

Anne Moreira Costa

**O efeito da nutrição e idade do macho de *Ceratitis capitata*
(Diptera: Tephritidae) na capacidade de inibir a recópula
da fêmea.**

Salvador
2010

Anne Moreira Costa

**O efeito da nutrição e idade do macho de *Ceratitis capitata*
(Diptera: Tephritidae) na capacidade de inibir a recópula
da fêmea.**

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biologia da Universidade Federal da
Bahia, para a obtenção de Título de
Mestre em Ecologia e Biomonitoramento.
Orientadora: Dr^a Iara Sordi Joachim
Bravo

Salvador
2010

Data da defesa: 14 de Junho de 2010

Banca examinadora

Orientadora: Dr^a. Iara Sordi Joachim Bravo
Universidade Federal da Bahia

Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Dr^a. Beatriz Aguiar Jordão Paranhos
EMBRAPA Semi Árido

Suplente: Dr^a. Bladina Felipe Viana
Universidade Federal da Bahia

*Dedico este trabalho aos meus pais,
Alba e Ivan, pelo sentimento que
não consigo expressar neste
momento, com todo amor.*

*“Não tenho um caminho novo,
o que tenho de novo
É o jeito de caminhar”*

(Autor desconhecido)

Agradecimentos

Escrever esses agradecimentos me traz um sentimento de alegria tão grande, mas ao mesmo tempo, uma saudade imensa... Quanta coisa vivida e compartilhada, quanta coisa aprendida, tanto conhecimento, quantos amigos feitos, quantas amizades fortalecidas... Então eu começo a agradecer ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Biomonitoramento por ter sido o palco de toda essa conquista, por essa formação! Por todos os mestres que tive o prazer de ter como professores. Ao CNPq pela bolsa concedida. Agradeço muito a minha orientadora Iara por que foi com ela que eu aprendi a ser a pesquisadora que sou hoje! Obrigada por ser bem mais do que uma orientadora! Agradeço ao LENI (Laboratório de Ecologia Nutricional de Insetos) por a quase 9 anos ser a minha segunda casa! São tantas histórias! Tanta gente que já entrou e saiu... A todos eu sou imensamente grata! Especialmente a Cris e todas as suas pérolas, Taty e toda sua amizade, Vanessa e sua torcida, a turminha nova que chegou me enchendo de alegria: Diogo, Jamilie e Lúcia; a Cyntia que além de ser minha grande parceira de trabalho é uma grande amiga; e a Kelly pela amizade e por estarmos sempre juntas: da seleção à defesa! A dupla do pré e do pós! Agradeço aos meus colegas de turma, principalmente aos meus amigos Carlinha (simplesmente minha Xu) e Gabriel, que apesar de está tão apertado nessa reta final, parou seu trabalho, algumas vezes, pra rodar meu teste estatístico! Agradeço a turma de 2007 que me recebeu muito bem quando eu era apenas uma “aluna especial”. Agradeço a Jussara, secretária do curso, que é um anjo e estaríamos perdidos sem ela! A Rê e a Dra. Beatriz Paranhos pelo treinamento que fizemos na Embrapa Semi Árido (PE) e por agora está fazendo parte dessa banca! Ao Dr. Carlos Alfredo por fazer parte dessa banca também! A Dra Suzete pela atenção e a Dra. Luanda por ter respondido meus milhões de emails me esclarecendo como eu iria contar os benditos espermatozóides! Aos parceiros da “diversidade animal”, em especial, a minha amiga Pri, que se eu fosse descrever seria uma sp. porque ela é “sem descrição”. Agradeço a Sércio, Michele, Nina e Dani que reclamavam dos meus sumiços (e quase exigiram seus nomes nesses agradecimentos), e quando nos encontrávamos tinham que ouvir todas as historias dos meus experimentos que não deram certo, mesmo não entendendo nada; ou a Maytê que até começou a entender! E com todo o meu amor e com toda a minha gratidão, carinho e respeito, eu agradeço aos meus pais e ao meu irmão, porque entre erros e acertos, eles sempre estiveram do meu lado (o que foi fundamental e indispensável) e sei que sempre vão estar! Agradeço a Deus “por tudo o que tenho e tudo que sou”. E claro, como de praxe, não poderia deixar de agradecer aos indivíduos de *Ceratitis capitata* que literalmente deram a vida por este trabalho.

Índice

Texto de divulgação-----	08
O efeito da nutrição e idade do macho de <i>Ceratitis capitata</i> (Diptera: Tephritidae) na capacidade de inibir a recópula da fêmea-----	10
Resumo-----	11
<i>Abstract</i> -----	12
Introdução-----	13
Material e Métodos-----	16
Obtenção e manutenção das moscas -----	16
Montagem dos grupos experimentais-----	17
Influência da nutrição e idade do macho na capacidade de inibir a recópula da fêmea-----	17
Influência da nutrição e idade do macho na quantidade de espermatozóides transferidos para a espermateca da fêmea-----	18
Medidas biométricas-----	18
Análise estatística -----	19
Resultado-----	19
Discussão-----	21
Agradecimentos-----	26
Referências-----	27
Figuras-----	37
Referências do texto de divulgação-----	40
Anexo-----	42

Texto de divulgação

A seleção sexual é uma especialização da seleção natural que atua nas características relativas à atração, competição e seleção de parceiros. A observação fundamental desta teoria é a de que machos e fêmeas diferem quanto ao esforço empregado no processo de produção de gametas, reprodução e investimento na promoção do desenvolvimento da prole (Thornhill 1986, Trivers 1972). Uma das formas de abordagem deste assunto está relacionada com o papel da escolha do parceiro pela fêmea na evolução das características do macho. O modelo de seleção sexual, *good genes*, por exemplo, prediz que as características do macho são geneticamente correlacionadas com alguns aspectos do seu *fitness*, e que a preferência de acasalamento da fêmea estará relacionada com características do macho que promovam uma maior sobrevivência a sua prole (Grafen 1990a, b). Assim, para garantir que a melhor característica do macho seja “escolhida”, e que esta seja passada para a sua prole, a maioria das fêmeas de insetos copula múltiplas vezes, caracterizando a poliandria. Vários estudos têm analisado a taxa de recópula e de que forma as características do macho influenciam na decisão da fêmea em se manter monogâmica.

Nas mosca-das-frutas, *Ceratitis capitata*, por ser considerada uma praga da fruticultura mundial, este assunto vem sendo bastante estudado. Uma das técnicas mais promissoras para o controle desta mosca é a técnica do inseto estéril (Hendrichs *et al.*, 1994). Esta técnica consiste em liberar machos estéreis na natureza para que entrem em competição com os machos selvagens (Malvasi *et al.* 2000). O fato da fêmea poder copular mais de uma vez é significativo para a técnica, pois existe a chance da fêmea encontrar um macho fértil e recopular com ele (Bloem *et al.* 1993).

Vários fatores têm sido reportados como importantes na determinação da frequência de recópula da fêmea: duração da cópula (Farias *et al.* 1972; Saul *et al.* 1988), status

nutricional do macho (Blay & Yuval 1997); linhagem do macho e da fêmea (Vera et al. 2002); esterilização do macho (Bloem et al. 1993). Segundo Taylor et al. (2000), este comportamento está relacionado com a quantidade de espermatozóides transferidos durante a cópula e a duração da mesma. Alguns estudos afirmam que a cópula é mais curta e a estocagem de espermatozóides é mais abundante, se o macho for grande ou alimentado com proteína, e que a cópula é mais longa quando a fêmea é maior (Field & Yuval 1999, Field et al. 1999, Taylor & Yuval 1999). Assim, entender os fatores que influenciam os componentes do comportamento reprodutivo de *C. capitata* são de especial interesse para o entendimento da dinâmica reprodutiva da espécie e para o seu controle.

Neste trabalho foi avaliada a interação de dois aspectos fisiológicos dos machos de *Ceratitidis capitata* - idade e status nutricional - na sua capacidade de inibir a recópula da fêmea. Avaliou-se, também, se variáveis como quantidade de espermatozóides transferidos durante a cópula e a duração da mesma interferia neste aspecto.

Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que as características fisiológicas e comportamentais dos machos são influenciadas pela sua idade e condição nutricional e que a quantidade de espermatozóides transferidos para a fêmea, ou alguma substância presente no fluido da glândula acessória, é que determina a capacidade de inibir a recópula da fêmea. Além disso, a aplicação de estudos desta natureza na técnica do inseto estéril é de grande valia, pois a inibição sexual de parceiros é a chave para o sucesso desta técnica.

Veículo pelo qual artigo será submetido:

Revista: Journal of Applied Entomology

1 **Titulo**

2 O efeito da nutrição e idade do macho de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) na
3 capacidade de inibir a recópula da fêmea.

4 **Autores**

5 Anne Moreira Costa^{1,2} & Iara Sordi Joachim-Bravo¹

6 **Endereço**

7 1 - Universidade Federal da Bahia, Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Geral. R.
8 Barão do Geremoabo s/n, Campus Universitário de Ondina, Salvador, BA. 40.170-290.

