

LÚCIA MARIA DE ALMEIDA

**DISTRIBUIÇÃO DIÁRIA DO COMPORTAMENTO DA MOSCA DA
FRUTA *Anastrepha zenildae* Zucchi, (DIPTERA: TEPHRITIDAE) EM
LABORATÓRIO.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Psicobiologia da Universidade Federal do Rio
Grande do Norte para obtenção do título de
Doutor em Psicobiologia.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Augusto de Lara Menezes

Natal
2008

LÚCIA MARIA DE ALMEIDA

**DISTRIBUIÇÃO DIÁRIA DO COMPORTAMENTO DA MOSCA DA
FRUTA *Anastrepha zenildae* Zucchi, (DIPTERA: TEPHRITIDAE) EM
LABORATÓRIO.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Psicobiologia da Universidade Federal do Rio
Grande do Norte para obtenção do título de
Doutor em Psicobiologia.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Augusto de Lara Menezes

Natal
2008

Catálogo da Publicação na Fonte. UFRN/Biblioteca Central Zila Mamede
Divisão de Serviços Técnicos

Almeida, Lúcia Maria de.

Distribuição diária do comportamento da mosca da fruta *Anastrepha zenildae* Zucchi, (Diptera: Tephritidae) em laboratório / Lúcia Maria de Almeida.- Natal, 2008.

84 p.

Orientador: Alexandre Augusto de Lára Menezes.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Psicobiologia.

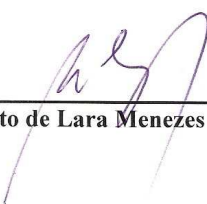
1. Moscas-das-frutas (*Anastrepha zenildae* Zucchi) – Comportamento animal - Tese. 2. Comportamento animal – Tese. 3. Cronobiologia – Moscas-das-frutas - Tese. I. Menezes, Alexandre Augusto de Lara Menezes. II.Título.

TÍTULO: DISTRIBUIÇÃO DIÁRIA DO COMPORTAMENTO DA MOSCA DA FRUTA *Anastrepha zenildae* Zucchi (DIPTERA: TEPHRITIDAE) EM LABORATÓRIO.

AUTOR: LÚCIA MARIA DE ALMEIDA

DATA DA DEFESA: 15 de fevereiro de 2008

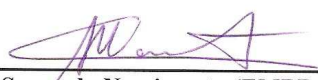
Banca Examinadora



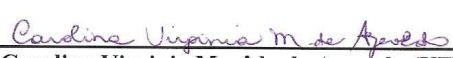
Prof. Alexandre Augusto de Lara Menezes (UFRN)




Profa. Beatriz Jordão Paranhos (EMBRAPA-PE)



Prof. Antonio Souza do Nascimento (EMBRAPA-BA)



Profa. Carolina Virginia Macêdo de Azevedo (UFRN)



Prof. João Maria Gomes Alencar de Souza (UFRN)

A João Henrique e Letícia Maria

AGRADECIMENTOS

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos ao longo do doutorado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Psicobiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte pelo apoio na realização das atividades ao longo do curso.

Ao professor Alexandre pela orientação e disponibilidade e por aceitar o desafio de trabalhar com moscas das frutas.

Ao Prof. João Maria Gomes Alencar de Souza que abriu as portas do Laboratório de Biologia Evolutiva de Insetos Pragas do Departamento de Biologia Celular e Genética para que esse trabalho fosse realizado.

Aos Professores Francisco Pepino de Macedo, Gleider de Menezes Costa, Sebastião Carlos Maia e João Maria Gomes de Alencar pela disponibilidade, incentivo e discussões sobre moscas das frutas.

Aos alunos de iniciação científica pelo apoio na coleta de dados: Marcela, Potyra e Norma.

A João Valeriano (meu pai), Maria Conceição (minha mãe), Agnaldo (cunhado) – que deixaram o conforto de suas casas e a “função” de parentes para se tornarem catadores de juá no sol de Mossoró.

Aos orientadores “oficiosos” que me ajudaram a entender o Comportamento animal, a Cronobiologia e associá-los às moscas das frutas: Profs. Arrilton Araújo, Fátima Arruda e John Araújo.

Aos amigos que sempre estiveram por perto prontos a ajudar e apoiar: Norma

Helena, Sebastião Carlos, Inês Regina, Fran, Maria do Carmo, Dona Marilda,

Zenilde, Ana Cristina, Roberta e Ana Karinne.

RESUMO

O estudo dos aspectos comportamentais de *Anastrepha zenildae* associados aos aspectos da biologia geral dos tefritídeos, pode favorecer os programas de monitoramento e controle dessa mosca-da-fruta de importância econômica e bastante presente no estado do Rio Grande do Norte. Para caracterizar o perfil da atividade diária de *A. zenildae* foram estudados os comportamentos de descanso, locomoção, alimentação, limpeza, corte, cópula e oviposição de animais mantidos em ciclo claro/escuro 12:12h (750:<1 lux), com temperatura controlada (26 ± 2 °C). As observações foram feitas em grupos de 16 machos e 16 fêmeas por geração (parental a F5) durante três dias consecutivos para cada geração, sendo registrado frequência e horário de ocorrência utilizando técnica varredura, em janelas de 15 minutos a cada hora com registro a cada minuto. Os comportamentos de corte, cópula e oviposição foram observados pela técnica de “todas as ocorrências”, registrando-se frequência, horário e duração. O descanso foi mais freqüente e os machos descansaram mais que as fêmeas. A locomoção foi mais evidente na primeira metade da fase de claro e as fêmeas se locomoveram mais que os machos. Os comportamentos de limpeza e alimentação foram mais freqüentes na segunda metade da fase de claro em ambos os sexos, com as fêmeas alimentando-se mais que os machos. Os machos agruparam-se em *leks* com comportamento de corte caracterizado pela vibração de asa e liberação de feromônio. A corte ocorreu com maior freqüência 4 a 7 horas após o acender das luzes (81,9%) e a cópula 6 horas após acender das luzes. O tempo médio de cópula foi de $58,1\pm 40,4$ min, com tentativas de cópula dentro e fora do *lek* e comportamento agressivo entre os machos no *lek*. O comportamento de oviposição foi similar ao descrito para outras espécies do gênero, com pico entre 2 e 3 horas após o acender das luzes e duração média de $43,7\pm 34,8$ segundos e tamanho da postura variando de 2 a 5 ovos. De acordo com resultados, o comportamento sexual em *A. zenildae* difere temporalmente de outras espécies simpátricas do gênero, favorecendo o

isolamento reprodutivo, bem como a utilização de recursos como substrato para oviposição.

ABSTRACT

The knowledge of *Anastrepha zenildae* behavioral aspects combined with the biology of Tephritidae may contribute to monitoring and control programs of this fruit fly that is considered as economically important to the Rio Grande do Norte state. In order to characterize the daily activity profile of this species, we studied the behaviors of resting, locomotion, feeding, cleaning, courtship, copulation and oviposition of animals submitted to an artificial 12:12h light-dark cycle (750:-1lux) with controlled temperature (26 ± 2 °C). The observations were made with groups of 16 males and 16 females during 3 consecutive days each generation from parental to F5. Resting, locomotion, feeding and cleaning data were recorded as frequency and time of occurrence by scanning technique in 15 minutes windows per hour, with a record each minute. Courtship, copulation and oviposition were recorded as frequency, time of occurrence and duration by all occurrences technique. Resting was the most frequent behavior with males resting more than females. Locomotion was more evident in the first half of the light phase with higher values in females. Cleaning and feeding behaviors were more frequent in the second half of the light phase for both sexes with females eating more frequently than males. During the courtship, males were grouped in lek formations showing wings vibration and pheromone liberation. Courtship occurred more frequently 4 to 7 h after lights on (81,9%) with copulations being more frequent 6 h after lights on with a mean duration of $58,1\pm 40,4$ min. Copulation attempts were observed in males inside and outside the lek with aggressive behavior being observed only between males in the lek. Oviposition behavior was similar to that described for other species of the genus with a peak of this activity 2-3 h after the lights on, mean duration of $43,7\pm 34,8$ sec and 2 to 5 eggs by event. According to the results, sexual behavior of *A. zenildae* is temporally different of other sympatric species of the genus, being favorable to the reproductive isolation as well as the use of resources as oviposition substrate.

SUMÁRIO

Introdução	1
Considerações gerais sobre a família Tephritidae	4
Biologia e ciclo de vida	4
Distribuição geográfica	8
Aspectos comportamentais e sua distribuição temporal	12
Caracterização da espécie em estudo	24
Material e Métodos	27
Obtenção dos animais	27
Condições de manutenção	28
Coleta de dados	28
Registro comportamental	28
Análise dos dados	31
Resultados	33
Perfil das atividades de descanso, locomoção, limpeza e alimentação	33
Comportamentos de corte e cópula	36
Comportamentos de oviposição	41
Discussão	47
Conclusões	66
Referências	67

INTRODUÇÃO

A fruticultura vem se destacando mundialmente como uma das atividades em amplo crescimento, devido à grande demanda por frutas frescas. No Brasil, a exportação de frutas *in natura* tem uma importância relevante na balança comercial, produzindo um aumento considerável de área plantada e conseqüentemente, aumentando a geração de renda e empregos, além de investimentos nas áreas de produção e comercialização. Nos últimos anos, a balança comercial de frutas aumentou significativamente, passando de 50 milhões de dólares em 2000 para quase 300 milhões em 2006. As principais frutas responsáveis por esse crescimento foram banana, citros (laranja, lima/limão e tangerina), maçã, mamão, manga, melão e uva (IBRAF 2007). No entanto, os mercados consumidores estão cada vez mais exigentes no que diz respeito à qualidade da fruta, tanto por questões de segurança alimentar, como também pela preocupação com a introdução de espécies exóticas de insetos praga, principalmente moscas-das-frutas, que provocam danos diretos nos frutos e prejudicam sua comercialização.

Os países importadores têm como pré-requisito a quarentena vegetal, o que eleva os custos da produção e comercialização. Portanto, o comércio de frutas está na dependência do controle populacional desses insetos, o que obriga os países exportadores a aperfeiçoarem suas técnicas de manejo e controle de moscas-das-

frutas. Isso decore do fato da presença desses insetos praga, mesmo em pequenas populações, limitar a exportação de frutas, podendo implicar no desaparecimento de toda uma área frutícola.

Devido à grande diversidade de hospedeiros com frutos amadurecendo em diversas épocas do ano, além do aumento da produção, a densidade populacional das moscas-das-frutas pode manter-se alta, favorecendo a ampliação e distribuição geográfica das espécies, sendo necessário o monitoramento populacional com posterior ação de controle integrado. Para isso, são necessários levantamentos populacionais diretamente de frutos hospedeiros, para se conhecer as espécies de importância econômica em determinada região.

A região nordeste do Brasil está inserida no mercado de produção e exportação de frutas tropicais. A quantidade e a variedade de frutas produzidas no Nordeste Brasileiro têm aumentado nos últimos anos; com destaque para o aumento na produção e consumo do melão. Como principais estados produtores, destacam-se Rio Grande do Norte, Ceará e Bahia, cujas áreas plantadas correspondem a 83,7% da área total cultivada no país (Azevedo et al 2005). O Rio Grande do Norte é um dos estados que se destaca nesta atividade, com grandes áreas de fruticultura irrigada no semi-árido, visando principalmente à exportação de frutas tropicais, com destaque para o melão. As perspectivas para a safra 2007 são de que as exportações de melão, melancia, mamão e manga para a União Européia ultrapassem as 200 mil toneladas (SECEX 2006). A produção de frutas no Rio Grande do Norte concentra-se nas regiões Mossoró-Assu e litorânea, com

grandes áreas produtoras de frutas *in natura* e processamento industrial (Araújo et al 2000). Um dos fatores que favorecem a produção e exportação de frutas como o melão, foi o estabelecimento da área livre de moscas-das-frutas das curcubitáceas *Anastrepha grandis*, ocorrido em 1990 (Morgante, 1991; Araújo et al 2000) e que vem sendo mantida desde então, possibilitando a exportação do melão sem tratamento pós-colheita para vários países.

No entanto, apesar da área livre, levantamentos populacionais de espécies do gênero *Anastrepha* no estado apontaram a existência de 13 espécies: *A. alveata*, *A. daciformis*, *A. dissimilis*, *A. fraterculus*, *A. macrura*, *A. manihoti*, *A. montei*, *A. nascimentoi*, *A. obliqua*, *A. pickeli*, *A. serpentina*, *A. sororcula*, *A. zenildae*, além de *Ceratitis capitata*. (Araújo et al 2000). Do ponto de vista econômico, são consideradas de importância: *A. fraterculus*, *A. obliqua*, *A. sororcula*, *A. grandis* e *A. zenildae* (Zuchhi 2000). Para muitas dessas espécies faltam estudos sobre as características biológicas referentes principalmente ao ciclo de vida e aos aspectos comportamentais. Isto impõe uma necessidade de conhecimento, sobretudo em decorrência da modificação de áreas de vegetação nativa e do aumento de áreas plantadas, que favorecem o contato direto fruto-mosca, podendo gerar novos ataques. Este é o caso de *A. zenildae*, que vem sendo apontada em estudos de levantamentos populacionais com relativa frequência e predominância no Rio Grande do Norte. Considerada como praga de goiaba no estado, *A. zenildae* está também constantemente associada ao juazeiro (*Zizipus joazeiro* Mart.) da família Rhamnaceae (Araújo et al. 1996; Canal et al 1998; Araújo e Zucchi 2003).

Recentemente, em um estudo feito no semi-árido do Rio Grande do Norte, *A. zenildae* foi apontada como a espécie que infestou a maior quantidade de frutíferas de diferentes famílias (Araújo et al 2005).

O estudo dos aspectos comportamentais de *A. zenildae* associados aos aspectos da biologia geral dos tefritídeos pode favorecer aos programas de monitoramento e controle de moscas-das-frutas, ao fornecer subsídios para o entendimento de como o padrão comportamental pode afetar a dinâmica populacional. Além disso, os mecanismos comportamentais podem ser um parâmetro chave para explicar a escolha e detecção de sítios de oviposição pelas fêmeas, assim como o isolamento reprodutivo e especiação. A análise desses processos associados a sinais de comunicação e seus efeitos sobre o comportamento do indivíduo e da população pode contribuir para o desenvolvimento de novos métodos de manejo e controle de insetos praga.

CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA TEPHRITIDAE

Biologia e ciclo de vida

As moscas-das-frutas são insetos holometabólicos (metamorfose completa), com ciclo de vida apresentando as seguintes fases: ovo, larva, pupa e adulto. A duração média do ciclo de vida em condições de laboratório e à temperatura de 25°C é de aproximadamente 30 dias para *A. fraterculus* (Morgante 1991). O ciclo de vida e a biologia desses insetos estão na dependência das condições ecológicas

do meio onde vivem especialmente o clima, a temperatura, o substrato de oviposição (hospedeiro) e a disponibilidade de alimento (Salles, 2000). De acordo com Fletcher (1989), a temperatura é o fator ambiental mais significativo na determinação do desenvolvimento dos estágios imaturos e da maturação de adultos.

O ciclo de vida (Figura 1) inicia-se com a fêmea já sexualmente madura e acasalada, que localiza o fruto hospedeiro e realiza a oviposição. Nas puncturas, um número variável de ovos dependendo da espécie é depositado no mesocarpo do fruto. Os ovos geralmente apresentam a forma elíptica de cor branca, com diferenças morfológicas entre as espécies. Aproximadamente 72 horas após a oviposição, ocorre a eclosão das larvas que passam a alimentar-se da polpa do fruto. As larvas são ápodas com cabeça retrátil e sua cor varia de branca a branca amarelada.

A fase larval é caracterizada por três estágios definidos por mudas e com modificações estruturais (Cruz et al 2000). No final da fase larval (estágio L3), esta sai do fruto e enterra-se no solo para pupação a uma profundidade de 5 a 10 cm. As pupas geralmente medem cerca de 5 a 6 mm de comprimento por 2 a 2,5 mm de largura e permanecem no solo por aproximadamente 10 a 15 dias, dependendo das condições ambientais (Morgante 1991). Em seguida, emergem os adultos recomeçando o ciclo. Os insetos adultos apresentam um padrão alar característico, com coloração em geral amarela e desenhos nas asas em forma de "S" e "V" invertido, além de manchas no metanoto e variação no comprimento e

forma do ovipositor das fêmeas (Zucchi, 1979). A longevidade máxima do adulto dura cerca de 160 dias à temperatura de 25 °C (Salles 1992b).

Com base nas características fisiológicas e ecológicas, os tefritídeos estão divididos em dois grupos (Bateman 1972), espécies univoltinas e multivoltinas. As espécies univoltinas como as do gênero *Rhagoletis*, por exemplo, apresentam uma geração anual, com diapausa no inverno, e estão distribuídas nas regiões de clima temperado. As espécies multivoltinas, apresentam mais de uma geração anual, geralmente sem diapausa de inverno, ocorrem nas regiões tropicais e subtropicais, como por exemplo, as espécies do gênero *Anastrepha*.

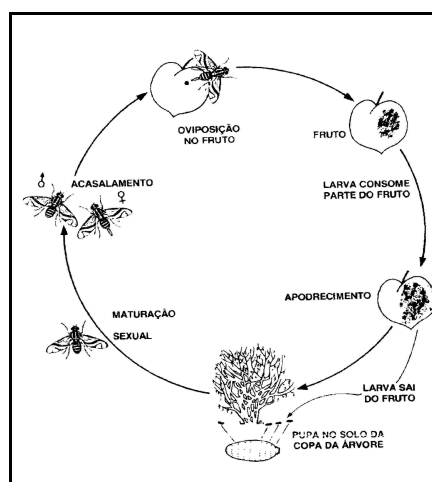


Figura 1 – Ciclo de vida de *Anastrepha fraterculus* (Salles 2000)

Com relação ao padrão de utilização de hospedeiros, esses insetos estão classificados em três tipos (Fletcher, 1989). As espécies monófagas exploram uma única espécie de planta pertencente a um mesmo gênero ou família; as espécies oligófagas utilizam um pequeno número de hospedeiros, em geral da mesma

família, e as espécies polífagas, exploram muitas espécies de plantas de diferentes famílias.

De acordo com Malavasi e Morgante (1981), a população de adultos está na dependência da fenologia da planta hospedeira. Na ausência desta, ocorre um decréscimo na população, o que pode causar ataque a uma nova planta hospedeira. As espécies polífagas provavelmente possuem distribuição geográfica mais ampla do que as espécies consideradas especialistas, muitas vezes apresentando sobreposição na maior parte da sua distribuição geográfica e podendo utilizar o mesmo hospedeiro.

