

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade



Dissertação

Biologia de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) e de *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae) em frutos cítricos e sua relação com o pH em dieta artificial

Naymã Pinto Dias

Pelotas, 2015

Naymã Pinto Dias

Biologia de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) e de *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae) em frutos cítricos e sua relação com o pH em dieta artificial

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fitossanidade (área do conhecimento: Entomologia).

Orientador: Dr. Dori Edson Nava

Co-orientador: Dr. Mauro Silveira Garcia

Pelotas, 2015

Banca examinadora:

Dr. Dori Edson Nava (Orientador)

Dr. Anderson Dionei Grutzmacher

Dra. Gabriela Inés Diez-Rodríguez

Dra. Luiza Rodrigues Redaelli

À minha mãe, Mirta, pelo incentivo e amor,

DEDICO.

Agradecimentos

A Deus, por manter-me com esperança e direcionar-me sempre ao melhor caminho.

À minha família, especialmente à minha mãe, Mirta, por apoiar minhas escolhas e estar incondicionalmente ao meu lado.

Ao meu orientador, Dr. Dori Edson Nava, pela confiança, paciência e oportunidade de trabalhar sob sua orientação.

Ao Dr. Fernando Felisberto da Silva, por todas as contribuições que fez ao longo deste trabalho e principalmente por apoiar e incentivar minha vida acadêmica.

Ao Prof. Dr. Mauro Silveira Garcia, pela disponibilidade e co-orientação.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Fitossanidade (PPGFs) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) pelos ensinamentos.

Aos colegas de pós-graduação, Maria Victória Calvo Silvera, Juliete Maria Frighetto, Diandro Ricardo Barilli, Joatan Machado da Rosa, Marcelo Zanelato Nunes, Emily Silva Araújo, Isac Heres Lopes, Hussein Habbeb, Vitor Cezar Pacheco e Carlos Fernando Jairoce pelo convívio e experiências compartilhadas.

Aos colegas do Laboratório de Entomologia da Embrapa Clima Temperado, Sônia Poncio, Fernanda Appel Muller, Eduardo Valmorbida, Raul Borges Filho, Jose Cesar Lazzari, Vanessa Chevarria, Felipe Andreazza, Heitor Lisbôa, Cristiano Lima, Tiago Scheunemann, Bruna Martins da Rosa, Sandro Daniel Nornberg, Rafael da Silva Gonçalves, Martín Zanchett Groth e Jederson Borges por tornarem o dia-a-dia mais alegre e prazeroso e em especial aos colegas Giovani Smaniotto e Sabrina Ongaratto pelo auxílio para a realização dos experimentos.

Aos antigos colegas de laboratório e não menos importantes, Adrise Medeiros Nunes, Silvana Wachholz, Suelen Gonçalves Rodrigues, Marcelo Moreira, Francisco Canez, Helter Carlos, Anderson Bolzan, Roberta Manica Berto e a todos os amigos que tive a oportunidade de conhecer em Pelotas, obrigada por sempre torcerem por mim.

À pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Dra. Maria do Carmo Bassols Raseira, pela disponibilização do Laboratório de Fruticultura para realização de parte das análises químicas.

À secretária do PPGFs, Neide Ritter Quevedo, pelo sempre pronto atendimento e educação.

À Embrapa Clima Temperado pela disponibilização de estrutura.

Ao Grupo Citrusul, especialmente aos técnicos Toni Gonçalves e Vitor Grutzmacher, pela disponibilização das áreas de coleta e informações prestadas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa.

Resumo

DIAS, Naymã Pinto. **Biologia de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) e de *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae) em frutos cítricos e sua relação com o pH em dieta artificial.** 2015. 105f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

As moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) são consideradas um dos principais grupos de pragas na fruticultura mundial, merecendo destaque a mosca-das-frutas sul-americana, *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) e a mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824). O presente trabalho foi dividido em três artigos e teve como objetivos: (a) verificar a oviposição de *A. fraterculus* e de *C. capitata* em frutos cítricos e avaliar o desenvolvimento destas espécies em relação ao estágio de maturação de frutos de laranja; (b) determinar a relação da oviposição de ambas as espécies com a casca de frutos cítricos e (c) determinar a relação dos seus parâmetros biológicos com o pH em dieta artificial. Os experimentos foram realizados em condições controladas de temperatura ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$), umidade relativa do ar ($70 \pm 10\%$) e fotofase (12 horas). No primeiro artigo, frutos de laranja [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] 'Navelina', tangerineira (*C. reticulata* Blanco) 'Clemenules' e limoeiro [*C. limon* (L.)] 'Siciliano' foram expostos (com e sem chance de escolha) para as fêmeas, sendo avaliado o número de ovos. O desenvolvimento foi avaliado através da exposição de frutos de laranja 'Navelina' em quatro estágios de maturação (I – fruto com 5 cm de diâmetro, II – fruto com 6 a 7 cm de diâmetro, III – fruto na mudança de cor verde para amarela e IV – frutos com a casca amarelo-alaranjada) para as fêmeas, determinando-se os parâmetros biológicos das fases imaturas e adulta. No segundo artigo, frutos de laranja 'Navelina', tangerineira 'Clemenules', mamoeiro (*Carica papaya* L.) Solo 'Golden', mangueira (*Mangifera indica* L.) 'Tommy Atkins' e goiabeira (*Psidium guajava* L.) 'Paluma' foram expostos (sem chance de escolha) para as fêmeas, sendo avaliada a profundidade de inserção de cada ovo (mm) e a espessura da casca (mm) dos frutos. No último artigo, foram testadas dietas para criação de larvas: sem ácido clorídrico e com doses de 3; 6; 9; 12; 15 e 18 mL de ácido clorídrico, correspondendo aos valores médios de pH de 6,0; 5,0; 4,0; 3,0; 2,0; 1,5 e 1,0, respectivamente, avaliando-se os parâmetros biológicos das fases imaturas e adulta. Como resultados, foi verificado que o número de ovos colocados em laranja e tangerina para ambas as espécies de mosca-das-frutas, não diferiu significativamente, sendo que em limão não ocorreu oviposição. O desenvolvimento de ovo-adulto de *A. fraterculus* e *C. capitata* em laranjas 'Navelina' ocorreu somente no estágio IV e teve duração de 30,90 e 31,04 dias, respectivamente. Constatou-se que as duas espécies depositaram seus ovos no flavedo de laranja 'Navelina' e entre o flavedo e o albedo de tangerina.