9 **Correspondência:** 2 – annemcosta@hotmail.com

10

11 **Titulo Curto:** Receptividade da fêmea de *Ceratitis capitata*

12 *Palavras-Chave:* Poliandria, receptividade da fêmea, duração da cópula, espermatozóide,
13 *Ceratitis capitata*

14

15

16 **Resumo**

17 Neste trabalho foi avaliada a interação de dois aspectos fisiológicos dos machos de *Ceratitis*
18 *capitata* - idade e status nutricional - na sua capacidade de inibir a recópula da fêmea.
19 Avaliou-se, também, se variáveis como quantidade de espermatozóides transferidos durante a
20 cópula e a duração da mesma interferiam neste aspecto. Os experimentos foram realizados
21 com uma população de laboratório com introdução periódica de moscas selvagens. Após a
22 emergência, os adultos foram mantidos em grupos separados de acordo com a sua
23 alimentação (alto teor protéico – 6,5 g de proteína e baixo teor protéico – 3,5 g de proteína) e
24 idades (4, 8, 12, 16 e 20 dias). Quando analisada a interação desses dois fatores, os resultados
25 demonstraram que: (1) machos com 4 dias e alimentados com uma dieta com baixo teor
26 protéico são menos eficientes em inibir a recópula da fêmea; (2) machos com 20 dias,
27 independente do status nutricional, tiveram mesma eficiência em inibir a recópula da fêmea;
28 (3) machos de 12 e 16 dias, alimentados com uma dieta com alto teor protéico, transferem e
29 produzem mais espermatozóides que os machos dos outros grupos; (4) não houve correlação
30 entre a quantidade de espermatozóides transferidos e duração da cópula. Os resultados obtidos
31 neste trabalho sugerem que as características fisiológicas e comportamentais dos machos são
32 influenciadas pela sua idade e condição nutricional, e que a quantidade de espermatozóides
33 transferidos para a fêmea, ou alguma substância presente no fluido da glândula acessória, que
34 determina a capacidade de inibir a recópula da fêmea. Os dados são discutidos quanto a
35 aplicação desses estudos na técnica do inseto estéril, uma vez que a inibição de uma nova
36 cópula da fêmea é uma das chaves para o sucesso desta técnica.

37 **Abstract**

38 In this study, we evaluated the interaction of two physiological aspects in *Ceratitis capitata*
39 male - age and nutritional status - and their ability to inhibit female remating. Furthermore, if
40 variables such as sperm storage and copula duration interfering in this. The experiments were
41 performed with a laboratory population with periodic introduction of wild flies. After
42 emergence, adults were kept in separate groups according to their diet (high protein - 6.5
43 grams of protein and low protein content - 3.5 g of protein) and age (4, 8, 12, 16 and 20 days).
44 The results showed that when the interaction of these two factors: (1) males with 4 days and
45 fed a diet with low protein content are less efficient in inhibiting the female remating, (2)
46 males with 20 days, regardless of nutritional status had the same efficiency in inhibiting
47 female remating, (3) 12 and 16 days males, fed a diet with high protein content, transfer and
48 produce more sperm than males of other groups, (4) there was no correlation between the
49 sperm storage and copula duration. The study results suggest that the male's physiological
50 and behavioral characteristics are influenced by their age and nutritional status and the
51 amount of sperm transferred to female, or some substance present in the fluid of the accessory
52 gland, is related to the ability to inhibit female remating. The data are discussed about the
53 application of these studies in the sterile insect technique, since the inhibition of a new female
54 mating is the key of the technique success.

55

56 **Introdução**

57 A seleção sexual é uma especialização da seleção natural que atua nas características
58 relativas à atração, competição e seleção de parceiros. A observação fundamental desta teoria
59 é a de que machos e fêmeas diferem quanto ao esforço empregado no processo de produção
60 de gametas, reprodução e investimento na promoção do desenvolvimento da prole (Williams
61 1966; Trivers 1972; Thornhill 1986). Apesar de bastante estudado, o papel da escolha do
62 parceiro pela fêmea na evolução das características do macho ainda é muito controverso
63 (Cronin 1991). O sucesso reprodutivo dos machos é determinado pela habilidade de copular
64 com várias fêmeas. Entretanto, a necessidade de levar essa cópula à inseminação e fertilização
65 é crucial para garantir o *fitness* do macho em espécies nas quais as fêmeas copulam mais de
66 uma vez (Eberhard 1996; Simmons 2001). Nessas espécies, o sucesso de cópula é
67 determinado por uma série de interações complexas entre os sexos, que frequentemente
68 possuem conflitos de interesse reprodutivo. Dentre esses fatores, é possível destacar a
69 competição entre espermatozoides (Parker 1970) e o mecanismo de regulação pós-cópula
70 (Eberhard 1991). Assim, eventos ocorridos durante a cópula podem alterar o destino do
71 espermatozoide, exercendo pressão seletiva que resulta na evolução de diversos caracteres
72 reprodutivos, morfológicos e fisiológicos (Qazi 2003)

73 Segundo Pai & Ian (2002), a poliandria - processo em que as fêmeas acasalam com
74 mais de um macho - envolve um alto custo para a fêmea, devido ao gasto de tempo e energia,
75 risco de predação e parasitismo. No entanto, diversas pesquisas têm mostrado benefícios,
76 diretos e indiretos para as fêmeas, decorrentes desse processo (Gullan & Cranston 1996;
77 McNeil et al. 1997; Drnevich et al. 2000; Arnqvist & &rés 2000; Wedell et al. 2002). Dentre
78 estes benefícios, as fêmeas podem se beneficiar do aumento da variabilidade genética da prole
79 derivada do maior número de espermatozoides e a conseqüente competição entre eles.
80 (McNeil et al. 1997; Drnevich et al. 2000). Porém, alguns trabalhos indicam que fêmeas que

81 encontram machos atraentes fenotipicamente em sua primeira cópula tendem a se manter
82 monogâmicas, evitando o custo associado a acasalamentos múltiplos (Maklakov et al. 2005).
83 Desta forma, explicações gerais do porquê fêmeas de muitas espécies acasalam múltiplas
84 vezes e porquê o nível de recópula varia tanto permanece indefinido.

85 Na maioria dos insetos, a receptividade da fêmea muda depois do acasalamento,
86 devido a uma resposta fisiológica do material passado do macho para a fêmea durante a
87 cópula (Eberhard 1996; Ringo 1996). Em algumas espécies, os espermatozóides produzem
88 este efeito, mas em outras, um “anti-afrodisíaco” no fluido seminal produz a mudança (Ringo
89 1996), induzindo a modificações do comportamento de procura por parceiros para o
90 comportamento de oviposição (Jang 1995).

91 A variabilidade na taxa de recópula tem sido atribuída a fatores endógenos como
92 idade, o estado nutricional e a história de acasalamento, uma vez que estes fatores têm sido
93 relacionados diretamente com o comportamento sexual dos insetos (Barton-Browne 1993).
94 Assim, imagina-se que as decisões que influenciam a escolha da fêmea na primeira cópula
95 devem ser as mesmas que determinam a sua recópula.

96 O nosso objeto de estudo, a mosca das frutas *Ceratitis capitata* – importante praga da
97 fruticultura mundial (Prokopy & Roitberg 1984) – possui o sistema de acasalamento em *lek*
98 (Whittier et al. 1992; Shelly et al. 1993; 1994), que consiste em um agregado de machos que
99 ocupa um determinado território com fins de acasalamento (Höglund & Alatalo 1995). Os
100 machos se agregam em *lek* de 2-10 indivíduos e defendem simbolicamente seu território
101 atraindo parceiros em potencial (Höglund & Alatalo 1995; Shelly & Whittier 1997). Uma vez
102 dentro do *lek*, a performance do macho inclui sinais visuais, acústicos, bem como liberação de
103 feromônio (Briceño et al. 1996). Por fim, as fêmeas discriminam entre os machos do “lek” e
104 rejeitam a maioria das manifestações de corte (Whittier et al. 1992; Whittier et al. 1994), o
105 que conduz a uma cópula diferencial com machos melhores sucedidos.

106 A ocorrência e a frequência de recópula nessa espécie tem sido associada com a
107 duração da primeira cópula (Farias et al. 1972; Saul et al. 1988); com o *status* nutricional do
108 macho (Blay & Yuval 1997); com a linhagem do macho ou da fêmea (Vera et al. 2002) e com
109 a esterilização do macho (Bloem et al. 1993). Além disso, alguns estudos afirmam que a
110 cópula é mais demorada e a estocagem de espermatozóides é mais abundante, caso o macho
111 seja grande ou tenha sido alimentado com proteína, e que a cópula é mais longa, quando a
112 fêmea é maior (Field & Yuval 1999; Field et al. 1999; Taylor & Yuval 1999). Porém, ainda
113 não se tem claro quais fatores controlam alguns destes comportamentos, assim como, a
114 receptividade da fêmea (Revisado por Yuval & Hendrichs 2000).

115 A alimentação na fase adulta do macho é considerada um dos fatores que pode alterar
116 a capacidade do macho de inibir a recópula da fêmea. Existem evidências que a ingestão de
117 proteína na fase adulta é determinante na biologia reprodutiva dos insetos porque esses
118 machos emitem feromônio mais cedo (Papadopoulos et al. 1998), copulam com mais
119 frequência e diminui a receptividade da fêmea (Blay & Yuval 1997).

120 O comportamento de recópula também tem sido relacionado com a duração da cópula
121 e com a quantidade de espermatozóides transferidos pelo macho. Alguns estudos afirmam que
122 cópulas mais longas estão associadas com o aumento na quantidade de espermatozóides
123 transferidos (Yamagishi & Tsubaki 1990); que a duração da cópula está relacionada
124 positivamente com a inibição da receptividade da fêmea por outro macho (Kuba & Ito 1993);
125 que machos que copulam mais tempo têm um maior sucesso na substituição de
126 espermatozóides (Siva-Jothy & Tsubaki 1989) e que a habilidade de prolongar mais a cópula
127 detém outros machos a se aproximarem da fêmea (*mate-guarding*) (Alcock 2005), reduzindo
128 ou evitando a competição de espermatozóides com futuras cópulas.

