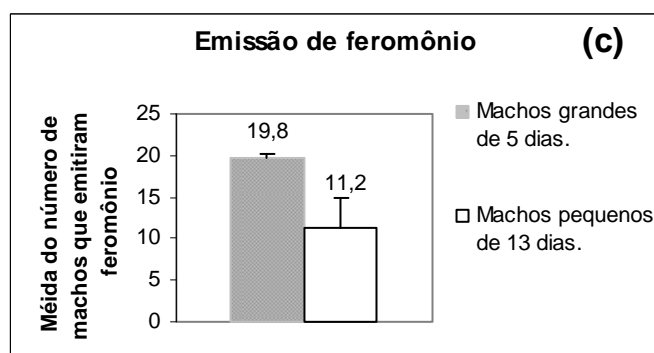
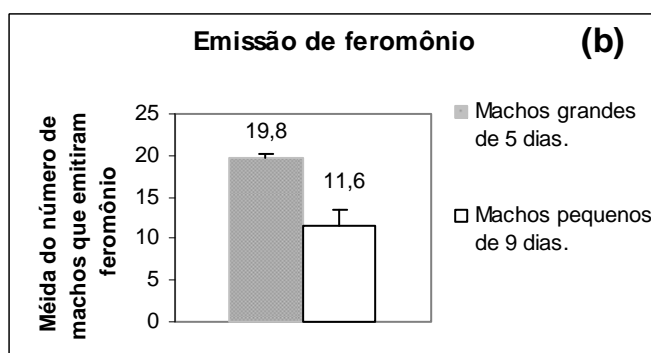
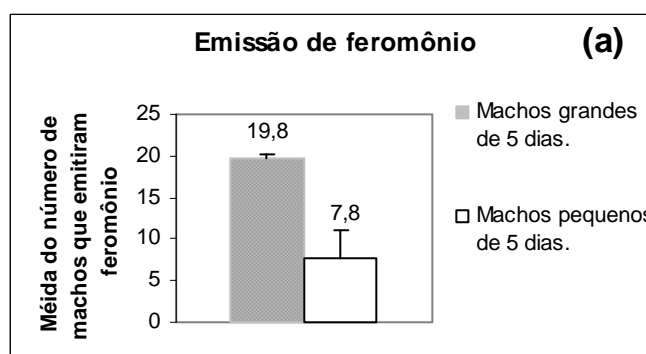


Figura 3. Número de machos de diferentes tamanhos que emitiram feromônio. (a) Machos grandes de 5 dias *versus* machos pequenos da mesma idade. (b) Machos grandes de 5 dias *versus* machos pequenos de 9 dias. (c) Machos grandes de 5 dias *versus* machos pequenos de 13 dias. Os resultados representam as médias e os desvios padrão de 5 repetições para cada teste. Em cada repetição foram avaliados 20 machos de cada grupo de tamanho. Houve diferença significativa em todos os casos. (Teste t não pareado com $\alpha = 0,05$).

Tabela 1. Medida da asa (mm) como estimativa do tamanho do corpo dos machos de diferentes grupos de tamanho, nos testes de seleção sexual em laboratório. Os resultados representam as médias e os desvios padrão do tamanho da asa (medida da distância da nervura R4+5 a m-cu) em milímetros. (Teste t não pareado com correção de Welch). G = machos grandes e P = machos pequenos.

TAMANHO DA ASA (mm)			
Proporções	Machos grandes	Machos pequenos.	Valor do p
1:1 G5dias x P5dias	2,7 ± 0,07	2,2 ± 0,15	< 0,0001
1:1 G5dias x P9dias	2,7 ± 0,06	2,2 ± 0,12	< 0,0001
1:1 G5dias x P13dias	2,7 ± 0,06	2,2 ± 0,12	< 0,0001
1:2 G5dias x P5dias	2,7 ± 0,08	2,2 ± 0,15	< 0,0001
1:3 G5dias x P5dias	2,7 ± 0,12	2,2 ± 0,14	< 0,0001
1:4 G5dias x P5dias	2,7 ± 0,09	2,2 ± 0,12	< 0,0001
1:5 G5dias x P5dias	2,7 ± 0,19	2,3 ± 0,14	< 0,0001
1:10 G5dias x P5dias	2,7 ± 0,19	2,3 ± 0,15	< 0,0001

Tabela 2. Medida da asa (mm) como estimativa do tamanho do corpo dos machos de diferentes grupos de tamanho, nos testes de emissão de feromônio sexual em laboratório. Os resultados representam as médias e os desvios padrão do tamanho da asa (medida da distância da nervura R4+5 a m-cu) em milímetros. (Teste t não pareado com correção de Welch). G = machos grandes e P = machos pequenos.

TAMANHO DA ASA (mm)			
Machos grandes de 5 dias versus Machos pequenos de 5 dias			
Gaiolas	Machos grandes	Machos pequenos	Valor do p
1	2,7 ± 0,07	2,3 ± 0,09	< 0,0001
2	2,7 ± 0,06	2,1 ± 0,10	< 0,0001
3	2,7 ± 0,06	2,2 ± 0,10	< 0,0001
4	2,7 ± 0,08	2,2 ± 0,12	< 0,0001
5	2,7 ± 0,07	2,2 ± 0,15	< 0,0001
Machos grandes de 5 dias versus Machos pequenos de 9 dias.			
Gaiolas	Machos grandes	Machos pequenos	Valor do p
1	2,7 ± 0,07	2,3 ± 0,13	< 0,0001
2	2,7 ± 0,06	2,2 ± 0,11	< 0,0001
3	2,7 ± 0,09	2,2 ± 0,13	< 0,0001
4	2,7 ± 0,13	2,2 ± 0,13	< 0,0001
5	2,7 ± 0,06	2,2 ± 0,14	< 0,0001
Machos grandes de 5 dias versus Machos pequenos de 13 dias.			
Gaiolas	Machos grandes	Machos pequenos	Valor do p
1	2,7 ± 0,06	2,2 ± 0,08	< 0,0001
2	2,7 ± 0,06	2,2 ± 0,12	< 0,0001
3	2,7 ± 0,05	2,2 ± 0,09	< 0,0001
4	2,7 ± 0,04	2,3 ± 0,09	< 0,0001
5	2,8 ± 0,05	2,2 ± 0,08	< 0,0001

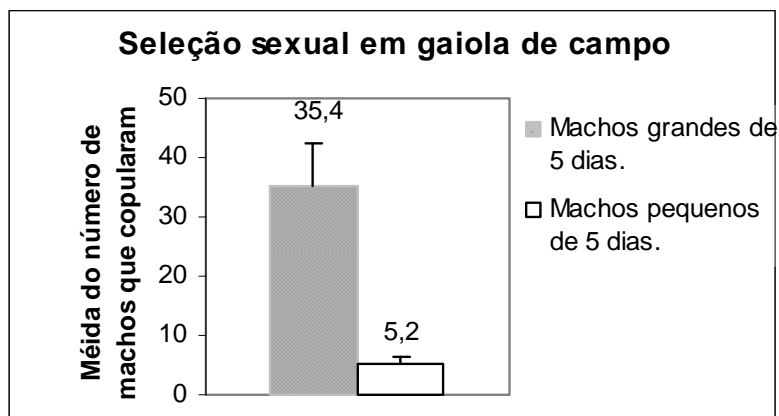


Figura 4. Seleção sexual em gaiola de campo. Escolha das fêmeas entre machos grandes e pequenos de 5 dias de idade. Os resultados representam as médias e os desvios padrão de 5 repetições. Cada repetição continha 50 machos de cada grupo de tamanho. Houve diferença estatística $p = 0.0003$ (Teste t não pareado com $\alpha = 0,05$).

Tabela 3. Medida da asa (mm) como estimativa do tamanho do corpo dos machos de diferentes grupos de tamanho, nos testes de seleção sexual em gaiola de campo. Os resultados representam as médias e os desvios padrão do tamanho da asa (medida da distância da nervura R4+5 a m-cu) em milímetros. (Teste t não pareado com correção de Welch). G = machos grandes e P = machos pequenos.

Gaiolas	TAMANHO DA ASA (mm)		Valor do p
	Machos grandes.	Machos pequenos.	
1	2,8 ± 0,06	2,2 ± 0,11	< 0,0001
2	2,7 ± 0,06	2,3 ± 0,13	< 0,0001
3	2,7 ± 0,09	2,3 ± 0,11	< 0,0001
4	2,8 ± 0,06	2,3 ± 0,11	< 0,0001
5	2,7 ± 0,09	2,3 ± 0,10	< 0,0001

Discussão

Nos experimentos de seleção sexual em laboratório, as fêmeas de *C. capitata* apresentaram uma preferência para cópula com os machos maiores de 5 dias de idade frente aos machos menores de 5 dias. Este dado corrobora outros estudos realizados em laboratório, nos quais as moscas utilizadas também pertenciam a linhagens mantidas em cativeiro por várias gerações (Churchill-Stanland *et al.* 1986, Blay & Yuval 1997, Taylor & Yuval 1999) e indica que o tamanho é um fator importante para a escolha da fêmea.

Como tempo de maturação sexual de machos alimentados na fase larval com dietas de baixa concentração protéica tende a ser maior do que o de machos alimentados adequadamente nessa fase (Kaspi *et al.* 2002), seria possível que a preferência das fêmeas por machos maiores de 5 dias de idade em relação aos menores de mesma idade, fosse em função

da maturação tardia dos últimos e não por causa do tamanho em si. No entanto, os resultados evidenciaram que as fêmeas continuaram a escolher os machos maiores de 5 dias de idade, mesmo quando estes foram confrontados com machos menores de 9 ou 13 dias, que já estariam maduros sexualmente. Tais dados reforçam a indicação de que a escolha das fêmeas tenha sido pelo fator tamanho em si e não por variações no tempo de maturação sexual entre os grupos de machos testados.

Nos experimentos de seleção sexual, sob condições de gaiola de campo, as fêmeas também mantiveram sua preferência para copular com os machos maiores de 5 dias em relação aos menores de mesma idade. Resultado semelhante foi obtido em outro estudo, com moscas também criadas em cativeiro a várias gerações e realizado em gaiola de campo, no qual as fêmeas também preferiram copular com os machos maiores. (Orozco & López 1993). Porém, no mesmo trabalho quando foi utilizada uma população de moscas selvagens, não se obteve uma correlação positiva entre o tamanho do macho e o seu sucesso de cópula. Já, Rodriguero *et al.* (2002) realizando estudos de seleção sexual em gaiola de campo, encontrou uma correlação positiva entre o tamanho da asa dos machos e o sucesso de cópulas dos mesmos, tanto na linhagem de machos de laboratório como nos machos selvagens. Outros estudos realizados em campo com linhagens de laboratório contradizem os resultados do presente trabalho, pois neles, não existiu um efeito do tamanho do macho sobre o seu sucesso de cópula. (Arita e Kaneshiro 1988, Whittier *et al.* 1994, Whittier & Kaneshiro 1995). Cabe lembrar que na maioria dos trabalhos citados acima, o fator tamanho foi analisado, muitas vezes, em conjunto com o fator alimentação na fase adulta com privação ou não de proteína e, talvez, o efeito da alimentação nesta fase tenha influenciado na falta de correlação entre o tamanho e o sucesso reprodutivo.

No presente trabalho todos os machos na fase adulta receberam uma dieta contendo boa concentração protéica segundo Zucoloto *et al.* (1979), com a finalidade de evitar efeitos

no sucesso de cópula por variação da dieta do adulto analisando-se apenas o efeito do tamanho.

A similaridade obtida entre os resultados de campo e de laboratório demonstrou que experimentos realizados em laboratório podem refletir bem futuros experimentos em campo. A realização de experimentos em laboratório, além disso, permite uma maior manipulação do fator em análise, através do controle de variáveis de confusão, tais como temperatura e luminosidade (Hendrichs & Hendrichs 1990).

O sucesso de cópula de um macho de *C. capitata* depende da sua presença no “lek” e da sua capacidade de ser escolhido pela fêmea, sendo que, o sucesso desse último passo depende, além de fatores morfológicos e fisiológicos, da realização de uma corte adequada (Kaspi *et al.* 2000). O comportamento de corte dos machos de *C. capitata*, é amplamente conhecido, passando por estágios bem definidos. O primeiro deles é a emissão de feromônio de atração das fêmeas a longa distância, através da elevação da parte posterior de seu abdome e liberação de feromônio, através da eversão da porção membranosa de seu epitélio retal (Feron 1962, Liimatainen *et al.* 1997, Calcagno *et al.* 1999, Briceño & Eberhard 2000, Briceño *et al.* 2002).

Os testes de emissão de feromônio realizados no presente trabalho mostraram que o número de machos grandes com 5 dias de idade, que emitiram feromônio na primeira hora de luz diária foi maior que o de machos pequenos de mesma idade. O mesmo ocorreu quando machos grandes de 5 dias foram confrontados com machos pequenos de 9 e 13 dias. Pode-se inferir que uma das possíveis causas da vantagem no sucesso de cópula dos machos grandes com relação aos pequenos, encontrada neste trabalho, pode ter ocorrido devido a um maior investimento por parte dos machos grandes em atrair a fêmea, através da emissão da gota de feromônio nesse período do dia. Um estudo semelhante a esse foi realizado por Yuval *et al.* (1998), no qual os autores demonstram a existência de similaridade na frequência de emissão

de feromônio entre machos de diferentes tamanhos. Uma possível explicação para esta falta de correlação encontrada por Yuval et al 1998, seja a existência de uma pequena variação entre o tamanho dos machos testados. Resultados semelhantes foram obtidos por Kaspi *et al.* (2000), talvez pelo mesmo motivo. No presente trabalho dietas de concentrações distintas de proteína e manipulações (retirada das larvas na dieta de baixa concentração protéica no sexto dia) foram realizadas no intuito de gerar uma diferença de tamanho maior entre os machos, o que poderia simular o que ocorre na natureza quando machos são provenientes de diferentes condições nutricionais na fase larval. Kaspi *et al.* (2002) utilizando dietas larvais com diferentes concentrações de proteína e sacarose evidenciou uma diferença na frequência de emissão de feromônio apenas entre os machos provenientes das diferentes dietas larvais, não encontrando nenhuma relação com o tamanho, apesar de ter encontrado diferença de tamanho entre os tratamentos. Kaspi *et al.* (2002) demonstrou, então, que a dieta larval, independentemente do tamanho, pode ter um efeito significativo sobre a emissão de feromônio dos machos. A utilização no presente trabalho de diferentes dietas larvais e manipulação, pode ter contribuído, além da geração de machos de diferentes tamanhos, com um efeito indireto no sucesso de cópula dos machos da dieta de alta concentração protéica.

No presente trabalho as fêmeas preferiram copular com o macho maior de 5 dias em todas as proporções crescentes de machos menores com 5 dias testadas (1:2,1:3,1:4,1:5 e 1:10). As fêmeas demonstraram uma alta capacidade de percepção para cópula com o macho maior, mesmo quando ele estava no meio de vários machos menores. Nos testes de proporção de 1 macho maior frente a 5 machos menores, por exemplo, o esperado para 30 repetições de escolha da fêmea para cópula era que 25 fêmeas escolhessem os machos menores e apenas 5 fêmeas escolhessem os machos maiores. No entanto, aconteceu quase o inverso, de modo que, 23 fêmeas escolheram os machos maiores e apenas 7 fêmeas escolheram os machos menores.

No presente trabalho, pode-se fazer uma inferência que, por exemplo, se o experimento de proporção 1:3 simulasse um “lek” com 4 indivíduos (3 machos pequenos e 1 macho grande), a fêmea conseguiria perceber o macho maior, talvez até por uma percepção visual, uma vez que estudos demonstraram capacidade visual das fêmeas para reconhecer traços morfométricos dos machos (comprimento da asa, da arista, do tórax, largura da face e da cabeça) durante a corte (Mendez *et al.* 1998, Briceno & Eberhard 2002, Rodriguero *et al.* 2002).

A quantidade de machos presentes nos “leks” já foi alvo de inúmeros estudos demonstrando variações na quantidade de machos presentes nos mesmos. Esses números podem variar de 3 à 4 machos sob condições naturais até 8 à 16 machos após a liberação de machos estéreis no Hawai (Shelly *et al.* 1994; Shelly & Whittier 1996), de 3 à 6 machos em gaiola de campo na Guatemala (Prokopy & Hendrichs 1979) ou 4 machos após a liberação de machos estéreis no México (Baker & Van der Valk 1992). Sendo assim, seria interessante em cada região e com cada linhagem específica de macho estéril, após a realização de testes piloto para se determinar a média do número de machos presentes em cada “lek”, utilizar experimentos de proporções semelhantes aos do presente trabalho, envolvendo machos estéreis e machos selvagens, com a finalidade de se analisar o sucesso de cópula desses machos estéreis em proporções estéreis : selvagens similares aquelas existentes após a liberação em campo.

Um trabalho teórico, sobre a quantidade ideal de machos estéreis que deveriam ser soltos em campo, foi realizado por Knipling (1995), no qual o autor através de modelos matemáticas calculou que numa área isolada contendo uma população de 2 milhões de *C. capitata*, sendo metade composta por machos, deveriam ser soltos 2 milhões de machos estéreis a cada geração. Isso iria suprimir, a partir da quarta geração, quase toda a população local de *C. capitata*. A proporção utilizada por ele foi de 1 macho selvagem : 2 machos

estéreis. No mesmo trabalho Knipling (1995) recomenda que se utilize a proporção de 1 macho selvagem para cada 9 machos estéreis (1:9). Conhecendo-se bem todos os fatores, que estão ligados ao sucesso de cópula dos machos de *C. capitata*, os experimentos de proporções como os aqui realizados, poderiam favorecer a técnica do inseto estéril, servindo de base para se calcular a quantidade de machos estéreis que deveria ser liberada em determinada região, economizando recursos financeiros.

O lêvedo utilizado como fonte de proteína na dieta das larvas, no presente trabalho, continha 40% de proteína em sua constituição, sendo assim, os machos grandes provenientes de 7g de lêvedo por 100 ml de dieta, ingeriram nesta fase uma dieta contendo 2,3% de proteína. Por sua vez, os machos pequenos provenientes de 3g de lêvedo por 100 ml de dieta, ingeriram na fase larval uma dieta com 1,1% de proteína. A escolha dessa percentagem protéica utilizada nos experimentos não se deu ao acaso, pois corresponde à quantidade de proteína presente em frutos com boas concentrações protéicas, tais como abacate (*Persea americana*) que tem 1,9 % de proteína, o figo (*Ficus carica*) com 1,4%, a nectarina (*Prunus persica*) com 1,4 % ou a laranja (*Citrus sinensis*) que contém 1,1% (Holland *et al*; 1991; Meir & Reshef, 1997). A manipulação a qual as larvas, que ingeriram 1,1% de proteína, foram submetidas aqui neste trabalho, talvez tenha feito com que estas ingerissem, na realidade, uma quantidade de proteína similar a quantidade presente em alguns frutos de baixa concentração protéica, tais como a pêra (*Pyrus communis*) 0,3%, a maçã (*Malus domestica*) 0,15%, o abacaxi (*Ananas comosus*) 0,4% ou a uva (*Vitis labrusca*) com 0,4% (Holland *et al.* 1991, Meir & Reshef 1997). Um trabalho realizado por Krainacker *et al.* (1987), no qual, larvas de *C. capitata* foram criadas em 24 tipos diferentes de frutos hospedeiros, evidenciou que os adultos provenientes desses hospedeiros variaram com relação a sua sobrevivência, tempo de desenvolvimento, fecundidade do adulto e tamanho do corpo.