‘Clemenules’. Por último, verificou-se que as dietas com pH abaixo de 4,0 afetaram o desenvolvimento das fases imaturas das duas espécies e retardaram o início da oviposição de *A. fraterculus*. Desta forma, foi possível concluir que: a) *A. fraterculus* e de *C. capitata* completam o ciclo biológico em frutos de laranjeira ‘Navelina’ em estágio IV, b) a oviposição destas espécies não está relacionada com a espessura da casca de frutos cítricos e c) dietas com pH abaixo de 4,0 afetam o desenvolvimento destes tefritídeos.

Palavras-chave: mosca-das-frutas sul-americana, mosca-do-mediterrâneo, citros, parâmetros biológicos, potencial hidrogeniônico.

Abstract

DIAS, Naymã Pinto. **Biology of *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) and *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae) in citrus fruits and its relation to artificial diet.** 2015. 105f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Fruit flies (Diptera: Tephritidae) are considered one of the main groups pests of world fruit culture, highlighting the South-American fruit fly, *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) and the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824). This work was divided into three papers with the objectives: (a) verify the oviposition of *A. fraterculus* and *C. capitata* in citrus fruits and evaluate the development of these species in relation to orange fruit maturity stage; (B) determine the relationship of the oviposition of both species with the peel of citrus fruits and (c) determine the relationship of their biological parameters with the pH in artificial diet. All experiments were performed in controlled conditions of temperature ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$), relative humidity ($70 \pm 10\%$) and photophase (12 h). In the first paper, fruits of 'Navelina' orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], 'Clemenules' tangerine (*C. reticulata* Blanco) and 'Siciliano' lemon [*C. limon* (L.)] were exposed (with and without choice) to females of *A. fraterculus* and *C. capitata* and the number of eggs was evaluated. The development was assessed by exposing fruits 'Navelina' orange in four maturity stages (I - fruit with 5 cm in diameter, II - fruit with 6-7 cm in diameter, III - fruit in green color changing to yellow and IV - fruit with yellow-orange peel) for females, determining the biological parameters of immature and adult stages. In the second paper, fruits of 'Navelina' orange, 'Clemenules' tangerine, Solo 'Golden' papaya (*Carica papaya* L.), 'Tommy Atkins' mango (*Mangifera indica* L.) and 'Paluma' guava (*Psidium guajava* L.) were exposed (without choice) for females, assessing the egg insertion depth (mm) and the peel thickness (mm) of the fruits. In the last paper, the diets were tested for rearing larvae: hydrochloric acid free, and doses of 3, 6, 9, 12, 15, and 18 mL of hydrochloric acid, corresponding to the average pH values of 6.0, 5.0, 4.0, 3.0, 2.0, 1.5, and 1.0, respectively, the biological parameters of the immature and adult stages were evaluated. As a result, it was found that the number of eggs laid in orange and tangerine by both species of fruit flies did not significant difference, and in lemon oviposition has not occurred. The development of egg-adult of *A. fraterculus* and *C. capitata* in 'Navelina' oranges occurred only in stage IV and lasted 30.90 and 31.04 days, respectively. The two species deposited their eggs in the flavedo of 'Navelina' orange and between the flavedo and albedo of 'Clemenules' tangerine. Finally, diets with a pH below 4.0 affected the development of immature stages of these species and slowed the beginning of oviposition of *A. fraterculus*. We conclude that: a) *A. fraterculus* and *C. capitata* complete their biological cycle in fruits of 'Navelina' orange in

stage IV, b) the oviposition of these species is not related to the thickness of citrus peel c) diets with pH below 4.0 affect the development of these tephritids.

Key words: South-American fruit fly, Mediterranean fruit fly, citrus, biological parameters, hydrogenionic potential.