O conhecimento das espécies de moscas-das-frutas é obtido a partir de levantamentos populacionais realizados por meio da coleta de frutos hospedeiros infestados e da utilização de armadilhas com atrativos alimentar e sexual, com posterior identificação taxonômica. Algumas espécies de moscas desse gênero possuem um padrão alar característico, sendo morfologicamente muito semelhantes.

Dentro da família Tephritidae, a existência de espécies morfologicamente semelhantes e isoladas reprodutivamente (crípticas) é um fenômeno comum. No gênero *Anastrepha* destaca-se o “grupo fraterculus”, que se refere a espécies próximas de *A. fraterculus*, mas que são morfologicamente distintas da mesma, como as espécies *A. sororcula*, *A. obliqua* e *A. zenildae*. De acordo com Mayr (1970), espécies crípticas podem ser definidas como populações naturais morfologicamente semelhantes ou idênticas que são reprodutivamente isoladas.

A descoberta de um conjunto de populações de *A. fraterculus* de difícil identificação morfológica, mas biologicamente distintas, foi denominado de “complexo fraterculus” (Zucchi 1977). Estudos analisando o loci enzimático de populações de *A. fraterculus* de diferentes regiões geográficas propuseram a existência de grupos diferentes de espécies de *A. fraterculus* (Morgante et al 1980). Posteriormente, estudos de grupos distintos de *A. fraterculus* apresentando características morfológicas, cariotípicas e moleculares diferentes mostraram que existem variações consideráveis dentro do “complexo”, indicando que o processo de especiação possa estar ocorrendo (Selivon 1996, Selivon e Perondini, 1998; Yamada e Selivon 2001; Selivon 2000, Smith-Caldas et al 2001, Selivon et al 2005).

O estudo dos aspectos comportamentais e sua distribuição temporal, principalmente daquelas categorias que favorecem a reprodução e a descendência do indivíduo, podem auxiliar na distinção de espécies próximas (irmãs), uma vez que o comportamento pode ser analisado dentro do contexto ecológico e evolutivo da espécie.

Distribuição Geográfica

A família Tephritidae, uma das maiores dentro da ordem Díptera, apresenta ampla distribuição geográfica, ocorrendo em regiões de clima tropical, subtropical e temperado. (Bateman 1972). Dentro da família Tephritidae, seis gêneros se

destacam como pragas de grande importância econômica na fruticultura. O gênero *Anastrepha* tem ampla distribuição Neotropical; o gênero *Bactrocera* ocorre na Ásia tropical, Austrália e Ilhas do Pacífico e tem distribuição secundária na Ásia temperada, África tropical, sul da Europa e norte da América do Sul (Suriname e Guiana Francesa); o gênero *Ceratitis* ocorre em toda a África, sul da Europa (Zona do Mediterrâneo), Oriente Médio, todas as Américas, Caribe, Austrália e Ilhas do Pacífico; o gênero *Dacus* se distribui em toda África tropical, subcontinente indiano, Ilhas do Oceano Índico, Oriente Médio e Austrália; o gênero *Rhagoletis* ocorre na América do Norte, Europa, América do Sul e Central; e o gênero *Toxotrypana* nas Américas do Norte, Central e do Sul (Malavasi et al 2000).

No Brasil, os tefritídeos de importância econômica são representados por quatro gêneros. A espécie *Ceratitis capitata*, única representante do gênero no Brasil, foi introduzida e está distribuída em todas as regiões do país, associada a uma grande variedade de hospedeiros, tanto nativos como exóticos (Carvalho 2007). O gênero *Bactrocera* está representado pela espécie *B. carambolae* ou mosca-da-carambola, também uma espécie exótica que foi introduzida no Brasil vinda do Suriname. Esta espécie foi identificada pela primeira vez em 1996 na região do Oiapoque, estado do Amapá, por meio de ações de prevenção, controle e erradicação do Programa de Erradicação da mosca-da-carambola, sob coordenação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Recentemente ela foi identificada na divisa do Pará e Amapá, saindo da região do Oiapoque (IBRAF 2007).

O gênero *Rhagoletis* está representado pelas espécies *R. adusta*, *R. blanchardi*, *R. ferruginea* e *R. macquarti* na região sul do Brasil, referidas como pragas esporadicamente. O gênero *Anastrepha* apresenta aproximadamente 94 espécies, das quais sete são importantes do ponto de vista econômico *A. grandis*, *A. fraterculus*, *A. obliqua*, *A. pseudoparallela*, *A. sororcula*, *A. striata*, e *A. zenildae* (Zucchi, 2000).

De acordo com Morgante (1991), a distribuição de uma determinada espécie de mosca-das-frutas, está relacionada com a presença de plantas hospedeiras. Apesar de polípagas, algumas espécies apresentam preferência por determinado hospedeiro, considera hospedeiro primário. No entanto, quando o hospedeiro preferido acaba seu período de frutificação, estas migram para outro, podendo utilizar três ou mais hospedeiros, o que demonstra uma grande capacidade de adaptação. Malavasi et al (2000) observaram que, dentro da grande diversidade de plantas hospedeiras utilizadas pelas espécies de *Anastrepha*, quatro espécies utilizam preferencialmente frutos hospedeiros representantes da família Myrtaceae, sendo estas *A. fraterculus*, com grande concentração nas regiões sul e sudeste do Brasil, seguida de *A. obliqua* e *A. striata* na região norte, *A. sororcula* e *A. zenildae* na região nordeste. Estas últimas, por serem mais adaptadas a climas secos, são encontradas com maior frequência nas regiões do semi-árido.

A. zenildae apresenta distribuição geográfica com registro de ocorrência em vários estados brasileiros (Cannal et al 1998), sendo um desses o Rio Grande do Norte. Generalista e morfológicamente semelhante a outras espécies do seu grupo

taxonômico, tem como principais hospedeiros o juá (*Zizipus joazeiro* Mart.) da família Rhamnaceae e a goiaba (*Psidium guajava* L.) da família Myrtaceae. Recentemente foi encontrada em cajarana (*Spondias* sp.) da família Anacardiaceae, em acerola (*Malpighia emarginata*) da família Malpighiaceae e em kunquant (*Fortunella* sp.) da família Rutaceae, sendo os dois últimos hospedeiros exóticos (Araújo et al 2005).

Em áreas da caatinga, tem sido registrada uma predominância de *A. zenildae* e *A. sororcula* em frutos de goiaba, provavelmente em função do estabelecimento de pomares irrigados que permite a disponibilidade de frutos o ano inteiro e, por consequência, da mosca (Canal et al. 1998b; Araújo e Zucchi, 2003; Zucchi, 2000; Araújo et al. 2005; Moura e Moura 2006). O aumento de áreas cultivadas com frutíferas tem acarretado uma ampliação e distribuição geográfica das espécies de moscas-das-frutas, necessitando de constantes monitoramentos e levantamento populacional desses insetos nos pomares comerciais, além de detectar espécies introduzidas ou mesmo invasões incipientes. Muitas pesquisas são realizadas com o objetivo de auxiliar o estabelecimento de políticas públicas voltadas para a adoção de medidas quarentenárias e de erradicação dessas pragas. No entanto, muitos aspectos da biologia básica precisam ser esclarecidos. Os estudos sobre os aspectos comportamentais destes insetos podem ser fundamentais para se entender as causas de preferência por hospedeiros, as respostas diferenciais entre sexos, os padrões de corte e acasalamento e os sinais envolvidos na escolha da fêmea, que podem fornecer

grande contribuição para a elaboração de métodos e técnicas do controle e erradicação das espécies pragas.

Aspectos comportamentais e sua distribuição temporal

Como na maioria dos organismos, os insetos exibem um nível de organização que leva o comportamento a ocorrer com maior frequência em um horário particular dentro do ciclo diário de 24 horas. Essas oscilações periódicas são conhecidas como ritmicidade circadiana e refletem a interação entre os relógios biológicos e os ciclos naturais aos quais estão submetidos, sendo o ciclo dia/noite (claro/escuro) um dos mais evidentes. Dentro dos ritmos circadianos o período da oscilação pode ser sincronizado pelos ciclos ambientais externos, as influências externas capazes de sincronizar o relógio biológico são designadas *zeitgebers*, um termo alemão que significa doador de tempo. Devido a essa interação, os insetos exibem nichos temporais durante os quais executam suas atividades, podendo ser diurnos, noturnos ou crepusculares (Saunders 1978). Essa organização temporal lhes confere vantagens adaptativas, permitindo-lhes ajustar a fisiologia e o comportamento às mudanças periódicas do ambiente.

Os sistemas circadianos também chamados de osciladores endógenos, marcapassos ou relógios biológicos, são compostos por três componentes principais: as vias de entrada (fotorreceptores e vias visuais), através das quais o agente sincronizador como o ciclo claro/escuro arrasta o oscilador ou relógio para

o período do ciclo ambiental, o relógio, que gera a oscilação circadiana, e as vias de saída, pelas quais o relógio transmite a informação temporal ao resto do organismo permitindo a expressão dos ritmos fisiológicos e comportamentais através dos sistemas efetores (Page, 1985; Moore 1999). A identificação dos componentes do sistema circadiano em insetos tem sido de fundamental importância para se entender as bases moleculares da ritmicidade bem como para se entender os níveis de organização deste sistema.

Helfrich-Forster et al (1998) identificaram e caracterizaram anatomicamente os marcapassos circadianos de diferentes grupos de insetos apontando a existência de dois marcapassos centrais. Um dos marcapassos está na medula acessória, sendo composto de um grupo de neurônios situados na base do lóbulo óptico, que compreende o centro neuroendócrino do cérebro do inseto (Homberg et al 2003), e outro localizado no lóbulo óptico. Posteriormente, Nassel et al (1993) e Stengl e Homberg (1994) localizaram neurônios contendo um neuropeptídeo conhecido como fator dispersante de pigmento (PDF) que é apontado como uma das vias de saída da medula acessória para outras regiões do cérebro. (Homberg et al. 1991; Helfrich-Forster et al. 2000). De acordo com Helfrich-Forster (2004), o sistema circadiano dos insetos está anatomicamente e funcionalmente conectado ao sistema óptico e possui múltiplas vias de saída, permitindo a sincronização com o ciclo claro/escuro ambiental, bem como o controle de diversas funções endócrinas e comportamentais.

Em drosófilas, o relógio circadiano localizado na medula acessória, contém grupos de neurônios que são diferentes morfologicamente e fisiologicamente e estão divididos em neurônios laterais (LNs) e os neurônios dorsais (DNs). Cada grupo está subdividido em outros grupos de neurônios de acordo as diferenças anatômicas e bioquímicas (Helfrich-Forster 2003). Os LNs são considerados os neurônios principais na geração de ritmos sob condições constantes contendo o neuropeptídeo PDF. Foi sugerido que esse grupo de neurônios representa o oscilador matutino de acordo com o modelo de oscilador duplo proposto por Pittendrigh e Daan (1976). Enquanto os neurônios DN, são importante componente do oscilador vespertino (Grima et al 2004; Rieger et al 2006).

A descoberta de osciladores periféricos situados fora do sistema nervoso central, sensíveis a luz e fazendo parte do sistema circadiano e seus mecanismos de ação, reforça a hipótese de um sistema de múltiplos osciladores (Glossop et al 2002). No entanto, os mecanismos de ação e o modo como os relógios circadianos estão organizados dentro de um sistema que coordena a integração temporal ainda não estão totalmente esclarecidos.

Em dípteros, algumas etapas do desenvolvimento e do ciclo de vida ocorrem com um pico restrito a um determinado momento do dia, no qual as condições seriam as mais adequadas. O pico de eclosão nos crepúsculos (amanhecer e entardecer) pode ser uma adaptação à flutuação diária de temperatura e umidade relativa do ar, favorecendo tanto a expansão das asas como evitando a predação.

Nos tefritídeos, estudo de Smith (1989) indicou a existência de um nível de organização que leva a expressão de comportamentos com maior frequência em um horário particular do dia. Estudos realizados com o gênero *Bactrocera* demonstraram que os genes do relógio podem estar envolvidos no controle do ritmo circadiano da atividade de acasalamento, sugerindo que a sua ação pode causar isolamento alocrônico (An et al 2002; Miyatake et al 2002, An et al 2004).

No gênero *Ceratitidis*, observações do padrão de atividade diária de machos e fêmeas na espécie *C. capitata* indicaram que as atividades relacionadas ao comportamento sexual, oviposição e locomoção ocorrem ao longo da fotofase. O comportamento de corte e cópula acontece em dois momentos, com um pico maior pela manhã e outro no início da tarde (Hendrichs et al 1990; Whittier et al 1992). Para a atividade de oviposição também foi observada a ocorrência de dois picos ao longo do dia, sendo 20% desta atividade nas primeiras horas da manhã e 71% no final da tarde (Hendrichs et al 1990).

Com relação às moscas-das-frutas do gênero *Anastrepha* existem poucas informações sobre o perfil de atividade durante o ciclo de 24 horas, sendo a maioria dos registros realizados durante a fotofase.

Durante o desenvolvimento, dois tipos de comportamentos têm mostrado ritmicidade diária. Em *A. suspensa*, larvas no terceiro instar, prontas para sair do fruto, segue um padrão diário distinto, saindo do fruto para se enterrar no solo no final da tarde, início da noite ou às primeiras horas da manhã (Aluja et al. 2000). No comportamento de emergência de adultos, Aluja et al. (1993) observaram que

adultos de *A. ludens* emergiram entre 0600 e 1000 h, enquanto que os de *A. striata* entre 0900 e 1200 h. Em *A. benzi*, este comportamento ocorre entre 1500 e 1800 h (Santos et al 1993).

Estudos feitos em laboratório e em campo (Aluja et al. 1983; Makavasi et al. 1983; Silva, 1991; Sugayama, 1996) verificaram que indivíduos adultos, de um modo geral, exibem um alto grau de plasticidade em relação à maioria das atividades diárias, sendo estas bastante influenciadas por fatores abióticos, principalmente temperatura, luz e umidade (Aluja et al. 2000). Uma das principais atividades dos adultos são seus movimentos de deslocamento. De acordo com Bateman (1972 e 1976), as moscas-das-frutas podem apresentar dois tipos de movimentos: os não dispersivos, relacionados às atividades de alimentação, acasalamento e oviposição, e os dispersivos ou migratórios, que ocorrem quando diminui a disponibilidade de recursos para sua sobrevivência, bem como de frutos que sirvam de sítios de oviposição. Em *Anastrepha*, os movimentos observados com mais frequência são não-dispersivos e estão relacionados ao forrageamento por algum recurso. Sugayama et al. (1997) observaram que adultos de *A. fraterculus* permanecem no pomar de macieiras durante a fotofase, mas não durante a noite. Ao anoitecer, as moscas se deslocam para áreas de mata, provavelmente devido à inadequação das macieiras como refúgios. No início da manhã, retornam ao pomar.

A maioria dos tefritídeos adultos necessita nutricionalmente de uma dieta rica em proteínas, carboidrato, água, sais minerais e vitaminas do complexo B

(Zucoloto 2000). Os trabalhos com enfoque no comportamento alimentar têm em sua maioria relação com o desenvolvimento de atrativos para monitoramento ou utilização de iscas tóxicas (Sugayama e Malavasi 2000). Em adultos de *Anastrepha*, o comportamento alimentar está diretamente relacionado com o papel da nutrição na manutenção do organismo, com a expressão do comportamento sexual, sucesso de cópula e reprodutivo (Drew e Yuval 2000). Estudos feitos com *A. suspensa* indicaram que a produção e emissão de feromônio pelos machos são dependentes da dieta (Landolt e Sivinsk 1992). Machos alimentados com uma dieta sem proteína e açúcar produzem menos feromônio, diminuindo suas chances de copular (Sivinsk et al 1994). Machos e fêmeas necessitam de proteínas para realizar seu potencial reprodutivo, principalmente em espécies que têm *lek* como estratégia de acasalamento com grandes gastos de tempo e energia (Shelly e Whittier 1997).

As principais fontes de alimentos na natureza são: secreção e exsudados de folhas, grãos de pólen, néctar, fezes de pássaros, leveduras e bactérias (Bateman, 1972; Prokopy 1976; Hendrick e Prokopy 1994). Dentro do gênero *Anastrepha* observa-se uma variação temporal e espacial na expressão do comportamento alimentar. Na natureza esta expressão é afetada principalmente pelas condições ambientais e disponibilidade de recursos. Em *A. fraterculus* foi observada uma diferença no horário de alimentação entre machos e fêmeas, com os machos alimentando-se no meio da tarde e as fêmeas ao longo do dia (Malavasi et al 1983). Em *A. obliqua*, Aluja e Birke (1993) verificaram uma expressão bimodal

no comportamento alimentar com picos no início da manhã e no final da tarde. Nas espécies *A. striata* e *A. suspensa* este comportamento ocorre ao longo do dia com um pico no meio da manhã (Aluja et al 1993; Landolt e Davis-Hernandez 1993). De acordo com Aluja (1994), em *Anastrepha*, o horário em que ocorre o comportamento alimentar, dependendo das condições do ambiente, é mais flexível do que o horário em que ocorrem as atividades sexuais.

Uma variação na modalidade de expressão do comportamento alimentar foi evidenciada. Aluja et al (2000) definiram quatro tipos: pastagem – o toque da probóscide várias vezes seguidas sobre a superfície do alimento, observado em *Rhagoletis pomonella* (Hendrichs et al 1992); sucção – estender a probóscide para absorver líquido de um fruto, de gota de água ou fezes frescas de pássaros; borbulhar- formação de uma bolha líquida de tamanho variado na probóscide quando as moscas estão imóveis; regurgitação – deposição de uma série de gotas regurgitadas sobre a superfície da folha ou fruto e a reingestão, observado em várias espécies de *Anastrepha*.

Com relação ao comportamento sexual, os tefritídeos exibem comportamentos característicos. Machos de muitas espécies secretam feromônios para atrair as fêmeas (Sivinsk e Burk 1989). Dentro do gênero *Anastrepha* são observados dois tipos de estratégias no comportamento de corte e cópula: a cópula forçada e formação de *lek*. As espécies monófagas e univoltinas empregam a cópula forçada. Cada macho estabelece e defende um território em uma planta hospedeira contendo frutos suscetíveis a oviposição, e quando a fêmea o invade,

procurando por sítios de oviposição, ele força a cópula (Sivinski e Burk, 1989). Dentro do gênero, *A. bistrigata* é a única espécie na qual foi observado este tipo de estratégia (Selivon, 1991).