Como as fêmeas de *C. capitata* são capazes de infestar mais de 250 espécies de plantas (Liquido *et al.*1991) e a qualidade nutricional destes inúmeros frutos hospedeiros varia enormemente, em relação a diversos nutrientes, inclusive a concentração de proteína, pode-se imaginar que na natureza o tamanho dos machos varie bastante. Situações em que ocorre competição de machos com tamanhos diferentes, com a finalidade de copular com a fêmea, tais como no presente trabalho, podem ocorrer na natureza entre os próprios machos selvagens. Um estudo realizado por Rodriguero *et al* (2002) demonstrou que machos maiores levaram vantagem no seu sucesso de cópula com as fêmeas selvagens, independentemente de serem machos de laboratório ou selvagens.

As dietas oferecidas às larvas em criações de laboratório, geralmente, possuem maior quantidade de proteína do que a presente em muitos frutos na natureza (Hendrichs *et al.* 1993, Murphy *et al.*1994). No entanto, é necessário ressaltar que nem sempre isso é garantia de um desempenho melhor dos imaturos que ingerem essas dietas comparados aos que ingerem frutos, uma vez que a digestibilidade e a disponibilidade dos nutrientes nos frutos pode ser mais adequada (Joachim-Bravo & Zucoloto 1998).

No presente trabalho, os machos criados com 2,3% de proteína foram bem maiores e tiveram um desvio padrão bem menor, quanto ao tamanho, quando comparados aos dos machos criados com 1,1% de proteína. Tais dados indicam que nas criações em laboratório, que visam a produção de machos estéreis em grande escala, a utilização de dietas que garantam a produção de machos com tamanhos padronizados e bem maiores que os encontrados na natureza são de grande relevância para o sucesso da técnica do inseto estéril, uma vez que, os dados deste trabalho apontam o tamanho do macho como um fator muito importante para o seu sucesso de cópula.

Agradecimentos

Agradecemos a Fapesb (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia) pelo apoio financeiro para realização deste trabalho dado, sob número do contrato APR0001/2006; e pela bolsa concedida ao primeiro autor, sob o número de contrato BOL0266/2005.

Referências

Arita, L. H. & K. Y. Kaneshiro. 1988. Body size and differential mating success between males of two populations of the Mediterranean fruit fly. *Pac. Sci.* 42: 173-177.

Arita, L. H. & Y. Kaneshiro. 1989. Sexual selection and lek behavior in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Pac. Sci.* 43:135-143.

Baker, P. S. & h. Van der Valk. 1992. Distribution and behaviour of sterile Mediterranean fruit flies in a host tree. *J. Appl. Entomol.* 114:67-76

Blay S. & Yuval B. 1997. Nutritional correlates to reproductive success of male Mediterranean fruit flies. *Anim Behav.* 54: 59–66.

Briceño, R. D., D. Ramos & William G. Eberhard.1996. Courtship behavior of male *ceratitidis capitata* (diptera: tephritidae) in captivity. *Fla. Entomol.* 79: 130-143

Briceño, R. D. & W. G. Eberhard, 2000. Male wing positions during courtship by Mediterranean fruit flies (*Ceratitidis capitata*) (Diptera: Tephritidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 73: 111–115.

Briceño, R. D, W. G. Eberhad, J. C. Vilardi & P. Liedo. 2002. Variation in the intermittent buzzing songs of male medflies (Diptera: Tephritidae: *Ceratitidis capitata*) associated with geography, mass-rearing, and courtship success. *Fla. Entomol.* 85: 32-40.

Burkt, T., & J. C. Webb. 1983. Effect of male size on calling propensity, song parameters, and mating success in Caribbean fruit flies (*Anastrepha suspensa* (Loew)). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 76: 678-682.

Bruzzone, N.D., A.P. Economopoulos & H-S Wang. 1990. Mass rearing *Ceratitis capitata*: reuse of the finisher larval diet. *Entomol. Exp. Appl.* 27: 103–106.

Calcagno, G., M. T. Vera, F. Manso, S. Lux, F. Norry, N. Munyiri & J. C. Vilardi. 1999. Courtship behavior of wild and mass-rearing Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) males from Argentina. *J. Econ. Entomol.* 92: 373-379.

Chang, C. L., R. Kurashima & C. Albrecht. 2000. Effect of limiting concentrations of growth factors in mass rearing diets for *Ceratitis capitata* larvae (Diptera:Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 93: 898-903.

Churchill-Stanland, C., R. Stanland, T. Y. Wong, N. Tanaka, D. O. Mcinnis & R. V. Dowell. 1986. Size as a factor in the mating propensity of Mediterranean fruit flies, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), in the laboratory. *J. Econ. Entomol.* 79: 614-619.

Eberhard, W. G., 1999. Sexual behavior and sexual selection in the medfly, *Ceratitis capitata*.pp. 459–489. In: M. Aluja & A. Norrbom (eds) *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior*. CRC Press, Boca Raton p 489.

Economopoulos A.P., A.A. Al-Taweel & N.D. Bruzzone 1990. Larval diet with a starter phase for mass-rearing *Ceratitis capitata*: substitution and refinement in the use of yeast and sugars. *Entomol. Exp. Appl.* 55:239-246.

Feron, M. 1962. L'instinct de reproduction chez la mouche Méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* Wied. (Dipt. Trypetidae). Comportement sexuel. - Comportement de ponte. *Rev. Pat. Veg. Entomol. Veg.* 41: 1-129.

Flath, R. A., E. B. Jang, D. M. Light, R. T. Mon, L. Carvalho, R. G. Binder & J. O. John. 1993. Volatile pheromonal emissions from the Mediterranean fruit fly. Effects of fly age and time of day. *J. Agric. Food Chem.* 41: 830-837.

Hendrichs, J., V. Wornoayporn, B. I. Katsoyannos & K. Caggl. 1993. First field assessment of the dispersal and survival of mass reared sterile Mediterranean fruit fly males of an embryonal, temperature sensitive genetic sexing strain, pp. 453-462 *In* Management of Insect Pests: Nuclear and Related Molecular and Genetic Techniques. IAEA, Vienna, Austria.

Hendrichs, J., G. Franz & P. Rendon. 1995. Increased effectiveness and applicability of the sterile insect technique through male-only releases for control of Mediterranean fruit flies during fruiting seasons. *J. Appl. Entomol.* 119: 371-377.

Hendrichs, J. & M. A. Hendrichs, 1990. Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in nature: location and diel pattern of feeding and other activities on fruiting and nonfruiting host and nonhost trees. *Ann entomol. Soc. Am.* 83: 632-641.

Holland, B, A. A. Welch, I. D. Unwin, D. H. Buss, A. A. Paul & D. A. T. Southgate. 1991.

The composition of foods. Royal society of chemistry and Ministry of Agriculture, Fisheries and food, Cambridge.

Höglund, J., and R. Alatalo, 1995. Leks. Princeton University Press, Princeton, NJ.

Kaspi R., P.W. Taylor & B. Yuval 2000. Diet and size influence sexual advertisement and copulatory success of males in Mediterranean fruit fly leks. *Ecol Entomol.* 25:1–6.

Kaspi R. & B. Yuval. 2000. Post-teneral protein feeding improves sexual competitiveness but reduces longevity of mass reared sterile male Mediterranean fruit flies. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 93: 949–955.

Kaspi, R., S. Mossinson, T. Drezner, B. Kamensky, & B. Yuval. 2002. Effect of larval diet on development rates and reproductive maturation of male and female Mediterranean fruit flies. *Physiol. Entomol.* 27: 29-38.

Knipling EF, Calkins CO & Ashley TR (1989) The impact of poor quality of mass-reared Mediterranean fruit flies on the sterile insect technique used for eradication. *J. Appl. Entomol.* 108: 401–408.

Knipling, E. F. 1955. Possibilities of insect control or eradication through the use of sexual sterile males. *J. Econ. Entomol.* 48: 459-462.

Krainacker, D.A., Carey, J.R., Va, R.I. 1987. Effect of larval host on life history traits of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* . *Oecologia*, 73: 583 590.

Joachim-Bravo, I. S. & F. S. Zucoloto. 1998. Performance and feeding behavior of *Ceratitis capitata*: comparison of a wild population and laboratory population.

Liimatainen, J., A. Hoikkala & T. Shelly. 1997. Courtship behavior in *Ceratitis capitata* (Diptera:Tephritidae): Comparison of wild and mass-reared males. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 90: 836-843.

Liquido, N. J., R. T. Cunningham & S. Nakagawa, 1991. Host plants of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): an annotated world review. *Miscellaneous Publication 77.* *Ann. Entomol. Soc. Am.*, Lanham, MD, USA.

Malavasi, A, J.S. Morgante, R. A. Zucchi. 1980. Biologia da moscas-das-frutas (Diptera:Tephritidae):.Lista de hospedeiros e ocorrência. *Rev. Bras. Biol.* 40-9-16.

Meir, H & A. Reshef. 1997. Tables of composition of foods. Ministry of Health, Department of Nutrition, Jerusalem (in Hebrew)

Mendez, V., R. D. Briceño & W. G. Eberhad. 1998. Functional significance of the capitata supra-fronto-orbital bristles of male medflies (*Ceratitis capitata*) (Diptera: Tephritidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 71:164-174.

Murphy, T. A., S. C. Loerch, K. E. McClure. 1994. Effects of grain or pasture finishing systems on carcass composition and tissue accretion rates of lambs. *J. Anim. Sci.*, 72:3138-3144.

Orozco, D. & R. O. Lopez. 1993. Mating Competitiveness of wild and laboratory mass-reared med-flies: effect of male size, pp. 185-188. *In* M. Aluja and P. Liedo [eds.], *Fruit Flies: biology and management.* Springer, NY.

Partridge, L. & M. Farquhar. 1983. Lifetime mating success of male fruitflies (*Drosophila melanogaster*) is related to their size. *Anim. Behav.* 31: 871-877

Prokopy, R. J. & J. Hendrichs. 1979. Mating behavior of *Ceratitidis capitata* on a field-cage host tree. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 72: 642-648.

Rodrigueiro, M. S., J. C. Vilardi, M. T. Vera, J. P. Cayol & E. Rial. 2002. Morphometric traits and sexual selection in medfly (diptera: tephritidae) under field cage conditions. *Fla Entomol* 85: 143-149.

Shelly, T. E., T. S. Whittier, & K. Y. Kaneshiro. 1994. Sterile insect release and the natural mating system of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 87: 470-481.

Shelly, T. E. & T. S. Whittier. 1996. Mating competitiveness of sterile male mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) in male-only releases. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 89: 754-758.

Shelly, T., & T. S. Whittier. 1997. Lek behavior of insect. *Mating Systems in insect and Arachnids* (ed. by J.C. Choe and B. J. Crespi). pp 273-293. Cambridge University Press, Cambridge.

Slansky, F. & J.M. Scriber, 1985. Food consumption and utilization. pp. 89–163. In: Kerkut, G. A. and Gilbert, L. I. (eds.) *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology* Vol. 4, Pergamon Press, Oxford.

Taylor, P.W. & B. Yuval. 1999. Postcopulatory sexual selection in Mediterranean fruit flies: advantages for large and protein-fed males. *Anim. Behav.* 58: 247–254.

Thornhill, R., & J. Alcock, 1983. The evolution of insect mating systems. Harvard University Press, Cambridge, MA.

Yuval, B., R. Kaspi, S. Shloush & M.S. Warburg, 1998. Nutritional reserves regulate male participation in Mediterranean fruit fly leks. *Ecol. Entomol.* 23: 211-215.

Whittier, T. S., K. Y. Kaneshiro & L. D. Prescott, 1992. Mating behavior of Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) in a natural environment. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 85: 214-218.

Whittier, T. S., F. Y. Nam, T. E. Shelly & K. Y. Kaneshiro, 1994. Male courtship success and female discrimination in the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *J. Insect Behav.* 7: 159-170.

Whittier, T. S. & K. Y. Kaneshiro, 1995. Intersexual selection in the Mediterranean fruit fly: does female choice enhance fitness?. *Evolution*, 49: 990-996.

Zucoloto, F.S. 1988. Qualitative and quantitative competition for food in *Ceratitidis capitata*. *Rev. Bras. Biol.* 48: 523-526.

Zucoloto, F. S. 1987. Feeding habits of *Ceratitidis capitata*: can larvae recognize a nutritional effective diet? *J. Insect. Physiol. Oxford.* 33:349-353

Zucoloto, F. S., S. Puschel & C. M. Message 1979. Valor nutritivo de algumas dietas artificiais para *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae). *Boletim de zoologia São Paulo.* 4: 75-80.

Veículo para qual o artigo 2 será submetido:

Revista : Neotropical Entomology (Formerly Anais da Sociedade Entomológica do Brasil).

Alberto Moreira Da Silva Neto
E-mail: Bio.alberto@gmail.com

Importância da Ingestão de Proteína na Fase Adulta dos Machos de *Ceratitis capitata*
Wiedemann (Díptera: Tephritidae) no Seu Sucesso de Acasalamento.

Alberto M. Da Silva Neto¹ e Iara S. Joachim-Bravo²

^{1,2} Depto. Biologia Geral, Instituto de Biologia, Univ. Federal da Bahia. Rua Barão de
Geremoabo, s/n. Campus Universitário de Ondina, 40.170-290. Salvador, BA.

¹ bio.alberto@gmail.com ² iara_bravo@yahoo.com.br

Importância da Ingestão de Proteína na Fase Adulta dos Machos de *Ceratitis capitata*
Wiedemann (Diptera: Tephritidae) no Seu Sucesso de Acasalamento.

The Importance of the Protein Ingestion during the Adult Phase on Reproductive Success in
Males of *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae)

ABSTRACT- The importance of the protein ingestion during the adult phase on reproductive success in males of *Ceratitis capitata* was evaluated in experiments of laboratory and field cage. In laboratory, the effect of the protein ingestion during the first 4 or 12 days of males life in the following parameters: copula success of the males (capacity of being chosen by the female) and number of males that give out pheromonal signals. Some experiments of copula success had been carried through with males in different ratios. In these tests, the number of males was remained constant which had ingested protein (an unique male) and was increased gradually the number of males fed without protein. The tested ratios had been 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 and 1:5. In field cage, the experiments of copula success had been done in the 1:1 ratio. The results showed that the protein ingestion during the first 4 days didn't influence none of the analyzed parameters. When the period of ingestion of protein was extended for 12 days, the males fed with protein had give out more pheromonal signals more and had had greater copula, in the 1:1 ratio in laboratory and field cage. In laboratory, the others ratios tested, 1:2, 1:3, 1:4 and 1:5 the choice of the males for the females was random from the ratio which 1 male fed with protein was collated with 2 private protein males, maybe, the female lost the perception to choose the male who ingested protein in the first 12 days.

KEY WORDS: Fruit Fly, Sexual Selection, Adult Diet

RESUMO – A importância da ingestão de proteína, durante a fase adulta, no sucesso reprodutivo de machos de *Ceratitis capitata* foi avaliada em experimentos de laboratório e de gaiola de campo. Em laboratório foram testados os efeitos da ingestão protéica durante os primeiros 4 ou 12 dias de vida dos machos nos seguintes parâmetros: sucesso de cópula dos machos (capacidade de ser escolhido pela fêmea) e número de machos que emitiram feromônio. Alguns experimentos de sucesso de cópula foram realizados com machos em diferentes proporções. Nesses testes mantinha-se constante o número de machos que ingeriram proteína (um único macho) e aumentava-se progressivamente o número de machos alimentados sem proteína. As proporções testadas foram 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 e 1:5. Em gaiola de campo foram realizados experimentos de sucesso de cópula na proporção 1:1. Os resultados demonstraram que a ingestão de proteína durante os primeiros 4 dias de vida, não influenciou nenhum dos parâmetros analisados. Quando o tempo de ingestão, ou não, de proteína foi prolongado para 12 dias, os machos alimentados com proteína emitiram mais feromônio e tiveram maior sucesso de cópula, na proporção 1:1 em laboratório e em gaiola de campo. Nas demais proporções testadas em laboratório 1:2, 1:3, 1:4 e 1:5 a escolha dos machos pelas fêmeas deu-se ao acaso, ou seja, a partir da proporção em que 1 macho alimentado com proteína foi confrontado com 2 machos privados de proteína, aparentemente, a fêmea perdeu a percepção para escolher o macho que ingeriu proteína nos primeiros 12 dias de vida.

PALAVRAS-CHAVE: Mosca-das-frutas, Seleção sexual, Dieta do adulto

A mosca-das-frutas *Ceratitidis capitata* (Wiedemann), é reconhecida como uma das mais sérias pragas da fruticultura mundial, devido a sua diversidade de hospedeiros, a natureza do dano causado e a sua grande adaptabilidade (Metcalf 1995). Na natureza, as fontes de alimento básicas dos adultos de *C. capitata* incluem sumo de frutas, néctar, pólen, líquidos açucarados de outros insetos e fezes de pássaros. (Christenson & Foote 1960, Tsiropoulos 1977, Hendrichs *et al.* 1991). Esses alimentos devem conter os nutrientes necessários para suprir os requerimentos fisiológicos dos insetos na fase adulta para a produção de óvulos, habilidade no cruzamento, sobrevivência, capacidade de dispersão e desenvolvimento de músculos e cutícula (Dadd 1985, Slansky & Scriber 1985, Zucoloto 1988, Browne 1995).

Para atingirem a maturidade sexual e realizarem o chamamento das fêmeas com a emissão do feromônio sexual, os machos de *C. capitata* requerem alimentos que contenham proteínas e carboidratos (Christenson & Foote 1960, Webster & Stoffolano 1978, Tsitsipis 1989). Além disso, o sucesso de acasalamento dos machos parece estar ligado à sua capacidade de forrageamento por proteína (Hendrichs & Hendrichs 1990, Hendrichs *et al.* 1991, Warburg & Yuval 1997, Yuval & Hendrichs 2000). O sistema de acasalamento de *C. capitata* é baseado em “leks” (Arita & Kaneshiro 1989, Hendrichs & Hendrichs 1990, Whittier *et al.* 1992). “Leks” são agregações de machos, não relacionados com recursos, que servem para localização e seleção dos parceiros sexuais nos quais acontecem os acasalamentos (Holung & Alato 1995). Os “leks” geralmente ocorrem sobre as folhas de árvores, nas quais os machos delimitam território e soltam um feromônio para atrair as fêmeas. (Féron 1962, Prokopy & Hendrichs 1979, Arita & Kaneshiro 1989). As fêmeas discriminam entre os machos do “lek” e rejeitam a maioria das manifestações de corte, conduzindo a uma cópula diferencial com machos mais bem sucedidos (Whittier & Kaneshiro 1995). Trabalhos com *C. capitata*, utilizando linhagens selvagens e de laboratório, tanto em

estudos de campo como em condições de laboratório, demonstram uma vantagem para os machos que ingeriram proteína nos dias seguintes após sua emergência, no que diz respeito à participação nos “leks”, realização de cópula e inseminação das fêmeas (Blay & Yuval 1997, Papadopoulos *et al.* 1998, Taylor & Yuval, 1999, Kaspi *et al.* 2000, Kaspi & Yuval 2000, Shelly *et al.* 2002, Yuval *et al.* 2002, Maor *et al.* 2004). Outros trabalhos, porém, não encontraram esta relação (Shelly & Kennelly 2002, Shelly & McInnis 2003).