Lista de figuras

Artigo 1

Figura 1. Ritmo diário de oviposição de fêmeas de *Anastrepha fraterculus* (A) e de *Ceratitis capitata* (B) obtido a partir de larvas mantidas em frutos de laranjeira 'Navelina'. Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas..... 51

Artigo 3

Figura 1. Ritmo diário de oviposição de fêmeas de *Anastrepha fraterculus* mantidas durante a fase larval em dieta artificial com diferentes doses de ácido clorídrico. Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas..... 95

Figura 2. Ritmo diário de oviposição de fêmeas de *Ceratitis capitata* mantidas durante a fase larval em dieta artificial com diferentes doses de ácido clorídrico. Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. 96

Figura 3. Curvas de sobrevivência de fêmeas (A) e de machos (B) de *Anastrepha fraterculus* mantidos durante a fase larval em dieta artificial com diferentes doses (mL) de ácido clorídrico (HCl). Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Médias identificadas com mesma letra não diferem significativamente entre si. 97

Figura 4. Curvas de sobrevivência de fêmeas (A) e de machos (B) de *Ceratitis capitata* mantidos durante a fase larval em dieta artificial com diferentes doses (mL) de ácido clorídrico (HCl). Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Médias identificadas com a mesma letra não diferem significativamente entre si. 98

Lista de tabelas

Artigo 1

Tabela 1. Número médio de ovos ($\pm$ desvio padrão) depositados por *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* em frutos cítricos oferecidos em conjunto. Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas..... 45

Tabela 2. Número médio de ovos ($\pm$ desvio padrão) depositados por *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* em frutos cítricos oferecidos em combinação por pares. Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas..... 46

Tabela 3. Análise da influência da presença de frutos de limoeiro ‘Siciliano’ na oviposição de *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata*, quando oferecidos em combinação com frutos de laranjeira ‘Navelina’ e tangerineira ‘Clemenules’.
..... 47

Tabela 4. Número médio de ovos ($\pm$ desvio padrão) depositados por *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* expostas a um só tipo de fruto cítrico. Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas..... 48

Tabela 5. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) de características físicas e químicas de frutos de laranjeira ‘Navelina’ e índice de infestação (IF) de *Anastrepha fraterculus* e de *Ceratitis capitata* em quatro estádios de maturação. Safra agrícola 2013/14. 49

Tabela 6. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) dos parâmetros biológicos de imaturos e de adultos de <i>Anastrepha fraterculus</i> e de <i>Ceratitis capitata</i> obtidos a partir de frutos de laranja 'Navelina' em estágio IV de desenvolvimento. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.	50
--	----

Artigo 2

Tabela 1. Valores de r (Pearson) da correlação linear e respectivo p-valor para as variáveis, profundidade de inserção de ovos (mm) e espessura da casca (mm), considerando 5000 simulações de reamostragem bootstrap, para frutos hospedeiros e duas espécies de mosca-das-frutas.	70
--	----

Tabela 2. Número de ovos e índice de inserção (<i>I</i>), obtido pela relação entre a profundidade de inserção de ovos (mm) e espessura da casca (mm) em cinco hospedeiros para <i>Anastrepha fraterculus</i> e <i>Ceratitis capitata</i> em condições de laboratório. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.....	71
--	----

Tabela 3. Índice de inserção (<i>I</i>) de <i>Anastrepha fraterculus</i> e <i>Ceratitis capitata</i> no flavedo (epicarpo) e albedo (mesocarpo) de frutos cítricos. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.....	72
---	----

Tabela 4. Número médio de ovos $\pm$ desvio padrão de <i>Anastrepha fraterculus</i> e <i>Ceratitis capitata</i> em substratos de tangerina 'Clemenules'. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.	73
---	----

Artigo 3

Tabela 1. Valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros biológicos de estágios imaturos de <i>Anastrepha fraterculus</i> mantidos em dieta artificial com diferentes doses (mL) de ácido clorídrico. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.	91
---	----

Tabela 2. Valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros biológicos de estágios imaturos de *Ceratitis capitata* mantidos em dieta artificial com diferentes doses de ácido clorídrico (mL). Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. 92

Tabela 3. Valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros biológicos de adultos de *Anastrepha fraterculus* mantidos durante a fase larval em dieta artificial com diferentes doses de ácido clorídrico. Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. 93

Tabela 4. Valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros biológicos de adultos de *Ceratitis capitata* mantidos durante a fase larval em dieta artificial com diferentes doses de ácido clorídrico. Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. 94

Sumário

1. Introdução geral	18
2. ARTIGO 1 - Oviposição de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) em frutos cítricos e desenvolvimento relacionado ao estágio de maturação de frutos de laranjeira.....	24
Resumo	24
Abstract	25
Introdução.....	26
Material e métodos	28
Resultados e discussão	34
Conclusões.....	39
Referências	39
3. ARTIGO 2 - Relação da oviposição de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) com a casca de frutos cítricos	53
Resumo	53
Abstract	54
Introdução.....	55
Material e métodos	57
Resultados e discussão	60
Conclusões.....	65
Referências	66
4. ARTIGO 3 - Biologia de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) relacionada ao pH em dieta artificial	75
Resumo	75
Abstract	76
Introdução.....	77
Material e métodos	79

Resultados e discussão	82
Conclusões	85
Referências	86
5. Considerações finais	99
6. Referências gerais	101

1. Introdução geral

A agricultura é considerada um dos pilares da economia brasileira, sendo a fruticultura uma das principais atividades agrícolas do País (BARROS et al., 2009). O Brasil ocupa atualmente o terceiro lugar no ranking mundial de produção de frutas frescas, com uma média de 40 milhões de toneladas produzidas ao ano. A área cultivada em 2013 atingiu 2,2 milhões de hectares, com destaque para a produção de laranja, banana, abacaxi, melancia e mamão (IBRAF, 2014).