129 Questões que retratam de que forma a idade pode influenciar na quantidade ou
130 qualidade de espermatozóides produzidos pelos machos foi reportada por Taylor et al. (2000).

131 Nesse estudo, o número de espermatozóides armazenados pelas fêmeas diminuiu com a idade
132 do macho. Com este resultado, é possível relacionar a senescência e o número de
133 espermatozóides transferidos e produzidos pelo macho, uma vez que o envelhecimento está
134 diretamente associado a um declínio nas atividades metabólicas e fisiológicas do organismo
135 (Rose 1991; Partridge & Barton 1993). Porém, não existe um consenso sobre este assunto
136 uma vez que modelos relacionados com a escolha de acasalamento predizem que fêmeas
137 preferem copular com machos mais velhos porque eles possuem uma habilidade de
138 sobrevivência comprovada (Jones & Elgar 2004; Hansen & Price 1995).

139 Assim, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o comportamento de recópula da
140 fêmea de *C. capitata* frente a machos de diferentes condições nutricionais e diferentes idades
141 na fase adulta. Para isso foram formuladas 3 questões: a) se a nutrição e a idade do macho
142 influencia na capacidade de inibir a recópula da fêmea; b) se a condição nutricional e idade do
143 macho está relacionada com a quantidade de espermatozóides transferidos para a espermateca
144 da fêmea; e c) se existe uma relação entre duração de cópula e quantidade de espermatozóides
145 transferidos para a espermateca de fêmea.

146

147 **Material e Métodos**

148 **Obtenção e manutenção das moscas**

149 Os espécimes de *Ceratitis capitata* utilizados neste estudo foram provenientes de uma
150 linhagem mantida no Laboratório de Ecologia Nutricional de Insetos (LENI) do Instituto de
151 Biologia da Universidade Federal da Bahia (cidade de Salvador, Estado da Bahia, Brasil) há
152 12 anos, na qual, periodicamente têm sido adicionadas moscas selvagens coletadas de
153 amêndoas (*Terminalia catappa*) provenientes da cidade de Salvador. A manutenção dessa
154 população seguiu a metodologia descrita por Zucoloto (1987). Os adultos foram alimentados
155 diariamente com uma dieta à base de lêvedo de cerveja (Zucoloto et al. 1979) e água *ad*

156 *libitum*, e as larvas com uma dieta à base de farelo de soja e lêvedo de cerveja (Carvalho et
157 al. 1998).

158 **Montagem dos grupos experimentais**

159 Na realização de todos os experimentos foram utilizadas fêmeas com 4 dias de idade
160 (maduras sexualmente), provenientes da população supracitada. Estas foram expostas
161 separadamente a grupos de machos diferentes quanto as suas condições nutricionais e idades.
162 Foram testados machos adultos com cinco idades: 4, 8, 12, 16 e 20 dias. Assim, após a
163 emergência das moscas, os machos foram separados das fêmeas e colocados em diferentes
164 potes até cada grupo alcançar a idade teste para a realização dos experimentos. As fêmeas
165 foram mantidas com uma dieta com alta concentração protéica, enquanto que os machos, além
166 do critério idade, foram separados em mais dois grupos: aqueles que foram alimentados na
167 fase adulta com alta concentração protéica (6,5 g de lêvedo) e os alimentados com uma baixa
168 concentração protéica (3,5 g de lêvedo).

169 **Influência da nutrição e idade do macho na capacidade de inibir a recópula da** 170 **fêmea**

171 Os experimentos de recópula de fêmeas foram realizados em potes plásticos (9,0 X 7,5
172 cm) mantidos em condições controladas de laboratório, com temperatura variando entre 25 e
173 28 °C e umidade relativa entre 70-80%. As fêmeas foram expostas a três machos de mesmas
174 condições e quando observada a ocorrência de cópula, o casal era retirado cuidadosamente do
175 pote com auxílio de um tubo de ensaio, permanecendo no mesmo até o término da cópula.
176 Após o término da primeira cópula as fêmeas foram separadas do macho, e novamente
177 expostas, no dia seguinte, a machos jovens virgens (4 dias) e bem nutridos (6,5g de lêvedo)
178 para verificar a ocorrência de recópula. O período de observação dos experimentos foi das 8
179 às 15 horas. Todos os indivíduos, acasalados ou não foram fixados em álcool 70% para

180 posterior análise biométrica. Em cada teste foram realizadas 50 repetições para determinar a
181 porcentagem de recópula de cada grupo.

182 **Influência da nutrição e idade do macho na quantidade de espermatozóides** 183 **transferidos para a espermateca da fêmea**

184 A mesma montagem de experimento descrita acima foi efetuada para a avaliação da
185 capacidade de transferência de espermatozóides para as fêmeas. Nesse caso, 50 fêmeas
186 acasaladas com cada grupo de machos testes foram dissecadas para contagem de
187 espermatozóides na espermateca. O início e término da cópula foram registrados para
188 posterior análise de relação entre duração da cópula e quantidade de espermatozóides
189 transferidos. Para complementar esse experimento e garantir que não houve diferença na
190 produção de espermatozóides em cada grupo teste, 20 machos foram dissecados para
191 contagem de espermatozóides nos testículos.

192 Para a contagem de espermatozóides cada indivíduo (fêmea ou macho) foi
193 acondicionado, com a parte ventral voltada para cima, em uma placa de Petri com cera,
194 contendo solução fisiológica de NaCl 0,9%. O tórax foi preso com auxílio de um alfinete
195 entomológico e o abdômen foi cuidadosamente aberto com o auxílio de pinças e estiletes. As
196 espermatecas ou testículos foram isolados e transferidos para 1 ml de solução de Bardahl (Rad
197 Cool) 0,005% e esmagadas. Agitações vigorosas foram efetuadas e uma gota do
198 homogeneizado foi depositado em uma câmara de NewBauer (hemacitômetro) e observado ao
199 microscópio. A metodologia descrita e o número de espermatozóides na solução total foi
200 calculado segundo Bressan (1995).

201 **Medidas biométricas**

202 Para assegurar que os resultados não foram influenciados por diferenças de tamanho
203 corporal dos indivíduos, foram efetuadas algumas medidas das asas de machos dos diferentes
204 grupos estudados. Após serem fixadas em álcool 70%, as moscas foram colocadas em posição

205 dorsal dentro de uma placa de cera contendo essa mesma solução. A asa esquerda de cada
206 mosca foi retirada cuidadosamente, a partir da base, com o auxílio de pinças e colocadas em
207 uma lâmina. As medidas (distância entre a nervura R4+5 a mcu) foram feitas com auxílio de
208 um estereomicroscópio munido de ocular micrométrica com conversão de 0,5mm em um
209 aumento de 20 vezes.

210 **Análise estatística**

211 Para a avaliação da influência da nutrição e idade do macho na capacidade de inibir a
212 recópula da fêmea foi utilizado o modelo log-linear. Essa análise foi realizada com o auxílio
213 do programa estatístico SPSS para Windows (versão 13.0). Para avaliação da existência de
214 uma relação entre condição nutricional e idade do macho e quantidade de espermatozóides
215 transferidos para a espermateca da fêmea foi empregado o teste ANOVA (two way) e as
216 comparações par a par foram realizadas com o auxílio do teste de Tukey-Kramer. Para essa
217 análise foi utilizado o programa GMAV (1997) para Windows. Para a relação entre duração
218 de cópula e estocagem de espermatozóides foi realizado o teste de correlação de Pearson. Esse
219 teste foi realizado com o auxílio do programa GraphPad Software InStat (versão 1997, San
220 Diego). A normalidade dos dados foi avaliada através do teste Kolmogorov-Smirnov, e a
221 homocedasticidade através do teste de Bartlett. Em todos os experimentos o nível de
222 significância adotado foi de 5% de significância.

223

224 **Resultados**

225 Os experimentos de análise da influência da idade e da nutrição do macho na
226 capacidade de inibir a recópula da fêmea (Fig. 1), indicam que, quando fêmeas copulam com
227 machos bem nutridos na fase adulta, a idade não é um fator que influencia na sua escolha de
228 copular novamente. No entanto, nas fêmeas que copularam com machos alimentados na fase
229 adulta com uma dieta com baixo teor protéico, a probabilidade de recopular diminuiu com o

230 aumento da idade do macho, ou seja, fêmeas que copularam com machos de 4 dias tiveram
231 um maior índice de recópula do que fêmeas que copularam com machos de outras idades
232 (Modelo log-linear: $p=0,019$).

233 O experimento que analisou se a nutrição e a idade do macho interferem na quantidade
234 de espermatozóides transferidos para a fêmea (Fig. 2 A) evidenciou que, no geral, os machos
235 alimentados com uma dieta com alto teor protéico transferem mais espermatozóides para a
236 fêmea do que aqueles que foram alimentados com uma dieta com baixo teor protéico (Teste
237 ANOVA two-way, $p<0,0001$).

238 Comparando-se a quantidade de espermatozóides transferidos para fêmeas com a
239 quantidade de espermatozóides produzidos por cada macho, os testes revelaram que os
240 machos produzem mais espermatozóides do que transferem para as fêmeas,
241 independentemente da sua nutrição ou idade (Fig. 2A e B). É possível observar também que o
242 pico de transferência de espermatozóides para as fêmeas acontece aos 12 dias, quando os
243 machos são alimentados com uma dieta com alto teor protéico. Quando alimentados com uma
244 dieta com baixo teor protéico este pico ocorre mais tarde, aos 16 dias (Fig. 2A). Com relação
245 à produção de espermatozóides (Fig. 2B), os machos alimentados com uma dieta com alto
246 teor protéico produzem a mesma quantidade de espermatozóides que os machos alimentados
247 com uma dieta com baixo teor protéico na fase adulta inicial (4 e 8 dias). Porém, aos 12 dias,
248 os machos alimentados com a dieta com alto teor protéico continuam produzindo mais
249 espermatozóides, e os que não foram alimentados com esta dieta estabilizam a produção.