O conhecimento da influência dos aspectos nutricionais no comportamento sexual de *C. capitata* tem importância do ponto de vista aplicado no que se refere à utilização dessas informações para a melhoria da técnica do inseto estéril (TIE). Nessa técnica, machos estéreis são liberados no campo e devem competir com os machos selvagens pela aceitação da fêmea para acasalamento (Knipling *et al.* 1989, Hendrichs *et al.* 1995). Conhecer bem quais as características que podem melhorar o desempenho dos machos estéreis em campo, tais como a ingestão ou não de proteína na fase adulta, é de fundamental importância para o sucesso dessa técnica. No presente trabalho avaliou-se a influência da ingestão de proteína pelos machos adultos de *C. capitata*, por 4 ou 12 dias após a emergência, no sucesso de cópula dos mesmos.

Material e Métodos

As moscas de *C. capitata* utilizadas neste trabalho foram provenientes de uma população mantida em laboratório (sem a introdução de indivíduos selvagens) desde 1980. Sua manutenção seguiu a metodologia descrita em Zucoloto (1987). Os machos e as fêmeas utilizados nos experimentos foram criados na fase imatura com uma dieta à base de farelo de soja e lêvedo de cerveja (Carvalho *et al.* 1998).

Para realização dos experimentos, machos recém-emergidos foram separados em dois grupos e mantidos em gaiolas plásticas (16x11x10cm) por 4 ou 12 dias a depender do teste a ser realizado. Um dos grupos recebeu uma dieta contendo proteína, com a seguinte

composição: 6.5 g de lêvedo de cerveja – fonte protéica - (Mãe-Terra, Mãe-Terra Produtos Naturais Ltda.), 11.0 g de açúcar (União, União de Refinadores do Brasil), 2.0 g agar-agar (Isofar, Isofar Indústria e Comércio de Produtos Químicos Ltda.), 1.0 g ácido cítrico (Vetec, Vetec Química Fina Ltda.), 1.0 g de nipagin (Isofar), e 100 ml de água destilada (Zucoloto *et al.* 1979). Os machos deste grupo foram denominados “machos com proteína”. O outro grupo recebeu uma dieta sem proteína. A composição desta dieta era idêntica à descrita acima, porém sem a presença do lêvedo de cerveja. Estes machos foram designados “machos sem proteína”. Água a vontade foi oferecida a ambos os grupos. As fêmeas receberam tratamento idêntico aos “machos com proteína”.

Cada grupo de machos foi previamente marcado com tinta atóxica de distintas cores 24 horas antes de cada experimento, para futura identificação. As cores foram alternadas em cada repetição.

Como o fator de interesse neste trabalho foi a influência da ingestão de lêvedo por 4 ou 12 dias na fase adulta, todos os outros fatores como idade e tamanho dos machos foram padronizados. Desse modo, ao final de cada experimento todas as asas esquerdas dos machos foram medidas da nervura R4+5 até a nervura m-cu, para se estimar o tamanho do corpo. Estas medidas foram feitas com auxílio de um estereomicroscópio munido de ocular micrométrica com conversão de 0,5mm em um aumento de 20 vezes. Caso ocorresse diferença de tamanho entre os machos dos dois grupos o experimento era descartado.

A influência da alimentação na fase adulta foi avaliada em dois parâmetros: o sucesso de cópula dos machos, estimado pela capacidade destes em serem escolhidos pelas fêmeas (experimentos de seleção sexual) e a realização do primeiro passo do comportamento de corte, a emissão de feromônio sexual (experimentos de emissão de feromônio). Os experimentos de seleção sexual foram realizados no laboratório – em caixas plásticas

(10x5cm) e em gaiolas de campo (230X150X230cm). Os experimentos de emissão de feromônio foram realizados em gaiola de laboratório (68x68x90cm).

Em laboratório as moscas foram mantidas em temperatura de $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e 70% de umidade relativa. Os experimentos em gaiola de campo ocorreram entre janeiro de 2006 a janeiro de 2007, em dias com condições climáticas favoráveis – com temperaturas entre 25 a 38 $^{\circ}\text{C}$, umidade relativa entre 67% a 85% e em dias ensolarados.

Seleção sexual.

Experimentos em laboratório.

Para avaliar a influência da ingestão de proteína pelos machos, durante os primeiros 4 dias da fase adulta, no seu sucesso de cópula, foi realizado o seguinte protocolo metodológico: uma fêmea de 5 dias de idade, nutrida neste período com a mesma dieta padrão oferecida aos adultos, foi colocada em uma caixa de plástico (10x5cm), juntamente com dois machos adultos com 5 dias de idade (um do grupo alimentado com proteína por 4 dias antes do experimento e outro do grupo alimentado sem proteína pelo mesmo período). Esses experimentos foram denominados “seleção sexual na proporção 1:1”. A ocorrência de cópulas foi monitorada a cada 5 minutos das 08:00 às 15:00 h, durante 2 dias consecutivos. A finalização dos experimentos ocorreu às 15:00 horas, porque, em observações prévias, notou-se poucas ou nenhuma cópula em laboratório a partir deste horário. Cada casal em cópula foi retirado e fixado em álcool 70%, para posterior registro do macho e medição do tamanho da asa. Foram feitas 100 repetições com gerações alternadas. Os experimentos que analisaram a influencia da ingestão ou não de proteína pelos primeiros 12 dias de vida dos machos adultos, seguiram a mesma metodologia citada acima, sendo que, nesse caso, os machos analisados tinham 13 dias de idade e o período de privação ou não de proteína foi prolongado para 12 dias.

Testes com diferentes proporções de machos foram realizados quando as fêmeas dos experimentos de seleção sexual na proporção 1:1, exibiram preferência sexual por machos de algum dos grupos testados. A montagem destes testes seguiu a mesma metodologia descrita acima, com a única diferença de que, em cada caixa experimental, era colocado um único macho do grupo que havia sido preferido - no experimento de seleção sexual na proporção 1:1 - e adicionava-se uma proporção crescente de machos do grupo não preferido. Esses experimentos foram realizados para determinar a capacidade da fêmea escolher o macho do grupo preferido dentro de um conjunto crescente de machos do grupo não preferido. As proporções de machos, provenientes do grupo preferido e do grupo não preferido, testadas foram: 1:2, 1:3, 1:4 e 1:5. Para cada proporção foram realizadas 30 repetições com gerações alternadas.

Experimentos em gaiola de campo.

A montagem desses experimentos foi feita dentro do Campus da Universidade Federal da Bahia, Salvador/Bahia. Foram utilizadas gaiolas (230X150X230cm), nas quais era acondicionada uma muda de pitanga (*Eugenia uniflora*), com aproximadamente 107 cm de altura e raio de copa em torno de 40 cm. A árvore era colocada sobre um banco de madeira com 60 cm de altura e nas extremidades de seus galhos eram dispostos pedaços de maçã (*Malus domestica*). Nos experimentos de influência da ingestão de proteína nos quatro primeiros dias de vida adulta, foram introduzidos nessas gaiolas cem machos com 5 dias de idade (cinquenta do grupo alimentado com proteína por 4 dias e cinquenta do grupo alimentado sem proteína pelo mesmo período) previamente marcados por tinta atóxica com cores distintas, juntamente, com cinquenta fêmeas de 5 dias de idade alimentada nos 4 primeiros dias de vida adulta, com a mesma dieta padrão dos adultos. A ocorrência de cópulas foi monitorada a cada 5 minutos, das 08:00h as 13:00h. Cada casal em cópula foi retirado e fixado em álcool 70%, para posterior registro do macho e medição do tamanho da asa.

Sempre que um casal era retirado observava-se a origem do macho em cópula e retirava-se um macho do grupo oposto. Com este procedimento visou-se manter, sempre na proporção de 1:1, os machos com diferentes tratamentos. Foram feitas 5 repetições com gerações alternadas. Nos experimentos que analisaram a influência da ingestão ou não de proteína pelos primeiros 12 dias de vida dos machos adultos, Os machos testados tinham 13 dias de idade e o período de privação ou não de proteína foi prolongado para 12 dias. O restante da metodologia foi idêntica a dos testes com machos de 5 dias de idade.

Emissão de feromônio sexual.

A avaliação do número de machos, alimentados ou não com proteína, que emitiam feromônio foi feita em uma gaiola de laboratório disposta sobre uma bancada. A gaiola (68x68x90cm) era feita de PVC, revestida com tela, e apresentava uma abertura lateral para a entrada dos braços e cabeça do observador. Dentro dela era acondicionada uma muda de pitanga (*Eugenia uniflora*) envasada, com 60 cm de altura e 40 cm de raio de copa e pedaços de maçã (*Malus domestica*) dispostos nas extremidades dos galhos. Nos experimentos de influência da ingestão de proteína nos quatro primeiros dias de vida adulta, quarenta machos, previamente marcados, sendo vinte alimentados por 4 dias com proteína e vinte privados de proteína pelo mesmo período, foram acondicionados nesta gaiola. Eles foram monitorados quanto à emissão de feromônio por um período de 1 hora (08:00h as 09:00h). Esse horário foi escolhido por ter sido considerado o período de pico de ocorrência de cópulas, em experimentos preliminares. Cada macho que liberava a gota de feromônio foi retirado e fixado em álcool a 70%, para futura identificação e medição do tamanho da asa. Após a finalização do experimento, os machos que não emitiram feromônio, também foram fixados e medidos. Foram feitas 5 repetições com gerações alternadas. Os experimentos que analisaram a influência da ingestão ou não de proteína nos primeiros 12 dias de vida do adulto, seguiram a

mesma metodologia citada acima, tendo o período de privação ou não de proteína sido estendido para 12 dias.

Análise estatística.

Todos os dados dos experimentos de seleção sexual em laboratório foram analisados usando o teste do Qui-quadrado com auxílio do programa StatSoft, Inc. (2001). STATISTICA (data analysis software system), version 6. A frequência de cópulas esperada para cada tipo de macho (Esperado) utilizada em todos os teste de Qui-quadrado foi calculada pela seguinte fórmula: $\text{Esperado} = N_r/T_M \times M_i$, na qual “ N_r ” é número total de repetições, “ T_M ” o número total de machos dentro de cada caixa experimental e “ M_i ” número de machos do tipo em interesse dentro de cada caixa do experimento. Para análise dos dados de emissão de feromônio e de seleção sexual em gaiola de campo, foi utilizado o teste t não pareado, com o auxílio do programa GraphPad InStat version 3.00 for Windows 95, GraphPad Software, San Diego California USA. Para comparação entre o tamanho das asas dos diferentes grupos de idades em cada experimento, utilizou-se, também, o teste t não pareado. Todos os dados nos quais o teste t foi aplicado passaram no teste de normalidade de Kolmogorov e Smirnov. Em todos os casos as diferenças entre os desvios-padrão nas comparações dos grupos (dois a dois), não foram significativas, permitindo a aplicação do teste t. Em todos os testes estatísticos utilizados, neste trabalho, assumiu-se o alfa de 5%.

Resultados.

Seleção sexual em laboratório.

Nos experimentos de influência da ingestão ou não de proteína nos primeiros 4 dias de vida adulta dos machos, as fêmeas não exibiram preferência de cópula entre os dois grupos de machos testados (Fig.1a) (teste do Qui-quadrado : $X^2= 0,1600000$; $df=1$, $p <0,689157$). Já, na avaliação da influência da ingestão ou não de proteína nos primeiros 12 dias de vida adulta dos machos, as fêmeas preferiram copular com os machos alimentados com proteína em

relação aos alimentados sem proteína (Fig.1b) (teste do Qui-quadrado: $X^2=12,96000$; $df=1$, $p < 0,000318$).

Os testes de seleção sexual com proporções diferentes de machos (macho preferido *versus* proporções crescentes de machos não preferidos) foram feitos apenas com os grupos de machos alimentados com ou sem proteína por 12 dias, uma vez que, somente nesta situação houve preferência de cópula das fêmeas. Os resultados desses testes (Fig. 2) indicaram que não houve uma preferência da fêmea em nenhuma das proporções testadas, implicando que o acasalamento das fêmeas com machos alimentados ou não com proteína por 12 dias, a partir da proporção 1:2 (macho com proteína frente a 2 machos sem proteína) ocorreu meramente ao acaso. Neste teste de proporção 1:2, por exemplo, o esperado para 30 repetições de escolha da fêmea para cópula era que 20 fêmeas escolhessem os machos privados de proteína e apenas 10 fêmeas escolhessem os machos alimentados com proteína. E o observado nesta proporção foi que, 19 fêmeas copularam com os machos privados de proteína e 11 fêmeas copularam com os machos alimentados com proteína. Este resultado demonstrou que a escolha da fêmea nesta proporção ocorreu ao acaso, pois o observado e o esperado do número de cópulas foram quase iguais.

Esse padrão se manteve nas demais proporções (teste do Qui-quadrado: proporção 1:2, $X^2=0,1500000$ $df=1$ $p < 0,698536$ (Fig. 2a); proporção 1:3, $X^2= 1,111111$ $df=1$ $p < 0,291841$ (Fig. 2b); proporção 1:4, $X^2= 1,875000$ $df=1$ $p < 0,170904$ (Fig. 2c) e proporção 1:5, $X^2= 2,1600$ $df= 1$ $p < 0,0915$) (Fig. 2d).

Em todos os experimentos de seleção sexual, os machos dos diferentes tratamentos apresentaram tamanho similar (estimado pela medida da asa) (Teste t não pareado - 1:1 cinco dias, $p=0,9174$; 1:1 treze dias, $p=0,1430$; 1:2, $p= 0,7623$; 1:3, $p= 0,2534$; 1:4, $p= 0,8895$ e 1:5, $p>0,9999$).

Seleção sexual em gaiola de campo.

Os resultados desses experimentos foram similares aos encontrados nos experimentos de seleção sexual em laboratório na proporção 1:1. As fêmeas não exibiram preferência de cópula entre os machos alimentados com ou sem proteína, pelo período de 4 dias (teste t não pareado: $p = 0.3281$) (Fig. 3a). Quando o período de ingestão, ou não, de proteína pelos machos passou a ser de 12 dias, as fêmeas preferiram copular com os machos alimentados com proteína em relação aos machos privados de proteína. (teste t não pareado: $p = 0.0048$) (Fig. 3b). Em todos os experimentos de seleção sexual realizados, os machos alimentados ou não com proteína apresentaram tamanho similar (estimado pela medida da asa) (teste t não pareado: (Gaiola 1) 5 dias: $p = 0,5082$; (Gaiola 2) 5 dias: $p = 0,5801$; (Gaiola 3) 5 dias: $p = 0,5726$; (Gaiola 4) 5 dias: $p = 0,5882$; (Gaiola 5) 5 dias: $p = 0,6707$; (Gaiola 1) 13 dias: $p = 0,7517$; (Gaiola 2) 13 dias: $p > 0,9999$; (Gaiola 3) 13 dias: $p = 0,6385$; (Gaiola 4) 13 dias: $p = 0,510$ e (Gaiola 5) 13 dias: $p = 0,9021$).

Emissão de feromônio em gaiola de laboratório.

Nesses experimentos, o número de machos, alimentados com ou sem proteína pelo período de 4 dias, que emitiram feromônio foi similar (teste t não pareado: $p > 0.9999$) (Fig. 4a). Quando o período de ingestão, ou não, de proteína pelos machos passou a ser de 12 dias, o número de machos alimentados com proteína que emitiram feromônio foi significativamente maior que o dos privados de proteína (teste t não pareado: $p = 0.0004$) (Fig. 4b). Todos os machos testados nos experimentos de emissão de feromônio apresentaram tamanho similar (estimado pela medida da asa) (teste t não pareado: (Gaiola 1) 5 dias: $p = 0,7550$; (Gaiola 2) 5 dias: $p = 0,9050$; (Gaiola 3) 5 dias: $p = 0,4409$; (Gaiola 4) 5 dias: $p = 0,0955$; (Gaiola 5) 5 dias: $p = 0,4143$; (Gaiola 1) 13 dias: $p = 0,8699$; (Gaiola 2) 13 dias: $p > 0,9999$; (Gaiola 3) 13 dias: $p = 0,667$; (Gaiola 4) 13 dias: $p = 0,5368$ e (Gaiola 5) 13 dias: $p = 0,7550$).

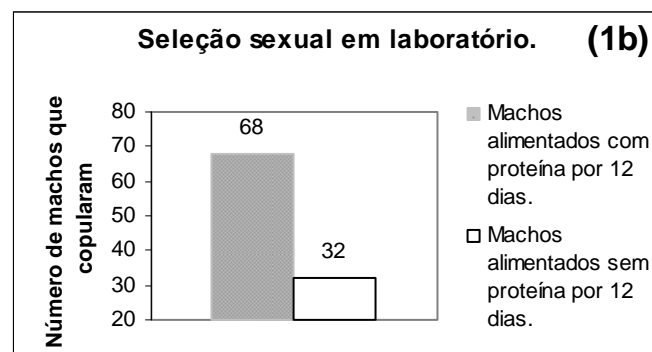
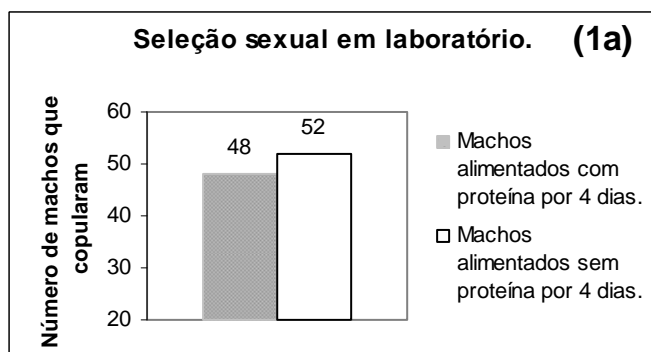


Figura 1. Seleção sexual em laboratório na proporção 1:1. Sucesso de cópula de machos alimentados com ou sem proteína nos primeiros dias da fase adulta. Os dados representam o número de machos de cada tratamento que efetuaram a cópula. Total de 100 repetições para cada tratamento. (a) Alimentação com ou sem proteína por 4 dias após a emergência. As fêmeas não exibiram preferência de cópula por nenhum dos grupos ($P = 0,689157$, Qui-quadrado com $\infty = 0,05$). (b) Alimentação com ou sem proteína por 12 dias após a emergência. As fêmeas preferiram copular com machos alimentados com proteína ($p = 0,000318$, Qui-quadrado com $\infty = 0,05$).