Os fatores que contribuem para o desenvolvimento do setor frutícola no Brasil dizem respeito, principalmente, às condições climáticas favoráveis, bem como a disponibilidade de áreas para cultivo (AGRIANUAL, 2010). No entanto, apesar das condições adequadas para a produção de frutas no Brasil, sua participação no comércio internacional é de apenas 4% (CNA, 2014). Entre os fatores que limitam a exportação de frutas frescas destacam-se as barreiras quarentenárias impostas pelos países importadores. A fruticultura nacional enfrenta problemas fitossanitários decorrentes, principalmente, devido à ação de insetos-praga, os quais contribuem para o aumento das perdas tanto qualitativas como quantitativas (DUARTE; MALAVASI, 2000, FACHOLIBENDASSOLLI; UCHÔA-FERNANDES, 2006).

Entre os insetos que causam danos aos frutos, destacam-se as moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae). De acordo com a FAO (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura, 2014), mundialmente, os prejuízos causados por tefritídeos, anualmente totalizam US\$ 1,7 bilhão. Poucos insetos têm maior impacto no comércio internacional do que as moscas-das-frutas (IAEA, 2003). Os danos ocorrem devido à oviposição realizada nos frutos e o consequente desenvolvimento das larvas em seu interior. Além disso, a punctura feita pelas fêmeas e as galerias abertas pelas

larvas na polpa do fruto possibilitam a entrada de microrganismos fitopatogênicos (MULLER, 2013).

As espécies de moscas-das-frutas mais importantes economicamente no Brasil pertencem aos gêneros *Anastrepha* Schiner, com 115 espécies registradas e *Ceratitis* MacLeay, representado por uma única espécie introduzida, *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (ZUCCHI, 2008).

As espécies pertencentes ao gênero *Anastrepha* estão amplamente distribuídas no Brasil, e pelo menos uma espécie de hospedeiro é conhecida para 50% destas espécies. As principais espécies do gênero com importância agrícola são: *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830), *Anastrepha obliqua* (Macquart, 1835), *Anastrepha sororcula* Zucchi, 1979, *Anastrepha striata* Schiner, 1868, *Anastrepha zenildae* Zucchi, 1979, *Anastrepha serpentina* (Wiedemann, 1830) e *Anastrepha distincta* Greene, 1934. Já *C. capitata* foi introduzida no País em 1901, e atualmente está presente em 22 das 27 unidades federativas (ZUCCHI, 2008).

A espécie *A. fraterculus*, a mosca-das-frutas sul-americana, possui origem neotropical, e ocorre desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina (MALAVASI; ZUCCHI; SUGAYAMA, 2000). No Brasil esta espécie apresenta ampla distribuição geográfica e é considerada praga-chave de diversas frutíferas de interesse econômico nas regiões Sul e Sudeste. Além de possuir uma ampla distribuição geográfica, *A. fraterculus* está associada a 109 espécies de plantas hospedeiras em 27 famílias botânicas, multiplicando-se principalmente nas espécies de Myrtaceae (ZUCCHI, 2008).

A mosca-do-mediterrâneo, *C. capitata* é a espécie de maior importância econômica no âmbito mundial, encontrando-se distribuída em todas as áreas tropicais e subtropicais do mundo (ZUCCHI, 2000). No Brasil, *C. capitata* está presente em praticamente todos os estados, exceto Acre, Amapá, Amazonas, Roraima e Sergipe (ZUCCHI, 2008). Esta espécie foi detectada no início do século XX, no estado de São Paulo, em frutos de laranja [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] (Rutaceae) (IHERING, 1901). Desde essa data (1901), *C. capitata* se distribuiu por todo o território brasileiro, sendo mais comum nas regiões Sudeste, Sul e Nordeste do Brasil. A espécie está associada a 88 hospedeiros em 26 famílias botânicas (ZUCCHI, 2008).

No Rio Grande do Sul, *A. fraterculus* é a espécie predominante nas regiões Metropolitana, Sul e Serra (GATTELLI et al, 2008; NUNES et al., 2012; BORTOLI et al., 2013). Já *C. capitata* predomina na região da Fronteira Oeste do Estado, tanto em área urbana como rural (DIAS et al., 2013; DIAS; SILVA, 2014).

Dentre os principais hospedeiros de moscas-das-frutas no Sul do Brasil estão relacionadas as espécies nativas da América do Sul, pertencentes à família Myrtaceae; goiabeira [*Psidium guajava* (L.)], pitangueira [*Eugenia uniflora* (L.)] e araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) (SALLES, 1995; NUNES et al., 2012; BISOGNIN et al., 2013; PEREIRA-RÊGO, 2013). Já dentre as frutíferas exóticas pode-se citar as culturas do pessegueiro [*Prunus persica* (L.)], macieira (*Malus domestica* Borkh) (Rosaceae) e videira (*Vitis vinifera* L.) (Vitaceae) (GARCIA; CORSEUIL, 1998; ZANARDI et al., 2011; ZART; BOTTON; FERNANDES, 2011; DIAS; SILVA, 2014), com destaque para espécies do gênero *Citrus* L. (GATELLI et al., 2008; FOFONKA, 2006; SILVA et al., 2006; SILVA et al., 2007).