De acordo com Emlen e Oring (1977), *leks* são agregações de machos que as fêmeas visitam somente com o propósito de acasalar, não estando relacionado com defesa de recursos nem cuidado parental (Bradbury e Gibson, 1981). Aluja e Birke (1993) definiram *lek* para espécies do gênero *Anastrepha* como sendo uma agregação de pelo menos três machos em uma área claramente definida, exibindo comportamento de chamada simultaneamente.

A estratégia de formação de *lek* é adotada pelas espécies polífagas e multivoltinas. Neste tipo de estratégia, um macho emite sinais que atraem outros machos para um local de exibição comunitária. Os machos se agrupam em uma área e iniciam elaboradas seqüências de comportamentos de chamada, envolvendo liberação de feromônio sexual e vibração das asas com produção de sons, atraindo fêmeas sexualmente receptivas. Após interagir com vários machos, a fêmea é capaz de discriminar e copular com apenas um macho. Geralmente o encontro ocorre nas folhas das plantas hospedeiras (Prokopy 1980).

A formação de *lek* é a estratégia mais freqüente no gênero *Anastrepha* e foi observado em várias espécies dentre elas *A. ludens*, *A. obliqua* (Malavasi, 1984; Aluja et al. 1983), *A. suspensa* (Dodson, 1982), *A. fraterculus* (Morgante et al. 1983), *A. sororcula*, *A. pseudoparalela* (Teles da Silva et al. 1985), *A. grandis* (Silva, 1991), *A. striata* (Selivon, 1991; Aluja et al. 1993) e *A. serpentina* (Aluja et

al. 1989). Nestas espécies a cópula é determinada pela escolha da fêmea (Headrick e Goeden, 1994), podendo durar de alguns poucos minutos até horas.

Espécies de *Anastrepha* exibem comportamentos de corte e cópula em horários diferentes do dia, apresentando padrões temporais espécie-específicos reforçando a idéia da existência de processos de especiação alocrônica (Malavasi et al. 1983; Morgante et al. 1993; Selivon e Morgante 1997; Aluja et al. 2000; Henning e Matioli 2006). Essa variação temporal no comportamento de acasalamento tem conseqüências ecológicas importantes, podendo causar isolamento reprodutivo entre populações que vivem em simpatria e que podem utilizar o mesmo hospedeiro, como é o caso de *A. fraterculus*, *A. zenildae*, *A. sororcula* e *A. obliqua* (Araújo e Zucchi, 2003; Araújo et al. 2005). Portanto, a diferença temporal seria o mecanismo de isolamento pré-zigótico utilizado para evitar hibridação (Miyatake e Shimizu 1999; Miyatake et al 2002).

Após a cópula, as fêmeas estão aptas a realizar o comportamento de oviposição que é considerado um dos mais críticos em insetos holometabólicos, uma vez que a sobrevivência da prole e a continuidade da espécie dependem da escolha do hospedeiro adequado por parte da fêmea. As larvas possuem pouca mobilidade e dependem dos recursos nutritivos selecionados pelas fêmeas adultas no momento da postura (Singer 1986; Renwick 1989).

Em *Anastrepha*, é observado que o comportamento de oviposição segue um padrão com uma seqüência de movimentos bastante estereotipada e grandemente influenciada pelas condições do ambiente. De acordo com esse padrão, a fêmea

chega ao fruto e faz o reconhecimento (procura/exame) percorrendo a superfície do fruto, tocando-o com a parte anterior da cabeça, o labelo e a bainha do ovipositor. Quando encontra um local para ovipositar, pára de andar e aumenta o movimento com a cabeça. Em seguida, insere o acúleo na polpa do fruto, oviposita e depois percorre novamente a superfície do fruto arrastando o ovipositor. Durante essa etapa ocorre a deposição de feromônio marcador de hospedeiro, sinalizando para co-específicas que aquele fruto já foi infestado (Sugayama e Malavasi, 2000). Essa etapa foi observada para várias espécies do gênero, incluindo as que fazem parte do “grupo fraterculus” e que vivem em simpatria (Prokopy et al 1982; Aluja et al 1998b). No entanto, infestações simultâneas em frutos hospedeiros foram detectadas, como em goiaba (*Psidium guajava* L.), onde são encontrados indivíduos de várias espécies de *Anastrepha* e também de *Ceratitis capitata* em um único fruto, o que reflete uma competição direta para sobrevivência da larva.

A atividade de oviposição está na dependência de fatores como disponibilidade de hospedeiros e tipo de hospedeiro, se primário ou secundário. Barros (1986) verificou em *A. fraterculus* a probabilidade de 70% de realização de punctura com deposição de ovos quando o fruto era hospedeiro primário, neste caso a goiaba. Sugayama et al (1997) observaram nesta espécie, que 49% das visitas ao fruto não resultavam em punctura. Outros fatores que influenciam a atividade de oviposição são: a qualidade do fruto (principalmente o grau de amadurecimento), a evidência de oviposição prévia por co-específico detectada pela presença da deposição do feromônio marcado de hospedeiro, a competição

por hospedeiro, a experiência prévia e a presença de co-específica como facilitador social. (Nufio e Papaj 2001; Aluja 2000; Diaz-Fleischer e Aluja 2003a; Diaz-Fleischer e Aluja 2003b).

Variações no horário de ocorrência do comportamento de oviposição e na quantidade de ovos por punctura entre as espécies de *Anastrepha* foram evidenciadas em estudos de campo e de laboratório. Em *A. obliqua*, o comportamento de oviposição ocorreu a partir das 0700 h (Aluja e Birke, 1993). Malavasi et al. (1983) observaram em fêmeas de *A. fraterculus* oviposição ao longo do dia com um pico entre 1000 e 1500 h, enquanto que Sugayama et al. (1997) observaram nesta mesma espécie oviposição entre 1300 e 1800 h com um pico entre 1600 e 1800 h. Aluja e Birke (1993) observaram que em *A. striata*, a atividade de oviposição começava às 0800 h e terminava às 1600, com um pico entre 1200 e 1300 h. Em *A. ludens*, fêmeas ovipositam entre 1100 e 1400 h (Birke 1995).

O número de ovos por postura é bastante variável entre as espécies. Em *A. obliqua* foi observado 1 ovo por punctura e em *A. fraterculus* de um a nove ovos, com uma variação de 7 a 39 segundos de duração no tempo de postura (Sugayama et al. 1997). Em *A. ludens* foram encontrados de um a quarenta ovos (Berrigan et al 1988) e em *A. grandis* mais de cem ovos por punctura (Silva 1991).

O estudo do comportamento e seus diferentes padrões correlacionados com determinantes ecológicos têm possibilitado o desenvolvimento de técnicas de manejo e controle de espécies consideradas pragas, além da grande contribuição

para os estudos de genética e evolução em muitas espécies de insetos. As variações nos horários em que os comportamentos são expressos em *Anastrepha* podem ser atribuídas a eventos fisiológicos e comportamentais que obedecem a padrões rítmicos circadianos controlados por relógios endógenos, amplamente influenciados por fatores ambientais, principalmente o fotoperíodo. O conhecimento dos aspectos temporais pode proporcionar aos programas de monitoramento o desenvolvimento de técnicas de manejo considerando o horário em que determinadas atividades são mais evidentemente realizadas pelo animal, sobretudo em ambientes onde são encontradas espécies morfologicamente semelhantes e em simpatria, como é o caso de espécies do gênero *Anastrepha*.

Anastrepha zenildae (Zucchi), uma das espécies do gênero, tem se tornado cada vez mais presente nos levantamentos populacionais tanto em frutos como em armadilhas e, por ser generalista, passou a ter o status de praga de interesse econômico (Zucchi 2000), sobretudo no Estado do Rio Grande do Norte (Oliveira e Macedo 2002). O conhecimento das características comportamentais desta espécie pode contribuir para o controle e prevenção da sua expansão populacional como praga, além de elucidar questões sobre a taxonomia dos grupos dentro do gênero *Anastrepha*.

Caracterização da espécie em estudo

Anastrepha zenildae Zucchi (1979) é uma espécie do “grupo *fraterculus*” que apresenta o ápice do ovipositor (acúleo) muito semelhante a *A. fraterculus* (Wied.) e muitas vezes têm sido confundida com esta. De acordo com Araújo et al. (1996), o ápice do ovipositor de *A. zenildae* apresenta leve constrição antes da serra, que contém mais de 12 dentes de cada lado, ocupando 2/3 da porção apical, enquanto que o ápice do ovipositor de *A. fraterculus* apresenta constrição antes da porção serrada e normalmente menos de 12 dentes de cada lado da serra, ocupando a metade da porção apical. Segundo Zucchi (1979), existe pouca diferença no comprimento do ovipositor nas duas espécies, sendo 1,8-1,9 mm em *A. zenildae* e 1,5 a 2,0 mm em *A. fraterculus*.

A. zenildae possui o tórax com 2,7 a 3,0 mm de comprimento, faixas do mesonoto pouco distintas e metanoto escurecido lateralmente, macroquetas pretas e pilosidade amarelada. As asas apresentam 6,3-6,8 mm de comprimento com faixas C e S unidas e a faixa V com vértice pouco distinto e isolada (Zucchi 1979) (Figura 2).

De acordo com Zucchi (2000), as plantas hospedeiras mais utilizadas por *A. zenildae* são da família Myrtaceae. Também tem sido registrado como planta hospedeira o juá (*Zizyphus joazeiro*) da família Rhamanaceae (Araújo et al. 1996a). Em coletas ocasionais de frutos realizadas pela COEX (Comissão Executiva da Área Livre de Moscas-das-frutas de Mossoró- Assu-Areia Branca),

verificou-se alto índice de infestação de frutos de goiaba por *A. zenildae*, (em torno de 94,5%), e 100% de infestação para juá (Araújo et al. 2000). Provavelmente as regiões de caatinga possuem condições propícias para o estabelecimento de *A. zenildae*. No entanto, para confirmar esta observação são necessários estudos que esclareçam as influências bióticas e abióticas sobre a espécie.



Figura 2 – Exemplares fêmea e macho adultos de *Anastrepha zenildae*.

Considerando que a espécie *Anastrepha zenildae* é de interesse econômico e que sua distribuição/freqüência populacional vem aumentando bem como a quantidade de hospedeiros utilizados por esta espécie, estudos que investiguem o perfil comportamental e temporal de suas atividades diárias são de grande importância para o desenvolvimento de métodos que possam auxiliar no controle dessa praga. Uma vez que não existem estudos anteriores sobre o perfil

comportamental desta espécie, este trabalho tem por objetivo principal descrever e caracterizar o comportamento de *A. zenildae*, enfatizando a sua distribuição temporal em laboratório num ciclo claro/escuro 12:12 h de modo a:

- * caracterizar o perfil diário das atividades ligadas à alimentação, limpeza, locomoção e descanso/parado.

- * caracterizar os padrões comportamentais que compõem os comportamentos de corte e cópula.

- * caracterizar as atividades do comportamento de oviposição.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos animais

Os insetos da espécie estudada foram obtidos de frutos de juá (*Zizipus joazeiro* Mart.) e goiaba (*Psidium guajava* L.) coletados no município de Mossoró-RN (5^o 11' S– 37^o 25'). Os frutos infestados foram colocados em recipientes contendo vermiculita esterilizada como substrato para empupação das larvas. A vermiculita foi peneirada após sete e quinze dias da coleta para obtenção dos pupários, que foram colocados individualmente em recipiente de acrílico contendo vermiculita e fechados na base com tecido *voile* até a emergência dos adultos. Após a emergência, os adultos foram separados por sexo e transferidos para caixas de população (30x30x30 cm), providas *ad libitum* com água e dieta artificial à base de hidrolisado de proteínas, Sustagem®, mel de abelha, açúcar mascavo, extrato de levedura e açúcar refinado.

As populações foram mantidas em sistema de gerações descontínuas. Foi utilizado o mamão (*Carica papaya*) como substrato para oviposição das fêmeas e desenvolvimento larval. Em seguida o mamão era colocado em vermiculita esterilizada e peneirada em intervalos de sete dias para o recolhimento das pupas, estas eram contadas e separadas por lotes etiquetados com a data da coletada, de forma que cada lote de pupa correspondia a animais da mesma idade.

Condições de manutenção

Os insetos foram mantidos em uma sala com condições controladas de temperatura (26 ± 2 °C) e iluminação. O regime de iluminação foi organizado em ciclo claro/escuro 12:12 h, com intensidade de 750 lux (2 lâmpadas fluorescentes 32W) na fase de claro e abaixo de 1 lux na fase de escuro (lâmpada incandescente vermelha de 25 W), estando as luzes acesas entre 0700 e 1900 h.

Coleta de dados:

Registro comportamental

As observações comportamentais foram realizadas em ciclo claro/escuro 12:12 h, com intensidade de 750 lux na fase de claro e abaixo de 1 lux na fase de escuro com luzes acesas entre 0700 e 1900 h. As observações foram feitas de forma direta por três observadores com troca de turno a cada 3 horas, tendo sido realizado dois experimentos pilotos antes da coletada de dados para padronização das observações e tiveram duração de quatro meses. Foi realizado o teste de concordância entre os observadores sendo obtido o grau mínimo de 90%.

Para este trabalho foram utilizadas seis gerações (parental à F5). Durante as observações utilizamos filmadora para registrar pelo menos três vezes cada comportamento. Foram observados os comportamentos de descanso, locomoção, limpeza, alimentação e os comportamentos reprodutivos de corte, cópula e oviposição.

Perfil dos comportamentos de descanso, locomoção, limpeza e alimentação

De cada geração foram escolhidos 32 animais ao acaso, 16 de cada sexo, e colocados em gaiolas de acrílico (30x30x30 cm) separadas, sendo observados 96 machos e 96 fêmeas. As observações foram feitas através da técnica de “varredura”, em janelas de 15 minutos a cada hora e registro a cada minuto, durante três dias consecutivos na semana para cada geração. Foi registrada a frequência dos episódios de cada um dos comportamentos a seguir:

- Descanso – imobilidade;
- Locomoção - deslocamento (andar ou voar) no piso, teto ou laterais da gaiola;
- Limpeza - passar as pernas no corpo, nas asas e ou ovipositor;
- Alimentação - probóscide toca seguidamente o alimento ou a água

Comportamento reprodutivo

Corte e cópula

Os comportamentos de corte e cópula foram registrados utilizando-se a técnica de “todas as ocorrências” (Martin e Bateson, 1994), anotando-se

frequência, duração e horário. Foram utilizadas planilha de anotação e filmadora para permitir uma descrição detalhada das etapas comportamentais. Foi registrada a frequência de episódios de corte caracterizado pela: liberação de feromônio - protusão da extremidade anal, distensão da região pleural e vibração intermitente das asas; formação de *lek* com no mínimo três machos agrupados e em exibição de acordo com Aluja e Birke (1983); número de machos no *lek*; tentativas de cópula - quando ocorria monta, mas não introdução do edeago no ovipositor, com ou sem *lek*; e cópula efetivada - caracterizada pela monta com levantamento da bainha do ovipositor da fêmea e acoplamento no edeago. Para caracterização destes comportamentos foram utilizadas as definições de Sugayama e Malavasi (2000) para o gênero *Anastrepha*.

Foram selecionados 16 machos e 16 fêmeas por geração (total: 96 machos e 96 fêmeas) entre o décimo quarto e o décimo sexto dia após eclosão. As observações foram realizadas durante três dias consecutivos para cada geração.

Comportamento de oviposição

Todas as fêmeas acasaladas foram marcadas com tinta guache de cor diferente no tórax com auxílio de um pincel fino. Em seguida foram colocadas em gaiola de acrílico (30x30x30 cm) com água e dieta artificial *ad libitum*. As observações foram feitas durante três dias consecutivos para cada uma das seis gerações. Como substrato para oviposição foi utilizado mamão (*Carica papaya*),

colocado no início da observação 7:00 e retirado no final a cada dia 19:00 horas.

Foram registrados frequência, horário de chegada e o tempo no fruto, o comportamento de procura ou reconhecimento (fêmea percorre a superfície do fruto, tocando-o seguidas vezes com o labelo e a bainha do ovipositor), as tentativas de oviposição (fêmea levanta o abdômen e as patas traseiras e tenta introduzir o acúleo em um ângulo de aproximadamente 45°), a oviposição (a mesma postura anterior em ângulo de 45° com punctura e inserção do acúleo e liberação de látex), o tempo de punctura, a latência (intervalo decorrido entre a chegada ao fruto e o início da oviposição), o arrasto (fêmea caminha na superfície do fruto com o acúleo protraído, arrastando-o) e a limpeza (após a inserção e arrasto a fêmea passa as patas no ovipositor seguidas vezes).

Os registros foram feitos com o auxílio de um gravador Olympus S928, cronômetro digital, planilha e filmadora Sony. A caracterização das etapas (chegada, reconhecimento, punctura, arrasto do ovipositor e limpeza) foi feita com base em Sugayama e Malavasi (2000) e Aluja et al. (2000).

Análise dos dados

Os dados foram analisados em função da hora. Como os dados foram coletados em regime de luz artificial, o horário está definido como Hora do Zeitgeber (HZ). O acender das luzes corresponde a 0000 HZ e o apagar a 1200 HZ.

Para análise estatística, todas as frequências comportamentais (locomoção, alimentação, limpeza, descanso, corte, tentativa de cópula e cópula, oviposição)

foram analisadas utilizando estatística não paramétrica após a aplicação do teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov. Esses comportamentos foram analisados em função da hora de observação. As comparações foram feitas entre as horas e entre os sexos utilizando o teste de Friedman e em caso de significância, foi realizada a comparação dentro de cada variável utilizando o teste de Wilcoxon. Os testes paramétricos foram empregados na análise do tempo de permanência no fruto, latência para a primeira oviposição e duração da oviposição. Nestes casos foi aplicada a MANOVA com o teste de Tukey como post hoc.

Para a análise da distribuição horária das frequências das atividades de *A. zenildae* foi utilizado o teste de Rayleigh da estatística circular que equivale testar se os dados apresentam recorrência periódica com base no comprimento do vetor médio (r) que corresponde ao intervalo de confiança da acrofase (Batschelet, 1981).

As análises foram feitas utilizando-se os programas Statistica e El Temps, com níveis de significância de 5% em todas os testes.