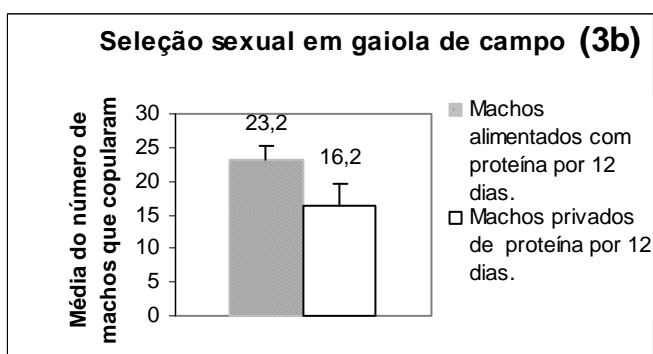
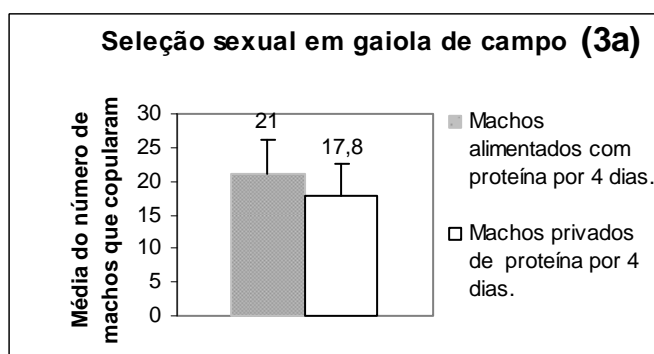


Figura 3. Seleção sexual em gaiola de campo. Sucesso de cópula de machos alimentados com ou sem proteína nos primeiros dias da fase adulta. Os dados representam as médias e os desvios-padrão de 5 repetições para cada teste. Cada repetição continha 50 machos de cada grupo testado. (a) Alimentação com ou sem proteína por 4 dias após a emergência. As fêmeas não exibiram preferência de cópula por nenhum dos grupos ($p = 0,3281$, Qui-quadrado com $\infty = 0,05$). (b) Alimentação com ou sem proteína por 12 dias após a emergência. As fêmeas preferiram copular com machos alimentados com proteína ($p = 0,0048$, Qui-quadrado com $\infty = 0,05$).

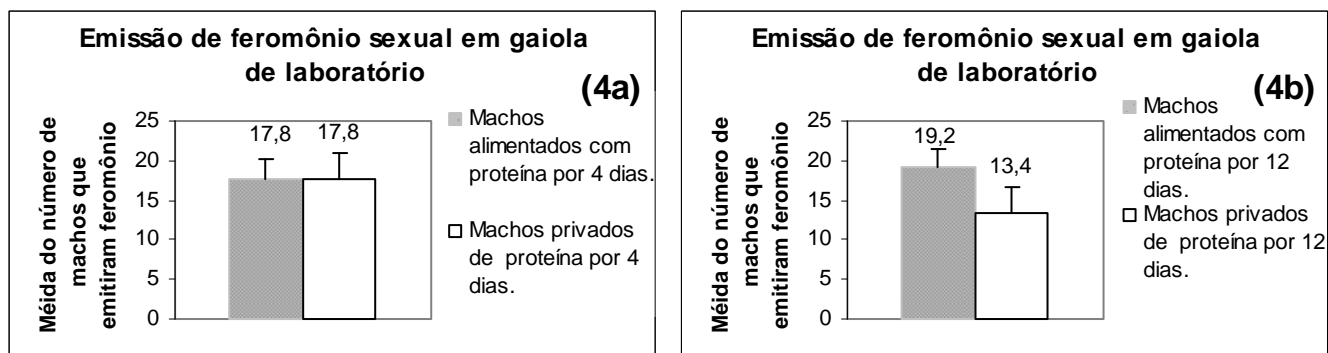


Figura 4. Número de machos alimentados com ou sem proteína que efetuaram a emissão de feromônio na primeira hora de luz diária. Os resultados representam as médias e os desvios padrão de 5 repetições, sendo que em cada uma foram utilizados 20 machos de cada grupo testado. (a) Alimentação com ou sem proteína por 4 dias após a emergência. O número de machos que emitiram feromônio foi similar entre os dois grupos testados ($p > 0,9999$, Teste t não pareado com $\infty = 0,05$). (b) Alimentação com ou sem proteína por 12 dias após a emergência. Houve diferença estatística ($p < 0,0004$, Teste t não pareado com $\infty = 0,05$).

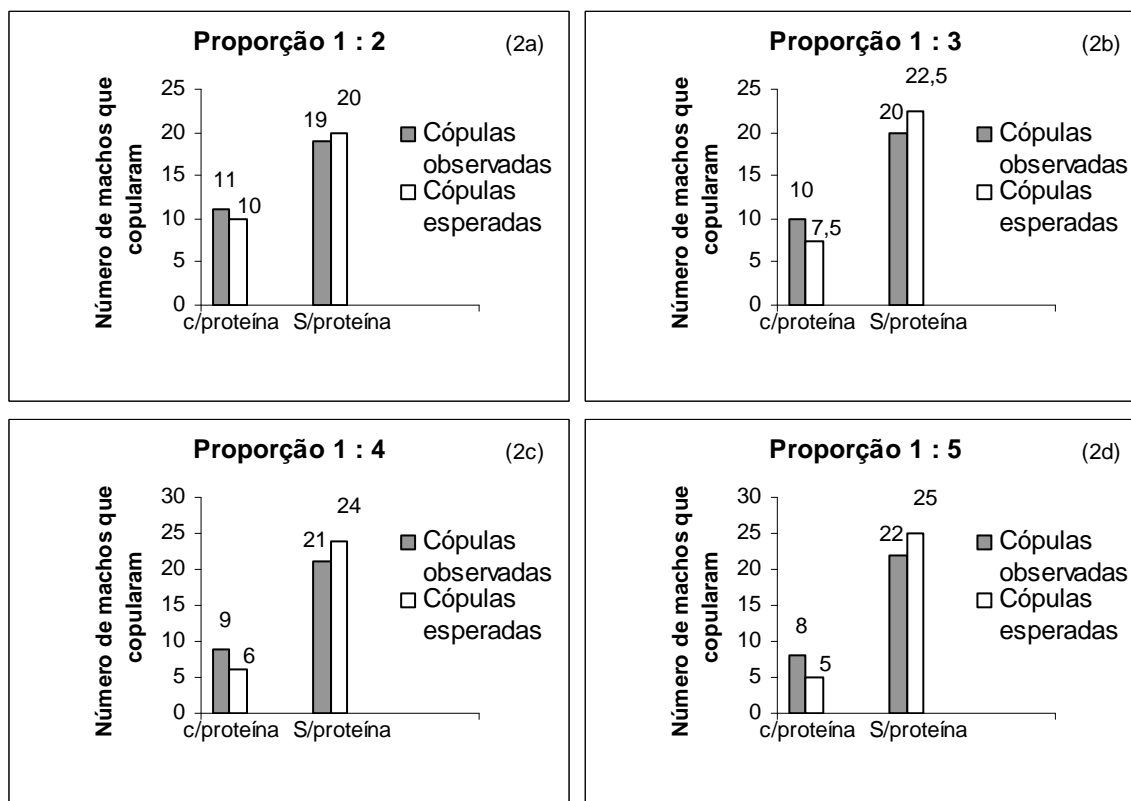


Figura 2. Capacidade de escolha da fêmea para copular com o macho alimentado com proteína por 12 dias frente a diversas proporções crescentes de machos alimentados sem proteína pelo mesmo período. (a) proporção 1:2. (b) proporção 1:3. (c) proporção 1:4. (d) proporção 1:5. Os resultados representam o observado e o esperado do número de cópula dos machos de cada grupo testado em 30 repetições para cada proporção. Não houve diferenças significativas entre os observados e esperados de cópulas dos machos alimentados com ou sem proteína em nenhuma das proporções testadas, demonstrando que a escolha das fêmeas para copular deu-se ao acaso. (Qui-quadrado com $\infty = 0,05$).

Discussão

Nos experimentos de seleção sexual em laboratório evidenciou-se um sucesso de cópula similar entre machos alimentados com ou sem proteína por 4 dias. Do total de fêmeas acasaladas, 48% copularam com machos que receberam proteína e 52% com machos privados de proteína. Isso leva a crer que a ingestão ou não de fonte protéica nos quatro primeiros dias de vida do macho adulto não influencia o seu sucesso de cópula. Nos testes de seleção sexual em gaiola de campo, as fêmeas também não exibiram preferência de cópula por machos alimentados na fase adulta, com ou sem proteína, nos primeiros quatro dias de vida.

A inexistência de uma desvantagem para os machos que não ingeriram proteína nessa fase inicial de suas vidas adultas pode ser explicada, talvez, pela utilização de reservas protéicas provenientes da fase larval. Muitos insetos holometábolos têm a capacidade de utilizar recursos alimentares derivados da alimentação larval para suplementar uma deficiência dos mesmos na fase adulta (Boggs 1981, Karlsson 1995). Todos os imaturos foram criados em uma dieta com alto teor protéico (Carvalho *et al.* 1998), e no início da sua fase adulta poderiam, então, utilizar reservas de proteína adquiridas na fase larval. Outros estudos que não especificaram a dieta utilizada na fase larval de moscas criadas em laboratório demonstraram uma vantagem de sucesso de cópula para machos alimentados com proteína nos primeiros 4 dias de vida (Blay & Yuval 1997). Taylor & Yuval (1999) utilizando, também, machos adultos com 4 dias de idade provenientes de uma criação de laboratório analisaram o efeito em conjunto do tamanho e da alimentação com ou sem proteína e seus resultados demonstraram que machos maiores alimentados com proteína levaram vantagem em relação a machos menores privados de proteína. Talvez o efeito do tamanho tenha influenciado na existência de correlação entre a ingestão ou não de proteína nos primeiros 4 dias de vida, no sucesso de cópula dos machos. Ao contrário dos trabalhos acima citados, as moscas do presente estudo foram alimentadas na fase imatura com

concentração protéica adequada, de modo que o tamanho dos adultos foi padronizado e pode-se avaliar exclusivamente a influência da alimentação na fase adulta nos parâmetros avaliados. Outros estudos evidenciaram que a ingestão ou não de proteína nos quatro primeiros dias de vida não influenciou no sucesso de cópula de machos estéreis, quando esses, competiram com machos selvagens pela cópula das fêmeas (Shelly & Kennelly 2002, Shelly & McInnis 2003).

Quando os machos passaram a ser alimentados, com ou sem proteína, por 12 dias após a emergência, os resultados foram diferentes do primeiro experimento realizado em laboratório. Observou-se que 68% das fêmeas preferiram copular com machos alimentados com proteína e apenas 32% preferiram os alimentados sem proteína. Nos testes de seleção sexual em gaiola de campo, as fêmeas também exibiram preferência de cópula por machos alimentados com proteína nos primeiros 12 dias de vida. Provavelmente, o aumento do tempo de privação de proteína de 4 para 12 dias, tenha feito com que as possíveis reservas protéicas adquiridas na fase larval fossem sendo gastas ao longo do tempo e não compensadas pela falta de sua ingestão na fase adulta. Kaspi *et al.* (2000) encontrou um aumento significativo ao longo dos dias, nos níveis de proteína presentes tanto em machos alimentados nos primeiros 13 dias vida com proteína, como nos machos privados de proteína pelo mesmo período. No entanto, ele atribuiu esse aumento no nível protéico presente no corpo dos machos ao longo dos dias, a uma possível ingestão de excrementos e cadáveres de moscas presentes nas gaiolas de manutenção. Nos experimentos aqui realizados esse fato não ocorreu, uma vez que as gaiolas de manutenção eram limpas diariamente. Desse modo, a metodologia com a qual as moscas foram criadas nesse presente trabalho poderia simular - mesmo que em um ambiente artificial - as conseqüências que um ambiente pobre em recursos protéicos ou até uma falta de capacidade de forragear recursos poderia acarretar nos machos, quanto ao seu sucesso de cópula.

Como a nutrição dos machos de *C. capitata* tem um efeito significativo sobre a energia necessária para cortejar a fêmea e para o seu sucesso de cópula (Warburg & Yuval 1996, Blay & Yuval 1997), a capacidade dos machos estéreis em forragear proteína em campo, parece ser de grande importância para o sucesso da técnica do macho estéril.

Maor *et al.* (2004) observaram que uma determinada linhagem de machos estéreis era capaz de forragear proteína no campo, desde que houvesse fontes protéicas disponíveis no local e que os machos que recebiam proteína nos primeiros 4 dias de vida eram mais aptos a forragear proteína do os privados desse nutriente pelo mesmo período. Apesar do presente trabalho não ter observado uma influência da ingestão ou não de proteína no início da vida adulta dos machos sob o seu sucesso de cópula, os resultados evidenciados acima, por Maor *et al.* (2004) podem ser um forte argumento para a utilização de proteína nos primeiros quatro dias da dieta dos adultos.

Os resultados dos testes de emissão de feromônio foram coerentes com os de seleção sexual. A proporção de machos que emitiu feromônio na primeira hora de luz em laboratório foi similar para os grupos alimentados, com ou sem proteína, por 4 dias. Quando o período de privação ou não de proteína foi prolongado para 12 dias, o número de machos alimentados com proteína que emitiram feromônio foi significativamente superior ao número de machos privados de proteína. Esses dados reforçam a hipótese de que realmente deve haver um declínio das reservas protéicas ao longo da vida do macho e que isso pode afetar decisivamente o sucesso de cópula do mesmo, caso este não tenha habilidade para forragear proteína no campo. Como a maioria das cópulas observadas neste trabalho ocorreu na primeira hora de luz do dia, talvez preferência das fêmeas pelos machos alimentados com proteína por 12 dias, tenha ocorrido devido a um maior investimento destes em atraí-las, através da emissão de feromônio, nesse período do dia.

Os dados do presente trabalho corroboram o estudo de Kaspi *et al.* (2000), no qual foi avaliado o efeito da ingestão, ou não, de proteína durante 13 dias, na emissão de feromônio de machos selvagens, criados com frutos na fase larval. Também corroboram os dados de Papadopoulos *et al.* (1998) que observaram que a emissão de feromônio foi similar entre os machos de laboratório alimentados ou não com proteína durante os três primeiros dias de vida adulta. Nesse último trabalho os autores ainda evidenciaram que a ingestão de proteína na fase adulta acarretou um tempo de maturação sexual mais curto em machos selvagens alimentados com frutos na fase larval. Com base nesses dados da literatura é interessante notar que, aparentemente, quando existe uma alimentação rica em proteína na fase larval, como em uma criação com dieta artificial em laboratório, o efeito da alimentação nos primeiros dias da fase adulta pode não ser tão relevante. Já, quando são utilizadas linhagens selvagens, que normalmente se alimentam de frutos – pobres em proteína (Hendrichs *et al.* 1993; Murphy *et al.* 1994) - na fase larval, os efeitos da privação de proteína aparecem mais cedo. Isso pode estar relacionado com a capacidade dos insetos em utilizar, na vida adulta, reservas provenientes da fase larval, como já foi discutido anteriormente. Desse modo, a qualidade da alimentação na fase larval teria papel relevante.

Nos experimentos de seleção sexual, nos quais um macho alimentado com proteína por 12 dias era confrontado com crescentes proporções de machos privados de proteína pelo mesmo período, observou-se que os acasalamentos ocorreram ao acaso. Isso indica que a fêmea não foi capaz de perceber o macho melhor alimentado quando este estava em menor número que os outros.

Os experimentos de proporções, como os realizados no presente trabalho, são inéditos e podem representar uma simulação de “lek”. Por exemplo, o teste de proporção 1:2 poderia simular a presença de um “lek” com três machos, sendo um alimentado com proteína por 12 dias e os outros dois privados de proteína pelo mesmo período. Nesse caso, pelos resultados

obtidos nos experimentos, pode-se inferir que a fêmea teria dificuldade em reconhecer o macho alimentado com proteína em uma situação como essa.

Em condições de campo, não se sabe se os resultados observados aqui seriam os mesmos, uma vez que, alguns autores evidenciaram que machos participantes de “leks” coletados no campo apresentavam maior porcentagem de proteína e açúcar em seu corpo do que machos ausentes dos “leks” (Yuval *et al.* 1998). Parece então, que um ‘lek’ na natureza formado em sua maioria por machos com baixos níveis de proteína, tais como, os machos privados de proteína por 12 dias, aparentemente são difíceis de ocorrer. Obviamente, experimentos utilizando diferentes proporções de machos, como os deste trabalho, devem ser repetidos em condições de gaiola de campo, onde a formação de leks pode se assemelhar mais às condições naturais.

Uma característica da fêmea de *C. capitata*, que pode afetar a técnica do inseto estéril, é a capacidade desta fazer mais de uma cópula. Alguns estudos revelaram que fêmeas que copularam primeiro com machos estéreis tiveram uma maior frequência de recópula, do que aquelas fêmeas que copularam primeiramente com machos selvagens (Mossinson & Yuval 2003, Vera *et al.* 2003). No entanto, Blay & Yuval (1997) evidenciaram que fêmeas que copulavam primeiro com os machos alimentados com proteína durante os primeiros quatro dias de vida, recopulavam menos que as fêmeas que tinham copulado, primeiramente, com machos alimentados sem proteína. Isso demonstra uma vantagem para a adição de proteína na dieta dos machos estéreis, antes da sua liberação em campo, mesmo quando a ingestão ou não dela na fase inicial da vida adulta não tem influência no sucesso de cópula ou na emissão de feromônio deles, tal como ocorreu no presente trabalho.

Trabalhos de marcação e recaptura demonstraram que os machos estéreis podem sobreviver, em alguns casos, durante muitos dias após a liberação destes em campo (Wong *et al.* 1982, Plant & Cunningham 1991). Sendo assim, a presença de proteína na dieta dos

adultos, nos primeiros 4 dias antes da soltura dos machos estéreis em campo, pode ser importante. Isso porque, caso esses machos não consigam realizar um bom forrageamento por proteína no campo, por inabilidade de fazê-lo, ou por carência local deste nutriente, possivelmente eles teriam uma maior reserva protéica adquirida na alimentação pré-liberação em campo. Tal procedimento poderia adiar os efeitos negativos da carência de proteína, como os encontrados neste trabalho, quando os machos foram privados de proteína por 12 dias.

Agradecimentos

Agradecemos a Fapesb (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia) pelo apoio financeiro para realização deste trabalho dado, sob número do contrato APR0001/2006; e pela bolsa concedida ao primeiro autor, sob o número de contrato BOL0266/2005.

Referências

- Arita, L. H. & Y. Kaneshiro. 1989.** Sexual selection and lek behavior in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). Pac. Sci. 43:135-143.
- Blay, S. & Yuval B. 1997.** Nutritional correlates to reproductive success of male Mediterranean fruit flies. Anim. Behav. 54: 59–66.
- Boggs, C.L. 1981.** Nutritional and life-history determinants of resource allocation in holometabolous insect. American Naturalist. 117:692-709.
- Browne, L. B. 1995.** Ontogenetic changes in feeding behavior, p.307-342. In: Chapman, R. F. & G. Boer (eds), Regulatory mechanisms in insect feeding. Chapman & Hall, New York, 398p.

Carvalho, R. S., A. S. Nascimento, & W. J. Matrangolo. 1998. Metodologia de criação do parasitóide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae, visando estudos em laboratório e em campo. Circular Técnica EMBRAPA. N° 30, 16pp.

Christenson, L. D. & R. H. Foot. 1960. Biology of fruit flies. *Ann. Rev. Ent.* 5: 171–192.