O gênero *Citrus* tem como centro de origem o continente asiático, porém encontra-se distribuído em várias regiões do mundo (AZEVEDO, 2007). Os citros pertencem à família Rutaceae, subfamília Aurantiodea, conforme as classificações de Swingle (1967) e de Tanaka (1977).

Os citros estão representados por diversas espécies de importância econômica, sendo as mais conhecidas, as laranjeiras doces [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], os limoeiros [*Citrus limon* (Linneaus)], as tangerineiras (*Citrus unshiu* Marcovitch; *Citrus clementina* Hort. ex. Tanaka; *Citrus deliciosa* Tanaka; *Citrus reticulata* Blanco, entre outras), e os pomeleiros (*Citrus paradisi* Macfadyen) (CARVALHO, 2003).

A citricultura é uma das atividades agroindustriais mais competitivas do País. O Brasil se mantém como o maior produtor mundial de citros desde o início da década de 90 e exporta mais da metade do volume mundial de suco concentrado de laranja (IBRAF, 2013). Os dados da safra de 2013 apontam o estado de São Paulo como o maior produtor, participando com 71% da produção de laranjas. O estado do Rio Grande do Sul apresenta-se na quinta colocação, onde a produção é destinada principalmente para o consumo de frutas frescas (IBGE, 2013).

Apesar de o gênero *Citrus* hospedar espécies de moscas-das-frutas, sua relação ainda é pouco estudada. Alguns autores relatam que as frutas cítricas apresentam mecanismos de resistência ao ataque de moscas-das-frutas (QUAYLE, 1914; BODENHEIMER, 1951). Uma das principais características dos citros associada à resistência seriam as suas propriedades físico-químicas (PAPACHRISTOS et al., 2008). Dentre as propriedades químicas, o pH destaca-se como um mecanismo de resistência contra a infestação de insetos. Baker et al. (1944); Greany et al. (1983) comentam que o pH dos frutos pode influenciar o comportamento de oviposição e sobrevivência larval de moscas-das-frutas, visto que, valores baixos de pH prejudicam microrganismos simbioses de tefritídeos, como bactérias do gênero *Wolbachia*.

Back e Pemberton (1915) sugeriram que a resistência oferecida pelo citros está relacionada, entre outros fatores, aos componentes das glândulas do óleo essencial presente nos frutos cítricos. Esses frutos apresentam-se divididos em duas frações distintas: o epicarpo ou flavedo e o mesocarpo; também denominado de albedo. No flavedo estão presentes as glândulas de óleo, caracterizadas por estruturas elevadas do epicarpo que contêm o óleo essencial específico de cada cultivar (TING; ROUSEFF, 1994). Essas glândulas, quando perfuradas liberam compostos que podem ser tóxicos para ovos e larvas de tefritídeos. O principal fator associado à mortalidade seriam os componentes voláteis, especialmente os monoterpenoides oxigenados tais como o citral (GREANY et al. 1983). Fato este verificado por Salvatore et al. (2007) para o óleo essencial de limão 'Siciliano'. O mesocarpo é constituído por uma camada de células esponjosas brancas, um tecido rico em celulose, pectinas e flavonoides, que envolve completamente o endocarpo (polpa do fruto) (BRIGATI, 2009). Juntos, o epicarpo (flavedo) e o mesocarpo (albedo) constituem a casca dos frutos (pericarpo) (TING; ROUSEFF, 1994). Dentre as propriedades físicas dos frutos, alguns autores relatam que as larvas recém-eclodidas têm dificuldade de atingir a polpa devido à elasticidade do albedo (mesocarpo) (BODENHEIMER, 1951; SPITLER et al., 1984).

Atualmente, o controle de *A. fraterculus* e *C. capitata* nos pomares comerciais vem sendo realizado com o uso de iscas tóxicas e aplicações de inseticidas em cobertura, principalmente organofosforados (KOVALESKI,

2010). No entanto, apesar da eficiência esses inseticidas caracterizam-se por apresentar elevada toxicidade, baixa seletividade aos inimigos naturais e grande período de carência, levando a uma preocupação crescente sobre os efeitos dos resíduos nos alimentos e no ambiente (SALLES, 1998).

Alternativas para o manejo de moscas-das-frutas foram introduzidas no país nos últimos anos. São exemplos o feromônio sexual, a liberação de machos estéreis e a utilização do controle biológico, sendo que os dois primeiros métodos se referem ao manejo de *C. capitata* (CARVALHO; NASCIMENTO, 2002).

O conhecimento da relação do inseto-praga com seus principais hospedeiros torna-se imprescindível para a busca de alternativas de controle, uma vez que o hospedeiro pode influenciar diversos parâmetros do ciclo de vida de tefritídeos, como a duração dos estágios imaturos e tamanho de adultos (SUGAYAMA, 1995; CANGUSSU, ZUCOLOTO, 1997; KOVALESKI, 2010). Entretanto, existem poucos estudos sobre o desenvolvimento de moscas-das-frutas em frutos cítricos (BODENHEIMER, 1951; SAMPAIO et al., 1984; JOAQUIM-BRAVO et al., 2010).