250 Não foi observada correlação entre a duração da cópula e a quantidade de
251 espermatozóides transferidos para a fêmea em nenhuma das variáveis analisadas (Correlação
252 de Pearson, Alto teor protéico – $r=0,1692$, $p= 0,0924$ / Baixo teor protéico – $r=0,1232$,
253 $p=0,2219$). Contudo, se for levada em consideração a influência da nutrição e idade na
254 duração da cópula (Fig. 3 A e B), é possível destacar uma maior duração da cópula para as

255 fêmeas que copularam com machos alimentados com um baixo teor protéico e com idade de
256 20 dias (Teste ANOVA two-way, $F=11,03$, g.l. 4, $p<0,0001$). Esse mesmo comportamento foi
257 observado quando confrontados os dados da duração da primeira cópula das fêmeas que
258 recopularam, com a duração da primeira cópula naquelas fêmeas que não recopularam (Figura
259 3 A e B) (Teste t de student, $p=0,0318$).

260

261 **Discussão**

262 Neste estudo, as fêmeas que copularam com machos de quatro dias de idade e
263 alimentados com uma dieta com baixo teor protéico obtiveram um maior índice de recópula
264 comparadas àquelas que copularam com machos dos outros grupos testados. Uma das
265 hipóteses era que fêmeas que copulassem com machos mais velhos e alimentados com uma
266 dieta com baixo teor protéico teriam uma maior taxa de recópula, visto que se imaginava que
267 a degradação do indivíduo, fisiológica e comportamental, aumentaria com a interação desses
268 dois fatores (maior idade e menor concentração protéica). Porém, esse fato não foi observado,
269 o que pode sugerir a existência de algum tipo de mecanismo fisiológico compensatório neste
270 grupo de machos. Apesar deste experimento ter sido realizado em laboratório, no local onde
271 os indivíduos são mantidos, as próprias excretas da população podem ser utilizados como
272 fonte protéica para fazer este tipo de compensação.

273 Na natureza, o sucesso reprodutivo dos machos de *C. capitata* tem sido relacionado
274 com a sua habilidade de localizar e ingerir carboidratos e proteína (Hendrichs & Hendrichs
275 1990; Warburg & Yuval 1997a; b; Yuval & Hendrichs 2000), sendo esses machos
276 significativamente mais propícios a participar de *leks* e copular com as fêmeas (Kaspi & Yuval
277 2000). Deste modo, o sucesso dos machos alimentados com proteína pode estar relacionado
278 com seu nível de atividade sexual. Uma das características mais marcantes no comportamento
279 sexual dessa espécie é o seu sistema de acasalamento que se caracteriza por uma formação em

280 *lek*. Assim, a avaliação de potenciais parceiros realizada pela fêmea de *C. capitata*,
281 certamente envolve os estímulos químicos, visuais e acústicos exibidos pelo macho dessa
282 espécie. Neste sentido, a ingestão de proteína pelos machos de *C. capitata*, nos primeiros dias
283 de vida, após a emergência, pode estar relacionada com sua maior chance em participar do
284 *lek*, copular e inseminar as fêmeas (Blay & Yuval 1997; Papadopoulos et al. 1998; Taylor &
285 Yuval 1999; Kaspi et al. 2000, Shelly et al. 2002), principalmente porque um dos passos da
286 corte consiste da liberação de feromônio, e esses são ricos em peptídeos.

287 Em *Anastrepha suspensa* a taxa de emissão de feromônio foi altamente relacionada
288 com a dieta ingerida pelo adulto (Landolt & Sivinsky 1992). Similarmente, a proteína pode
289 ser metabolizada pelo macho para a produção de componentes dos espermatozóides e dos
290 fluidos da glândula acessória. Desta forma, o menor índice de recópula observado naquelas
291 fêmeas que copularam com machos alimentados com alto teor protéico, comparadas às que
292 copularam com machos alimentados com baixo teor protéico, pode indicar uma modulação
293 fisiológica por substâncias liberadas durante a cópula (Eberhard & Cordero 1995),
294 determinando a receptividade da fêmea.

295 Além dos fatores nutricionais, a idade do macho tem sido relacionada como um fator
296 importante da decisão de acasalamento pela fêmea. Neste trabalho, esse fato pode ser
297 comprovado pelo baixo índice de recópula das fêmeas que copularam com os machos mais
298 velhos (8, 12, 16 e 20 dias), independentemente da dieta oferecida na fase adulta. Modelos
299 relacionados com a preferência de acasalamento da fêmea predizem que as fêmeas preferem
300 esses machos, porque esses passaram por mais episódios de seleção e sobreviveram (Trivers
301 1972; Andersson 1994; Kokko & Lindstrom 1996; Beck & Powell 2000). Porém, em Anjos-
302 Duarte et al. (no prelo), fêmeas jovens virgens preferiram machos mais jovens (4 e 12 dias em
303 relação aos de 20 dias), provavelmente, porque os primeiros exibiram uma corte mais
304 eficiente. É importante destacar que no presente trabalho, machos com 4 dias que ingeriram

305 concentração mais alta de proteína tiveram a mesma eficiência para a inibição da recópula das
306 fêmeas que os machos mais velhos. Neste contexto, o presente trabalho sugere que a ingestão
307 de proteína na fase inicial da maturação sexual dos machos é relevante para o seu sucesso de
308 acasalamento e capacidade de inibição de recópula da fêmea.

309 Outro aspecto que influencia a capacidade da fêmea recopular está relacionado com a
310 quantidade de material proveniente da ejaculação (fluido da glândula acessória e
311 espermatozoides) transferido durante a cópula. A quantidade de espermatozoides transferidos
312 tem um importante papel na determinação da fecundidade da fêmea e no sucesso de
313 acasalamento do macho, e conseqüentemente no aumento do fitness (Levine et al. 1980).
314 Sobre esse tema, o enfoque principal têm sido a relação entre duração da cópula e a
315 quantidade de espermatozoides estocados pela fêmea (Taylor et al. 2000) e de que forma isto
316 pode influenciar na escolha da fêmea em recopular. No presente estudo, observou-se que, de
317 modo geral, fêmeas que copularam com machos alimentados com alto teor de proteína
318 apresentaram mais espermatozoides em suas espermatecas do que as que copularam com
319 machos alimentados com baixo teor protéico, como o esperado. No entanto, com relação à
320 idade, machos novos com 4 dias e que já exibiam comportamento de corte, sinalizando
321 maturidade sexual, transferiram poucos espermatozoides quando comparados com os das
322 demais idades. Assim, essa diferença reflete uma não sincronia entre o início do período de
323 exibição do comportamento de corte e a maturação fisiológica do indivíduo. Segundo Roriz
324 (2010), indivíduos de laboratório ficam maduros sexualmente mais cedo (4 dias) que
325 indivíduos selvagens (12 dias). Desta forma, podemos inferir que a maturação sexual dos
326 machos não está somente relacionada com a realização dos passos de corte, mas também é
327 dependente de uma maturação fisiológica, sendo indicada neste trabalho, pela maior produção
328 de espermatozoides. Essa maturação fisiológica ocorre em machos alimentados com um alto
329 teor protéico aos 12 dias, e um pouco mais tarde com aqueles alimentados com baixo teor

330 protéico, aos 16 dias, indicando que a nutrição é um fator que também influencia essa
331 maturação no macho. Essa mesma tendência também foi observada quanto à produção de
332 espermatozóides, significando que a produção de espermatozóides é igualmente dependente
333 da idade e da dieta ingerida.

334 Assim, comparando-se o maior índice de recópula das fêmeas que copularam com
335 machos de 4 dias e alimentados com uma dieta com baixo teor protéico, com a quantidade de
336 espermatozóides transferidos, pode-se sugerir que o índice de recópula foi maior para essas
337 fêmeas, porque tinham pouco espermatozóides na espermateca. Isto porque, em espécies nas
338 quais os machos transferem relativamente poucos espermatozóides (Pitnick 1993) ou as
339 fêmeas não são capazes de prolongar a estocagem desses, o evento de recópula ocorre,
340 provavelmente, para restabelecer o suprimento de espermatozóides (Gromko et al. 1984).

341 Além da quantidade de espermatozóides transferidos para a fêmea, a presença de um
342 peptídeo presente no fluido da glândula acessória também pode produzir o efeito de inibição
343 de recópula da fêmea (Jang 1995). Este peptídeo entra no sistema circulatório da fêmea onde
344 irá influenciar seu sistema endócrino de uma forma que irá beneficiar o macho, através da
345 diminuição da taxa de recópula da fêmea (revisado por Wolfner 1997). Assim, da mesma
346 forma que as fêmeas necessitam se alimentar de proteína nos primeiros estágios de
347 desenvolvimento adulto para a produção de óvulos (Fletcher 1989), os machos necessitariam
348 da proteína para aumentar a quantidade, e provavelmente, a qualidade de espermatozóides
349 produzidos, assim como, para a síntese do peptídeo presente no fluido da glândula acessória, o
350 qual, segundo Eberhard & Corden (1995), varia de acordo com a dieta do macho.

351 Nesse contexto, a alimentação com uma dieta com baixo teor protéico dos machos
352 pode ser prejudicial não só para a produção e transferência de espermatozóides, como
353 também, para a produção do peptídeo presente no fluido da glândula acessória.