Dadd, R. H. 1985. Nutrition: Organisms, p.313-389. In: Kerkut, G. A. & I.I. Gilbert (eds), comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology. Pergamon press, London.

Feron, M. 1962. L'instinct de reproduction chez la mouche Méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera Trypetidae). Comportement sexuel. - Comportement de ponte. *Rev. Pat. Veg. Entomol. Veg.* 41: 1-129.

Hendrichs, J., B. I. Katsouanmos, D. R. Papaj & R. J. Prokopy. 1991. Sexual differences in movement between natural feeding and mating sites and trade-offs between food consumption, mating success and predator evasion in Mediterranean fruit flies (Diptera Trypetidae). *Oecologia.* 86 :223-231.

Hendrichs, J., V. Wornoayporn, B. I. Katsouyannos & K. Caggl. 1993. First field assessment of the dispersal and survival of mass reared sterile Mediterranean fruit fly males of an embryonal, temperature sensitive genetic sexing strain, pp. 453-462 *In* Management of Insect Pests: Nuclear and Related Molecular and Genetic Techniques. IAEA, Vienna, Austria.

Hendrichs, J., G. Franz & P. Rendon. 1995. Increased effectiveness and applicability of the sterile insect technique through male-only releases for control of Mediterranean fruit flies during fruiting seasons. *J. Appl. Entomol.* 119: 371-377.

Hendrichs, J. & M. A. Hendrichs, 1990. Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in nature: location and diel pattern of feeding and other activities on fruiting and nonfruiting host and nonhost trees. *Ann entomol. Soc. Am.* 83: 632–641.

Höglund, J., and R. Alatalo, 1995. *Leks*. Princeton University Press, Princeton, NJ.

Karlsson, B. 1995. Resource allocation and mating systems in butterflies. *Evolution.* 49:955-961.

Kaspi R. & B. Yuval. 2000. Post-teneral protein feeding improves sexual competitiveness but reduces longevity of mass reared sterile male Mediterranean fruit flies. *Ann Entomol. Soc. Am.* 93: 949–955.

Kaspi R., P.W. Taylor & B. Yuval 2000. Diet and size influence sexual advertisement and copulatory success of males in Mediterranean fruit fly leks. *Ecol. Entomol.* 25:1–6.

Knipling EF, Calkins CO & Ashley TR (1989) The impact of poor quality of mass-reared Mediterranean fruit flies on the sterile insect technique used for eradication. *J. Appl. Entomol.* 108: 401–408

Maor, M., B. Kamensky, S. Shloush & B. Yuval. 2004. Effects of post-teneral diet on foraging success of sterile male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Ent. Exp. Appl.* 110: 225-230.

Metcalf, R.E. 1995. Biography of the medfly, p.43-48. In: Morse, J. G., R.L. Metcalf; J.R. Carrey & R.V. Dowell (eds), *The Mediterranean fruit fly in California: defining critical research*. Coll.Nat.Agric. Sci., Univ.CA, Riverside. 318p

Moller, A. P. 1990. Fluctuating asymmetry in male sexual ornaments may reliably reveal male quality. *Anim Behav.* 40: 1185-1187.

Mossinson, S. & B. Yuval. 2003. Regulation of sexual receptivity of female Mediterranean fruit flies: old hypotheses revisited and a new synthesis proposed. *J. Insect Physiol.* 49: 561-567.

Murphy, T. A., S. C. Loerch, K. E. McClure. 1994. Effects of grain or pasture finishing systems on carcass composition and tissue accretion rates of lambs. *J. Anim. Sci.*, 72:3138-3144.

Plant, R.E. & Cunningham R. T. 1991. Analyse of the dispersal of sterile Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) released from a point source. *Environ. Entomol.* 20: 1493-1503.

Papadopoulos, N.T., B.I. Katsoyannos, N.A. Kouloussis, A.P. Economopoulos & J.R. Carrey. 1998. Effect of adult age, food, and time of day on sexual calling incidence of wild and massreared *Ceratitidis capitata* males. *Entomol. Exp. Appl.* 89: 175–182.

Slansky, F. & J.M. Scriber, 1985. Food consumption and utilization. pp. 89–163. In: Kerkut, G. A. and Gilbert, L. I. (eds.) *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology* Vol. 4, Pergamon Press, Oxford

Shelly, T.E., S.S. Kennelly & D.O. McInnis 2002. Effect of adult diet on signaling activity, mate attraction, and mating success in male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Fla Entomol* 85: 150–155.

Shelly, T. E., & D. O. Mcinnis. 2003. Influence of adult diet on the mating success and survival of male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) from 2 mass-rearing strains on field-caged host trees. Fla. Entomol. 86: 340-344.

Taylor, P.W. & B. Yuval. 1999. Postcopulatory sexual selection in Mediterranean fruit flies: advantages for large and protein-fed males. Anim. Behav. 58: 247–254.

Tsiropoulos, G. P. 1977. Reproduction and survival of the adult *Dacus oleae* feeding on pollens and honeydews. Environ. Ent. 6:390-392.

Tsitsipis, J. A. 1989. Nutrition requirements. In: Their biology, natural enemies and control, Robins, A. S. And Hooper, G., Ed. Frut flies: Elsevier, Amsterdam, p. 101-109.

Vera, M. T., J. L. Cladera, G. Calcagno, J. C. Vilardi, D. O. Mcinnis, E. Stolar, D. Segura, N. P. Marty, F. Krsticevic, P. G. Cendra, M. Rodriguero, K. Barborini, T. Heer, A. Allinghi, G. Bonpland, L. Hansen & G. Segade. 2003. Remating of wild *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) females in field cages. Ann. Entomol. Soc. Am. 96: 563-570.

Warburg, M.S. & B. Yuval. 1996. Effects of diet and activity on lipid levels of adult Mediterranean fruit flies. Physiol Entomol. 21: 151–158.

Warburg, M.S. & B. Yuval. 1997. Effects of energetic reserves on behavior patterns of Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). Oecologia. 112:314-319.

Webster, R. P. & J. G. Stoffolano. 1978. The influence of diet on the maturation of reproductive system of the apple maggot *Rhagoletis pomonella*. *Ann. Ent. Soc. Am.* 71: 844-849

Whittier, T. S., K. Y. Kaneshiro & L. D. Prescott.1992. Mating behavior of Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) in a natural environment.. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 85: 214-218.

Whittier, T. S. & K. Y. Kaneshiro. 1995. Intersexual selection in the Mediterranean fruit fly: does female choice enhance fitness?. *Evolution*, 49: 990-996.

Wong, T.T.Y., L.C. Whitehand, R.M. Kobayashi, K. Ohinata, N. Tanaka & E.J. Harris.1982. Mediterranean fruit fly: dispersal of wild and irradiated and untreated laboratory-reared males. *Environ. Entomol.* 11: 339–343.

Yuval, B., R. Kaspi, S. Shloush & M.S. Warburg.1998. Nutritional reserves regulate male participation in Mediterranean fruit fly leks. *Ecol. Entomol.* 23: 211-215.

Yuval, B., J. Hendrichs. 2000. Behavior of flies in the genus *Ceratitis* (Dacinae: Ceratitidini). In: Aluja M, A. Norrbom. (eds) *Fruit flies (Tephritidae): phylogeny and evolution of behavior*. CRC Press, Boca Raton, Fla, pp 429-457.

Yuval, B., R. Kaspi, S.A. Field, S. Blay & P.Taylor. 2002. Effects of post-teneral nutrition on reproductive success of male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Fla. Entomol.* 85: 165–170.

Zucoloto, F. S. 1987. Feeding habits of *Ceratitis capitata*: can larvae recognize a nutritional effective diet? J. Insect. Physiol. Oxford. 33:349-353.

Zucoloto, F.S. 1988. Qualitative and quantitative competition for food in *Ceratitis capitata*. Rev. Bras. Biol. 48: 523-526.

Veículo para qual o artigo 3 será submetido:

Revista: Neotropical Entomology (Formerly Anais da Sociedade Entomológica do Brasil).

Alberto Moreira Da Silva Neto

E-mail: Bio.alberto@gmail.com

Seleção Sexual em *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae): Influência da Idade dos Machos no Seu Sucesso de Cópula.

Alberto M. Da Silva Neto¹ e Iara S. Joachim-Bravo²

^{1,2} Depto. Biologia Geral, Instituto de Biologia, Univ. Federal da Bahia. Rua Barão de Geremoabo, s/n. Campus Universitário de Ondina, 40.170-290. Salvador, BA.

¹ bio.alberto@gmail.com ² iara_bravo@yahoo.com.br

Seleção Sexual em *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae): Influência da Idade dos Machos no Seu Sucesso de Cópula.

Sexual Selection in *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae): Influence of Male
Age on the Copula Success

ABSTRACT- The objective of this study was to evaluate the effect of the age in some aspects of the sexual behavior in males of *Ceratitis capitata*. The experiment had been done in laboratory comparing male with 5 and 21 days of life in the following parameters: copula success (the capacity of being chosen by the female) and amount of males who showed the first step of courtship (emission of sexual pheromone). The experiments of copula success had been carried through with males in some ratios. In these tests, the number of males with 5 days was remained constant and called “new” (an unique male) and was increased gradually the number of males with 21 days called “old”. The tested ratios had been 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 and 1:5. The copula success (in the 1:1 ratio) was analyzed in field cage. The evaluation of the copula success (in the 1:1 ratio) showed an ample preference of the females for “the new” males. About the pheromone emission, also, a bigger number of “new” males, compared with the “old ones”, showed this behavior. In the experiments in which it had a bigger ratio of collated “old” males with an only “new” male, the females perceive and choose the “new” male until when it was in a group contend 3 old males. But from ratio (1: 4) the female lost the capacity of recognition “the new” male. These data indicate that the senescence *C. capitata* male has a considerable negative effect on its reproductive success.

KEY WORDS: Fruit Fly, Sexual Selection, Age Male

RESUMO - O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da idade em alguns aspectos do comportamento sexual de machos de *Ceratitis capitata*. Em experimentos realizados em laboratório foram comparados machos com 5 e 21 dias de idade em relação aos seguintes parâmetros: sucesso de cópula (estimado pela capacidade de ser escolhido pela fêmea) e quantidade de machos que exibiam o primeiro passo de corte, que é a emissão de feromônio sexual. Os experimentos de sucesso de cópula foram realizados com machos em várias proporções. Nesses testes mantinha-se constante o número de machos com 5 dias denominados “novos” (um único macho) e aumentava-se progressivamente o número de machos com 21 dias denominados “velhos”. As proporções testadas foram 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 e 1:5. O sucesso de cópula (na proporção 1:1) foi analisado, também, em gaiola de campo. A avaliação do sucesso de cópula (na proporção 1:1) mostrou uma ampla preferência das fêmeas pelos machos “novos”. Quanto à emissão de feromônio, também, um maior número de machos “novos”, comparados aos “velhos”, exibiu esse comportamento. Nos experimentos nos quais havia uma proporção maior de machos “velhos” confrontados com um único macho novo, as fêmeas conseguiram perceber e escolher o macho mais novo até quando este estava em um grupo contendo 3 machos velhos. Apenas a partir da proporção (1:4) é que a fêmea perdeu a capacidade de reconhecimento do macho “novo”. Esses dados indicam que a senescência dos machos de *C. capitata* tem um considerável efeito negativo sobre o seu sucesso reprodutivo.

PALAVRAS-CHAVE: Mosca-das-frutas, Seleção sexual, Idade do Macho

Os Insetos da família Tephritidae são bastante conhecidos em todo o mundo por infestarem frutos de grande interesse econômico (Christenson & Foote 1960). Dentre as espécies dessa família destaca-se a *Ceratitis capitata*, (Wiedemann) conhecida como a mosca do Mediterrâneo e considerada uma das pragas mais prejudiciais da fruticultura mundial (Metcalf 1995).

Essa espécie tem seu sistema de acasalamento baseado em “leks”, nos quais machos disputam entre si para copularem com uma fêmea (Prokopy & Hendrichs 1979, Arita & Kaneshiro 1989, Whittier *et al.* 1992, Kaspi *et al.* 2000).

Um das técnicas mais utilizadas no controle dessa praga é a técnica do inseto estéril (TIE), que consiste na liberação em campo de milhões de machos estéreis que irão competir com os machos selvagens na tentativa de copularem com as fêmeas. Para que essa técnica tenha sucesso é preciso que os machos estéreis, soltos em campo, participem do “leks” com machos selvagens, ou formem seus próprios “leks”, atraiam as fêmeas selvagens, realizem a corte, copulem e inseminem as fêmeas (Hendrichs *et al.* 2002).

Vários estudos têm sido realizados com relação à influência do tamanho e da alimentação na fase adulta dos machos de *C. capitata* sobre o sucesso de cópula dos mesmos (Churchill-Stanland *et al.* 1986, Arita & Kaneshiro 1988, Whittier *et al.* 1994, Whittier & Kaneshiro 1995, Blay & Yuval 1997, Papadopoulos *et al.* 1998, Taylor & Yuval 1999, Kaspi *et al.* 2000, Kaspi & Yuval 2000, Shelly *et al.* 2002, Yuval *et al.* 2002, Maor *et al.* 2003). A interação dos efeitos da alimentação e da idade no sucesso de cópula e na longevidade dos machos de *C. capitata* (Papadopoulos *et al.* 1998, Kaspi & Yuval 2000, Maor *et al.* 2004), bem como, a influência da reprodução na longevidade (Tatar 2001, Liedo *et al.* 2002), também têm sido temas bastante abordados. Porém, estudos que levam em conta apenas a influência da idade dos machos de *C. capitata* no seu sucesso de cópula, com todos os demais fatores padronizados, raramente têm sido realizados. Talvez isto ocorra devido ao fato de

machos de *C. capitata* terem um curto período de pré-cópula (Liedo *et al.* 2002) e menor longevidade (Plácido-Silva *et al.* 2006), comparados a outros Tephritidae, tais como, algumas espécies de *Anastrepha* (Aluja *et al.* 1994, Joachim-Bravo *et al.* 2003), para as quais existe um maior número desse tipo de estudo.

Para um incremento do sucesso de técnicas de controle dessas pragas agrícolas, como a técnica do inseto estéril, é fundamental que os machos soltos na natureza estejam com uma idade ideal para realizarem acasalamentos (Abila *et al.* 2003). Trabalhos de marcação e recaptura demonstraram que os machos estéreis de *C. capitata* podem sobreviver por vários dias após serem liberados no campo (Wong *et al.* 1982, Plant & Cunningham 1991). Isso leva a crer que estudos relacionados ao papel da senescência no sucesso de cópula desses machos são relevantes para determinar a real vantagem de uma maior sobrevivência no campo do ponto de vista do sucesso reprodutivo. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da senescência no sucesso de cópula dos machos de *C. capitata*.

Material e métodos

A população de *C. capitata* utilizada nos experimentos tem sido mantida sob condições de laboratório, sem a introdução de moscas selvagens, desde 1980. A manutenção da criação segue metodologia descrita em Zucoloto (1987). Aos imaturos foi oferecida uma dieta à base de farelo de soja e lêvedo de cerveja (Carvalho *et al.* 1998) e aos adultos uma dieta à base de lêvedo de cerveja e sacarose (Zucoloto 1979). Após a emergência, os machos utilizados nos experimentos foram mantidos em gaiolas plásticas (16x11x10cm) com densidade média por gaiola de 50 indivíduos, durante 4 ou 20 dias antes da realização do experimento. Neste período receberam, diariamente, a mesma alimentação dos adultos citada acima e água. As fêmeas utilizadas foram mantidas sob as mesmas condições dos machos por 4 dias antes da realização do experimento. Os experimentos foram divididos, de acordo com os objetivos, em testes de seleção sexual em laboratório, testes de emissão de feromônio em

laboratório e testes de seleção sexual em gaiola de campo. A seleção sexual é considerada aqui como a aceitação da cópula pela fêmea. Ao final dos experimentos todos os machos foram fixados para medição do tamanho da asa esquerda (distância entre a nervura R4+5 a m-cu), como estimativa do tamanho do corpo (Zucoloto 1987). Estas medidas foram feitas com auxílio de um estereomicroscópio munido de ocular micrométrica com conversão de 0,5mm em um aumento de 20 vezes. Tal procedimento foi feito por medida de segurança, uma vez que, nos experimentos o objetivo foi manipular apenas a idade, mantendo padronizado o tamanho e a alimentação. Caso ocorresse diferença de tamanho entre os machos, o experimento era descartado. Os experimentos em laboratório foram conduzidos sob temperatura controlada de 25-26°C e 70% de umidade relativa. Os experimentos em gaiola de campo foram realizados em dias ensolarados com temperaturas variando entre 26°C e 35°C e umidade relativa entre 63% a 82%.

Seleção sexual em laboratório

a) Testes com machos de diferentes idades na proporção 1:1.

Nestes experimentos dois machos, um de 5 dias (“jovem”) e outro de 21 dias de idade (“velho”), foram colocados juntamente com uma fêmea de 5 dias de idade em uma caixa de plástico (10x5cm) contendo dieta de adulto e água. Os machos de diferentes idades foram previamente marcados na parte dorsal do tórax com tinta atóxica de cores distintas. Em cada repetição as cores foram alternadas entre os grupos. A ocorrência de cópulas foi monitorada a cada 5 minutos, das 08:00 h as 15:00 h, durante 2 dias consecutivos. A finalização dos experimentos ocorreu sempre as 15:00 h de cada dia, porque, em observações prévias, notou-se a ocorrência de poucas ou nenhuma cópula em laboratório a partir deste horário. Cada casal em cópula foi retirado e fixado em álcool 70%, para posterior registro do macho e medição do tamanho da asa. Foram feitas 100 repetições com gerações alternadas.

b) Testes com machos de diferentes idades em proporções variadas.

Os testes com diferentes proporções de machos foram realizados quando as fêmeas, no experimento anterior, exibiram preferência sexual por machos de algum dos grupos testados. A montagem desse experimento seguiu a metodologia descrita no item a, com a única diferença de que, em cada caixa experimental, era colocado um único macho do grupo preferido no experimento de seleção sexual e adicionava-se uma proporção crescente de machos do grupo não preferido. Esses experimentos foram realizados para determinar a capacidade da fêmea escolher o macho do grupo preferido dentro de um conjunto crescente de machos do grupo não preferido. As proporções de machos, provenientes do grupo preferido e do grupo não preferido, testadas foram: 1:2, 1:3, 1:4 e 1:5. Para cada proporção foram realizadas 30 repetições com gerações alternadas.

Emissão de feromônio sexual.

As frequências de emissão de feromônio sexual entre machos de diferentes idades foram comparadas em experimentos realizados em uma gaiola de laboratório disposta sobre uma bancada. A gaiola (68x68x90cm) era feita de PVC, revestida com tela, e apresentava uma abertura lateral para a entrada dos braços e cabeça do observador. Dentro dela era acondicionada uma muda de pitanga (*Eugenia uniflora*) envasada, com 60 cm de altura e 40 cm de raio de copa e pedaços de maçã (*Malus domestica*) dispostos nas extremidades dos galhos. Quarenta machos, previamente marcados, sendo vinte de cada idade testada nos experimentos de seleção sexual, foram acondicionados nesta gaiola e monitorados quanto à emissão de feromônio por um período de 1 hora (08:00h as 09:00h). Esse horário foi escolhido por ter sido considerado o período de pico de ocorrência de cópulas, em experimentos preliminares. Cada macho que liberava a gota de feromônio era retirado para identificação e posterior medição do tamanho da asa. Após a finalização do experimento, os

machos que não emitiram feromônio, também foram fixados e medidos. Foram feitas 5 repetições com gerações alternadas.