Desse modo, o objetivo deste trabalho foi: a) foi verificar a oviposição de *A. fraterculus* e de *C. capitata* em frutos de laranjeira [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] cultivar Navelina, tangerineira (*C. reticulata* Blanco) cultivar Clemenules e limoeiro [*C. limon* (L.)] cultivar Siciliano, bem como avaliar o desenvolvimento destas espécies relacionado ao estágio de maturação de frutos de laranjeira 'Navelina', em laboratório; b) determinar a relação da oviposição de *A. fraterculus* e de *C. capitata* com a espessura da casca de frutos cítricos e com o mesocarpo de frutos de tangerineira 'Clemenules' e c) determinar a relação dos parâmetros biológicos de *A. fraterculus* e de *C. capitata* com o pH em dieta artificial, em função da alteração da dose de ácido clorídrico.

ARTIGO 1 – Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB)

2. Artigo 1

Oviposição de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) em frutos cítricos e desenvolvimento relacionado ao estágio de maturação de frutos de laranjeira

Naymã Pinto Dias⁽¹⁾, Sabrina Ongaratto⁽¹⁾, Mauro Silveira Garcia⁽¹⁾ e Dori Edson Nava⁽²⁾

⁽¹⁾Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” (FAEM), Departamento de Fitossanidade, Caixa Postal 354, CEP 96900-010, Capão do Leão, RS, Brasil. E-mail: nayma.dias@gmail.com, sabrina.ongaratto@hotmail.com, garciasmauro@yahoo.com.br.

⁽²⁾Embrapa Clima Temperado, BR 392, KM 78, Caixa Postal 403, CEP 96001-970, Pelotas, RS, Brasil. E-mail: dori.edson-nava@embrapa.br.

Resumo – As moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) são consideradas um dos principais grupos de pragas na fruticultura mundial. O objetivo deste trabalho foi verificar a oviposição de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) e de *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) em frutos cítricos e avaliar o desenvolvimento destas espécies em relação ao estágio de maturação de frutos de laranjeira. Os experimentos foram realizados em condições controladas de temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade relativa

do ar ($70 \pm 10\%$) e fotofase (12 horas). A oviposição foi avaliada através da exposição (com e sem chance de escolha) de frutos de laranja [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] cultivar Navelina, tangerineira (*C. reticulata* Blanco) cultivar Clemenules e limoeiro [*C. limon* (L.)] cultivar Siciliano. O desenvolvimento foi estudado através da exposição de frutos de laranja ‘Navelina’ em quatro estádios (I: 5 cm de diâmetro, II: 6-7 cm de diâmetro, III: casca com mudança de coloração e IV: casca amarelo-alaranjada). Para o experimento de oviposição, foi avaliado o número de ovos e para o de desenvolvimento determinou-se os parâmetros biológicos das fases imaturas e adulta. O número de ovos colocados em laranja e tangerina para ambas as espécies de mosca-das-frutas, não diferiu significativamente, sendo que em limão não ocorreu oviposição. *A. fraterculus* preferiu ovipositar em frutos de tangerineira, enquanto *C. capitata* apresentou preferência por frutos de laranja. O desenvolvimento de ovo-adulto de *A. fraterculus* e *C. capitata* em laranjas ‘Navelina’ ocorreu somente no estágio IV e teve duração de 30,90 e 31,04 dias, respectivamente. Fêmeas de *A. fraterculus* e de *C. capitata* oriundas de frutos deste estágio colocaram em média 378,7 e 183,5 ovos. Assim, ambas as espécies completam o ciclo biológico em frutos de laranja ‘Navelina’ em estágio IV.

Termos para indexação: *Anastrepha fraterculus*, *Ceratitis capitata*, citros, biologia.

Oviposition of fruit flies (Diptera: Tephritidae) in citrus fruits and development related to maturity stage of fruits orange

Abstract – Fruit flies (Diptera: Tephritidae) are considered one of the main groups pests of world fruitculture. The object of this work was to verify the oviposition of *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) and *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) in citrus fruits and evaluate the development related to orange fruit maturity stage. The

experiments were conducted under controlled conditions of temperature ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), relative humidity ($70 \pm 10\%$) and photoperiod (12 h). The oviposition was evaluated by exposure (with and without choice) of ‘Navelina’ orange fruits [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], ‘Clemenules’ tangerine (*C. reticulata* Blanco) and ‘Siciliano’ lemon [*C. limon* (L.)]. The development was studied by exposure of fruits ‘Navelina’ orange in four stages (I: diameter 5 cm, II: 6-7 cm in diameter, III: peel in the color changing and IV: yellow-orange peel). For the experiment of oviposition, was evaluated the number of eggs and the development was determined biological parameters for the immature and adult stages. The number of eggs laid in orange and tangerine for both species of fruit fly, did not significant difference, and in lemon oviposition did not occur. *A. fraterculus* preferred to lay eggs on tangerine fruits, while *C. capitata* preferred orange fruits. The development of egg-adult of *A. fraterculus* and *C. capitata* in ‘Navelina’ oranges occurred only in stage IV and lasted was 30.90 and 31.04 days, respectively. Females of *A. fraterculus* and *C. capitata* derived of this fruits stage placed on average 378.7 and 183.5 eggs. Thus, both species of fruit flies complete their biological cycle in fruits of ‘Navelina’ orange in maturity stage IV.

Indexation term: *Anastrepha fraterculus*, *Ceratitis capitata*, citrus, biology.