RESULTADOS

O estudo totalizou 432 horas de observação, não sendo encontrada diferença para as variáveis comportamentais em relação às gerações e dias de observação.

Perfil dos comportamentos de descanso, locomoção, limpeza e alimentação

O perfil de atividade diária de indivíduos adultos de *A.zenilidae* apresentou regularidade na sua organização temporal, com uma variação horária ao longo da fotofase. O comportamento de descanso foi mais freqüente tanto para machos quanto para fêmeas, variando significativamente de acordo com a hora (machos: $\chi^2_r=319,3$; fêmeas: $\chi^2_r=305,0$), com os machos permanecendo mais tempo em descanso do que as fêmeas (figura 3)

Além das frequências apresentadas na fotofase, o descanso representou 100% dos comportamentos realizados na escotofase, não permitindo a análise pelo teste de Rayleigh. Este comportamento foi observado ocorrendo principalmente nas laterais e no teto da gaiola, onde as moscas permaneciam imóveis sem deslocar as patas, tocando seguidas vezes o substrato (gaiola) com a probóscide.

O comportamento de locomoção foi mais evidente no início da fase de claro, tanto para machos como para fêmeas. Foi observada uma maior freqüência na primeira metade desta fase, com pico nas primeiras duas horas após o acender

das luzes para ambos os sexos, variando significativamente de acordo com a hora do dia ($\chi^2_r=251,4$ para machos e 234,2 para fêmeas), com as fêmeas se locomovendo mais do que os machos (figura 3). De acordo com o teste de Rayleigh, o horário preferencial médio para machos foi às 0206 HZ ($r=0,95$; $p<0,05$) e 0317 HZ para fêmeas ($r=0,80$; $p<0,05$), correspondendo a uma distribuição deste comportamento preferencialmente na primeira metade da fase de claro (figura 4). Neste comportamento, as moscas se deslocavam pela gaiola utilizando as laterais, o teto e o piso. Vôos curtos também foram observados, principalmente de uma lateral da gaiola para outra e do piso da gaiola para o teto.

O comportamento de limpeza apresentou maior frequência na segunda metade da fase de claro em ambos os sexos (figura 4). As fêmeas apresentaram diferença significativa com relação à hora ($\chi^2_r=122,3$), com maior frequência em 0800 HZ ($p<0,05$). Neste comportamento, o horário correspondente ao ângulo médio foi às 0807 HZ para machos e 0818 HZ para as fêmeas ($r=0,69$ e $0,75$; $p<0,05$). Demonstrando que este comportamento ocorreu preferencialmente na segunda metade da fase de claro, o que corresponde à tarde (figura 4). Geralmente, o comportamento ocorria no piso e nas laterais da gaiola, principalmente após os episódios de alimentação, por ocasião do contato com o substrato onde se encontrava o alimento (dieta). As moscas esfregavam as patas anteriores uma na outra, tocando com a probóscide. A atividade de limpeza também foi observada com frequência após a cópula. Os machos limpavam o final do abdômen utilizando as patas posteriores e as fêmeas, o ovipositor. Durante a etapa de

inspeção no substrato de oviposição e após a inserção do acúleo, as fêmeas também limpavam o ovipositor utilizando as patas posteriores.

No comportamento de alimentação, observou-se diferença significativa entre machos e fêmeas (figura 3). Para as fêmeas, esta atividade ocorreu principalmente na segunda metade da fase de claro, com maior frequência entre 0700 e 0800 HZ ($\chi^2_{r}=197,3$), enquanto que nos machos a maior frequência ocorreu em 0600 HZ ($\chi^2_{r}=174,6$). O horário correspondente ao ângulo médio foi de 0645 HZ para os machos ($r=0,74$; $p<0,05$) e 0652 HZ para fêmeas ($r=0,72$; $p<0,05$), o que corresponde a uma distribuição preferencial deste comportamento à tarde (figura 4). Foram observados episódios de comportamento agressivo tanto entre machos como entre fêmeas no substrato onde estava o alimento.

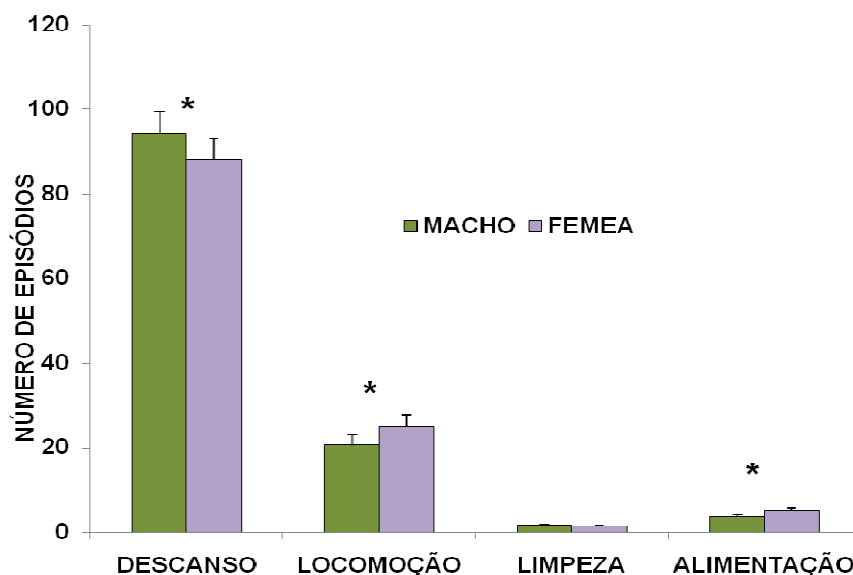


Figura 3 - Número de episódios (média ± DP) dos comportamentos estudados de *A. zenildae* em ciclo claro: escuro 12:12 h (* $p \leq 0,05$)

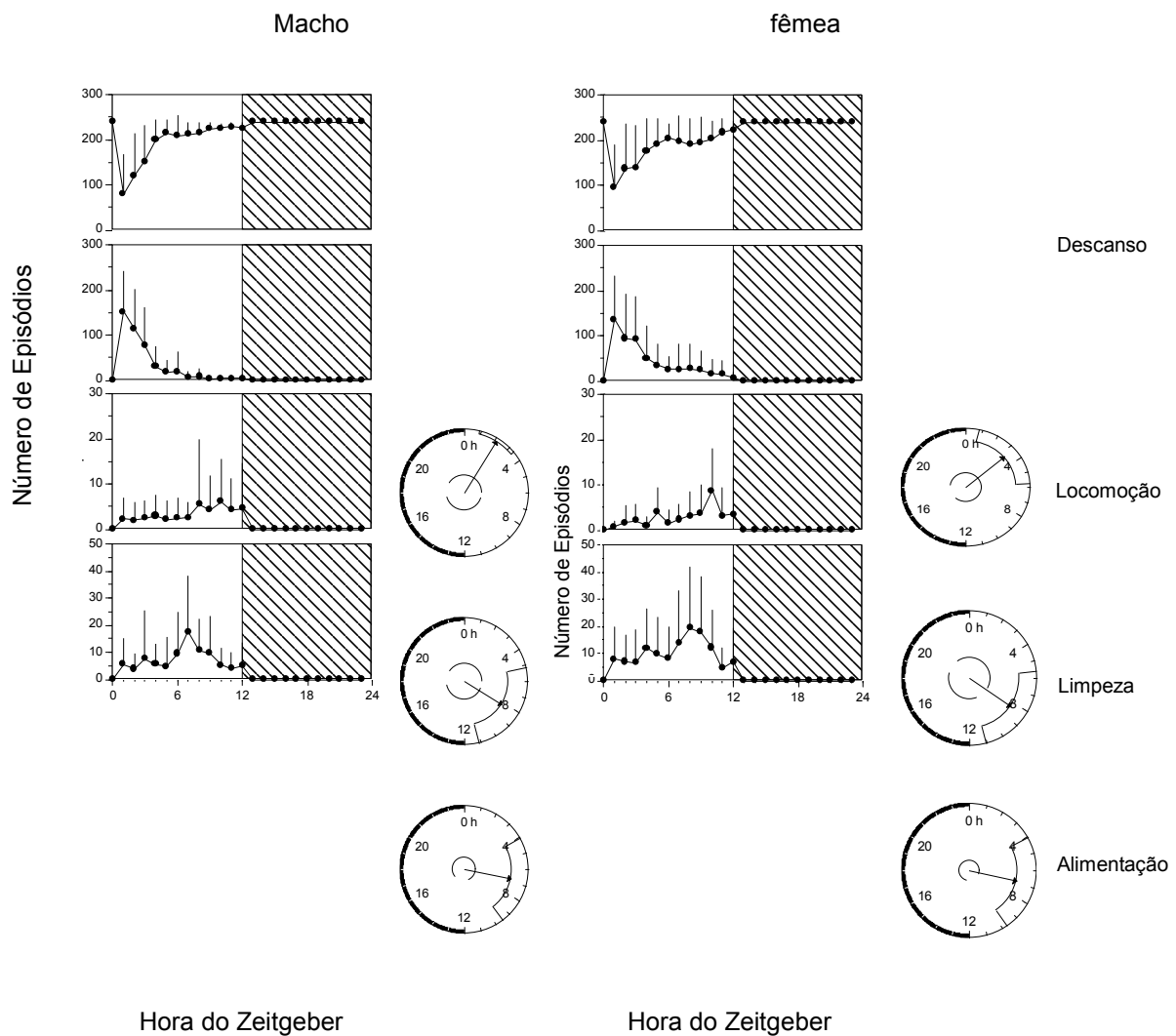


Figura 4- Distribuição horária (média±DP) e ângulo médio calculado pelo teste de Rayleigh para os comportamentos estudados de *A. zenildae* em ciclo claro: escuro 12:12 h.

Comportamentos de corte e cópula

O comportamento de chamada dos machos caracterizou-se pela posição das asas vibrando periodicamente em ângulo reto ao eixo do corpo, seguido da expansão da porção lateral do abdômen e protraimento da bolsa anal, com formação nesta região de uma bolha de líquido provavelmente contendo

feromônio. O macho se locomovia rapidamente girando em círculos e periodicamente vibrava as asas. Nesta etapa, o macho tocava diversas vezes a gaiola com a região anal protraída. Geralmente um macho iniciava a chamada e outros machos agrupavam-se ao redor do primeiro formando uma área de exibição comum, caracterizando a formação de *lek*.

O comportamento de corte variou em função da hora ($\chi^2_r=400,3$; $p\leq 0,01$). Os episódios de corte ocorreram ao longo da fotofase, com frequências mais elevadas entre 0400 e 0700 HZ (81,9%) e com um pico as 0600 HZ. O horário correspondente ao ângulo médio foi as 0548 HZ ($r= 0,90$; $p<0,05$) (Figura 5).

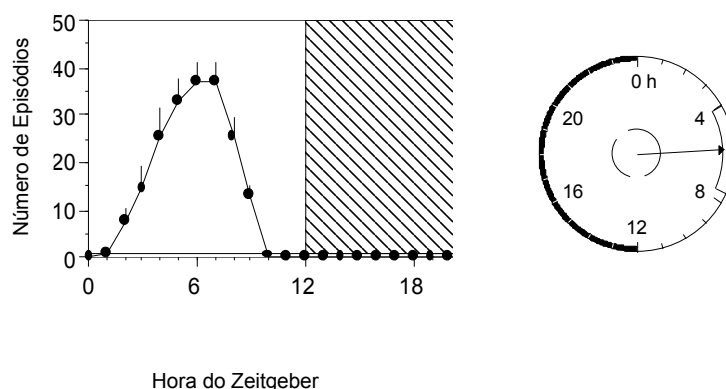


Figura 5-Distribuição horária dos episódios de corte (média±DP) (direita) e ângulo médio calculado pelo teste de Rayleigh (esquerda) para o comportamento de corte de machos de *A. zenilidae* em ciclo claro: escuro 12:12 h.

A formação do *lek* durou cerca de 10 a 20 minutos, sendo observados vários *leks* simultâneos sobre a lateral ou chão da gaiola. Durante a formação do *lek* foi observado o comportamento de agressão, entre dois machos que não ocupavam o centro do agrupamento simultaneamente. Quando um macho ocupava a posição central do agrupamento, este, por ocasião da proximidade de outro macho, movia

cada asa alternadamente do plano horizontal para o vertical; isto na maioria das vezes causava a partida do macho que se aproximava. Quando os dois permaneciam, tocavam suas cabeças e tórax frontalmente de modo que um deles era forçado a deslocar-se, saindo da área.

Durante a corte foram observadas tentativas de cópula de machos dentro e fora do *lek* (Figura 6). Foram observadas em média 2,2 tentativas de cópulas no *lek* por hora, ocorrendo com maior frequência entre 0300 e 0700 HZ (88,4%), com um pico as 0600 HZ ($\chi^2_r=371,7$). O horário correspondente ao ângulo médio foi 0511 HZ ($r=0,90$; $p<0,05$). Fora do *lek* foram observadas 1,2 tentativas de cópulas por hora, com um pico as 0700 HZ ($\chi^2_r=273,7$) com ângulo médio as 0551 HZ ($r=0,92$; $p<0,05$). Nas tentativas fora do *lek*, os machos simplesmente pulavam sobre a fêmea que estava mais próxima e tentavam montar. Na maioria das vezes, a fêmea posicionava o abdômen para baixo em um ângulo de 90° e não extrovertia o ovipositor, o que impedia o acoplamento das genitálias. Nessas tentativas geralmente os dois caíam no piso da gaiola e afastavam-se rapidamente.

As fêmeas aproximavam-se do *lek* andando ou com curtos vôos, sendo observada intensa atividade locomotora dos machos durante a corte. Um dos machos, geralmente o que estava no centro do *lek*, orientava-se frontalmente em relação à fêmea, ficando frente a frente a uma distância de aproximadamente 2 a 4 cm. A postura de ficar frente a frente e tocarem rapidamente cabeça com cabeça pareceram decisivos para que a cópula fosse efetivada, pois quase todas as cópulas

observadas aconteceram depois desta etapa. Após o toque, o macho contornava a fêmea e a montava. Se a tentativa era bem sucedida, o macho utilizava suas patas posteriores para levantar a bainha do ovipositor da fêmea e encaixá-lo no seu edeago e permanecia vibrando as asas em alta frequência até o acoplamento das genitálias. Após o acoplamento, o macho tocava continuamente a cabeça da fêmea com sua probóscide. Algumas vezes, a fêmea se desloca com o macho montado, mas, a maior parte do tempo, o par permanecia parado. No final da cópula, o macho desmontava da fêmea e, girando o corpo em 180°; ficava em direção oposta à fêmea. Em seguida, os dois se deslocavam em sentidos opostos até o desacoplamento total das genitálias. Após o término da cópula, o macho iniciava a limpeza do abdômen e a fêmea, do ovipositor (Figura 8).

O comportamento de cópula (acoplamento das genitálias) foi observado 2 horas após o acender das luzes, com um perfil de distribuição diária se estendendo até 0800 horas depois. A frequência mais elevada 30% ocorreu entre 0600 e 0700 HZ ($\chi^2_r=109,5$). O horário que correspondeu ao ângulo médio foi de 0613 HZ. ($r=0,94$ $p<0,05$). A duração média dos episódios de cópula foi de $58,1\pm 40,4$ min com uma variação de 5,0 a 163,0 min, sendo observado que as cópulas com maior duração ocorreram de 0400 a 0700 horas após o acender das luzes ($\chi^2_r=109,5$) (Figura 7). A frequência média de cópulas foi baixa (0,3 cópulas/macho) se considerarmos o número total de machos ($n=96$). No entanto, somente 25 machos apresentaram o comportamento efetivo de cópula resultando em 1,2 cópula/macho.

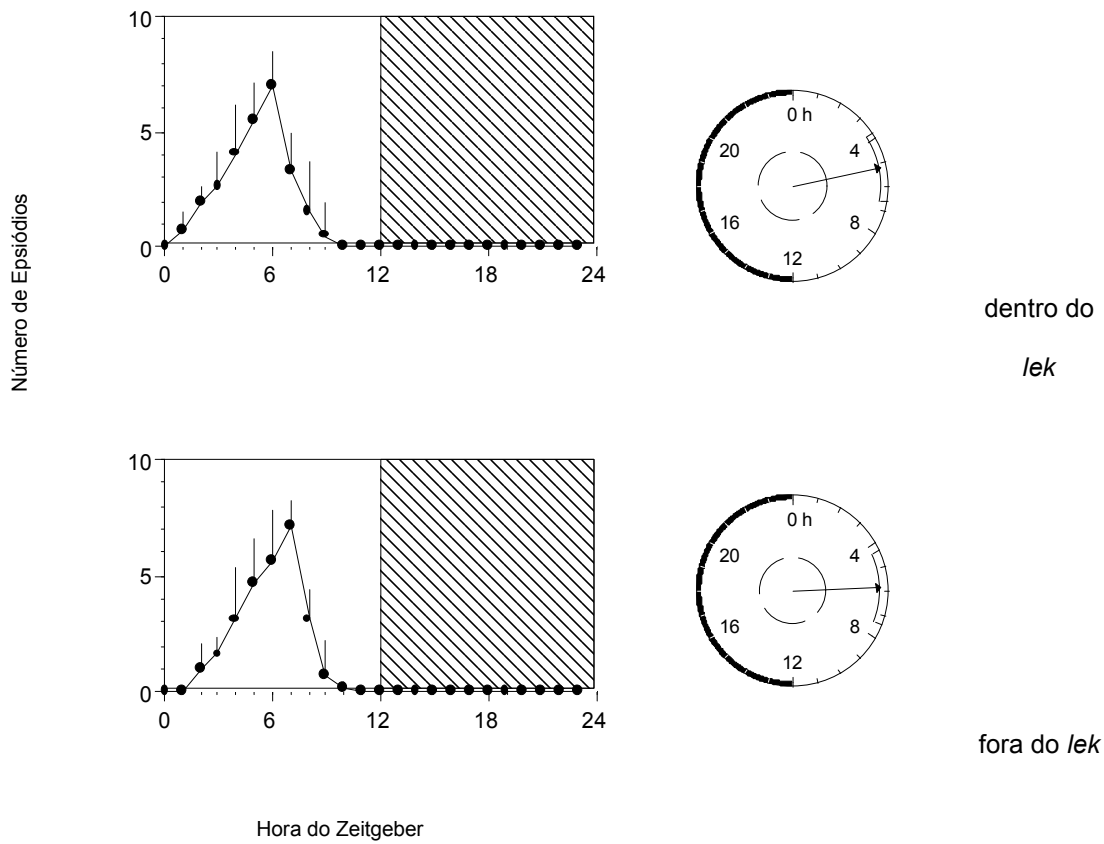


Figura 6- Distribuição da média horária e ângulo médio calculado pelo teste de Rayleigh dos episódios de tentativa de cópula de *A.zenildae* dentro e fora do *lek* em ciclo claro: escuro 12:12.