Seleção sexual em gaiola de campo.

Esses experimentos foram realizados no Campus da Universidade Federal da Bahia, Salvador/Bahia. Foram utilizadas gaiolas (230X150X230cm), nas quais era acondicionada uma muda de pitanga (*Eugenia uniflora*), de aproximadamente 107 cm de altura e raio de copa em torno de 40 cm, colocada sobre um banco de madeira com 60 cm de altura. Pedacos de maçã (*Malus domestica*) foram dispostos nas extremidades dos galhos da árvore. Nessas gaiolas foram introduzidos cem machos (cinquenta de 5 dias e cinquenta de 21 dias idade, previamente marcados por tinta atóxica com cores distintas) juntamente, com cinquenta fêmeas de 5 dias de idade. A ocorrência de cópulas foi monitorada a cada 5 minutos, das 08:00h as 13:00h. Cada casal em cópula era gentilmente retirado para identificação do macho e posterior medição do tamanho da asa. Sempre que um casal era retirado observava-se a origem do macho em cópula e retirava-se um macho do grupo oposto. Este procedimento foi feito para manter sempre a proporção de machos com diferentes idades em 1:1, dentro da gaiola. Foram feitas 5 repetições com gerações alternadas.

Análise estatística

Todos os dados dos experimentos de seleção sexual em laboratório foram analisados usando o teste do Qui-quadrado com auxílio do programa StatSoft, Inc. (2001). STATISTICA (data analysis software system), version 6. A frequência de cópulas esperada para cada tipo de macho (Esperado) utilizada em todos os teste de Qui-quadrado foi calculada pela seguinte fórmula: $Esperado = Nr/TM \times Mi$, na qual “Nr” é número total de repetições, “TM” o número total de machos dentro de cada caixa experimental e “MI” número de machos do tipo em interesse dentro de cada caixa do experimento. Para análise dos dados de emissão de feromônio e de seleção sexual em gaiola de campo, foi utilizado o teste t não pareado, com o

auxílio do programa GraphPad InStat version 3.00 for Windows 95, GraphPad Software, San Diego California USA. Para comparação entre o tamanho das asas dos diferentes grupos de idades em cada experimento, utilizou-se, também, o teste t não pareado. Todos os dados nos quais o teste t foi aplicado passaram no teste de normalidade de Kolmogorov e Smirnov. Em todos os casos as diferenças entre os desvios-padrão nas comparações dos grupos (dois a dois), não foram significativas, permitindo a aplicação do teste t. Em todos os testes estatísticos utilizados, neste trabalho, assumiu-se o alfa de 5%.

Resultados.

Seleção sexual em laboratório

Nos experimentos de escolha da fêmea na proporção de machos 1:1 (“jovem” – 5 dias : “velho” - 21 dias), as fêmeas preferiram copular com os machos de 5 dias em relação aos machos de 21 dias (teste do Qui-quadrado: $X^2= 23,04$, $df=1$, $p < 0,000002$) (Fig.1).

Nas outras proporções, as fêmeas mantiveram preferência para copular com os machos de 5 dias somente na proporção jovem:velho de 1:2 (teste do Qui-quadrado : $X^2= 9,600000$ $df=1$ $p < 0,001946$) (Fig. 2a) e de 1:3 (teste do Qui-quadrado : $X^2 = 23,511111$ $df=1$ $p < 0,000001$) (Fig. 2b). Nas demais proporções testadas 1:4 (Fig. 2c) e 1:5 (Fig 2d), as fêmeas não exibiram preferência por nenhum dos dois grupos de machos, tendo sido o acasalamento ao acaso (1:4 - teste do Qui-quadrado, $X^2=0,2083333$ $df=1$ $p < 0,648077$ e 1:5 - teste do Qui-quadrado, $X^2 = 0,2400000$ $df=1$ $p < 0,624206$).

Um exemplo desta falta de escolha a partir da proporção 1:4 foi que o esperado para 30 repetições de escolha da fêmea para cópula era que 24 fêmeas escolhessem os machos velhos e apenas 6 fêmeas escolhessem os machos jovens. O observado do número de cópulas, nessa proporção foi que 23 fêmeas copularam com os machos velhos, em comparação á 7 fêmeas que copularam com os machos jovens. Demonstrando assim que a escolha da fêmea nesta proporção ocorreu ao acaso, pois o observado e o esperado foram

semelhantes. Em todos os experimentos, os machos das duas diferentes idades apresentaram tamanho similar (estimado pela medida da asa) (teste t não pareado: 1:1 $p=0,4021$; 1:2 $p=0,1335$; 1:3 $p=0,3162$; 1:4 $p=0,0855$; 1:5 $p=0,9018$).

Emissão de feromônio sexual em gaiola de laboratório.

Nesses experimentos, uma maior quantidade de machos de 5 dias emitiram feromônio comparados aos machos de 21 dias (teste t não pareado a 5% de significância; $p < 0,0055$) (Fig. 3). Em todos os experimentos, os machos das duas diferentes idades apresentaram tamanho similar (estimado pela medida da asa) (teste t não pareado: Gaiola1 $p=0,4912$; Gaiola2 $p=0,1393$; Gaiola3 $p=0,1294$; Gaiola4 $p=0,1231$; Gaiola5 $p=0,6609$).

Experimentos de seleção sexual em gaiola de campo.

Os resultados desses experimentos foram similares aos resultados encontrados nos experimentos de seleção sexual em laboratório na proporção 1:1. As fêmeas preferiram copular com os machos de 5 dias em relação aos de 21 dias de idade (teste t não pareado: $p < 0,0001$) (Fig. 4). Em todos os experimentos, os machos das duas diferentes idades apresentaram tamanho similar (estimado pela medida da asa) (teste t não pareado: Gaiola1 $p=0,8759$; Gaiola2 $p=0,1547$; Gaiola3 $p=0,4486$; Gaiola4 $p=0,05021$; Gaiola5 $p > 0,9999$).

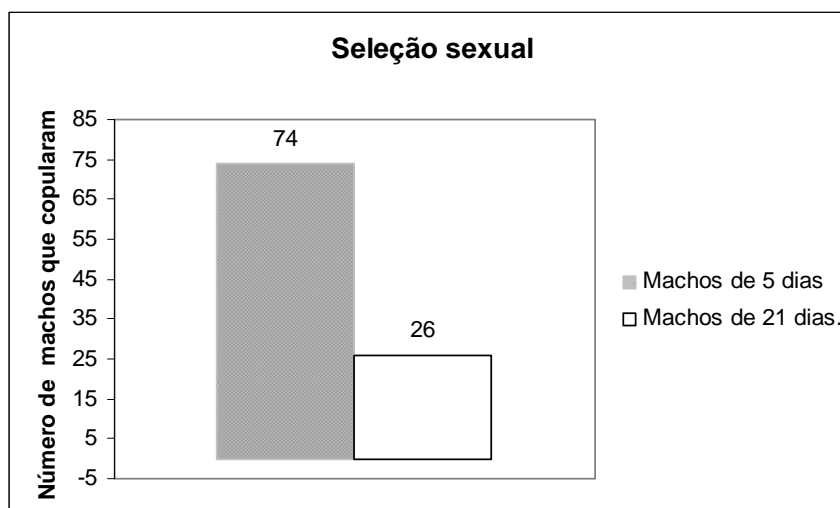


Figura 1. Seleção sexual em laboratório na proporção 1:1. Os valores representam o número de machos de diferentes idades que efetuaram cópula (escolhidos pela fêmea), no total de 100 repetições. Houve diferença estatística entre os dois grupos de machos com $p < 0,000002$. (Qui-quadrado, com $\infty = 0,05$)

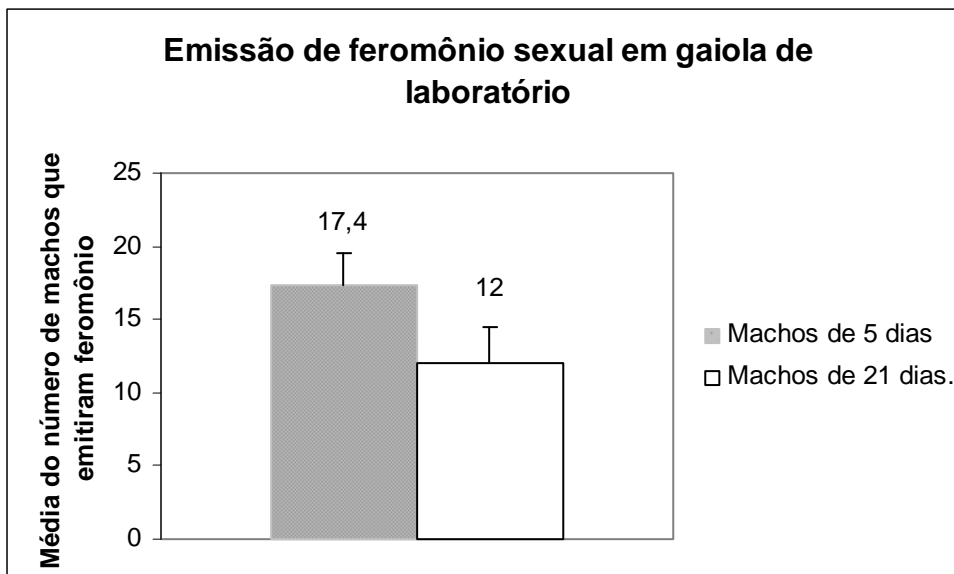


Figura 3. Número de machos com 5 ou 21 dias que emitiram feromônio na primeira hora de luz diária. Os resultados representam as médias e os desvios padrão de 5 repetições, cada uma contendo 20 machos de cada grupo de idade. Houve diferença estatística com $p < 0,0055$. (Test t não pareado com $\alpha = 0,05$)

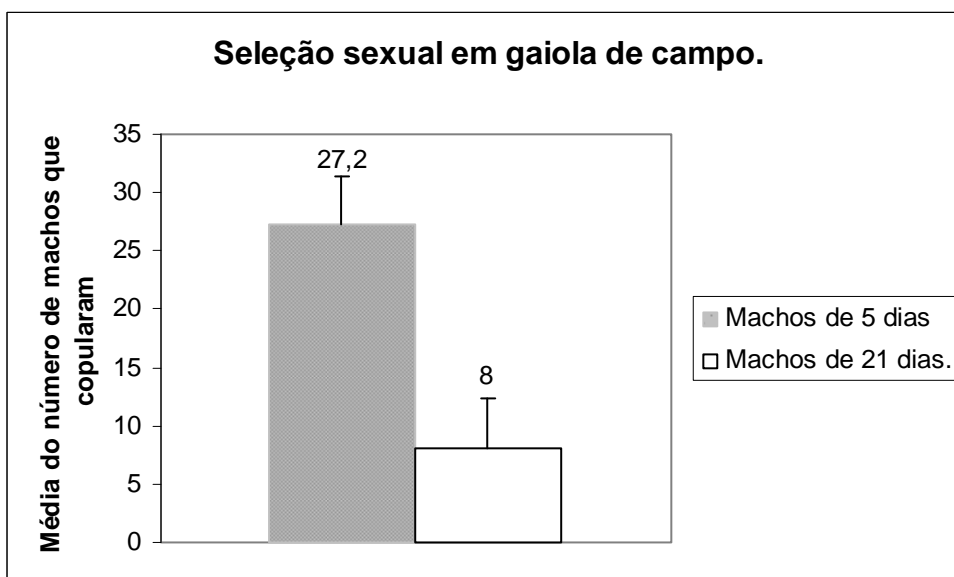


Figura 4. Seleção sexual em gaiola de campo. Escolha das fêmeas entre machos jovens (5 dias) e velhos (21 dias). Os resultados representam as médias e os desvios padrão de 5 repetições, cada uma contendo 50 machos de cada grupo de idade. Houve diferença estatística com $p < 0,0001$ (Test t não pareado com $\alpha = 0,05$).

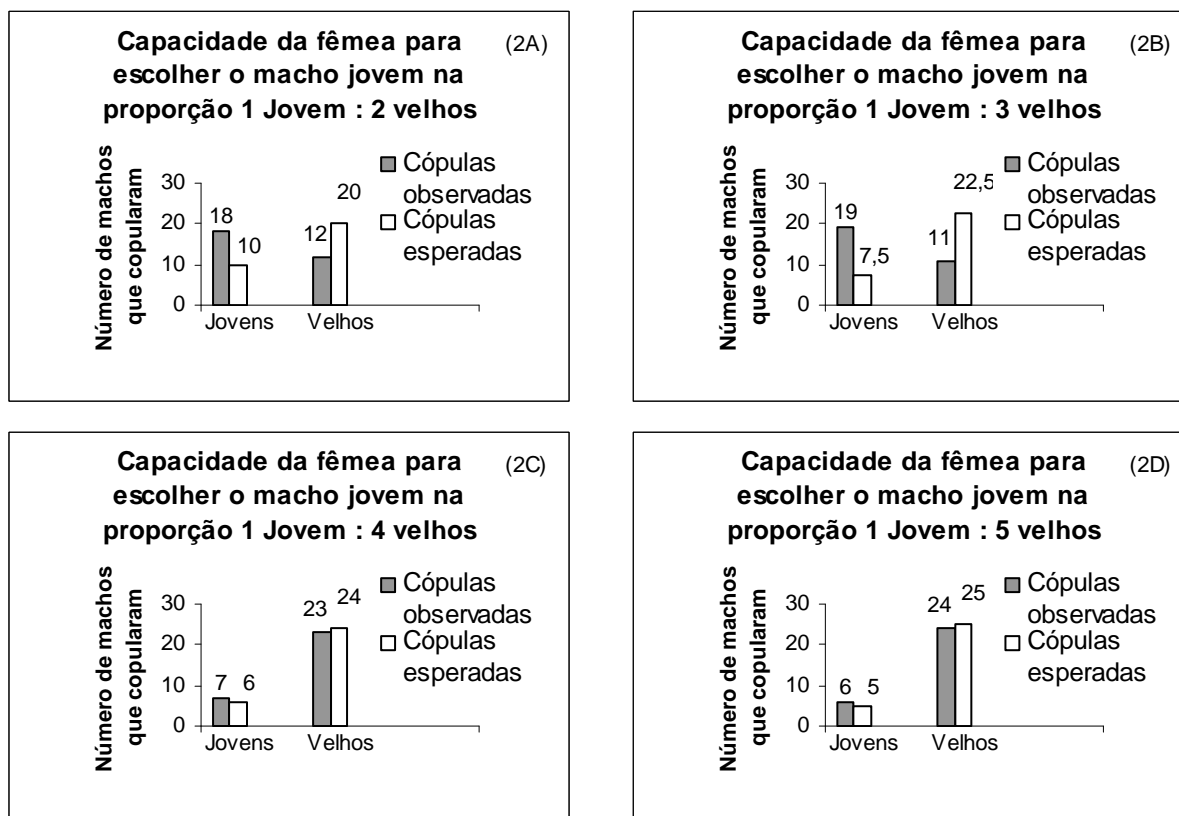


Figura 2. Capacidade de escolha da fêmea para copular com o macho novo (5 dias) frente a diversas proporções crescentes de machos velhos (21 dias). (A) proporção 1:2. (B) proporção 1:3. (C) proporção 1:4. (D) proporção 1:5. Os resultados representam o observado e o esperado do número de cópula dos machos de cada grupo de idade em 30 repetições para cada proporção. Houve diferenças entre o observado e o esperado de cópulas dos machos com diferentes idades apenas nas proporções 1:2 e 1:3. Nessas proporções as fêmeas preferiram copular com os machos novos. (Qui-quadrado com $\infty = 0,05$).

Discussão

A senescência, que é um acontecimento natural, advento da idade, que causa declínios na probabilidade de sobrevivência e de fecundidade nos animais (Charlesworth 1980, Partridge & Barton 1996), parece ser um fator relevante e negativo no sucesso de cópula dos machos de *C. capitata*, visto os resultados encontrados no presente trabalho. Nos testes de seleção sexual, tanto em laboratório quanto em gaiola de campo, mais de 70% das fêmeas preferiram copular com machos novos (5 dias). Ressalta-se que os resultados do testes realizados em laboratório tiveram completa correspondência com os dos testes efetuados em

gaiola de campo, o que demonstra a eficiência dos primeiros para a avaliação de aspectos do comportamento reprodutivo, mesmo em ambiente artificial.

Os resultados aqui apresentados corroboram um estudo de Liedo *et al.* (2002), no qual o objetivo foi avaliar o efeito da virgindade das fêmeas de *C.capitata*, no sucesso de cópula de machos de laboratório, com 2, 3, 5, 6, 8, 9, 11 e 12 dias de idade. No trabalho, os autores notaram que o maior número de cópulas ocorreu com machos de 4 dias de idade, comparados aos das demais idades, independentemente das fêmeas serem virgens ou não e que após o décimo primeiro dia de idade o número de cópulas declinou de modo mais acentuado.

Nos experimentos de emissão de feromônio na primeira hora de luz diária, 87% dos machos de 5 dias de idade emitiram feromônio, ao passo que apenas 60% dos machos com 21 dias de idade o fizeram. Tais dados evidenciam novamente uma vantagem dos machos mais novos em relação aos mais velhos. O comportamento de corte dos machos de *C. capitata* tem estágios bem definidos. O primeiro deles é a emissão de feromônio de atração das fêmeas a longa distância, através da elevação da parte posterior de seu abdome e liberação de feromônio, através da eversão da porção membranososa de seu epitélio retal (Feron 1962, Liimatainen *et al.* 1997, Calcagno *et al.* 1999, Briceño & Eberhard 2000, Briceno *et al.* 2002), sendo esse, um passo importante para o sucesso de cópula dos machos. Como a maior parte das cópulas observadas em todos os experimentos aqui realizados ocorreu na primeira hora de luz diária, pode-se inferir que o maior sucesso de cópula dos machos de 5 dias de idade tenha sido em decorrência de um maior índice de emissão de feromônio dos mesmos nesse horário. Os dados relativos ao efeito da idade na emissão de feromônio do presente trabalho corroboram dados de Maor *et al.* (2004), que perceberam uma diminuição diária da emissão de feromônio ao longo de 4 dias, quando trabalharam com machos de laboratório em gaiola de campo. Também corroboram dados de Papadopoulos *et al.* (1998) que, em um experimento no qual avaliaram a emissão de feromônio de machos de laboratório durante 16

dias, verificaram que a maioria dos machos que emitiram feromônio tinha 4 dias de idade. Kaspi & Yuval (2000), utilizando também uma linhagem de laboratório, não encontraram efeito da idade sobre a emissão de feromônio. No entanto, eles compararam machos com idades próximas (6 e 8 dias).