354 Suter & Parkhill (1990) propuseram muitas hipóteses para explicar o significado
355 adaptativo de cópulas prolongadas em insetos. Atualmente, cópulas prolongadas têm sido
356 associadas como uma estratégia de *mate-guarding* ou como uma forma de aumentar a
357 quantidade de espermatozóides transferidos (García-González & Gomendio 2003). De
358 qualquer forma, as duas hipóteses supracitadas assumem que a duração da cópula é controlada
359 pelo macho. Neste estudo não foi encontrada relação entre duração de cópula e quantidade de
360 espermatozóides transferidos para a fêmea. Da mesma forma, outros trabalhos também
361 descrevem um aumento não linear da estocagem de espermatozóides e a duração da cópula
362 (Farias et al. 1972), sendo observado a ocorrência de até 3000 espermatozóides em apenas 50
363 minutos de cópula (Yuval et al. 1996). Neste estudo, a média de duração da cópula não foi
364 influenciada pela idade ou nutrição do macho e variou entre 70 e 325 minutos.

365 De acordo com Eberhard (1996), a duração da cópula pode ser um componente de
366 corte pós acasalamento, pois as fêmeas podem requerer algum período inicial da cópula para
367 avaliar o macho antes que ele transfira seus espermatozóides. De fato isto deve acontecer com
368 a espécie em estudo, uma vez que de acordo com Yuval et al. (1997) só há transferência de
369 espermatozóides a partir dos 90 minutos de cópula.

370 Trabalhos que destacam a importância do estudo do comportamento de recopula da
371 fêmea também têm sido relacionados com o aspecto prático relacionado com a técnica do
372 inseto estéril, uma das técnicas mais promissoras para o controle da *C. capitata* (Hendrichs et
373 al. 1994). Essa técnica consiste em liberar machos estéreis na natureza para que entrem em
374 competição com os machos selvagens (Malavasi et al. 2000). O fato da fêmea poder copular
375 mais de uma vez é significativo para a técnica, pois, existe a chance da fêmea encontrar um
376 macho fértil e copular novamente (Bloem et al. 1993). Assim, o sucesso do controle da *C.*
377 *capitata* usando machos estéreis depende da habilidade do macho estéril copular com a fêmea
378 selvagem (Briceño & Eberhard 2002) e evitar que ela recopule. Desta forma, esse estudo gera

379 importantes considerações sobre a atenção que deve ser dada no controle de qualidade desses
380 machos estéreis (Cayol 2000).

381 Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que as características fisiológicas e
382 comportamentais dos machos são influenciadas em determinados aspectos pela sua idade e
383 condição nutricional, sendo a fêmea capaz de perceber essas características e determinar sua
384 taxa de recópula. O estudo de fatores que influenciam o comportamento de recópula é
385 importante para o melhor entendimento do comportamento reprodutivo dos insetos, e
386 conseqüente resolução de assuntos que retratam o conflito sexual entre as espécies. Além
387 disso, a aplicação de estudos dessa natureza na técnica do inseto estéril é de grande valia, pois
388 a inibição sexual de parceiros é a chave para o sucesso dessa técnica.

389

390 **Agradecimentos**

391 Ao CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela bolsa
392 concedida ao primeiro autor (termo de outorga n° 134049/2008-0). A Dra. Suzete Bressan e
393 Dra. Luanda Medeiros pelo apoio.

394

395

396

397

398

399

400

401

402

403

404

405

406

407

408 **Referências**

409

410 Alcock J, 2005. Animal Behavior: An Evolutionary Approach. Sinauer Associates, Inc.

411

412 Andersson M, 1994. Sexual selection. Princeton University Press, Princeton.

413

414 Anjos-Duarte CS, Costa AM, Joachim-Bravo IS, no prelo. Sexual behaviour of the

415 Mediterranean Fruit fly (Diptera: Tephritidae): the influence of female size on mate choice. J.

416 Appl. Entomol.

417

418 Arnqvist G, Nilsson T, 2000. The evolution of polyandry: multiple mating and female *fitness*

419 in insects. Anim. Behav. 60, 145-164.

420

421 Barton-Browne L B, 1993. Physiologically induced changes in resource-oriented behavior.

422 Ann. Rev. Entomol. 38, 1-25.

423

424 Beck CW, Powell LA, 2000. Evolution of female mate choice based on male age: are older

425 males better mates? Evol. Ecol. Res. 2, 107-118.

426

427 Blay S, Yuval B, 1997. Nutritional correlates of reproductive success of male Mediterranean

428 fruit flies (Diptera: Tephritidae). Anim. Behav. 54, 59-66.

429

430 Bloem K, Bloem S; Rizzo N, Chambers D, 1993. Female Medfly refractory period: effect of

431 male reproductive status. In: Fruit flies: biology and management. Ed. By Aluja M, Liedo P,

432 Springer, New York, 189-190.

433 Bressan, S. Desenvolvimento e potencial reprodutivo de macho de *Anastrepha spp.* (Diptera,
434 Tephritidae) em condições naturais. Revta. Bras. Entomol. 39, 849-854.
435

436 Briceño RD, Ramos D, Eberhard WG, 1996. Courtship behavior of male *Ceratitis capitata*
437 (Diptera: Tephritidae) in captivity. Fla. Entomol. 79, 130-143.
438

439 Briceño RD, Eberhard WG, 2002. Decisions duration courtship by male and female medflies
440 (Diptera: Tephritidae): correlated changes in male behavior and female acceptance criteria in
441 mass-reared flies. Fla. Entomol. 85, 14-31.
442

443 Carvalho JEU, Nascimento, WMO, Muller CH, 1998. Características físicas e de germinação
444 de sementes de espécies frutíferas nativas da Amazônia. Belém: EMBRAPA. Centro de
445 Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental (Belém, PA).
446

447 Cayol JP, 2000. Changes in sexual behavior and life history traits of tephritid species caused
448 by mass-rearing processes. 2000. In: Fruit flies (Tephritidae), phylogeny and evolution of
449 behavior. Ed. By Aluja M, Norrbom A, Crc Press, Del Ray, Florida, 843-860.
450

451 Cronin E, 1991. The Ant and the Peacock. Altruism and Sexual Selection from Darwin to
452 Today, Cambridge University Press, New York.
453

454 Drnevich JM; Papke RS, Rauser CL, Rutowski RL, 2000. Material benefits from multiple
455 mating in female mealworm beetles (*Tenebrio molitor L.*). J. Insect. Behav. 14, 215- 229.
456

457 Eberhard WG, 1991. Copulatory courtship and cryptic female choice in insects. Biol. Rev. 66,
458 1-31.
459

460 Eberhard WG, 1996. Female control: sexual selection by cryptic female choice. Princeton
461 University Press.
462

463 Eberhard WG, Cordero C, 1995. Sexual selection by cryptic female choice on male seminal
464 products – a new bridge between sexual selection and reproductive physiology. Trends Ecol.
465 Evol. 10, 493-496.
466

467 Farias GT, Cunningham RT, Nakagawa S, 1972. Reproduction in the Mediterranean fruit fly:
468 abundance of stored sperm affected by duration of copulation and affecting egg hatch. J.
469 Econ. Entomol. 65, 914-915.
470

471 Field SA, Yuval B, 1999. Nutricional status affects copula duration in the Mediterranean fruit
472 fly, *Ceratitis capitata* (Insecta: Tephritidae). Ethol. Ecol. Evol. 11, 61-70.
473

474 Field SA, Taylor PW, Yuval B, 1999. Source of variability in copula duration of Mediterranean
475 fruit flies. Entomol. Exp. Appl. 92, 271-276.
476

477 Fletcher, BS, 1989. Life history strategies of tephritid fruit flies. In: Fruit flies, their biology,
478 natural enemies and control. Ed. by Robinson AS, Hooper G. Elsevier Science Publishers
479 B.V. The Netherlands, 195-208.
480

481 García-González F, Gomendio M, 2003. A Field test of the intraspecific brood parasitism
482 hypothesis in the golden egg bug (*Phyllomorpha laciniata*) Behav. Ecol. Sociobiol. 57, 332-
483 339.

484

485 Gromko HM, Newport AME, Kortier MG, 1984. Sperm dependence of female receptivity to
486 remating in *Drosophila melanogaster*. Evol. 38, 1273-1283.

487

488 Gullan PJ, Cranston PS, 1996. The insects: an outline of entomology. London, Chapman &
489 Hall.

490

491 Hansen TF, Price DK, 1995. Good genes and old mates provide superior genes. J. Evol. Biol.
492 8, 759-778.

493

494 Hendrichs J, Hendrichs MA, 1990. Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in nature:
495 localization and diel pattern of feeding and other activities on fruiting and nonfruiting hosts
496 and nonhosts. Ann. Entomol. Soc. Amer. 83, 632-641.

497

498 Hendrichs J, Lauzon CR, Cooley SS, Prokopy RJ, 1994. Contribution of natural food sources
499 to adult longevity and fecundity of *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae). Ann. Entom.
500 Soc. Am. 86, 250-264.

501

502 Höglund J, Alatalo RV, 1995. Leks. Princeton University Press, Princeton.

503

504 Levine L, Asmussen M, Olvera O, Powell JR, de La Rosa VM, Salceda, VM, Gaso, MI,
505 Guzman J, Anderson WW, 1980. Population genetics of Mexican *Drosophila*. A high rate of

506 multiple insemination in a natural population of *Drosophila pseudoobscura*. Am. Naturalist
507 116, 493-503.