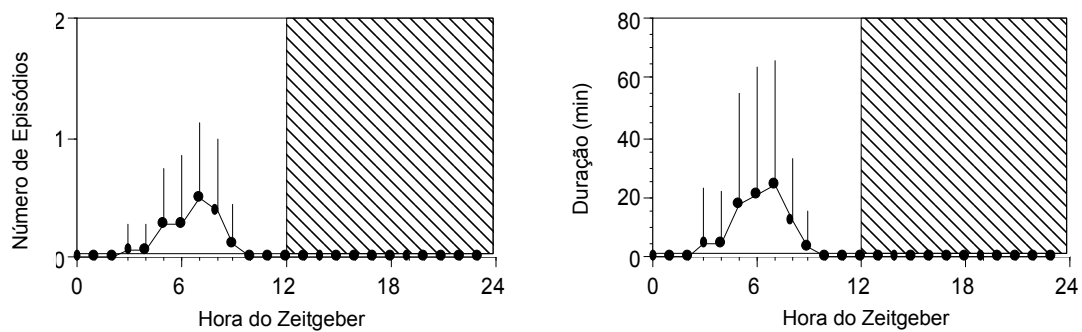


Figura 7- Distribuição horária do número e da duração (média±DP) dos episódios de cópula em *A. zenildae* em ciclo claro: escuro 12:12 h.

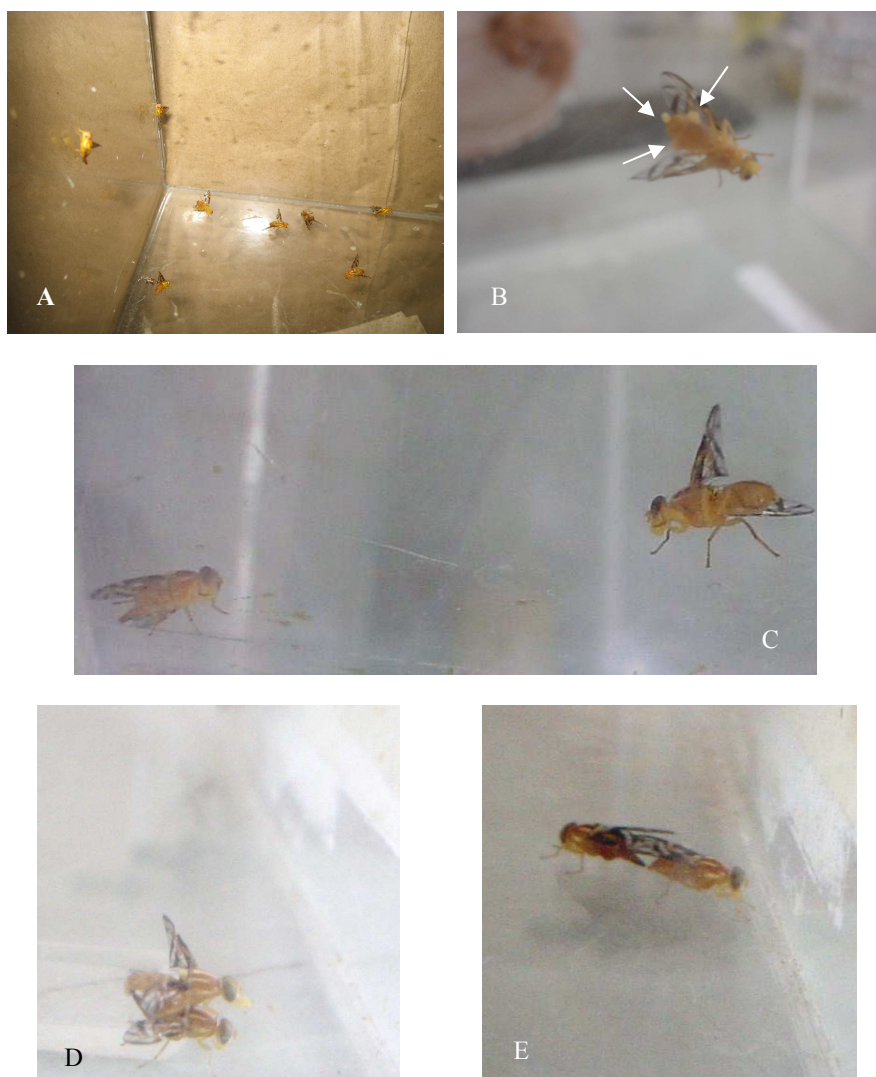


Figura 8- Seqüência de eventos observados durante a corte e cópula de *A. zenildae* (a) agrupamento de machos no *lek* (b) macho com distensão da bolsa abdominal e eversão da glândula anal (c) aproximação da fêmea e postura de ficar frente a frente (d) monta e encaixe das genitálias (e) separação do casal no final da cópula.

Comportamentos de oviposição

As etapas do comportamento de oviposição observadas neste estudo são semelhantes às de outras espécies do gênero *Anastrepha* (Sugayama e Malavasi

2000, Diaz-Fleischer et al. 2000), com uma seqüência de etapas bastante variável. Algumas das etapas podem ser repetidas seguidas vezes e a fêmea pode permanecer muito tempo no fruto hospedeiro sem realizar a postura de ovos.

O comportamento de oviposição de *Anastrepha zenildae* ocorreu ao longo da fotofase, com maior freqüência entre 0200 e 0400 HZ ($\chi^2_r=49,2$). O horário correspondente ao ângulo médio foi de 0445 HZ ($r=0,86$ $p<0,05$) (Figura 9).



Figura 9- Distribuição horária (média±DP) e ângulo médio calculado pelo teste de Rayleigh dos episódios de oviposição de *A. zenildae* em ciclo claro: escuro 12:12 h.

Na etapa de chegada ao fruto, a fêmea aproximava-se do fruto voando ou andando; a escolha de um local específico para pousar no fruto parece ser casual. Durante a procura, a fêmea caminhava sobre o fruto e tocava-o alternadamente com a probóscide, a parte frontal da cabeça e a bainha do ovipositor. Nesta etapa, a fêmea caminhava e às vezes girava circundando o fruto, com as asas permanecendo em ângulo de 90° em relação ao corpo; enquanto caminhava, tocava a probóscide no fruto e limpava o ovipositor. Algumas fêmeas

permaneceram bastante tempo nesta atividade sem ovipositar. Observou-se também que, logo após a chegada, algumas fêmeas ovipositavam logo em seguida, sem realizar a procura ou reconhecimento, e outras vezes saíam sem ovipositar.

Na etapa de punctura, a fêmea parava, projetava o ovipositor, mantendo a bainha do ovipositor em posição perpendicular em relação ao corpo e ao fruto em um ângulo de 90°, e inseria o acúleo. Nessa etapa, a fêmea movimentava o abdômen lentamente para cima e para baixo, movimentava continuamente a probóscide e as asas eram mantidas perpendiculares em relação ao corpo. Após a postura, a fêmea caminhava ao redor do local de punctura arrastando o acúleo (Figura 10). Esta ação era intercalada com a limpeza, na qual ela arrastava, parava e limpava, e depois voltava a arrastar novamente. O arrasto era feito em círculos. Inicialmente próximo ao local de inserção do acúleo, depois se estendendo além dessa área. Em seguida, a fêmea realizava a limpeza do ovipositor, passando as patas posteriores alternadamente no acúleo, como também protraindo e retraíndo o acúleo. Algumas vezes, a fêmea não fazia o arrasto, limpava o ovipositor e voltava a ovipositar e limpar novamente para só depois realizar o arrasto. A ocorrência da mesma fêmea ovipositando mais de uma vez foi bastante frequente (figura 10)

Neste estudo, considerou-se como tentativa de oviposição a inserção rápida do acúleo, sem que a fêmea realizasse a etapa de procura e arrasto. Geralmente, nessas tentativas a fêmea inseria e retirava rapidamente o acúleo sem realizar o arrasto. Não era observada a saída do látex do fruto (mamão), e a fêmea passava muito tempo fazendo a limpeza do ovipositor. A média de ocorrência de episódios

de oviposição foi de $8,0 \pm 8,2$ episódios por fêmea (N=96) com mínimo de 1 e máximo de 40, o que mostra a grande variabilidade individual. A quantidade de ovos colocados por fêmeas variou entre 2 a 5 ovos por postura.

A duração média das 372 oviposições registradas foi de $43,7 \pm 34,8$ segundos, apresentando variação ao longo das horas de observação (Figura 11). A duração foi mais elevada nas primeiras horas após o acender da luzes, havendo uma redução progressiva até o final da fase de claro. O tempo de permanência no fruto também variou ao longo da fotofase, sendo maior entre 0100 e 0300 HZ e diminuindo daí em diante, com uma permanência média de $4091,0 \pm 1859,3$ segundos. A latência entre a chegada ao fruto e o início da oviposição apresentou uma duração média de $860,5 \pm 1093,7$ segundos, com um perfil paralelo ao do tempo de permanência da mosca no fruto (Figura 11).

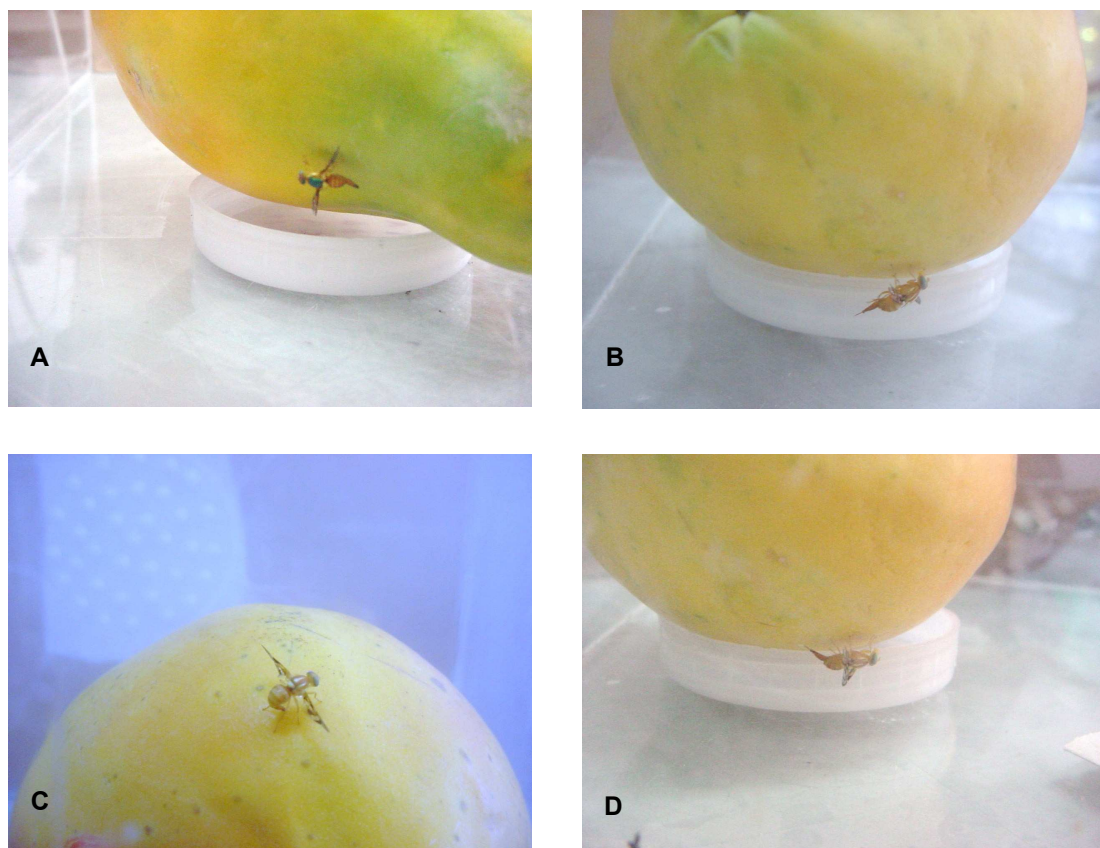


Figura 10 – Seqüência de eventos observados no comportamento de oviposição de *A. zenildae*: A- chegada, B- procura, C- punctura, D- arrasto.

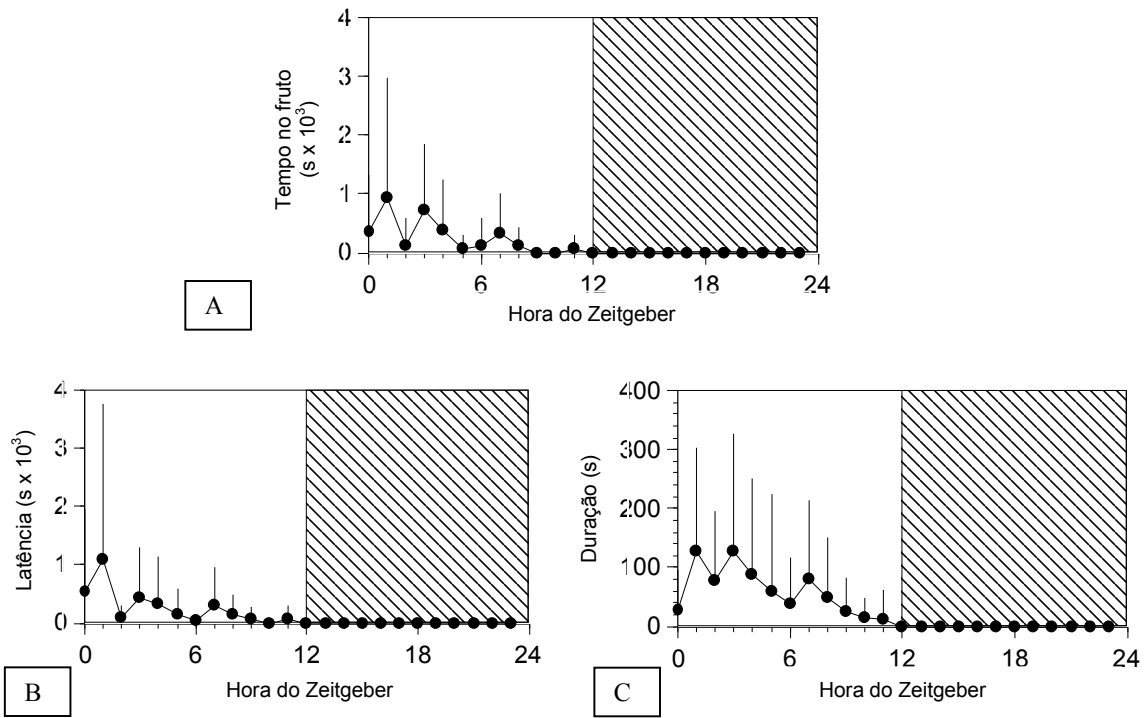


Figura 11- Distribuição horária (média \pm DP) do tempo no fruto (A) latência (B) e da duração (C) de episódios de oviposição de *A. zenildae* em ciclo claro: escuro 12:12.

DISCUSSÃO

Anastrepha zenildae vem sendo apontada em trabalhos de levantamentos de espécies no estado do Rio Grande do Norte como uma das espécies mais freqüentes. Durante muito tempo a goiaba (*Pisidium guajava* L.) foi o único hospedeiro conhecido desta espécie, até que foram encontrados altos índices de infestação em frutos de juá (*Ziziphus joazeiro*) (Araújo et al 1996; Canal et al 1998; Araújo et al 2000). Em coletas realizadas recentemente nos municípios de Mossoró e Assu, *A. zenildae* foi a espécie que infestou a maior diversidade de hospedeiros, sendo encontrada em frutos de seriguela (*Spondia purpurea*), castanhola (*Terminalia catappa*), goiaba (*P. guajava*), juá (*Z. joazeiro*), acerola (*Malpighia emarginata*), cajarana (*Spondias sp.*) e kunquant (*Fortunella sp.*), sendo as três últimas referidas pela primeira vez (Araújo et al 2005). Considerando que a flutuação e a densidade populacional das moscas-das-frutas estão relacionadas com a disponibilidade de seus hospedeiros, podemos deduzir que *A. zenildae* é uma espécie constante e predominante no estado, uma vez que a goiaba como seu hospedeiro primário se encontra disponível praticamente o ano inteiro, devido aos pomares irrigados e aos pomares domésticos muito comuns no estado, atingidos o status de espécie praga

O estudo dos padrões comportamentais exibidos pelas moscas-das-frutas do gênero *Anastrepha* (Aluja et al. 2000) vem sendo realizado com o objetivo de se

utilizar este conhecimento para o desenvolvimento de métodos mais eficazes de controle dessa praga. O perfil diário de atividade de uma espécie é caracterizado pelo horário em que cada comportamento é expresso. Em insetos adultos, esse perfil de atividade é influenciado pelas condições do ambiente, principalmente luz, temperatura e umidade relativa do ar, bem como disponibilidade de recursos. Portanto, as condições ecológicas podem influenciar a expressão de um comportamento particular. No perfil diário de atividade de indivíduos adultos, os movimentos realizados geralmente estão relacionados à forrageamento, procura por sítios de abrigo, descanso, sítios de oviposição e acasalamento (Aluja et al 2000, Sugayama e Malavasi 2000).

Neste estudo, observamos que *A. zenildae* realizou suas atividades ao longo da fase de claro com horários relativamente fixos, o que sugere a existência de um padrão circadiano no perfil de atividade destas moscas. Esse perfil diurno nas atividades também foi verificado em outras espécies do gênero (Prokopy 1976; Malavasi 1983).

O descanso foi o comportamento mais freqüente em ambos os sexos, com os machos descansando mais freqüentemente do que as fêmeas, com maior ocorrência na segunda metade da fase de claro. Resultados semelhantes foram observados para as espécies *A. grandis*, *A. obliqua* e *A. fraterculus*, nas quais este comportamento também foi mais freqüente ao longo do dia (Silva 1991). Aluja e Birke (1993) verificaram em *A. obliqua* em condições naturais, que o

comportamento de descanso variou significativamente com relação à hora do dia, com um pico ao meio dia tanto para machos como para fêmeas. Malavasi (1984) observou que a atividade de descanso ocorria preferencialmente na face inferior da folha, enquanto a alimentação ocorria no fruto maduro e a oviposição no fruto verde. Esse perfil também foi verificado para outros gêneros como *Rhagoletis* (Prokopy 1976) e *Ceratitis* (Prokopy e Hendricks 1979). Em *C. capitata* foi observado que a atividade de descanso difere entre os sexos, locais da planta hospedeira e também na preferência por hospedeiros. Em pomares com figo e maçã ambos os sexos descansam mais pela manhã do que em pomares com pitanga e goiaba, com as fêmeas preferindo fruto e os machos as folhas (Hendrichs et al 1990).