Uma explicação para o pouco sucesso de cópula dos machos com 21 dias, observado neste trabalho, poderia ser um esgotamento de suas reservas nutricionais ao longo da vida. Warburg & Yuval (1996) evidenciaram que machos alimentados com proteína na fase adulta apresentaram menor taxa de lipídeos no corpo, copularam mais e participaram mais de “leks” emitindo feromônio, do que os privados de proteína. Desse modo, os autores sugeriram que as reservas de lipídeos dos machos alimentados com proteína seriam utilizadas nas atividades sexuais dos mesmos, o que justificaria a menor taxa de lipídeos encontrada em seus corpos. Levando-se em conta que os machos do presente trabalho receberam durante sua fase adulta uma dieta rica em proteína e que o processo de emissão de feromônio ocorre mesmo sem a presença das fêmeas, uma vez que sua função é atraí-las para o local de cópula (Briceño & Eberhard 2002), pode-se inferir que os machos com 21 dias de idade poderiam já estar realizando a emissão de feromônio desde o início de sua fase adulta, e, desse modo, já terem consumido boa parte de suas reservas energéticas. Plácido-Silva *et al.* (2006), utilizando machos da mesma linhagem dos empregados no presente trabalho, verificaram que, quando alimentados com proteína, os machos apresentaram longevidade média de 35 dias. Desse modo, os machos com 21 dias de idade teriam já percorrido aproximadamente 60% de seu tempo de vida em laboratório.

Nos experimentos que testaram a percepção da fêmea para copular com o macho de 5 dias de idade, frente a crescentes proporções de machos com 21 dias, observou-se que as fêmeas conseguiram reconhecer e copular com o macho mais novo até na proporção de 1:3 (um macho de 5 dias confrontado com três machos de 21 dias).

Como os ‘leks’ contêm entre 2 à 10 machos, (Flath *et al.* 1993, Eberhard 1999), os experimentos de proporção poderiam simular “leks” de diferentes tamanhos. Nesse caso, uma fêmea teria a capacidade de percepção para copular com o macho de 5 dias em “leks” contendo até 4 machos, sendo um deles o macho de 5 dias de idade e os outros três machos de 21 dias. Pode-se considerar, por estes dados, que as fêmeas apresentam um alto nível de discriminação dos machos de melhor qualidade. Além disso, esse tipo de experimento inédito, pode dar uma melhor idéia sobre quais as características dos machos são mais relevantes para as fêmeas, ou seja, aquelas que elas conseguem discriminar mesmo quando mascaradas em um ambiente mais complexo.

Alguns trabalhos de marcação e recaptura demonstraram que os machos estéreis podem sobreviver, em alguns casos, por muitos dias após a sua liberação em campo (Wong *et al.* 1982, Plant & Cunningham 1991). Porém, se o efeito da senescência atuar sobre o sucesso de cópula deles, tal como atuou neste trabalho, a questão dos machos estéreis terem ou não uma maior longevidade seria menos relevante para a técnica do macho estéril, do que seu sucesso de cópula nos primeiros dias após a liberação.

Apesar deste trabalho não examinar os eventos após início de cópula, como a transferência de esperma do macho para a espermateca da fêmea, outros trabalhos demonstraram que a probabilidade de transferência de esperma dos machos estéreis, com subsequente armazenamento de esperma pelas fêmeas em suas espermatecas, decai com o aumento da idade dos machos (Taylor *et al.* 2001). Tal fato tem consequência na probabilidade de re-cópula da fêmea, já que estudos indicaram que existe uma correlação negativa entre quantidade de esperma estocado na espermateca das fêmeas e ré-cópula destas (Miyatake *et al.* 1999, Mossinson & Yuval 2003). Desse modo, mesmo que os machos mais velhos consigam copular, ainda assim, as fêmeas, possivelmente, poderiam fazer uma nova cópula e caso esta fosse realizada com um macho selvagem, poderia ser prejudicial ao

completo sucesso da técnica do inseto estéril. Dados da literatura têm indicado que fêmeas selvagens podem copular com machos estéreis (Liedo *et al.* 2002), porém, elas têm grande capacidade de logo em seguida realizar uma nova cópula com qualquer outro macho, inclusive um selvagem (Mossinson & Yuval 2003, Vera *et al.* 2003). Sendo assim, os resultados do presente trabalho indicam que a senescência tem um efeito negativo no sucesso de cópula dos machos criados em laboratório e, dessa forma, esse poderia ser mais um fator a ser levado em conta na avaliação do desempenho sexual dos machos estéreis no campo.

Agradecimentos

Agradecemos a Fapesb (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia) pelo apoio financeiro para realização deste trabalho dado, sob número do contrato APR0001/2006; e pela bolsa concedida ao primeiro autor, sob o número de contrato BOL0266/2005.

Referências

- Abila, P. P., M. Kiendrebeogo, G. N. Mutila, A.G. Parker & A.S. Robinson. 2003.** The effect of age on the mating competitiveness of male *Glossina fuscipes* and *G. palpalis* J. Insec. Scien. 3:13- 21.
- Aluja, M. 1994.** Bionomics and management of *Anastrepha*. Annu. Rev. Entomol. 39: 155-178.
- Arita, L. H., & K. Y. Kaneshiro. 1988.** Body size and differential mating success between males of two populations of the Mediterranean fruit fly. Pac. Sci. 42: 173-177.
- Arita, L. H. & Y. Kaneshiro. 1989.** Sexual selection and lek behavior in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). Pac. Sci. 43:135-143.

Blay, S. & Yuval B. 1997. Nutritional correlates to reproductive success of male Mediterranean fruit flies. *Anm. Behav.* 54: 59–66.

Biceño, R. D., D. Ramos & William G. Eberhard.1996. Courtship behavior of male *ceratitis capitata* (diptera: tephritidae) in captivity. *Fla. Entomol.* 79: 130-143

Briceño, R. D. & W. G. Eberhard, 2000. Male wing positions during courtship by Mediterranean fruit flies (*Ceratitidis capitata*) (Diptera: Tephritidae). *Journal of the Kansas Entomol. Soc.* 73: 111–115.

Briceño R. D., & G W. Eberhard. 2002 Courtship in the medfly, *Ceratitidis capitata*, includes tactile stimulation with the male's arista. *Entomol Exp Appl.* 102: 221–228

Biceño, R. D, W. G. Eberhad, J. C. Vilardi & P. Liedo. 2002. Variation in the intermittent buzzing songs of male medflies (Diptera: Tephritidae: *Ceratitidis capitata*) associated with geography, mass-rearing, and courtship success. *Fla. Entomol.* 85: 32-40.

Calcagno, G., M. T. Vera, F. Manso, S. Lux, F. Norry, N. Munyiri & J. C. Vilardi. 1999. Courtship behavior of wild and mass-rearing Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) males from Argentina. *J. Econ. Entomol.* 92: 373-379.

Carvalho, R. S., A. S. Nascimento, & W. J. Matrangolo. 1998. Metodologia de criação do parasitóide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae, visando estudos em laboratório e em campo. Circular Técnica EMBRAPA. Nº 30, 16pp.

Charlesworth, B. 1980. Evolution in Age- structured Population, 2nd edition. Cambridge University Press, Cambridge.

Churchill-Stanland, C., R. Y. Stanlan, T. Y. Wong, N. Tanaka, D.O. Mcinnis & R. V. Dowell. 1986. Size as a factor in the mating propensity of the Mediterranean Fruit flies, *Ceratitidis capitata* (Diptera:Tephritidae), in the laboratory. J. Econ. Entomol. 79: 614-619.

Christenson, L. D. & R. H. Foot. 1960. Biology of fruit flies. Ann. Rev. Ent. 5: 171–192.

Eberhard, W. G., 1999. Sexual behavior and sexual selection in the medfly, *Ceratitidis capitata*. pp. 459–489. In: M. Aluja & A. Norrbom (eds) Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior. CRC Press, Boca Raton p 490

Feron, M. 1962. L'instinct de reproduction chez la mouche Mediterranean des fruits *Ceratitidis capitata* Wied. (Dipt. Trypetidae). Comportement sexual. - Comportement de ponte. Rev. Pat. Veg. Entomol. Veg. 41: 1-129.

Flath, R. A., E. B. Jang, D. M. Light, R. T. Mon, L. Carvalho, R. G. Binder & J. O. John. 1993. Volatile pheromone emissions from the Mediterranean fruit fly. Effects of age and time of day. J. Agric. Food Chem. 41: 830-837.

Hendrichs, J., A.S. Robinson, J.P. Cayol & W. 2002 Enkerlin. Medfly area wide sterile insect technique programmes for prevention, suppression or eradication: The importance of mating behavior studies. Fla. Entomol. 85: 1–13.

Kaspi R. & B. Yuval. 2000. Post-teneral protein feeding improves sexual competitiveness but reduces longevity of mass reared sterile male Mediterranean fruit flies. Ann Entomol. Soc. Am. 93: 949–955.

Kaspi R., P.W. Taylor & B. Yuval 2000. Diet and size influence sexual advertisement and copulatory success of males in Mediterranean fruit fly leks. Ecol. Entomol. 25:1–6.

Joachim-Bravo, I. S., T. C. Magalhães, A. M. Silva-neto, A. N. Guimarães & A. S. Nascimento. 2003. Longevity and fecundity of four species of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). Neotrop. Entomol.. 32:543-549.

Liimatainen, J., A. Hoikkala & T. E. Shelly, 1997. Courtship behavior in *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae): comparison of wild and mass-reared males. Ann. Entomol. Soc. Am. 90: 836–843.

Liedo, P., E. Leon, M.I. Barrios, J. F. Valle-mora & G.Ibarra.2002. Effect of age on the mating propensity of the mediterranean fruit fly (diptera: tephritidae). Fla Entomol. 85:94-101.

Maor, M., B. Kamensky, S. Shloush, & B. Yuval. 2004. Effects of post-teneral diet on foraging success of sterile male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). Ent. Exp. Appl. 110: 225-230.

Metcalf, R.E. 1995. Biography of the medfly, p.43-48. In: Morse, J. G., R.L. Metcalf; J.R. Carrey & R.V. Dowell (eds), The Mediterranean fruit fly in California: defining critical research. Coll.Nat.Agric. Sci., Univ.CA, Riverside. 318p

Mossinson, S. & B. Yuval. 2003. Regulation of sexual receptivity of female Mediterranean fruit flies: old hypotheses revisited and a new synthesis proposed. J. Insect Physiol. 49: 561-567.

Miyatake, T., T. Chapman & L. Partridge. 1999. Mating-induced inhibition of remating in female Mediterranean fruit flies *Ceratitis capitata*. J. Insect. Physiol. 45:1021-1028.

Nakagawa, S., G. J. Farias, D. Suda, R. T. Cunningham & D. L. Chambers. 1971.

Reproduction of Mediterranean fruit fly: frequency of mating in the laboratory. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 64: 949-950

Papadopoulos, N.T., B.I. Katsoyannos, N.A. Kouloussis, A.P. Economopoulos & J.R.

Carrey. 1998. Effect of adult age, food, and time of day on sexual calling incidence of wild and massreared *Ceratitis capitata* males. *Entomol. Exp. Appl.* 89: 175–182.

Partridge, L. & N. H. Barton. 1996. On measuring the rate of ageing. *Proc. Roy. Soc. Lon.*

B. 263: 1365-1371.

Placio-Silva, M. C., A. M. Silva-Neto, F. S. Zucoloto & I. S. Joachim-bravo. 2006.

Effects of different protein Concentrations on Longevity and feeding behavior of two adult populations of *Ceratitis capitata* Wiedemenn (Diptera: Tephritidae). *Neotrop. Entomol.* 35: 747-752.

Plant, R.E. & Cunningham R. T. 1991. Analyse of the dispersal of sterile Mediterranean

fruit flies (Diptera: Tephritidae) released from a point source. *Environ. Entomol.* 20: 1493-1503.

Prokopy, R. J. & J. Hendrichs. 1979. Mating behavior of *Ceratitis capitata* on a field-cage

host tree. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 72: 642-648.

Shelly, T.E., S.S. Kennelly & D.O. McInnis 2002. Effect of adult diet on signaling activity,

mate attraction, and mating success in male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae).

Fla Entomol 85: 150–155.

Tatar, M. 2001. Senescence. in: Fox, C.W., D. A. Roff, D. J. Fairbain. (eds) Evolutionary Ecology: concepts and case studies. Oxford University press, Oxford.

Taylor, P.W. & B. Yuval. 1999. Postcopulatory sexual selection in Mediterranean fruit flies: advantages for large and protein-fed males. *Ann. Behav.* 58: 247–254.

Taylor, P., R. Kaspi, S. Mossinson & B Yuval. 2001. Age-dependent insemination success of sterile Mediterranean fruit flies. *Entomol. Exp. Appl.* 98: 27–33

Vera, M. T., J. L. Cladera, G. Calcagno, J. C. Vilardi, D. O. Mcinnis, E. Stolar, D. Segura, N. P. Marty, F. Krsticevic, P. G. Cendra, M. Rodrigoero, K. Barborini, T. Heer, A. Allinghi, G. Bonpland, L. Hansen & G. Segade. 2003. Remating of wild *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) females in field cages. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 96: 563-570.

Whittier, T. S., K. Y. Kaneshiro & L. D. Prescott.1992. Mating behavior of Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) in a natural environment. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 85: 214-218.

Whittier, T. S., F. Y. Nam, T. E. Shelly & K. Y. Kaneshiro. 1994. Male courtship success and female discrimination in the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *J. Insect Behav.* 7: 159-170.

Warburg, M.S. & B. Yuval. 1996. Effects of diet and activity on lipid levels of adult Mediterranean fruit flies. *Physiol Entomol.* 21: 151–158.

Whittier, T. S. & K. Y. Kaneshiro. 1995. Intersexual selection in the Mediterranean fruit fly: does female choice enhance fitness?. *Evolution*, 49: 990-996.

Wong, T.T.Y., L.C. Whitehand, R.M. Kobayashi, K. Ohinata, N. Tanaka & E.J. Harris.1982. Mediterranean fruit fly: dispersal of wild and irradiated and untreated laboratory-reared males. *Environ. Entomol.* 11: 339–343.

Yuval, B., R. Kaspi, S.A. Field, S. Blay & P.Taylor. 2002. Effects of post-teneral nutrition on reproductive success of male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Fla. Entomol.* 85: 165–170.

Yuval, B, .M. Maor, K.Levy,R. Kaspi, P. Taylor &T. Shelly.2007. Breakfast of champions or kiss of death? survival and sexual performance of protein-fed,sterile mediterranean fruit flies (diptera: tephritidae). *Fla. Entomol.* 90:115-122

Zucoloto, F. S. 1987. Feeding habits of *Ceratitis capitata*: can larvae recognize a nutritional effective diet? *J. Insect. Physiol. Oxford.* 33:349-353

Zucoloto, F. S., S. Puschel & C. M. Message 1979. Valor nutritivo de algumas dietas artificiais para *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae). *Boletim de zoologia São Paulo.* 4: 75-80.

Conclusão Geral

Os fatores, tamanho, alimentação na fase adulta e idade, analisados, respectivamente, nos três artigos demonstram ter importante influência sobre o sucesso reprodutivo dos machos de *Ceratitis capitata*, quanto aos parâmetros: sucesso de cópula e emissão de feromônio.

O efeito do tamanho foi, entre todos os fatores analisados, o mais significativo, haja vista a alta percepção das fêmeas em exibir preferência de cópula pelos machos grandes mesmo na proporção 1:10 (macho grande: macho pequeno).

A idade foi o segundo fator mais forte sobre o sucesso de cópula dos machos. Nos experimentos de proporção que analisaram este fator, as fêmeas mantiveram sua preferência para copular com os machos novos até a proporção 1:3 (macho jovem: macho velho). As fêmeas nas demais proporções de idade (1:4 e 1:5), não conseguiram mais perceber o macho jovem entre os demais machos velhos, tornando sua escolha para cópula meramente ao acaso.

O fator ingestão de proteína na fase adulta só teve influência sobre o sucesso reprodutivo dos machos, quando a ingestão ou a privação de proteína foi prolongada para 12 dias. Nos experimentos de proporção que testaram este fator, a escolha das fêmeas a partir da proporção 1:2 (macho com proteína: macho sem proteína) ocorreu ao acaso, ou seja, a partir desta proporção em diante a fêmea perdeu a capacidade de percepção para copular com o macho que ingeriu proteína nos primeiros 12 dias de vida.

Os experimentos de proporção demonstraram ser uma possível técnica de mensuração para avaliar, hierarquicamente, os efeitos de determinados fatores no sucesso reprodutivo da espécie em questão. Este tipo de experimento, inédito em estudos de *C. capitata*, pode trazer contribuições futuras para estudos de seleção sexual em “leks”, ou mesmo testes de proporções, envolvendo sucesso de cópula, entre machos estéreis e selvagens, tanto em laboratório quanto em gaiola de campo.

Os resultados obtidos em laboratório com relação ao sucesso de cópula na proporção 1:1, foram todos corroborados pelos experimentos de gaiola de campo, A similaridade obtida entre os resultados de campo e de laboratório demonstrou que experimentos realizados em laboratório podem refletir bem futuros experimentos de campo. A realização de experimentos em laboratório, além disso, permite uma maior manipulação do fator em análise, através do controle de variáveis de confusão, tais como temperatura e luminosidade.

Referencias da Introdução Geral

Azevedo, G.H., M. A. Filgueira, J. W. N. Chaves, V. E. Silva. 1998. Levantamento de moscas-das-frutas (Diptera:Tephritidae) na cultura da manga no municipio de Mossoró-RN. Caatinga. 11:85-90.

Alcock, J.; Gwynne. 1991. Evolution of insect mating systems: the impact of individual selection thinking. In Chapman and Hall, p. 10-41 Uk,

Arita, L. H. & Y. Kaneshiro. 1989. Sexual selection and lek behavior in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). Pac. Sci. 43:135-143.

Blay, S. & Yuval B. 1997. Nutritional correlates to reproductive success of male Mediterranean fruit flies. Anim.l Behav. 54: 59–66.

Bricenõ, D., W. Eberhard; J. Vilardi, J.P. Cayol & T. Shelly. 1997. Courtship behavior of different wild strains of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). Fla. Entomol.90: 15-18.

Briceño, R. D. & W. G. Eberhard, 2000. Male wing positions during courtship by Mediterranean fruit flies (*Ceratitidis capitata*) (Diptera: Tephritidae). Journal of the Kansas Entomol. Soc. 73: 111–115.

Briceño R. D., & G W. Eberhard. 2002 Courtship in the medfly, *Ceratitidis capitata*, includes tactile stimulation with the male's arista. Entomol Exp Appl. 102: 221–228

Bricenõ, D., W. Eberhard & T.Shelly. 2007. Male courthihip behavior in *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) that have received aromatherapy with ginger root oil. Fla. Emtomol. 90: 175-179.

Calcagno, G., M. T. Vera, F. Manso, S. Lux, F. Norry, N. Munyiri & J. C. Vilardi. 1999. Courtship behavior of wild and mass-rearing Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) males from Argentina. *J. Econ. Entomol.* 92: 373-379.

Darwin, C. 1859. On the origin of species by means of natural selection. London: Murray.

Darwin, C. 1871. The descent of man, and selection in relation to sex. Londro: Murray.

Feron, M. 1962. L'instinct de reproduction chez la mouche Méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* Wied. (Dipt. Trypetidae). Comportement sexuel. - Comportement de ponte. *Rev. Pat. Veg. Entomol. Veg.* 41: 1-129.