508

509 Jang EB, 1995. Effects of mating and accessory gland injections on olfactory-mediated
510 behavior in the female Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*. J. Insect Physiol. 41, 705-
511 710.

512

513 Jones TM, Elgar MA, 2004. The role of male age, sperm age and mating history on fecundity
514 and fertilization success in the hide beetle. Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 271, 1311-1318.

515

516 Kaspi R, Yuval B, 2000. Post-teneral protein feeding improves sexual competitiveness but
517 reduces longevity of mass reared sterile male Mediterranean fruit flies. Ann. Entomol. Soc.
518 Amer. 93, 949- 955.

519

520 Kokko H, Lindström J, 1996. Evolution of female preference for old mates. Proc. R. Soc.
521 Lond. B. Biol. Sci. B. 263, 1533-1538.

522

523 Kuba H, Ito Y, 1993. Remating inhibition in the melon fly *Bactrocera* (=Dacus) *cucurbitae*
524 (Diptera: Tephritidae): copulation with spermless males inhibits remating. J. Ethol. 11, 23-28.

525

526 Landolt PJ, Sivinski J, 1992. Effects of time of day, adult food, and host fruit on incidence of
527 calling by male Caribbean fruit flies (Diptera: Tephritidae). Environ. Entomol. 21, 381-387.

528

529 Maklakov AA, Kremer N, Arnqvist G, 2005. Adaptive male effects on female ageing in seed
530 beetles. Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 272, 2485-2489.

531 Malavasi A, Zucchi RA, Sugayama RL, 2000. Biogeografia, p. 93-98. In: Moscas-das-frutas
532 de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado. Ed by Malavazi A,
533 Zucchi RA. Ribeirão Preto, Holos Editora, 327.
534
535 McNeil JN, Delisle J, Cusson M, 1997. Regulation of pheromone production in Lepidoptera:
536 the need for an ecological perspective. p. 31-41. In Insect pheromone research: new
537 directions. Ed by Cardé RT, Minks AK, New York, Chapman Hall, 684.
538
539 Pai A, Yan G, 2002. Female mate choice in relation to heterozygosity in *Tribolium*
540 *castaneum*. J. Evol. Biol. 15, 1076– 1082.
541
542 Papadopoulos, NT, Katsonyannos, BI, Kouloussis, NA, Econopoulos A, Carey, JR, 1998.
543 Effect of male age, food, and time of Day on sexual calling incidence of wild and mass-reared
544 *Ceratitis capitata* males. Entomol. Exp. Appl. 89, 175-182.
545
546 Parker GA, 1970. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. Biol.
547 Rev. 45, 525–567.
548
549 Partridge L, Barton NH, 1993. Optimality, mutation and the evolution of ageing. Nature 362,
550 305-311.
551
552 Pitnick S, 1993. Operational sex ratios and sperm limitation in populations of *Drosophila*
553 *pachea*. Behav. Ecol. Sociobiol. 33, 383-391.
554

555 Prokopy RJ, Roitberg BD, 1984. Oraging behavior of true fluit flies. American Scientist. 2,
556 39-49.
557

558 Roriz AKP, 2010. Comparação do comportamento de corte entre machos de *Ceratitis capitata*
559 Wiedemann (Tephritidae: Ceratitidini) selvagens e criados em laboratório. Dissertação de
560 mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Biomonitoramento. Universidade
561 Federal da Bahia. Salvador-BA.
562

563 Saul SH, Tam SYT, McInnis DO, 1988. Relationship between sperm competition and
564 copulation duration in the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). Ann. Entomol. Soc.
565 Am. 81, 498-502.
566

567 Shelly TE, Ennelly SS, McInnis DO, 2002. Effect of adult diet on signaling activity, mate
568 attraction, and mating success in male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). Fla.
569 Entomol. 85, 150-155.
570

571 Shelly TE, Whittier TS, Kaneshiro KY, 1993. Behavioral responses of Mediterranean fruit
572 flies (Diptera: Tephritidae) to trimedlure baits: can leks be created artificially? Ann. Entomol.
573 Soc. Am. 86, 341-51.
574

575 Shelly TE, Whittier TS, Kaneshiro KY, 1994. Sterile insect release and the natural mating
576 system of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). Ann. Entomol.
577 Soc. Am. 87, 470-81.
578

579 Shelly TE, Whittier TS, 1997. Lek behavior of Insects. In: Mating Systems in Insects and
580 Anachnids. Ed by Choe JC, Crespi BJ, Cambridge University Press, Cambridge, 273-293.
581

582 Siva-Johy MT, Tsubaki Y, 1989. Variation in copulation duration in *Mnais pruinosa* Sels
583 (Odonata: Calopterygidae), 1: alternative mate-securing tactics and sperm precedence. Behav.
584 Ecol. Sociobiol. 24, 39-45.

585 Suter RB, Parkhill VS, 1990. Fitness Consequences of Prolonged Copulation in the Bowl and
586 Doily Spider. Behav. Ecol. Sociobiol. 26, 369-373.
587

588 Qazi BMC, 2003. A potential mechanism for cryptic female choice in a flour beetle. J. Evol.
589 Biol. 16, 170–176.
590

591 Ringo J, 1996. Sexual receptivity in insects. Annu. Rev. Entomol. 41, 473-494.
592

593 Rose MR, 1991. Evolutionary biology of ageing. Oxford University Press, New York and
594 Oxfor, New York, USA.
595

596 Simmons LW, 2001. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects.
597 Princeton University Press.
598

599 Taylor PW, Yuval B, 1999. Postcopulatory sexual selection in Mediterranean fruit flies:
600 advantages for large and protein-fed males. Anim. Behav. 58, 247-254.
601

602 Taylor PW, Kaspi R, Yuval B, 2000. Copula duration and sperm storage in Mediterranean
603 fruit flies from a wild population. Physiol. Entomol. 25, 94-99.

604 Thornhill R, 1986. Relative Parental Contribution of the Sexes to their Offspring and the
605 Operation of Sexual Selection. In: Evolution of Animal Behavior: Paleontological and Field
606 Approaches. Ed by Nitecki M, Mitchell J, Oxford: University Press, 113-136.
607

608 Trivers R, 1972. Parental Investment and Sexual Selection. In: Sexual Selection and the
609 Descent of Man 1871-1971. Ed by Campbell B, Los Angeles: Aldine Press, 136-179.
610

611 Warburg MS, Yuval B, 1997a. Circadian patterns of feeding and reproductive activities of
612 Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) on various hosts in Israel. Ann. Entomol. Soc.
613 Amer. 90, 487-495.
614

615 Warburg MS, YUVAL B, 1997b. Effects of energetic reserves on behavioral patterns of
616 Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). Oecol. 112, 314-319.
617

618 Wedell N, Wiklund C, Cook PA, 2002. Monandry and polyandry as alternative lifestyles in a
619 butterfly. Behav. Ecol. 13, 450-455.
620

621 Whittier TS, Kaneshiro KU, Prescott LD, 1992. Mating behavior of Mediterranean fruit flies
622 (Diptera: Tephritidae) in a natural environment. Ann. Entomol. Soc. Amer. 85, 214-218.
623

624 Whittier TS, Nam FY, Shelly TE, Kaneshiro KY, 1994. Males courtship success and female
625 discrimination in the Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). J. Insect Behav. 7, 159-
626 170.
627

628 Williams G, 1966. Adaptation and Natural Selection. Princeton: University Press.

629 Wolfner MF, 1997. Tokens of love: functions and regulation of *Drosophila* male accessory
630 gland products. Insect Biochem. Mol. Biol. 27, 179-192.
631

632 Yamagishi m, Tsubaki Y, 1990. Copulation duration and sperm transfer in the melon fly,
633 *Dacus cucurbitae* Coquillett (Diptera: Tephritidae). Appl. Ent. Zool. 254, 517-519.
634

635 Yuval B, S. Blay S, Kaspi R, 1996. Sperm transfer and storage in the Mediterranean fruit fly.
636 Ann. Entomol. Soc. Amer. 89, 486-492.
637

638 Yuval B, Kaspi R, Shloush S, Warburg M, 1997. Nutritional reserves regulate male
639 participation in Mediterranean fruit fly leks. Ecol. Entomol. 23, 211-215.
640

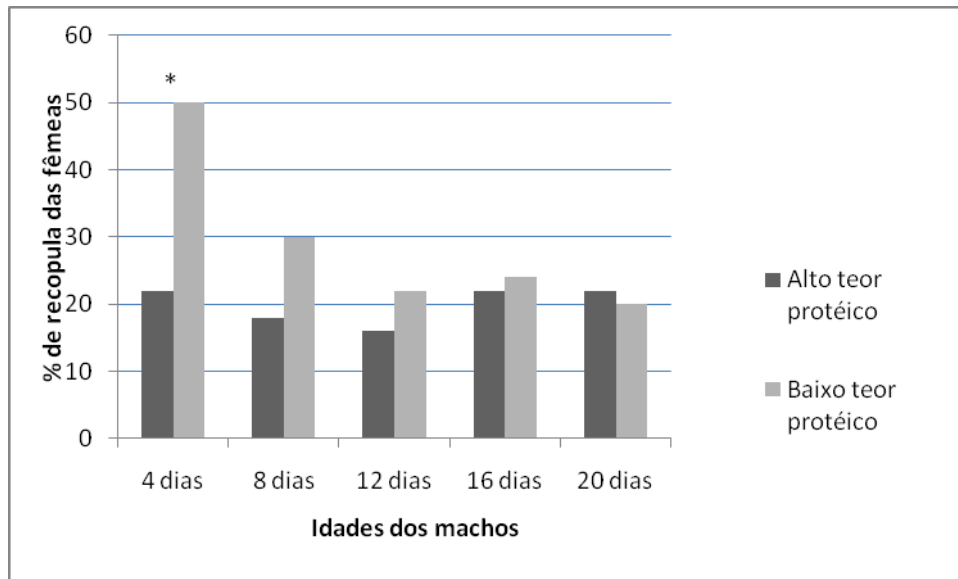
641 Yuval B, Hendrichs J, 2000. Behavior of fruit flies in the genus *Ceratitis* (Dacinae:
642 Ceratitidini). In: Fruit flies, phylogeny and evolution of behavior. Ed. by Aluja M, Norrbom
643 A, CRC Press, Boca Raton, Florida, 429-456.
644

645 Zucoloto, FS, Puschel S, Message CM, 1979. Valor nutritivo de algumas dietas artificiais para
646 *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae). Boletim de Zoologia. 4,75-80.
647

648 Zucoloto FS, 1987. Qualitative and quantitative competition for food in *Ceratitis capitata*.
649 Rev. Bras. Biol. 48, 523-526.
650
651
652
653

654 **Figuras**

655



656

657

658 Figura 1 – Influência da idade e da nutrição do macho na capacidade de inibir a
659 recópula da fêmea. Modelo log-linear, $\alpha=0,05$. N= 50 para cada idade e nutrição do macho.