O comportamento de locomoção está diretamente relacionado ao deslocamento dos adultos. Esses movimentos são considerados não dispersivos e estão relacionados com a procura de recurso para forrageamento, sítios de oviposição e acasalamento. Em espécies do gênero *Anastrepha*, essa atividade ocorre principalmente durante o início da manhã e final da tarde (Aluja et al 2000). Neste estudo observamos que o comportamento de locomoção ocorreu com maior frequência no início da fotofase, com um pico duas horas após o acender das luzes e com variação significativa ao longo do tempo em ambos os sexos. Também foi observado que as fêmeas se locomoviam mais do que os machos.

A hipótese de que indivíduos adultos de uma população movimentam-se

ativamente dentro de uma área (mancha de recurso) ou pomar aproveitando os recursos disponíveis e permanecendo nessa área desde que os recursos permaneçam disponíveis, vem sendo confirmada (Averill e Prokopy 1993). Segundo Sugayama et al (1997), moscas adultas de *A. fraterculus* permanecem durante toda a fotofase em pomares de macieiras e ao anoitecer as moscas se deslocam para áreas de mata, o que foi atribuído a uma provável inadequação dessas plantas como sítios de refúgio. Vários estudos feitos com liberação e recaptura de indivíduos adultos demonstraram que moscas adultas podem deslocar-se por longas distâncias em curto intervalo de tempo, principalmente à procura de recursos em novas áreas (Bressan e Costa-Teles, 1991; Baker e Chan, 1991).

Estudos que enfatizam o comportamento alimentar de adultos em espécies do gênero *Anastrepha*, tem como finalidade o desenvolvimento de iscas tóxicas, uma vez que este comportamento está diretamente relacionado ao desenvolvimento de métodos eficientes de monitoramento pela utilização destas iscas.

Em *A. suspensa*, foi observado que o comportamento de alimentação ocorreu ao longo do dia, mas com uma concentração maior pela manhã; sendo que os machos alimentavam-se principalmente pela manhã (Burk, 1983; Lantold e Davis-Hernández, 1993). Em *A. obliqua*, em um estudo em ambiente natural, foi verificado que o comportamento alimentar de ambos os sexos apresenta um

padrão bimodal, com picos no início da manhã e no final da tarde, e que as fêmeas alimentam-se preferencialmente pela manhã (Aluja e Birke, 1993). No presente estudo foi observado que o comportamento alimentar de *A. zenildae* variou com relação à hora do dia. Nas fêmeas, a alimentação ocorreu principalmente na segunda metade da fotofase. Também foi observada diferença com relação ao sexo, uma vez que as fêmeas se alimentaram mais que os machos, o que provavelmente está relacionado ao fato das fêmeas precisarem de um suporte alimentar maior devido à produção de ovos (Zucoloto 2000).

O perfil de distribuição das atividades diárias dos tefritídeos nos diferentes habitats, plantas hospedeiras e não hospedeiras revelam que a expressão de determinados comportamentos obedecem a um padrão temporal intrinsecamente relacionado à distribuição de recursos no habitat e às condições do ambiente. Adultos de *Anastrepha* expressam seus comportamentos dentro de uma mancha de recurso que pode ser constituída por uma planta hospedeira ou um pomar (Aluja et al 2000). Em nosso estudo, apesar de realizado em gaiolas e laboratório, pode-se observar que a expressão dos comportamentos de *A. zenildae* ocorreu em horários relativamente fixos com picos característicos. Nenhuma atividade foi observada ocorrendo na escotofase.

Caracterizar o perfil de atividade diária de uma espécie considerada de interesse econômico pode ser uma alternativa bastante viável quando se pensa em empregar esses resultados para detecção, monitoramento e controle dessa espécie.

Uma vez que o conhecimento do horário preferencial em que essas atividades ocorrem dentro de um pomar ou área possibilitará a utilização de armadilhas com iscas alimentares ou feromônio, colocadas no intervalo de tempo correspondente ao de maior atividade de alimentação ou de locomoção desses insetos.

O comportamento sexual de *A. zenildae* compreende duas fases distintas: a corte (comportamento de chamada- correspondendo à vibração das asas e liberação de feromônio) e a cópula. Durante o comportamento de chamada, os machos são atraídos por sinais sexuais de outros machos, formando-se um agrupamento de machos que apresentam esses sinais simultaneamente, além de episódios de agressão que sugerem a disputa por território, o que indica a existência da formação de *lek* também para esta espécie. Conforme definição de Aluja e Birke (1993), a agregação de pelo menos três machos exibindo comportamento de chamada simultaneamente em uma área claramente definida pode ser considerada *lek*. Essa estratégia ocorre em várias espécies do gênero *Anastrepha*.

A formação de *lek* como uma estratégia para aquisição de parceiro pode conferir benefício para aos machos em função do aumento na probabilidade de acasalamento que estes podem obter, sobretudo quando comparados com aqueles que tentaram copular sem formação de *lek*. No entanto, também confere custos para aqueles machos que não conseguem acasalar, uma vez que tanto o sucesso reprodutivo como a sobrevivência diminuem com a idade.

O comportamento agressivo observado em *A. zenildae* ocorria com o macho na posição central do agrupamento que por ocasião da proximidade de outro macho, movia cada asa alternadamente do plano horizontal para o vertical, o que às vezes era deguido pela partida do intruso. Quando isso não ocorria, os dois se aproximavam tocando suas cabeças, sendo um deles forçado a deixar o local. Essas interações agonistas sugerem a defesa de território e podem ser devidas à pressão de seleção que dirige a competição de machos no *lek*, uma vez que a preferência da fêmea se dá por machos que estão em grupo. Estudos realizados com outras espécies do mesmo gênero (*A. suspensa*: Dodson 1982, Burk 1983, *A. frateterculus* e *A. obliqua*: Malavasi 1984), demonstraram que a disputa de território envolve quase sempre a folha, que é o local de acasalamento na natureza, sendo esta estratégia característica de espécies polífagas e multivoltinas e de regiões tropicais.

A disputa de território também pode envolver o fruto, onde o macho estabelece território esperando que a fêmea venha ovipositar, quando então ele força a cópula. Este mecanismo, habitual em espécies monófagas, univoltinas e de clima temperado, é observado em espécies do gênero *Rhagoletis* (Prokopy, 1980). No gênero *Anastrepha* esta estratégia foi observada apenas em *A. bistrigata* (Selivon, 1991).

O horário em que ocorreu o comportamento sexual de *A. zenildae* diferiu de outras espécies do gênero, com início duas horas após o acender das luzes,

estendendo-se até 8 horas depois. A frequência mais elevada ocorreu as 0600 HZ o que também se mostrou diferente das espécies do seu grupo intragenérico, o grupo “*fraterculus*”. Malavasi (1984) verificou em condições seminaturais, que o horário do comportamento de chamada (corte) e cópula difere entre machos de *A. fraterculus* e *A. obliqua*. Os machos de *A. fraterculus* reúnem-se em *lek* durante o início da manhã (0700 a 1100 h) e os de *A. obliqua* no início da tarde, com picos mais pronunciados no final da tarde e início da noite (1300 e 1900 h). O autor sugeriu que essa diferença no horário do comportamento sexual pode reduzir a probabilidade de cópulas interespecíficas na natureza. Estudos posteriores demonstraram diferenças no horário do comportamento sexual de *A. obliqua* entre populações de diferentes regiões geográficas. Aluja e Birke (1993) observaram no México um padrão bimodal nesses comportamentos, ocorrendo uma frequência maior pela manhã, com pico entre 0700 e 1000, e com menor frequência à tarde. No Brasil, a atividade sexual de *A. obliqua* está concentrada à tarde, pois tanto a corte quanto a cópula ocorrem com pico entre 1530 e 1630 h (Henning e Matioli 2006). Em *A. ludens*, *A. suspensa* e *A. sororcula* foram observados picos bem pronunciados no final da tarde entre 1500 e 1700 h, 1400 e 1700 h e 1600 e 1900 h respectivamente (Burk 1983, Dodson 1982, Aluja et al 2000, Uchôa-Fernandes et al 2006).

Dentro do gênero *Anastrepha* é comum a existência de espécies com distribuição geográfica sobreposta utilizando o mesmo fruto hospedeiro (Zucchi,

1988). No entanto, foi observado que essas espécies não acasalam entre si, o que indica que provavelmente existe uma barreira separando-as. Estudos realizados acerca do comportamento reprodutivo dessas espécies revelaram que elas apresentam padrão de comportamento sexual semelhante, embora exiba comportamentos de corte e cópula em horários diferentes do dia com padrão temporal espécie-específica, o que reforça a idéia da existência de processos de especiação alocrônica (Malavasi et al. 1983; Morgante et al. 1993; Selivon e Morgante 1997; Aluja et al. 2000; Henning e Matioli 2006). Essa variação temporal no acasalamento tem conseqüências ecológicas importantes, podendo causar isolamento reprodutivo entre populações que vivem em simpatria e que podem utilizar o mesmo hospedeiro, como é o caso de *A. zenildae*, *A. sorocula*, *A. obliqua*, e *A. fraterculus* encontradas em frutos de goiaba (Araújo e Zucchi, 2003; Araújo et al. 2005). Portanto, a diferença temporal seria o mecanismo de isolamento pré-zigótico utilizado para evitar hibridação (Miyatake e Shimizu 1999; Miyatake et al 2002).

Durante a corte dos machos de *A. zenildae* que adotaram a estratégia de *lek* observamos duas táticas: 1) tentativas de cópula dentro do *lek*, com 88,4% dessas tentativas tendo ocorrido entre 0300 e 0700 HZ; 2) tentativas de cópula fora do *lek*, com um pico as 0700 HZ. Nessas tentativas, machos expulsos do *lek* ou que não participavam do chamamento, quando se encontravam com a fêmea, pulavam sobre ela e tentavam montar. Em *A. striata* foi observado que a corte inclui repetidas tentativas de monta dos machos (Aluja et al 1993). A persistência do

macho pode ser uma qualidade solicitada para a escolha da fêmea (Thornhill e Alcock 1994), o que não ocorreu em *A. zenildae*, visto que raramente as fêmeas copulavam com machos que estavam fora do *lek*. Assim o *lek* seria uma qualidade exigida pela fêmea para melhor avaliar o resultado das disputas entre os machos.

Dentro do comportamento sexual de *Anastrepha* foram observadas algumas variações de táticas. Burk (1983) observou que machos de *A. suspensa* excluídos do *lek* utilizam a tática de copular no fruto. Sivinski (1989) e Robacker (1991) observaram machos isolados de *A. suspensa* e *A. ludens* sinalizando e conseguindo copular fora do *lek* e sugeriram que machos isolados ou menos competitivos provavelmente estariam empenhados em uma tática alternativa para acasalar.

A seleção sexual tem um importante papel na evolução de espécies com sistema de acasalamento em *lek*. Em *Anastrepha*, a seleção sexual através da escolha da fêmea pode ocorrer também através de características morfológicas. Burk e Webb (1983) observaram em laboratório que 70% das fêmeas de *A. suspensa* escolhem machos maiores para copular. Em *C. capitata*, estudos demonstraram também que o tamanho do macho está relacionado com sucesso no acasalamento (Orozco e López 1993). Um estudo relacionando as características morfológicas ao comportamento de acasalamento em *A. zenildae* observou que machos com tórax e asas maiores e com maior grau de simetria no número de cerdas da placa frontal foram os que apresentaram maior sucesso de cópula e supôs que tamanho maior esteja relacionado à melhor capacidade competitiva (Almeida et al 2007). Em *A. fraterculus* foi observado também que o comprimento

da asa e do tórax é prováveis alvos da seleção sexual (Sciurano et al 2007).

De acordo com Aluja (2000), a duração média de cópula é bastante variável, compreendendo desde um tempo médio de $24,3 \pm 1,5$ minutos para *A. bistrigata* até 350 ± 60 minutos para *A. hamata*. A duração da cópula em *A. zenildae* neste estudo variou de 5,0 a 163,0 minutos ($58,1 \pm 40,4$ min média \pm DP). De acordo com Sivinski et al (2000), o longo tempo de cópula pode estar associado à quantidade de esperma transferido para a fêmea que, em espécies consideradas filogeneticamente próximas, seria um modo de evitar a competição intra-específica por parceiras já inseminadas ou uma proteção contra predadores (Sivinski 1981).

Neste estudo, verificou-se também que as etapas da cópula ocorreram de forma similar a de outras espécies já estudadas (Malavasi et al 1983, Silva 1991, Selivon e Morgante 1997, Aluja et al 2000) nas quais a fêmea vai onde está o macho com aproximação frontal, mas somente após o toque de partes do aparelho bucal é que o macho tenta montar. Entretanto, observações mais detalhadas necessitam ser feitas para que se tenha uma melhor compreensão dos mecanismos que determinam a escolha da fêmea ou de quais são os prováveis sinais de aceitação da fêmea para copular. O comportamento de corte e cópula de *A. zenidae* diferiu das outras espécies com relação ao horário em que ocorre. Durante as observações estes horários se mostraram relativamente fixos, com maior número de cópulas ocorrendo de seis a sete horas após o acender das luzes, o que corresponde 1300 a 1400 horas ou segunda metade da fase de claro. Essas

diferenças nos horários de acasalamento em *Anastrepha* provavelmente se devem a eventos fisiológicos e comportamentais que obedecem a padrões temporais da espécie, demonstrados pela expressão desses comportamentos em horários distintos. Este seria um dos principais fatores responsáveis pela manutenção do isolamento reprodutivo entre essas espécies.

Segundo Saunders (1982), muitos insetos limitam suas atividades a certos momentos do dia ou da noite. Respondendo a um ritmo circadiano endógeno que determina os horários em que ocorrerão essas atividades que, embora controladas por fatores endógenos, são continuamente afetadas pelos efeitos diretos dos fatores ambientais cíclicos como temperatura, umidade relativa do ar e luminosidade.

Estudos que tenham por objetivo compreender o comportamento reprodutivo, as estratégias utilizadas por machos para obter acasalamento, bem como pelas fêmeas para escolher determinado macho durante a corte e a cópula, assim como os mecanismos que são responsáveis pela diferença com relação ao horário de cópula entre espécies morfológicamente semelhantes que vivem em área comum e utilizando o mesmo fruto, podem ser de grande importância para o desenvolvimento da pesquisa aplicada. Esses estudos podem servir de parâmetros para programas de controle e erradicação de espécies consideradas de interesse econômico por causar grandes danos à agricultura. Uma das técnicas de grande impacto proposta é a técnica do macho estéril, que tem o objetivo de reduzir ou extinguir populações de insetos pragas, por meio da redução do potencial reprodutivo de fêmeas selvagens pela utilização de machos estéreis criados em

massa sendo liberados para competir com machos selvagens (Walder 2000). Para o bom desempenho desta técnica, se fazem necessários estudos que analisem principalmente a biologia e o comportamento sexual de moscas selvagens e criadas em massa, principalmente os fatores que determinam a escolha do parceiro, verificando a compatibilidade entre machos selvagens e de criação em massa, bem como o horário em que o comportamento sexual ocorre no ambiente natural, garantido assim que de fato ocorrerá uma maior competição entre machos estéreis e selvagens pelas fêmeas, que uma vez tendo acasalado estão aptas a ovipositar.

O comportamento de oviposição pode ser considerado como um dos mais críticos, se considerarmos que dele depende a aptidão inclusiva do indivíduo. A fêmea de insetos frugívoros seleciona o substrato de oviposição por meio de mecanismos químicos e visuais, fazendo uma avaliação do hospedeiro disponível. Esta é uma das etapas mais importantes para garantir a sobrevivência da prole, uma vez que o fruto hospedeiro influencia o desenvolvimento dos estágios imaturos e também a sobrevivência e fecundidade dos adultos.

No gênero *Anastrepha* a oviposição é considerada estereotipada por ser constituída de várias etapas que se apresentam de forma igual e seqüenciada nas várias espécies. Neste estudo observou-se que *A. zenildae* realizou todas as etapas na forma previamente descrita para o comportamento, sendo algumas dessas etapas repetidas muitas vezes. Em algumas ocasiões, a fêmea permanecia no fruto por muito tempo sem realizar a procura ou a oviposição. Nessas ocasiões, ela

simplesmente permanecia parada ou ovipositava logo que chegava ao fruto, sem realizar a procura. Talvez as condições de gaiola em laboratório tenham levado a fêmea a colocar seus ovos sem a etapa de procura.

Diferentemente do descrito para outras espécies, a ocorrência de repetidas limpezas durante os episódios de oviposição seria decorrente do substrato utilizado, pois a grande quantidade de látex do mamão não maduro poderia causar a obstrução do oviduto. Quando se utilizava mamão maduro, praticamente não ocorria oviposição, o que provavelmente ocorreu devido ao grau de maturidade do fruto, refletindo a qualidade do hospedeiro ou pelo fato de ser o mamão um hospedeiro secundário. Esses fatores podem influenciar bastante a inserção do acúleo (Barros 1986; Sugayama et al 1997) e provavelmente a sobrevivência da prole.

Muitos estudos mostram evidências de correlação positiva entre a escolha de um hospedeiro e o desempenho da prole (Kouri 1993; Joaquim - Bravo e Zucoloto 1997; Joaquim-Bravo et al 2001). Apesar de ser uma espécie polífaga, no ambiente natural *A. zenildae* infesta preferencialmente frutos de *Z. joazeiro* (juá) e *P. guajava* (goiaba). De acordo com Fitt (1986), insetos fitófagos em geral infestam outras plantas quando seu hospedeiro primário ou preferencial não está disponível, o que é comum em espécies multivoltinas polífagas que podem dispor de uma grande variedade de hospedeiros durante o ano inteiro, sendo esta uma vantagem adaptativa. Podemos atribuir este fator a *A. zenildae*, pois os frutos do juá, uma espécie extremamente sazonal, não estão disponíveis o ano inteiro.