Introdução

As moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) são consideradas uma ameaça para a fruticultura mundial, em função dos prejuízos causados pela alimentação das larvas nos frutos e pelas restrições quarentenárias impostas por países importadores (Ruiz et al., 2014). No Sul do Brasil, as duas principais espécies com importância agrícola são *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) e *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Nava & Botton, 2010). As perdas econômicas em citros podem ser de até 20% quando

os pomares são infestados por *A. fraterculus* (Silva et al., 2014). Para *C. capitata*, as perdas econômicas ainda não foram estabelecidas para o sul do Brasil, mas pode-se estimar um dano de cerca de 7,5% da produção, se comparado às perdas que ocorrem nos pomares de citros de São Paulo (Paiva & Parra, 2013).

A mosca-das-frutas sul-americana, *A. fraterculus* é nativa da América do Sul e está restrita a áreas tropicais e subtropicais, infestando 109 espécies de plantas no Brasil (Zucchi, 2008). Já a mosca-do-mediterrâneo, *C. capitata* tem origem no continente africano e está distribuída por todo o mundo, com uma gama de hospedeiros de 88 frutíferas no País (Zucchi, 2008; Peñarrubia-María et al., 2014).

Em insetos fitófagos holometábolos, um dos eventos mais importantes no ciclo de vida é a seleção de um sítio adequado para oviposição (Segura et al., 2007). A escolha do hospedeiro é fundamental para a sobrevivência e sucesso da prole, já que as larvas possuem pouca mobilidade e dependem dos recursos nutricionais selecionados pelas fêmeas no momento da postura (Ioannou et al., 2012).

Frequentemente, a aceitação ou não de uma planta potencialmente hospedeira é determinada após o contato do inseto com a mesma. Na busca e discriminação do hospedeiro, os insetos podem utilizar estímulos físicos; como textura, cor, forma e tamanho e químicos; como nutrientes, conteúdo de água, substâncias atrativas e repelentes (López-Guillén et al., 2010).

A gama de hospedeiros de tefritídeos está associada com o grau específico de respostas químicas e físicas das plantas. Espécies monófagas e oligófagas respondem a um conjunto restrito de estímulos voláteis e visuais, quando comparado a espécies polífagas (Díaz-Fleischer et al., 2000). Embora essa diferenciação possa conferir vantagem a este último grupo, a seleção hospedeira não ocorre sem qualquer custo, visto que é comum para as fêmeas altamente polífagas depositar ovos em espécies

frutíferas que suportam um baixo desempenho larval (Aluja & Mangan, 2008). Um exemplo típico deste caso é *C. capitata*, considerada uma das pragas cosmopolitas mais notórias, infestando cerca de 300 frutíferas, incluindo espécies de *Citrus* (Peñarrubia-María et al., 2014).

A cultura dos citros é infestada naturalmente por moscas-das-frutas, ainda que o nível de infestação varie de acordo com a cultivar, localização do pomar e condições climáticas (Ruiz et al., 2014; Silva et al., 2014). No entanto, estas frutíferas apresentam mecanismos que afetam o desenvolvimento e a reprodução de tefritídeos (Aluja & Mangan, 2008). Uma destes mecanismos diz respeito às propriedades físico-químicas dos frutos (Papachristos et al., 2008). Entretanto, apesar da importância de hospedeiros cítricos na ocorrência de tefritídeos, sua relação ainda é pouco estudada.

Diante disto, sabendo que as características físico-químicas do fruto hospedeiro são modificadas de acordo com a sua fase de maturação e que constituem fatores que podem atuar na infestação por moscas-das-frutas, o objetivo deste trabalho foi verificar a oviposição de *A. fraterculus* e de *C. capitata* em frutos de laranjeira [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] cultivar Navelina, tangerineira (*C. reticulata* Blanco) cultivar Clemenules e limoeiro [*C. limon* (L.)] cultivar Siciliano, bem como avaliar o desenvolvimento destas espécies relacionado ao estágio de maturação de frutos de laranjeira ‘Navelina’, em condições de laboratório.

Material e métodos

Criação de *A. fraterculus* e de *C. capitata*. As criações e os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia da Embrapa Clima Temperado (Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil), em salas climatizadas, com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. A criação de *A. fraterculus* foi

realizada em frutos de mangueira [*Mangifera indica* L. (Anacardiaceae)] e a de *C. capitata* em frutos de mamoeiro [*Carica papaya* L. (Caricaceae)].

Os frutos foram oferecidos às moscas para a oviposição em gaiolas de madeira (50 x 50 x 40 cm), por um período de 24 horas. Em seguida, os frutos foram acondicionados em recipientes plásticos (11 x 12 x 19 cm) contendo uma camada de vermiculita de textura fina e cobertos com TNT (tecido não tecido). Por ocasião da pupação, os insetos foram transferidos para placas de Petri (10 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura) contendo vermiculita umedecida, onde permaneceram até a emergência. Os adultos foram mantidos em gaiolas de madeira (50 x 50 x 40 cm) revestidas com tecido *voile* e para a alimentação foi oferecida uma dieta sólida composta de açúcar, germe de trigo e levedura na proporção de 3:1:1 em recipiente plástico (50 mL). Em recipiente semelhante foi disponibilizada água destilada por capilaridade através de pano esponja vegetal (Spontex™). A exposição da água e da dieta foi realizada da mesma forma para os experimentos detalhados a seguir.