Fletcher, B.S. 1989. Life history strategies of tephritid fruit flies. In: Robinson, A.S. & G. Hooper (eds), Fruit flies, their biology, natural enemies and control. Word crop Pest, Vol 3B. Elsevier, Amsterdam, 289p.

Garcia, F.R.M., J.V. Campos, E. Corseuil. 2003. Análise faunística de espécies de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) na região oeste de Santa Catarina. *Netrop. Entomol.* 32: 421-426.

Gonçalves, G. B., J. C. G. Santos, C. E. Silva, E. S. Santos, R. R. Nascimento, A. E. G. Santana, R.A. Zucchi. 2006. Occurrence of fruit flies (Diptera: Tephritidae) in the state of Alagoas, Brasil. *Fla. Entomol.* 89: 93-94

Hendrichs, J., G. Franz & P. Rendon. 1995. Increased effectiveness and applicability of the sterile insect technique through male-only releases for control of Mediterranean fruit flies during fruiting seasons. *J. Appl. Entomol.* 119: 371-377.

Hendrichs, J., Robinson, A. S., Cayol, J. P., and W. Enkerlin. 2002. Medfly areawide sterile insect technique programmes for prevention, suppression or eradication: The importance of mating behavior studies. Fla. Entomol. 85: 1-13.

Höglund, J., and R. Alatalo, 1995. Leks. Princeton University Press, Princeton, NJ.

Kaspi R. & B. Yuval. 2000. Post-teneral protein feeding improves sexual competitiveness but reduces longevity of mass reared sterile male Mediterranean fruit flies. Ann. Entomol. Soc. Am. 93: 949–955.

Kaspi R., P.W. Taylor & B. Yuval 2000. Diet and size influence sexual advertisement and copulatory success of males in Mediterranean fruit fly leks. Ecol Entomol. 25:1–6.

Ihering, H. V. 1901. Laranjas bichadas Rev. Agr. 6: 179-181

Liimatainen, J., A. Hoikkala & T. Shelly. 1997. Courtship behavior in *Ceratitis capitata* (Diptera:Tephritidae): Comparison of wild and mass-reared males. Ann. Entomol. Soc. Am. 90: 836-843.

Malavasi, A, J.S. Morgante, R. A. Zucchi. 1980. Biologia da moscas-das-frutas (Diptera:Tephritidae):.Lista de hospedeiros e ocorrência. Rev. Bras. Biol. 40-9-16.

Malavasi, A.; R. A. Zucchi & R. L. Sugayama. 2000. Biogeografia, p. 93-98. In: Malavasi, A. & Zucchi, R. A. (eds). Moscas-das frutas de importância econômica no Brasil. Conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos Editora, 327p.

Metcalf, R.E. 1995. Biography of the medfly, p.43-48. In: Morse, J. G., R.L. Metcalf; J.R. Carrey & R.V. Dowell (eds), The Mediterranean fruit fly in California: defining critical research. Coll. Nat. Agric. Sci., Univ. CA, Riverside. 318p

Moller, A. P. 1990. Fluctuating asymmetry in male sexual ornaments may reliably reveal male quality. Anim Behav. 40: 1185-1187.

Moller, A.P., A. Pomiankowski. 1993. Fluctuating asymmetry and sexual selection. Genetica. 89: 267-269

Prokopy, R. J. & J. Hendrichs. 1979. Mating behavior of *Ceratitidis capitata* on a field-cage host tree. Ann. Entomol. Soc. Amer. 72: 642-648.

Santos, R. K. P. 2003. Alcançaremos US\$ 1 bilhão com a exportação de frutas até 2010? Hotfruit Brasil, Piracicaba: CEPEA/USP/ESALQ. 1:8-11

Shelly, T. E., & T. S. Whittier. 1997. Lek behaviour of insects, pp. 273-293. In B. Crespi and J.C. Choe (eds.), The evolution of mating systems in insects and Arachnids. Cambridge Press, Cambridge, UK.

Shuster, S. M. & M. J. Wade, 2003. Mating systems and strategies. Princeton University Press, Princeton, NJ.

Thornhill, R., & J. Alcock, 1983. The evolution of insect mating systems. Harvard University Press, Cambridge, MA.

Whittier, T. S., K. Y. Kaneshiro & L. D. Prescott. 1992. Mating behavior of Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) in a natural environment. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 85: 214-218.

Whittier, T. S. & K. Y. Kaneshiro. 1995. Intersexual selection in the Mediterranean fruit fly: does female choice enhance fitness?. *Evolution*, 49: 990-996.

Yuval, B., M. Maor, K. Levy, R. Kaspi, P. Taylor & T. Shelly. 2007. Breakfast of champions or Kiss of death? Survival and sexual performance of protein-fed, sterile Mediterranean fruit flies (Diptera:Tephritidae). *Fla. Entomol.* 90:115-122.

Zucchi, R. A. 2000. Espécies de *Anastrepha*, sinónimas, plantas hospedeiras e parasitóides. p.41-48. In: Malavasi, A. & Zucchi, R. A. (eds). *Moscas-das frutas de importância econômica no Brasil. Conhecimento básico e aplicado.* Ribeirão Preto: Holos Editora, 327p.

Apêndice 1

Tabela 1. Diferenças entre o tamanho das asas dos machos privados ou não de proteína nos experimentos de proporção. Os resultados representam as médias e os desvios padrões. (Teste t não pareado, com $p < 0,05$).

Proporção	n	Com proteína	Sem proteína	Valor do p
1:1 quatro dias	100	2,708 ± 0,04882	2,707 ± 0,04739	=0,9174
1:1 doze dias	100	2,688 ± 0,07111	2,708 ± 0,06417	=0,1430
1:2 doze dias	30	2,70 ± 0,04355	2,697 ± 0,04138	=0,7623
1:3 doze dias	30	2,713 ± 0,05241	2,698 ± 0,04822	=0,2534
1:4 doze dias	30	2,708 ± 0,04749	2,707 ± 0,04498	=0,8895
1:5 doze dias	30	2,703 ± 0,04722	2,703 ± 0,05403	>0,9999

Tabela 2. Diferenças entre o tamanho das asas dos machos privados ou não de proteína nos experimentos de emissão de feromônio. Os resultados representam as médias e os desvios padrões. (Teste t não pareado, com $p < 0,05$).

Gaiolas	Machos com 4 dias			Machos com 12 dias		
	Com proteína	Sem proteína	Valor do p	Com proteína	Sem proteína	Valor do p.
1	2,7 ± 0,08736	2,693 ± 0,06129	=0,7550	2,75 ± 0,04867	2,753 ± 0,04723	=0,8699
2	2,708 ± 0,05911	2,710 ± 0,07182	=0,9050	2,635 ± 0,07626	2,635 ± 0,06509	>0,9999
3	2,703 ± 0,04993	2,715 ± 0,05155	=0,4409	2,685 ± 0,05871	2,675 ± 0,07695	=0,6467
4	2,695 ± 0,05596	2,725 ± 0,05501	=0,0955	2,693 ± 0,05394	2,702 ± 0,05354	=0,5368
5	2,70 ± 0,04292	2,715 ± 0,06902	=0,4143	2,70 ± 0,08736	2,693 ± 0,06129	=0,7550

Tabela 3. Diferenças entre o tamanho das asas dos machos privados ou não de proteína nos experimentos de cópula em gaiola de campo. Os resultados representam as médias e os desvios padrões. (Teste t não pareado, com $p < 0,05$).

Gaiolas	Machos com 4 dias			Machos com 12 dias		
	Com proteína	Sem proteína	Valor do p	Com proteína	Sem proteína	Valor do p.
1	2,690 ± 0,05590	2,680 ± 0,0500	=0,5082	2,698 ± 0,04444	2,702 ± 0,0444	=0,7517
2	2,71 ± 0,03536	2,074 ± 0,04062	=0,5801	2,706 ± 0,05462	2,706 ± 0,0440	>0,9999
3	2,706 ± 0,04637	2,698 ± 0,05299	=0,5726	2,706 ± 0,04163	2,70 ± 0,04787	=0,6385
4	2,716 ± 0,05723	2,724 ± 0,04592	=0,5882	2,704 ± 0,05759	2,694 ± 0,0485	=0,510
5	2,688 ± 0,04848	2,694 ± 0,05066	=0,6707	2,696 ± 0,05937	2,698 ± 0,0549	=0,9021

Apêndice 2

Tabela 1. Diferenças entre o tamanho das asas dos machos privados ou não de proteína nos experimentos de proporção. Os resultados representam as médias e os desvios padrões. (Teste t não pareado, com $p < 0,05$).

Proporção	n	Com proteína	Sem proteína	Valor do p
1:1 quatro dias	100	2,708 ± 0,04882	2,707 ± 0,04739	=0,9174
1:1 doze dias	100	2,688 ± 0,07111	2,708 ± 0,06417	=0,1430
1:2 doze dias	30	2,70 ± 0,04355	2,697 ± 0,04138	=0,7623
1:3 doze dias	30	2,713 ± 0,05241	2,698 ± 0,04822	=0,2534
1:4 doze dias	30	2,708 ± 0,04749	2,707 ± 0,04498	=0,8895
1:5 doze dias	30	2,703 ± 0,04722	2,703 ± 0,05403	>0,9999

Tabela 2. Diferenças entre o tamanho das asas dos machos privados ou não de proteína nos experimentos de emissão de feromônio. Os resultados representam as médias e os desvios padrões. (Teste t não pareado, com $p < 0,05$).

Gaiolas	Machos com 4 dias			Machos com 12 dias		
	Com proteína	Sem proteína	Valor do p	Com proteína	Sem proteína	Valor do p.
1	2,7 ± 0,08736	2,693 ± 0,06129	=0,7550	2,75 ± 0,04867	2,753 ± 0,04723	=0,8699
2	2,708 ± 0,05911	2,710 ± 0,07182	=0,9050	2,635 ± 0,07626	2,635 ± 0,06509	>0,9999
3	2,703 ± 0,04993	2,715 ± 0,05155	=0,4409	2,685 ± 0,05871	2,675 ± 0,07695	=0,6467
4	2,695 ± 0,05596	2,725 ± 0,05501	=0,0955	2,693 ± 0,05394	2,702 ± 0,05354	=0,5368
5	2,70 ± 0,04292	2,715 ± 0,06902	=0,4143	2,70 ± 0,08736	2,693 ± 0,06129	=0,7550

Tabela 3. Diferenças entre o tamanho das asas dos machos privados ou não de proteína nos experimentos de cópula em gaiola de campo. Os resultados representam as médias e os desvios padrões. (Teste t não pareado, com $p < 0,05$).

Gaiolas	Machos com 4 dias			Machos com 12 dias		
	Com proteína	Sem proteína	Valor do p	Com proteína	Sem proteína	Valor do p.
1	2,690 ± 0,05590	2,680 ± 0,0500	=0,5082	2,698 ± 0,04444	2,702 ± 0,0444	=0,7517
2	2,71 ± 0,03536	2,074 ± 0,04062	=0,5801	2,706 ± 0,05462	2,706 ± 0,0440	>0,9999
3	2,706 ± 0,04637	2,698 ± 0,05299	=0,5726	2,706 ± 0,04163	2,70 ± 0,04787	=0,6385
4	2,716 ± 0,05723	2,724 ± 0,04592	=0,5882	2,704 ± 0,05759	2,694 ± 0,0485	=0,510
5	2,688 ± 0,04848	2,694 ± 0,05066	=0,6707	2,696 ± 0,05937	2,698 ± 0,0549	=0,9021

Anexo 1

Instruções aos Autores

Escopo. A Neotropical Entomology publica artigos originais e que representem contribuição significativa para o conhecimento da Entomologia, desde que não estejam publicados ou submetidos a outra revista. Os artigos devem ter caráter científico. Trabalhos de cunho tecnológico como aqueles envolvendo apenas bioensaios de eficácia de métodos de controle de insetos e ácaros de interesse agrícola, médico, veterinário ou florestal não são considerados para publicação. Os manuscritos são analisados por revisores *ad hoc* e a decisão de aceite para publicação pauta-se nas recomendações dos editores adjuntos e revisores *ad hoc*.

Seções. “Acarologia”, “Controle Biológico”, “Ecologia, Comportamento e Bionomia”, “Sistemática, Morfologia e Fisiologia”, “Proteção de Plantas” e “Saúde Pública”.

Idiomas. Os manuscritos devem estar preferencialmente em inglês, mas são considerados também artigos em português ou espanhol.

Formatos aceitos. São publicados artigos científicos completos, comunicações científicas e revisões (Fórum).

Submissão. Deve ser feita por meio eletrônico através de formulário disponível em ww.seb.org.br/neotropical.

Preparação e formatação do manuscrito. Os artigos devem ser submetidos eletronicamente, em formatos doc, txt ou Latex. Configure o papel para tamanho A4, com margens de 2,5 cm e linhas e páginas numeradas seqüencialmente ao longo de todo o documento. Utilize fonte Times New Roman tamanho 12 e espaçamento duplo.

Página de rosto. No canto superior direito, deve conter o nome completo e endereço (postal e eletrônico) do autor responsável pelo artigo. O título do artigo deve aparecer no centro da página, com iniciais maiúsculas (exceto preposições, conjunções e artigos). Nomes científicos no título devem ser seguidos pelo nome do classificador (sem o ano) e pela ordem e família entre parênteses. Abaixo do título e também centralizado, listar os nomes dos autores usando apenas o primeiro nome e o sobrenome de cada autor por extenso. A seguir, liste as instituições dos autores, com endereço postal e endereço eletrônico, com chamada numérica se houver mais de um endereço. Esta página será suprimida pelo Editor Adjunto ao enviar o arquivo eletrônico para os revisores *ad hoc*, resguardando-se a identidade dos autores.

Página 2. Título do artigo.

Página 3. Resumo em idioma alternativo. Artigo em Inglês: Resumo em Português ou Espanhol. Artigo em Português ou Espanhol: Abstract em Inglês. Incluir o título traduzido, que deve ser grafado com letras minúsculas com apenas as iniciais maiúsculas (exceto preposições, conjunções e artigos). A seguir, escreva RESUMO, RESUMEN ou ABSTRACT, seguido de hífen, continuando com o texto em parágrafo único e, no máximo, 250 palavras. Pule uma linha e mencione o termo PALAVRAS-CHAVE, PALABRAS-

CLAVE ou KEY WORDS em maiúsculas. Use de três a cinco termos separados por vírgulas e diferentes das palavras que aparecem no título do trabalho.

Página 4. Resumo no idioma do artigo. A página 4 deve trazer o resumo no mesmo idioma do artigo, sem o título. Os conteúdos do Resumo e do Abstract devem ser exatamente iguais. Siga as instruções para elaboração do segundo resumo (item anterior).

Elementos Textuais

O item Introdução deve ser iniciado na página 5, sem incluir o subtítulo “Introdução”. Deve contextualizar claramente o problema investigado e trazer a hipótese científica que está sendo testada, bem como os objetivos do trabalho. O item “Material e Métodos” deve apresentar informações suficientes para que o trabalho possa ser repetido. Inclua o delineamento estatístico e, se for o caso, o nome do programa utilizado para as análises. “Resultados e Discussão” podem aparecer agrupados ou em seções separadas. Em Resultados, os valores das médias devem ser acompanhados de erro padrão da média e do número de observações, usando para as médias uma casa decimal e, para o erro padrão, duas casas. As conclusões devem estar contidas no texto final da discussão.

Agradecimentos. O texto deve ser breve, iniciando pelos agradecimentos a pessoas e depois a instituições apoiadoras e agências de fomento.

Referências. Iniciar a lista de referências em uma nova página, sob o título **Referências**, dispondo-as em ordem alfabética, usando apenas as iniciais do(s) nome(s) do(s) autor(es) maiúsculas, sem espaço entre parágrafos e uma referência por parágrafo. Após o nome dos autores, inclua o ano da referência. Cite apenas o número do volume (sem o número do fascículo). Use vírgulas para separar os nomes dos autores. Cite o primeiro autor pelo sobrenome seguido das iniciais dos nomes. Do segundo autor em diante, use primeiro as iniciais do nome e após o sobrenome por extenso. Use o símbolo “&” antes de citar o último autor. Abrevie os títulos das fontes bibliográficas, sempre iniciando com letras maiúsculas. Utilize as abreviaturas de periódicos de acordo com o BIOSIS Serial Sources (http://csssrvr.entnem.ufl.edu/~pmc/journals/all_journals.htm ou <http://www.library.uq.edu.au/faqs/endnote/biosciences.txt>). Os títulos nacionais deverão ser abreviados conforme indicado no respectivo periódico. Evite citar dissertações, teses, revistas de divulgação. Não cite documentos de circulação restrita (boletins internos, relatórios de pesquisa, etc), monografias, pesquisa em andamento e resumos de encontros científicos. Exemplos de citação de artigo, livro, capítulo de livro e página de internet estão disponíveis no site da revista.

Tabelas. Devem ser elaboradas em Word 97 ou superior, incluindo o título. Devem ser inseridas no texto após as Referências. Coloque uma tabela por página, numerada com algarismo arábico seguido de ponto final. As notas de rodapé devem ter chamada numérica. Por exemplo: Table 1. Mean (\pm SE) duration and survivorship of larvae and pupae of *T. absoluta* fed on leaves of different tomatogenotypes. Temp.: $25 \pm 1^\circ\text{C}$, RH: 70% and photophase: 14h.

Figuras. Após as tabelas, coloque a lista de legendas das figuras. Use a abreviação “Fig.”. As figuras devem estar no formato jpg, gif ou eps e com tamanho inferior a 500 kb. As figuras originais ou com maior resolução poderão ser solicitadas após o aceite. Devem ser enviadas em arquivos individuais e nomeadas segundo o número da figura.

Exemplos: fi_g1.gif, fi_g2.jpg. Fig. 1. Flutuação populacional de *M. jfi mbriolata* em São Carlos, SP, 2002 a 2005.

Citações no texto

Nomes científicos. Escreva o(s) nome(s) científico(s) por extenso, seguido do autor descritor, quando mencionados pela primeira vez no Resumo, Abstract e no corpo do trabalho. Ex.: *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). No restante do trabalho e nas legendas das figuras e cabeçalhos das tabelas, use o nome genérico abreviado. Ex.: *S. frugiperda*.

Fontes de consulta. As referências no texto devem ser mencionadas com o sobrenome do autor, com a inicial maiúscula seguido pelo ano da publicação (ex.: Martins 1998). No caso de mais de uma publicação, ordená-las pelo ano de publicação (ex.: Martins 1998, Garcia 2002, Gomes 2005). Para dois autores, use o símbolo “&” (ex.: Martins & Gomes 2004). Para mais de dois autores, utilize “*et al.*” (em itálico) (ex.: Garcia *et al.* 2003); para duas ou mais citações do mesmo autor, use ponto e vírgula entre os autores (ex.: Garcia 2003; Toledo 2001, 2005).

Tabelas. No texto, use a palavra por extenso (ex.: Tabela 1).

Figuras. No texto, use a palavra abreviada (ex.: Fig. 3).

Informações

Regina Lúcia Sugayama/ Editora Chefe
Caixa postal 441 – CEP 95.200-000
Vacaria – RS – Brasil
Fone: 55 54 3232 4938 Fax: 55 54 3232 0101
regina.sugayama@neotrop.entomol.com.br
www.seb.org.br/neotropical