O comportamento de arrasto, que corresponde à deposição de feromônio marcador de hospedeiro, também foi observado em *A. zenildae*. Este foi caracteristicamente realizado logo após a introdução do acúleo (com provável deposição dos ovos), contornando círculos e intercalado com a limpeza. Esta etapa já foi descrita para várias espécies do gênero (Prokopy et al 1982; Selivon, 1991; Aluja et al 1998b). De acordo com Aluja et al (2000), o arrasto pode ser considerado uma forma de avaliar se a punctura foi realmente uma oviposição; estando o mesmo relacionado à liberação do feromônio marcador de hospedeiro que sinaliza para outras fêmeas que já houve uma postura.

A percepção por parte da fêmea do uso prévio do substrato de oviposição por co-específica é um dos fatores diretamente relacionados com a qualidade do hospedeiro para a oviposição e sobrevivência da larva, a qual depende dos recursos nutritivos do hospedeiro selecionado pela fêmea. É comum encontrar indivíduos de várias espécies do gênero *Anastrepha* e também de outro gênero infestando o mesmo fruto hospedeiro, o que torna a competição um fator decisivo para a sobrevivência da larva (Aluja et al 2000)

O comportamento agressivo durante a oviposição observado em *A. zenildae* geralmente resultava na partida da intrusa, com a fêmea residente ficando no fruto, comportamento também observado em fêmeas de *A. ludens* Diaz-Fleischer e Aluja (2003b). No entanto, estes autores sugeriram que a experiência prévia de oviposição foi um dos fatores que mais influenciou a oviposição e o tamanho da postura e não a presença ou ausência de co-específica. Em outros tefritídeos como

C. capitata e *B. tryoni* foi observado que fêmeas agrupadas tendem a ovipositar mais do que quando sozinhas; fenômeno conhecido como facilitador social (Prokopy et al 2000). Nesse caso, o encontro com co-específicas serve como indicador de alta qualidade e quantidade do recurso no ambiente (Giraldeau e Beuchamp 1999), o que se aplica a espécie *C. capitata* que reutiliza o furo feito pelo acúleo de outra co-específica para depositar seus ovos. Isto não foi observado neste estudo.

A oviposição de *A. zenilidae* ocorreu durante a fotofase, com pico de atividade duas a cinco horas após o lacerar das luzes, Esta diurnidade também foi identificada em outras espécies do gênero, entretanto em horários diferentes. Em *A. ludens* a oviposição ocorre entre 1000 e 1400 h, em *A. obliqua* às 0700 h e em *A. serpentina* às 1200 h. *A. striata* apresenta um pico entre 1200 e 1300 h, enquanto que em *A. fraterculus* o pico ocorre no final da tarde, entre 1600 e 1700 h (Birke 1995; Aluja e Birke 1993; Aluja 1993; Aluja et al 2000). Essa variação no padrão temporal tem um papel relevante nas espécies simpátricas, uma vez que pode diminuir a competição por recursos, proporcionando uma melhor sobrevivência da larva, principalmente em espécies que utilizam o mesmo fruto hospedeiro. Além disso, as espécies que utilizam o início da manhã ou o final da tarde evitam expor os ovos a altas temperaturas.

O tamanho da postura em *A. zenilidae* variou de um a cinco ovos. Comparações feitas com relação ao comportamento de oviposição e o tamanho da postura de outras espécies de *Anastrepha* mostraram variação de 1 até mais de 100

ovos, o que pode estar relacionado com a densidade de hospedeiros e fêmeas no ambiente, aos parâmetros físico-químicos do hospedeiro e principalmente ao tamanho do hospedeiro (Berrigan et al 1988). Parte das moscas-das-frutas utiliza frutos hospedeiros pequenos com peso que varia de 3 a 30 g (Lopez et al 1999). O desenvolvimento de posturas com grande quantidade de ovos provavelmente está relacionado ao surgimento de frutos grandes cultivados em grandes pomares decorrentes da fruticultura irrigada. Em laboratório, foi observado que as fêmeas modulam o número de ovos depositados e a duração da punctura em função da qualidade do substrato (Berrigan 1988; Dávila, 1995; Sugayama e Malavasi 1996).

A oviposição em *A. zenilidae* variou de 1 a 40 vezes ($8,0 \pm 8,2$ episódios/fêmea N=96), com um mínimo de 1 e máximo de 40, o que pode significar uma grande perda de frutos em um pomar, uma vez que uma mesma fêmea pode ovipositar várias vezes. Portanto, a população de moscas não precisa ser essencialmente grande para causar danos aos frutos. Além disso, quando a fêmea faz um furo no fruto, ocorre liberação de odores que podem servir de estímulo para outras ovipositarem (Dukas et al 2001). No entanto, Diaz-Fleischer et al (2000) afirmam que espécies generalistas, como é o caso de *A. zenilidae*, podem responder menos a compostos químicos do que as especialistas. Quanto à duração, os valores registrados ($43,7 \pm 34,8$), são próximos aos obtidos por Sugayama e Malavasi (2000) para *A. fraterculus* (39 s), espécie do grupo intragenérico do qual *A. zenilidae* faz parte.

Barros (1986) propôs distinguir a oviposição da punctura, considerando

como oviposição os episódios com duração maior do que 7 s e presença de ovos e como punctura a duração menor que 7 s e a não presença de ovos. Outros estudos demonstraram uma relação positiva entre o comportamento de arrasto e a presença de ovos (Papaj 1990; Silva 1991). Silva (1991) observou que *A. grandis* apresenta uma alta proporção de puncturas que não resultam em oviposição e sugeriu que as fêmeas de *A. grandis* provavelmente seriam mais criteriosas na seleção de hospedeiro, o que explica a manutenção da oligofagia. No nosso estudo, o tempo de permanência de *A. zenilidae* no fruto foi de $2460,6 \pm 1859,3$ segundos.

Fatores como a preferência por hospedeiro primário influenciam a oviposição. Barros (1986) observou em *A. fraterculus* que a probabilidade da fêmea ovipositar em frutos de goiaba era de 70%; se o fruto era secundário, como no caso maçãs, essa probabilidade caía para 51% (Sugayama et al 1997

Dados sobre horário de chegada, tempo de permanência no fruto e duração da oviposição são relevantes quando se pensa em utilizar estratégias de controle populacional. Com reflexos nos custos de produção e na redução dos riscos de contaminação do ambiente. Começando pelo controle químico, a aplicação realizada nos horários de maior permanência das fêmeas no fruto contribuiria para a redução do uso indiscriminado de inseticidas. No caso do controle biológico pela soltura de parasitóides da família Braconidae que parasitam ovos, larvas e pupas das moscas-das-frutas, o conhecimento do horário das atividades relacionadas à oviposição possibilitaria uma maior eficiência no encontro do parasita com o predador. Estudos que enfoque o conhecimento dos aspectos comportamentais

associados tanto a biologia básica como a ecologia da região podem auxiliar no desenvolvimento de técnicas de manejo. No entanto, poucos trabalhos sobre comportamento são conduzidos no Brasil. Os resultados encontrados neste estudo são pioneiros para essa espécie. Informações sobre o perfil de atividade diária de *A. zenildae*, bem como as estratégias reprodutivas observadas neste estudo são informações fundamentais para tomada de decisão sobre o momento mais adequado para se iniciar ações de controle integrado.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que:

Anastrepha zenildae é uma espécie diurna, uma vez que as atividades estão restritas a fase de claro.

A distribuição dos comportamentos em horários relativamente fixos ao longo dessa fase indica a presença de uma organização temporal diária nos comportamentos estudados, apresentando, portanto, especiação alocrônica, diferindo das demais espécies simpátricas do gênero quanto aos horários de acasalamento e oviposição.

A estratégia de acasalamento predominante em *A. zenildae* é a formação de *lek*, com a escolha do parceiro de acasalamento feita pela fêmea.

Nessa estratégia, os machos adotaram as táticas de tentar copular dentro ou fora do *lek*, sendo a primeira mais freqüente.

O comportamento de oviposição foi composto das etapas de chegada, procura, tentativa e oviposição, arrasto e limpeza do ovipositor, ocorrendo mais freqüentemente na primeira metade da fase de claro.

REFERÊNCIAS

- Aluja, M. J. M., Hendrichs, M. J. & Cabrera, M. (1983). Behavior and interactions between *Anastrepha ludens* (Loew) and *A. obliqua* (Macquart) on field cage mango tree I. Leking behavior and male territoriality. In (R. Carvalloro, ed.), *Fruit Flies of Economic Importance* (pp. 122-133). Rotterdam: A.A. Balkema.
- Aluja, M., Cabrera, M.; Guillén, J. & Celedonio, H. (1989). Behavior of *Anastrepha ludens*, *A. obliqua* and *A. serpentina* (Diptera: Tephritidae) on a wild mango tree (*Mangifera indica*) harbouring three McPhail traps. *Insects Sci. Appl.* 10, 309-318.
- Aluja, M. & Birke, A. (1993). Habitat use by *Anastrepha obliqua* flies (Diptera: Tephritidae) in a mixed mango and tropical plum orchard. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 86, 799-812.
- Aluja, M., Jacome, I.; Birke, A.; Lozada, N. & Qintero, G. (1993). Basic patterns of Behavior in wild *Anastrepha striata* (Diptera: Tephritidae) flies under field cage conditions. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 86, 776-793.
- Aluja, M. (1994). Bionomics and management of *Anastrepha*. *Ann. Rev. Entomol.* 39:155-178.
- Aluja, M. F. Diaz-Fleischer, A. J. F. Edmunds, and L. Hagmann. (1998b). Isolation, structural determination, synthesis, biological activity and application as pest management agent of the host marking pheromone (and derivatives

- thereof) of fruit flies (Diptera: Tephritidae) in the *Anastrepha*. Invention and Use Patent. Instituto mexicano de la Propriedad Industrial (IMPI). Registrtion nº 988732. México City.
- Aluja, M., Pinero, J., Jácome, I., Diaz-Fleischer, F. & Sivinsk, J. (2000). Behaviour of Flies in the Genus *Anastrepha* (Trypetinae:Toxotrypanini). In: Martin Aluja & Allenl. Norbom (eds). *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior* (pp. 375-406). Boca Raton, Flórida: CRC Press.
- Almeida, L.M, Duarte-Mendes, N. H., Souza, J.M.G.A. e Gouveia, M.B. (2007) Variação fenotípica e seleção sexual em *Anastrepha zenildae* Zucchi (Diptera: Tephritidae). In: *XXV Encontro Anual de Etologia Resumos* (Ed. Por Sociedade Brasileira de Etologia) (p.46) São José do Rio Preto: Editora UNESP.
- An, X. Wilkes, K. Bastian, Y. Morrow. J. L. Frommer, M. (2002). The periodic gene in two species of tephritid fruit fly differentiated by mating behavior. *Insect Mol. Biol.* II: 419-430.
- An, X. Tebo, M. Song, S. Frommer, M and Raphael, K. A. (2004). The cryptochrome (*cry*) Gene and a Mating Isolation Mechanism in tephritid Fruit flies. *Genetics* 168:2025-2036.
- Araújo, L. E., Zucchi, R. A. & Canal, N. A. (1996). Caracterização e ocorrência de *Anastrepha zenildae* Zucchi (Díptera: Tephritidae) e seus parasitóides (Hymenoptera: Braconidae) numa nova planta hospedeira, no Rio Grande do Norte. *An. Soc. Entomol. Brasil* 25, 147-150.

- Araújo, L. E., Maia Lima F. A. & Zucchi, R. A. (2000). Moscas-das-frutas nos estados brasileiros. In Malavasi, A. & Zucchi, R. A. (eds.), *Moscas-das-Frutas de Importância Econômica no Brasil Conhecimento Prático e Aplicado* (pp. 223-226). Ribeirão Preto São Paulo. Holos.
- Araújo, E. L, M.K.M. Medeiros, V.E. Silva, & R.A Zucchi. (2005). Moscas-das-frutas (Díptera: Tephritidae) no Semi-Árido do Rio Grande do Norte: Plantas hospedeiras e índices de infestação. *Neotrop. Entomol.* 34, 889-894.
- Araújo, E. L & R.A Zucchi. (2003). Moscas-das-frutas (Díptera: Tephritidae) em goiaba (*Psidium guajava* L.), em Mossoró/Assu, RN. *Arq. Inst. Biol.* 70, 73-77.
- Averill, A.L. & Prokopy, R.J.(1993). Foraging of *Rhagoletis pomonella* flies in relation to interactive food and fruit resources. *Entomol. Exp. Appl.* 66, 179-185.
- Azevedo, F. R.; Sobrinho, R. B. e Ometo, A.C.F (2005). *Estratégias para o estabelecimento e manutenção de áreas livres de baixa prevalência de moscas-das-frutas*. Circular Técnica 22.
- Baker, P. S. & Chan, A. S. T. (1991a). Quantification of tephriti fruit fly dispersal. Guidelines for a sterile release programme. *J. Appl. Entomolo.* 112, 410-421.
- Barros, M.D. (1986). Estudo da estratégia de oviposição de três espécies de Tefritídeos (Díptera: Tephritidae) no estado de São Paulo. M.Sc. thesis, Universidade de São Paulo, Brazil, 134 pp.
- Bateman, M. A. (1972). The ecology of fruit flues. *Ann. Ver. Entomology.* 17, 493-518.

- Bateman, M. A. (1976). Fruit flies. In *Studies in biological control* De Luchi, S. (ed) pp. 11-49. Cambridge University press.
- Batschelet, E. (1981). *Circular Statistic in Biology*. London, Academic, Press. 371p.
- Berrigan, D.A., Carey, J.R., Guillen, J. & Celedonio, H. (1988). Age and host effects on clutch size in Mexican fruit fly *Anastrepha ludens*. *Entomol. Exp. Appl.* 47, 73-80.
- Birke. A. (1995) Comportamiento de oviposición de La mosca mexicana de La fruta *Anastrepha ludens* (Loew) y uso de ácido giberelico para disminuir La susceptibilidad de toronja citrus paradisi al ataque de esta plaga. B.Sc. thesis, Universidade Veracruzana, Veracruz, México, 84 p.
- Bressan, S. & Costa-Teles, M. da (1991). Recaptura de adultos marcados de *Anastrepha* spp. (Díptera: Tephritidae) liberados em apenas um ponto do pomar. *Rev. Bras. Entomol.* 35, 679-684.
- Bradbury, J. W., & Gibson, R. M. (1981). Leks and mate choice. In Bateson, P. (ed.) *Sexual Behaviour in Animals Congresses Mate Choice* (pp. 109-137). Cambridge University Press.
- Burk, T. (1983). Behavioral ecology of mating in the Caribbean fruit flies, *Anastrepha suspensa* (Loew) (Díptera: Tephritidae). *Fla. Ent.* 66, 330-344.
- Burk, T. & Webb, J.C. (1983). Effect of male size on calling propensity, song parameters, and matingsuccess in Caribbean fruit flies, *Anastrepha suspensa* (Loew) (Díptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 76, 678-682.

- Canal, D. N. A., Alvarenga, C. D. e Zucchi, R. A. (1998). Níveis de infestação de goiaba por *Anastrepha zenildae* Zucchi (Díptera: Tephritidae), em pomares comerciais do Norte de Minas Gerais. *An. Soc. Entomol. Brasil* 27, 657-661.
- Cruz da, I. B. M., Nascimento, J.C., Taufer, M e Oliveira, A.K (2000). Morfologia do aparelho reprodutor e biologia do desenvolvimento. In Malavasi, A.& Zucchi, R. A. (eds.), *Moscas-das-Frutas de Importância Econômica no Brasil Conhecimento Prático e Aplicado* (pp. 55-66). Ribeirão Preto São Paulo. Holos.
- Carvalho, R. S. Metodologia para monitoramento populacional de moscas-das-frutas em pomares comerciais. Empraba Mandioca e Fruticultura Tropical, 2007. P.17 (EMPRABA-CNPMP), (Comunicado técnico nº 75).
- Davila, A. (1995). Estudio de algunos parámetros demográficos de la mosca Mexicana de la fruta (*Anastrepha ludens* (Loew) y su relacion con diferentes dietas. B.Sc. thesis, Universidade Veracruzana, Veracruz, México, 65 pp.
- Diaz-Fleischer, F. & Aluja, M. (2003a). Behavioural plasticity in relation to egg and time limitation: the case of two fly species in genus *Anastrepha* (Díptera: Tephritidae). *Oikos* 100, 125-133.
- Diaz-Fleischer, F & Aluja, M. (2003b). Influence of conspecific presence, experience, and host quality on oviposition behavior and clutch size determination in *Anastrepha ludens* (Díptera: Tephritidae). *Journal of Insect Behavior* 16, 537-554.
- Diaz-Fleischer, F., Papaj, D.R., Prokopy, R. J., Norrbom, A. L. e Aluja, M. (2000). Evolution of fruit fly oviposition behavior, In Aluja, M. e Norrbom, A.L (Eds.),

- Fruit Flies (Diptera: Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior*, CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 811-841.
- Drew, R. A. I. e Yuval, B. (2000) The evolution of fruit fly feeding behavior. In: Martin Aluja & Allenl. Norbom (eds). *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior* (pp. 731-749). Boca Raton, Flórida: CRC Press.
- Dodson, G. (1982). Mating and territoriality in wild *Anastrepha suspensa*, (Diptera: Tephritidae) in field cages. *J. Ga. Entomol. Soc.* 17, 189-200.
- Dukas, R., Prokopy, R.J., Papaj, D.R. e Duan, J.J.(2001). Egg laying behavior of Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae): is social facilitation important? *Fla.Entomol.* 84, 665-671.
- Emlen, S. T. & Oring, W. L. (1977). Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems. *Science*, 197, 215-213.
- Fitt, G. P. (1986). The influence of a shortage of host on the specificity of oviposition behavior in species of *Dacus* (Díptera: Tephritidae). *Physiol. Entomol.* 11, 133-143.
- Fletcher, B. S. (1989). Life history strategies of tephritidae fruit flies. In Robinson, A. S. & G. Hooper (eds.), *Fruit flies, their biology, natural enemies and control. World Crop Pest*, (pp. 289). Amsterdam, Elsevier.
- Giraldeau, L.A., & Beuchamp, G. (1999). Food exploitation: Searching for the optimal joining policy. *Trends Ecol. Evol.* 14, 102-196.
- Grima, B, Chelot, E. Xia, R. e Rouyer F (2004). Morning and evening peaks of activity rely on diferent clock neurons of the *Drosophila* brain. *Nature.* 431,

869-873.