660

661

662

663

664

665

666

667

668

669

670

671

672

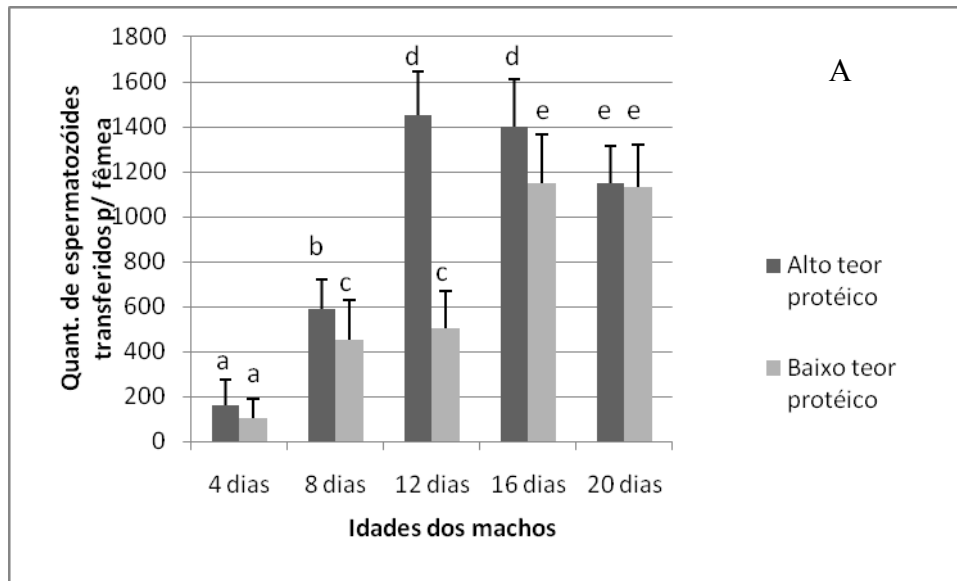
673

674

675

676

677



678

679

680

681

682

683

684

685

686

687

688

689

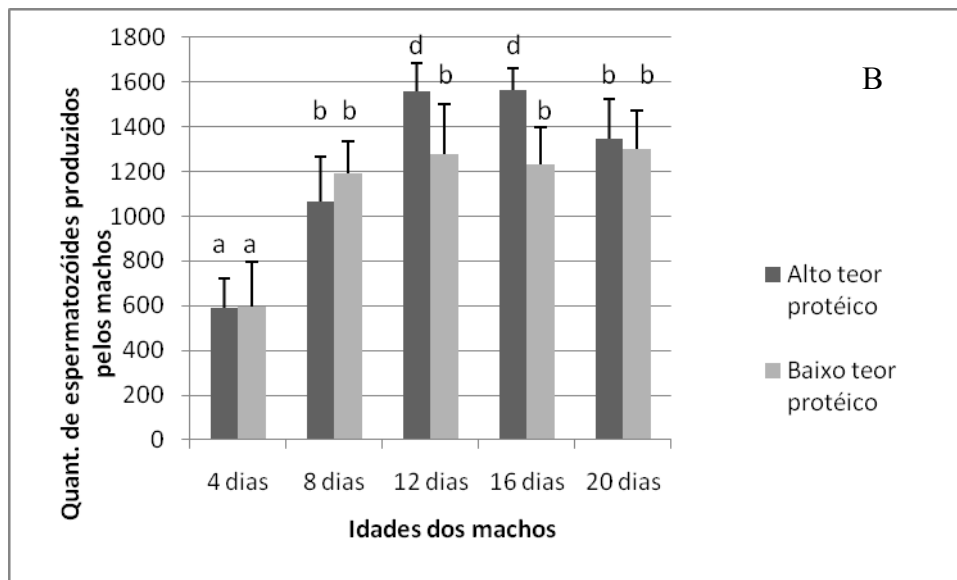
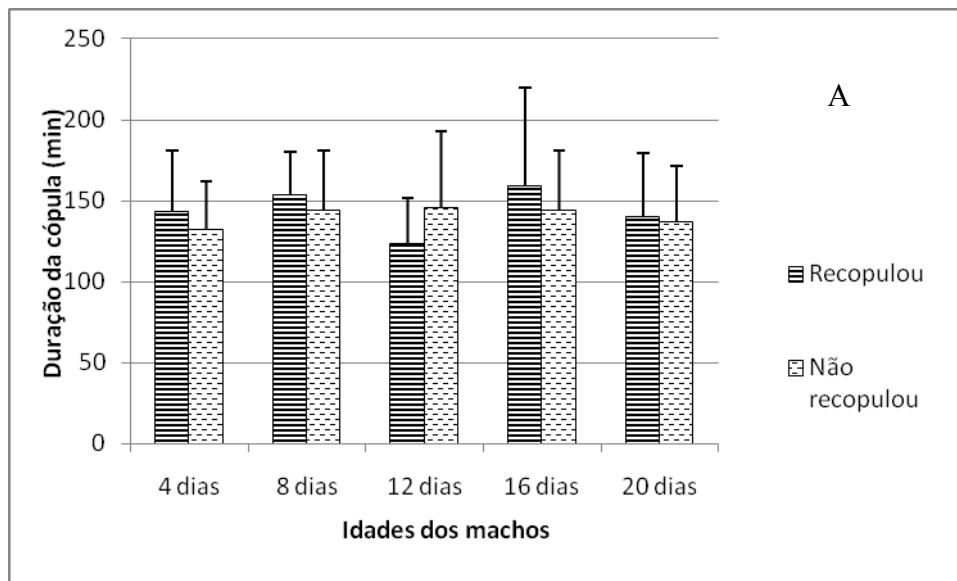
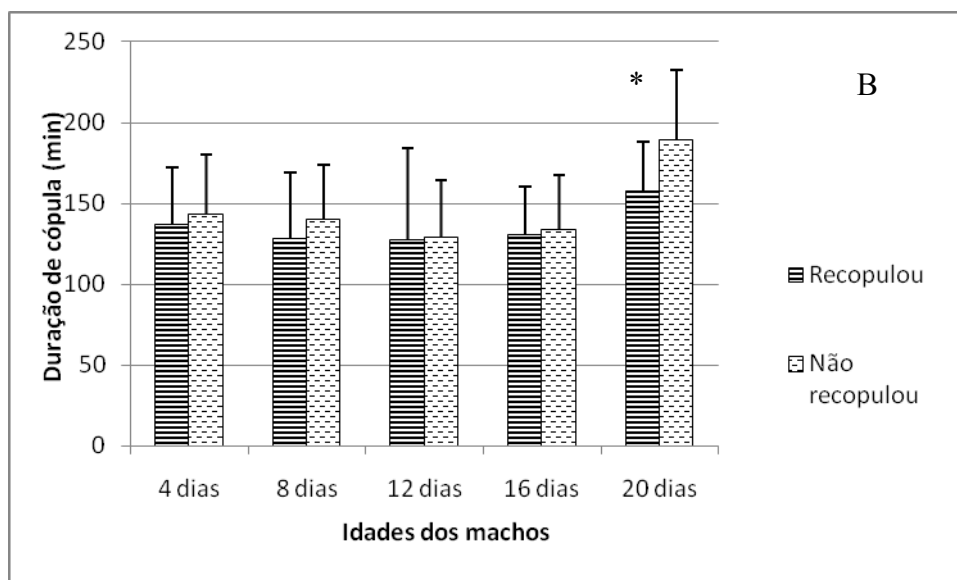


Figura 2 – Influência da idade e nutrição na quantidade de espermatozoides (A) transferidos para a fêmea e (B) produzidos pelos machos. Os dados representam as médias e os desvios-padrão de 20 repetições para cada macho teste. Barras seguidas de letras diferentes apresentam diferença estatística. Teste de análise de variância (ANOVA – two way), com teste de Turkey-Kramer para comparações multiplas com 5% de significância.

690



691



692

693

694

695

696

697

Figura 3 - Influência da idade dos machos alimentados com uma dieta com (A) alto teor proteico e (B) baixo teor proteico. Os dados representam as médias e os desvios-padrão de 50 repetições para cada macho teste. Teste de análise de variância (ANOVA – two way), com teste de Turkey-Kramer para comparações multiplas com 5% de significância.