- Glossop, N.R.J, e Hardin, P.E (2002) Central and peripheral circadian oscillator mechanisms in flies and mammals. *Journal off Cell Science*. 115, 3369-3377.
- Hendrichs, J. & Hendrichs, M.A. (1990). Medierranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in nature: location and diel pattern of feeding and other activities on fruiting nonfruiting host and nonhost. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 83, 632-641.
- Hendrichs, J, Cooley , S. e Prokopy R.J (1992). Post-feeding bubbling behavior in fluid feeding Dipter: concentration of crop contents by oral evaporation of excess water. *Physiol. Entomol.* 17, 153-161.
- Hendrichs, J e Prokopy, R. J. (1994). Food foraging behavior of frugivorous fruit flies. In C.O Calkins, W.Klassen, e P. Liedo (eds). *Fruit Flies and the Sterile Insect Technique* (pp. 37-55), CRC Press, Boca Raton.
- Headrick, D. H. & Goeden, R. D. (1994). Reproductive behavior of California fruit flies and the classification and evolution of Tephritidae (Diptera) mating systemas. *Stud. Dipterol* 1, 194-252.
- Henning, F. and S.R. Matioli. (2006). Mating time of the West fruit fly *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions. *Neotrop. Entomol* 35,145-148.
- Helfrich-Forster, C. Stengl, M. & Homberg, U. (1998). Organization of circadian system in insects. *Chronobiology international* 15, 567-594.
- Helfrich-Forster, C.; Tauber, M.; Park, J.H., Muhlig-Versen, M., Schneuwly, S., & Hofbauer, A. (2000). Ectopic expression of the neuropeptide pigment-

- dispersing factor alters behavioral rhythms In *Drosophila melanogaster*. *J. Neurosci.* 20, 3339-3553.
- Helfrich-Forster, C. (2003) The neuroarchitecture of the circadian clock in the *Drosophila* brain. *Microsc Res Tech* 62, 94-102.
- Helfrich-Forster, C. (2004). The circadian clock in the brain: a structural and functional comparison between mammals and insects. *J. comp Physiol A* 190, 601-613.
- Homberg, U.; Wurden, S.; Dircksen, H.; Rao, K.H. (1991). Comparative anatomy of pigment-dispersing hormone-immunoreactive neurons in the brain of orthopteroid insects. *Cell Tissue Res* 266,343-357.
- Homberg, U, Reisching T, Stengl M (2003) Neural organization of the circadian system of the cockroach *Leucophaea maderae*. *Chronobiol Int* 20:577-591.
- IBRAF, 2007. Receita mundial com exportação de frutas cresce. Encontrado em 21 de Novembro de2007, [www: ibraf.org.br](http://www.ibraf.org.br).
- Marinho, M. (2007) Frente parlamentar da fruticultra. Encontrado em 04 de Julho de 2007, www.ibraf.org.br.
- Joaquim-Bravo, I S. & Zucoloto, F. S. (1997). Oviposition preference in *Ceratitidis capitata* (Díptera: Tephritidae): influence of rearing diet. *Iheringia* 82, 133-140.
- Joaquim-Bravo, I S.; Fernandes, O. A. Bertolis, A. & Zucoloto, F. S. (2001). Oviposition behavior of *Ceratitidis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae): Association between oviposition preference and performance in individual

- females. *Neotropical Entomology* 30: 559-564.
- Kouki, J. (1993). Female's preference for oviposition site and larval performance in the water-lily beetle, *Galerucella nymphaeae* (Coleoptera:Chrysomelidae). *Oecologia* 93, 42-47.
- Landolt, J. e Sivinski, J. (1992). Effects of time of day, adult food, and host fruit on incidence of calling by male caribbean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Environ. Entomol.* 21, 382-387.
- Lantold, J. & Davis-Hernández, K.M. (1993). Temporal patterns of feeding by Caibbean fruit flies (Diptera: Tephritidae) on sucrose and hydrolyzed yeast. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 86, 749-755.
- Lopéz, M., Aluja. M. & Sivinski, J. (1999). Hymenopterous larval-pupal and pupal parasitoids of *Anastrepha* flies (Diptera:Tephritidae) in Mexico. *Biol. Control* 15, 119-129.
- Malavasi, A. Morgante. J. S. (1981). Adult and larval population fluctuation of *Anastrepha fraterculus* and its relationship to host availability. *Environ. Entomol.* 10, 275-278.
- Malavasi, A. Morgante, J. S. & Prokopy, R. J. (1983). Distribution and activities of *Anastrepha fraterculus* (Diptera:Tephritidae) flies on host and nonhost trees. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 76, 286-292.
- Malavasi, A. (1984). Estudo de duas espécies crípticas do gênero *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). Tese de Livre-Docência, Instituto de Biociências IB/USP, São Paulo.

- Malavasi, A., Zucchi, R. A. & Sugayama R. L. (2000). Biogeografia. In Malavasi, A. & Zucchi, R. A. (eds.), *Moscas-das-Frutas de Importância Econômica no Brasil Conhecimento Prático e Aplicado* (pp 93-98). Ribeirão Preto São Paulo: Holos.
- Martin, P. and P. Bateson. (1994). *Measuring behaviour. An Introductory guide*. 2^a ed. Cambridge, Cambridge University Press.
- Mayr, E. (1970). *Populations, species, and evolution*. Cambridge, Harvard Univ. Press.
- Miyatake, T; Matsumoto, A. Matsuyama, T. Ueda, H. & Toyosato, T. (2002). The period gene and allochronic reproductive isolation in *Bactrocera cucurbitae*. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 269, 2467-2472.
- Miyatake, T e Shimizu, T (1999) Genetic correlations between life history and behavioral traits can cause reproductive isolation. *Evolution* 53, 201-208.
- Morgante, J. S.; Malavasi, A. & G. I. Bush (1980). Biochemical systematics and evolutionary relationships of Neotropical *Anastrepha*. *Ann. Ent. Soc. Am.* 73, 622-630.
- Morgante, J.S. (1991). *Moscas-das-frutas (Tephritidae): características biológicas, detecção e controle*. Brasília, FAO/SENIR, Boletim Técnico de Recomendação para os Perímetros Irrigados do Vale do São Francisco, N^o 2. 19p.
- Morgante, J.S., D. Selivon, V.N. Solferini, and S.R. Matioli. (1993). Evolutionary patterns in specialist and generalist species of *Anastrepha*, In Aluja, M and

- Liedo, P. (eds) *Fruit Flies: Biology and Management*. (pp. 15-20). New York. Springer-Verlag.
- Moore, R. Y. (1999). Circadian Timing. In Zigmond, M J.; Bloom, F.E.; Landis, S. C.; Roberts, J. L.; Squire, L. R. (eds.) *Fundamental Neuroscience*. (pp. 1189-1206). San Diego, Academic Press.
- Moura, A.P. and D.C.M. Moura. (2006). Espécies de moscas-das-frutas (Díptera: Tephritidae) associadas à cultura da goiabeira (*Pisidium guajava* Linnaeus) em Fortaleza, Ceará. *Arq. Inst. Biol. São Paulo*. 73, 65-71.
- Nassel, D. R.; Shiga, S. ; Mohrherr, C. J.; Rao, K. R. (1993). Pigment-dispersing hormone-like peptide in the nervous system of flies *Phormia* and *Drosophila*: immunocytochemistry and partial characterization. *J. Comp Neurol*, 331, 183-198.
- Nufio, C. R & Papaj, D. R. (2001). Host marking behavior in phytophagous insects and parasitoids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 99, 273-293.
- Oliveira, L.M.F.S e Macedo, F.P. (2002) Flutuação populacional de moscas-das-frutas em pomar comercial de goiaba (*Pisidium guajava* L.). Anais do 19^o Congresso Brasileiro de Entomologia p. 200, 16 a 21 de Junho, Manaus Brasil.
- Orozco, D., and R. O. López. (1993). Mating competitiveness of wild and laboratory mass-reared medflies: effect of male size, pp. 185-188 In M. Aluja and P. Liedo [eds.], *Fruit Flies: Biology and Management*. Springer, New York, USA. 492 pp.
- Page, T. L. (1985). Clocks and circadian rhythms. In Gakerkut & LiGilbert (eds.)

- Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology*. (pp. 578-646). Oxford, Pergamon press.
- Papaj, D. R., Roiteberg, B.D., Opp, Aluja, M., Prokopy, R. J. & Wong, T.T.Y. (1990). Effect of marking pheromone on clutch size in the Mediterranean fruit fly, *Physiol. Ent.* 15, 463-468.
- Pittendrigh, C S. e Daan, S. (1976) A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. IV. Entrainment: pacemaker as clock. *J. Comp. Physiol.* 106, 291-331.
- Prokopy, R. J. (1976). Feeding, mating and Oviposition activities of *Rhagoletis fausta* in nature. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 69, 899-904.
- Prokopy, R J. (1980). Mating behaviour of frugivorous Tephritidae in nature. *Proceedings of a Symposium on Fruit Fly Problems, XVI Int. Congr. Entomol.*, Kyoto Ntl. Inst. Agric. Sci. Yatabe, Japan, p. 37-46.
- Prokopy, R.J. & Hendricks, J. (1979). Mating behaviour of *Ceratitidis capitata* on field caged host tree. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 72, 642-648.
- Prokopy, R.J. Malavasi, A. & Morgante, J.S (1982). Oviposition deterring pheromone in *Anastrepha fraterculus* flies. *J. Chem. Ecol.* 8, 763-771.
- Prokopy, R.J., Roming, C. R., & Drew, R. A. I. (2000). Facilitation in ovipositional behavior of *Bactrocera tryoni* flies. *J. Insect Behav.* 12, 815-832.
- Renwick, J.A.A. (1989). Chemical ecology of oviposition in phytophagous insects. *Experientia*, Basel, 45, 223-228.
- Rieger, D, Shafer, O.T. Tomioka, K. e Helfrich-Forster, C. (2006). Functional

- analysis of circadian pacemaker neurons in *Drosophila melanogaster*. *J. Neurosci* 26, 2531-2543.
- Robacker, D.C (1991) Specific hunger in *Anastrepha ludens*: effects on attractiveness of proteinaceous and fruit-derived lures. *Environ. Ent.* 20, 1680-1686.
- Salles, L.A.B. (1992b). Life expectation of adults of *Anastrepha fraterculus* (Wied.) in laboratory, n.p. In *1^a Meeting of thr Working Group on Fruit Flies of the Western Hemisphere*, Proceedings. San Jose, Costa Rica.
- Salles, L. A. (2000). Biologia e ciclo de vida de *Anastrepha fraterculus* (Wied.). In Malavasi, A.& Zucchi, R. A. (eds.) *Moscas-das-Frutas de Importância Econômica no Brasil Conhecimento Prático e Aplicado* (pp. 81-86). Ribeirão Preto, São Paulo: Holos.
- Santos, G. P., Anjos, N., Zanuncio, J.C. & Asis, Jr. S.L. (1993). Danos e aspectos biológicos de *Anastrepha bezzii* Lima, 1934 (Diptera:Tephritidae) em sementes de *Stercula chica* St. Hill. (Sterculiaceae). *Rev. Bras. Entomol.* 37, 15-18.
- Saunders, D. S. (1978). *Insect Clocks* Pergamon, Oxford, 2nd. ED.
- Sciurano, Segura, D. Rodrigueiro, M. Cendra, P.G. Allinghi, A. Cladera, J. L and Vilardi, J. (2007) Sexual selection on multivariate phenotypes in *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) from Argentina. *Florida Entomologist*: 90,163-170.
- SECEX (2006). Secretaria de Comércio Exterior. Dados de frutas brasileiras. <http://www.portaldoexportador.gov.br>.

- Selivon, D. Perondini, A.L.P. e Morgante, J.S (2005). A genetic-Morphological characterization of two cryptic species of the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 98: 367-381.
- Selivon, D. (2000). Relações com plantas hospedeiras. In Malavasi, A. & Zucchi, R. A. (eds) *Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil Conhecimento Básico e Aplicado* (pp. 87-91). Ribeirão Preto, São Paulo: Holos.
- Selivon, D. & Morgante, J.S. (1997). Reproductive isolation between *Anastrepha bistrigata* and *A. striata* (Diptera:Tephritidae). *Braz. J. Genet.* 20, 583-585.
- Selivon, D. (1991). Alguns aspectos do comportamento de *Anastrepha striata* Schiner e *Anastrepha bistrigata* Bezzi (Diptera: Tephritidae) Dissertação de Mestrado IB/USP, São Paulo SP.
- Selivon, D. & A L.P. Perondini. (1998). Eggshell morphology in two cryptic species of the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera:Tephritidae) *Ann, Ent. Soc. Amer.* 91, 473-478.
- Selivon, D. (1996). Estudo sobre a diferenciação populacional em *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera:Tephritidae). PhD. Thesis, Departamento de Biologia Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Silva, J. G. da. 1991. *Biologia e Comportamento de Anastrepha grandis* (Macquart, 1846) (Diptera:Tephritidae). M.Sc. thesis, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Singer, M.C. (1986). The definition and measurement of oviposition preference in

- plant-feeding insects. In Miller, J.R. & Miller, T.A. (eds). *Insect-plant interactions* (pp. 66-94). New York:Springer-Verlag.
- Sivinski, J. & T. Burk. (1989). Reproductive and mating behaviour. In Robinson, A. S. & G. Hooper (eds.) *World Crop Pest. Fruit flies: Their biology, natural enemies and control*. (pp. 345-350). New York: Elsevier Science.
- Sivinski, J.(1981) The effects of mating on predation in the stick insect *Diapheromera veliei*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 73, 553-556.
- Sivinski, J.M. Epsky, N.D. e Heath, R.R (1994). Pheromone deposition on leaf territories by male Caribbean fruit flies, *Anastrepha suspensa* (Loew) (Diptera:Tephritidae). *J. Insect Behav.* 7, 43-51.
- Sivinski, J.; Aluja, M. Dodson,G.; Freiberg, A.; Headrick, D.; Kaneshiro, K. & Landolt, P. (2000) Topics in the evolution of sexual behavior in the Tephritidae. In Martin Aluja & Allenl. Norbom (eds). *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior* (pp. 751-791). Boca Raton, Flórida: CRC Press.
- Shelly, T. E. e Whittier, T.S. (1997). Lek behavior of insects. In J.C. Choe & B.J. Crespi (eds). *Mating Systems in Insects and Aracchinids* (pp. 273-293). Cambridge University Press, Cambridge.
- Smith, P.H. (1989). Behavioural parttioning of day and circadian rhythmicity. In A.S. Robinson & G. Hooper (eds) *Fruit flies: their biology, natural enemies and control*, (pp. 325-341). Oxford: Elsevier.
- Smith-Caldas, R.B.M., Mcpheron, B.A., Silva, J.G. e Zucchi, R.A (2001).

- Phylogenetic relationships among species of the fraterculus group (Anastrepha: Diptera: Tephritidae) inferred from DNA sequences of mitochondrial cytochrome oxidase I. *Neotrop. Entomol.* 30, 565-573.
- Stengl, M.; & Homberg, U. (1994). Pigment-dispersing hormone-immunoreactive neurons in the cockroach *Leucophaea maderae* share properties with circadian pacemaker neurons. *J. Comp Physiol A* 175, 203-213.
- Sugayama, R. L. & Malavasi, A. (1996). Comportamento de oviposição de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) em três cultivares de maçã em laboratório, In 15^o Congresso Brasileiro de Entomologia, Resumos, pp. 80. SEB, Caxambu, MG.
- Sugayama, R. L.; Branco, E. S.; Malavasi, A.; Kovaleski, A. & Nora, I. (1997). Oviposition behavior of *Anastrepha fraterculus* in apple and diel pattern of activities in apple orchard in Brazil. *Entomol. Exp. Appl.* 83, 239-245.
- Sugayama, R. L. & Malavasi (2000). Ecologia Comportamental. In Malavasi, A. & Zucchi, R. A. (eds) *Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil Conhecimento Básico e Aplicado* (pp.103-108) Ribeirão Preto, São Paulo: Holos.
- Teles-da-Silva, M.C.; Polloni, Y.J. & Bressan, S. (1985). Mating behavior of some fruit flies of the genus *Anastrepha* Schiner, 1868 (Diptera:Tephritidae) in laboratory. *Rev. Brasil. Entomol.* 29: 155-164.
- Thornhill, R e Alcock, J. The evolution of insect mating systems. Harvard University press, Cambridge, MA. (1994)

- Uchôa-Fernandes, M. A. Michelli C. N. Facholi-Bendassolli (2006).
Comportamento sexual de *Anastrepha sororcula* Zucchi (Diptera, Tephritidae)
em laboratório. *Revista Brasileira de Entomologia* 50(3): 406-412 setembro
2006
- Walder, J.M.M. (2000) Técnica do inseto estéril – Controle genético. In: In
Malavasi, A. & Zucchi, R. A. (eds) *Moscas-das-frutas de Importância
Econômica no Brasil Conhecimento Básico e Aplicado* (pp.151-158) Ribeirão
Preto, São Paulo: Holos.
- Whittier, T.S. Kaneshiro, K. & Prescott, L.D. (1992). Mating Behavior of
Mediterranean Fruit Flies (Diptera:Tephritidae) in Natural Environment. *Ann.
Entomol. Soc. Am.* 85, 214-218.
- Yamada, S. e Selivon, D. (2001). Rose, um eye color mutation in species of the
Anastrepha fraterculus complex (Diptera:Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*
94:592-595.
- Zucchi, R. (1988). Moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) no Brasil: Taxonomia,
distribuição geográfica e hospedeiros. In Souza, H.M.L (eds.)*Moscas-das-frutas
no Brasil* (pp.1-10). Campinas: Anais Fundação Cargil.
- Zucchi, R. A. (1977). *Taxonomia das espécies brasileiras de Anastrepha Schiner,
1868 do complexo fraterculus (Diptera:Tephritidae)*. Dissertação de Mestrado,
ESALQ/USP, Piracicaba, SP, 63p.
- Zucchi, R. (1978). *Taxonomia das espécies de Anastrepha Schiner, 1868
(Diptera:Tephritidae) assinaladas no Brasil*. Tese de Doutorado, ESALQ/USP,

Piracicaba, SP, 105p. 1978.

Zucchi, R. (1979). Novas espécies de *Anastrepha* Schiner, 1868 (Diptera: Tephritidae). *Rev. Bras. Ent.* 23:35-41.

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

Zucoloto, F.S. (2000) Alimentação e nutrição de moscas-das-frutas In A.Malavasi & R.A. Zucchi (eds.), *Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil. Conhecimento básico e aplicado* (pp. 67-80). Ribeirão Preto: Holos.