Referências do texto de divulgação

Blay S, Yuval B, 1997. Nutritional correlates of reproductive success of male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Anim. Behav.* 54, 59-66.

Bloem K, Bloem S; Rizzo N, Chambers D, 1993. Female Medfly refractory period: effect of male reproductive status. In: *Fruit flies: biology and management*. Ed. By Aluja M, Liedo P, Springer, New York, 189-190.

Farias GT, Cunningham RT, Nakagawa S, 1972. Reproduction in the Mediterranean fruit fly: abundance of stored sperm affected by duration of copulation and affecting egg hatch. *J. Econ. Entomol.* 65, 914-915.

Field SA, Yuval B, 1999. Nutricional status affects copula duration in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Insecta: Tephritidae). *Ethol. Ecol. Evol.* 11, 61-70.

Field SA, Taylor PW, Yuval B, 1999. Source of variability in copula duration of Mediterranean fruit flies. *Entomol. Exp. Appl.* 92, 271-276.

Grafen A, 1990a. Biological signals as handicaps. *J. Theor. Biol.* 144, 517-546.

Grafen A, 1990b. Sexual selection unhandicapped by the Fisher process. *J. Theor. Biol.* 144, 473-516.

Hendrichs J, Lauzon CR, Cooley SS, Prokopy RJ, 1994. Contribution of natural food sources to adult longevity and fecundity of *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entom. Soc. Am.* 86, 250-264.

Malavasi A, Zucchi RA, Sugayama RL, 2000. Biogeografia, p. 93-98. In: Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado. Ed by Malavazi A, Zucchi RA. Ribeirão Preto, Holos Editora, 327.

Saul SH, Tam SYT, McInnis DO, 1988. Relationship between sperm competition and copulation duration in the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 81, 498-502.

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

Taylor PW, Kaspi R, Yuval B, 2000. Copula duration and sperm storage in Mediterranean fruit flies from a wild population. *Physiol. Entomol.* 25, 94-99.

Thornhill R, 1986. Relative Parental Contribution of the Sexes to their Offspring and the Operation of Sexual Selection. In: *Evolution of Animal Behavior: Paleontological and Field Approaches*. Ed by Nitecki M, Mitchell J, Oxford: University Press, 113-136.

Trivers R, 1972. Parental Investment and Sexual Selection. In: *Sexual Selection and the Descent of Man 1871-1971*. Ed by Campbell B, Los Angeles: Aldine Press, 136-179.

Journal of Applied Entomology

Edited by:
Stefan Vidal

Print ISSN: 0931-2048

Online ISSN: 1439-0418

Frequency: Nine times a year

Current Volume: 134 / 2010

ISI Journal Citation Reports® Ranking: 2008: 27/72 Entomology

Impact Factor: 1.111

TopAuthor Guidelines

Downloads: [Copyright Transfer](#)

1. General Scope

The *Journal of Applied Entomology* publishes original articles on current research in applied entomology, including mites and spiders in terrestrial ecosystems. Research on stored product pests will be also accepted. The language of publication is English. All manuscripts are evaluated in a peer-review process.

2. Pre-submission English-language editing

Authors, whose native language is not English, are requested to consult a native English speaker before submission of their manuscript. A list of independent suppliers of editing services can be found at http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp

All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

3. Recommendation of reviewers

Authors are requested to recommend at least 3 potential reviewers for their manuscript in the cover letter.

4. Manuscript Submission

Manuscripts have to be submitted electronically. Go to the *Journal of Applied Entomology* Manuscript Central site at <http://mc.manuscriptcentral.com/jappent>

and create an account. The submission must be done from the corresponding author's account.

For submission assistance, please contact:

Dr. Christine Denys

Journal of Applied Entomology

Editorial office (Managing Editor)
e-mail: cdenys1@gwdg.de

For technical problems when submitting your manuscript, please contact:

Journal of Applied Entomology Manuscript Central Support
e-mail: Support@ScholarOne.com
phone: (434) 817-2040 ext.167 USA

5. Types of Manuscripts

Original contributions
Short communications
Advances in methodology
Reviews
Perspectives
Book reviews

6. Manuscript Requirements

Manuscripts that do not strictly adhere to the instructions will not be accepted for further processing.

External form of the main text

Short communications and original articles must include Title, Short title (Running Head), Abstract, Keywords, Introduction, Material and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements, References, Tables and Figures.

Original articles should not exceed 6,000 words
Short communications should not exceed 1,500 words.

The manuscript has to be submitted as **Microsoft Word** or **Rich Text Format**.
The lines of the manuscript must be numbered consecutively throughout the entire manuscript.

Scientific names of genus, species, and subspecies should be formatted in italics.

The full name of species and subspecies must be used when first mentioned in a paper, and its abbreviation used thereafter.

Abbreviations must be explained in the text.

Authors are requested to use the International System of Units (SI, *Système International d'Unités*).

Manuscript title

Please limit the title to 16 words.

Manuscript short title

Please provide a short title (running head), a maximum of 8 words.

Abstract

The Abstract should refer to the main hypotheses and results and emphasize the key findings of the research, indicating the generality and applicability of the results.

The Abstract should not exceed 300 words.

Keywords

Provide a maximum of 7 key words to the abstract. Avoid overlap with the title.

References

References in Articles

We recommend the use of a tool such as [EndNote](#) or [Reference Manager](#) for reference management and formatting.

EndNote reference styles can be searched for here:

<http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>

Reference Manager reference styles can be searched for here:

<http://www.refman.com/support/rmstyles.asp>

Each reference should conform to the examples given below, with author names separated only by a comma as shown. Full stops should not be used in the forename initials. The name of a journal should be given in the abbreviated form, strictly following the codes given in <http://library.caltech.edu/reference/abbreviations/>

The References should be listed in alphabetical order according to the surname of the first author and should give the full title of the paper. Anonymous contributions should be cited at the beginning of the bibliography.

In the running text, citations should be made as in the following examples: Beroks and Bode (1999), or (Richter 1991, 1993; Starck and Schneider 2001). Up to two authors, give the names; for more than two authors, give the name of the first author followed by "et al."

a. From journals

Engels H, Sinha A, Schuphan I, Eber S, 2008. Small-scale dispersal of the European corn borer and its relevance for resistance management in Bt maize. *J. Appl. Entomol.* 132, 675-680.

b. From books or other non-serial publications

Chapman RF, 1998. *The insects - Structure and function*. 4th edition. Cambridge University Press, Cambridge.

c. From reference book contributions

Zlotkin E, 2001. Insecticides affecting voltage-gated ion channels. In: *Biochemical site of insecticide action and resistance*. Ed. by Ishaaya I, Springer, Berlin, Heidelberg, 43-76.

d. From unpublished work

Unpublished work should only be cited when it has been accepted for publication, and then together with the name of the journal in which it has been accepted.

Ciosi M, Toepfer S, Li H, Haye T, Kuhlmann U, Wang H, Siegfried B, Guillemaud T, 2008. European populations of *Diabrotica virgifera virgifera* are resistant to aldrin, but not to methyl-parathion. J. Appl. Entomol. (in press).

e. From websites

Beckleheimer J, 1994. How do you cite URLs in a bibliography? [WWW document]. URL <http://www.nrlssc.navy.mil/meta/bibliography.html>.

f. Online citation

Use the DOI (Digital Object Identifier) number.

Nestel D, Papadopoulos NT, Miranda Chueca MA, 2008. Current advances in the study of the ecology of fruit flies from Europe, Africa and the Middle. J. Appl. Entomol. DOI: 10.1111/j.1439-0418.2008.01378.x

Tables

Tables must be uploaded separately. Tables must be self-explanatory and accompanied by legends. Please number tables consecutively in the order in which they occur in the text. Tables should be created using the table function in MS Word. Please mark the position of the tables in the text.

Figures

Figures must be uploaded separately. Figure legends should be included with the main text of the manuscript, after the references.

Please number figures consecutively in the order in which they occur in the text. All figures must be provided in **Microsoft Word, Rich Text Format** or **JPEG**. Please mark the position of the figures in the text.

Line drawings should only be contour drawings without halftones (photo, shades of grey). Please do not use patterns; rough hatching is possible. Graphs with an x and y axis should not be enclosed in frames.

Colour figures (including photographs) must be accompanied by the [Colour Work Agreement](#) form (CWA). The cost for colour printing must be paid by the author.

Even if you want them to be printed in black/white you have to send the CWA!
Make sure that the quality of coloured figures is provided allowing black/white printing.

7. Copyright Assignment

Authors are required to assign the Copyright Transfer Agreement (CTA) to publish their paper to Wiley-Blackwell and the *Journal of Applied Entomology*. **Publication cannot proceed without a signed copy of this agreement** (Papers subject to government or Crown copyright are exempt from this requirement). Please download the [Copyright Transfer Agreement](#) here.

8. Proof correction and offprints

The corresponding author will receive proofs via e-mail as an Acrobat PDF file which should be reviewed and returned without delay using the resubmission instructions at <http://mc.manuscriptcentral.com/jappent>

The corresponding author will receive a pdf file as an offprint. Additional offprints can be ordered on the form attached to the proofs. Offprints ordered at a later date will be subject to an extra charge.

9. Book reviews

Book reviews are usually published in the fields of ecology and entomology. At the beginning of each book review, precise bibliographic details must be given in the following form: Family name, followed by the Christian name initials of the author of the book; the book's title; which edition (if not the first); place of publication; name of publisher; year of publication; number of pages, figures and tables; ISBN; binding and retail price.

10. Author Services

Online production tracking is now available for your article through Wiley-Blackwell's Author Services.

Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit <http://authorservices.wiley.com/bauthor> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

Last update: August 2009