Obtenção dos frutos. Foram utilizados frutos de laranjeira ‘Navelina’, tangerineira ‘Clemenules’ e de limoeiro ‘Siciliano’, obtidos de pomares comerciais localizados no município de Rosário do Sul (Rio Grande do Sul, Brasil) (30°06’4.00’’ S, 54°43’2.01’’ O e 30°09’4.63’’ S, 55°12’17.89’’ O).

Para os experimentos de oviposição, foram coletados frutos maduros, próximos ao período de colheita. Os frutos foram protegidos 45 dias antes das coletas, utilizando gaiolas de arame (1,20 m² de comprimento x 0.45 m² de altura), envoltas com tecido *voile* (1,80 m² de comprimento x 0.50 m² de altura) e fixadas aos ramos pelas extremidades. Para a caracterização dos estádios de maturação e os experimentos de desenvolvimento, foram coletados frutos de laranjeira ‘Navelina’.

Oviposição em frutos cítricos com chance de escolha. Foram oferecidos às fêmeas três tipos de frutos, ofertados em conjunto e combinados em pares, por um período de 24 horas. Foram ofertados em conjunto, frutos de laranjeira ‘Navelina’, tangerineira ‘Clemenules’ e limoeiro ‘Siciliano’, utilizando dez gaiolas (24 x 12 x 17 cm), onde foram colocadas 30 fêmeas de 15 dias de idade e exposto um fruto de cada hospedeiro. As combinações estudadas foram laranja x tangerina; laranja x limão e tangerina x limão. Para isso, foram utilizadas dez gaiolas (24 x 12 x 17 cm) para cada combinação, onde foram colocadas 20 fêmeas de 15 dias de idade em cada gaiola. Após 24 horas, os frutos foram retirados, cortados com auxílio de bisturi e analisados em microscópio estereoscópio (Zeiss, modelo Stemi SV 11, aumento de 10x) para a contagem dos ovos.

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos (laranja, tangerina e limão) e dez repetições (gaiolas), quando os frutos foram expostos em conjunto, e em blocos ao acaso com três tratamentos [(1)laranja x tangerina, (2)laranja x limão e (3)tangerina x limão] e dez repetições (gaiolas), quando os frutos foram expostos em combinações por pares.

O número médio de ovos nos frutos oferecidos em conjunto e em pares foram verificados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk ($P \leq 0,05$) (Shapiro & Wilk, 1965) e após, procedeu-se a análise para detecção de valores extremos (*outliers*) baseado nos desvios. As médias do número de ovos para os frutos oferecidos em conjunto foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). As médias do número de ovos para cada fruto dentro de cada combinação foram normalizadas através da transformação $\sqrt{x + 0,5}$ e após, comparadas entre si pelo teste t de Student bilateral ($P \leq 0,05$), comparando-se também a influência da presença do limão dentro de cada combinação.

Oviposição em frutos cítricos sem chance de escolha. Foram ofertados 10 frutos de cada hospedeiro (laranjeira ‘Navelina, tangerineira ‘Clemenules’ e limoeiro ‘Siciliano’), em gaiolas de madeira (50 x 50 x 40 cm) para cada espécie de mosca-das-frutas, por um período de 24 horas. Cada gaiola continha 100 fêmeas com 15 dias de idade. Para a contagem dos ovos seguiu-se o mesmo procedimento realizado no experimento com chance de escolha.

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos (laranja, tangerina e limão) e dez repetições (fruto). O número médio de ovos nos diferentes hospedeiros foi testado quanto à normalidade e detecção de valores extremos conforme descrito anteriormente. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Todas as análises foram realizadas com auxílio do programa estatístico BioEstat 5.3 (Ayres et al, 2007).

Caracterização dos estádios de maturação. Após a floração da laranjeira ‘Navelina’, durante a safra 2013/14, foi acompanhado o desenvolvimento dos frutos visando caracterizar quatro estádios, definidos a partir das características físicas e químicas dos mesmos, utilizando a metodologia adaptada de Agustí et al. (1995).

Foram utilizadas seis plantas, coletando-se dez frutos/planta a cada 15 dias, durante todo o período de frutificação. As plantas foram marcadas por meio de fitas brancas de TNT, fixadas aos ramos e os frutos foram ensacados com gaiolas de arame, conforme metodologia descrita na obtenção dos frutos. Os quatro estádios de maturação foram definidos como: I – fruto com aproximadamente 5,0 cm de diâmetro (fruto com $\frac{3}{4}$ do tamanho final), II – fruto com 6,0 a 7,0 cm de diâmetro (fruto verde próximo ao tamanho final), III – fruto na mudança de cor verde para amarela e IV – final da maturação, onde os frutos apresentam toda casca com coloração amarelo-alaranjada [relação entre sólidos solúveis totais (SST) e acidez total titulável (ATT) ≥ 20].

Para as análises físicas e químicas foram utilizadas amostras de 10 frutos para cada estágio. Na análise física foi determinado o peso (g) e diâmetro dos frutos (cm) e espessura da casca (mm). O peso dos frutos foi obtido em balança semi-analítica (Shimadzu do Brasil, modelo BL 3200H). O diâmetro dos frutos e a espessura da casca foram obtidos a partir da medição em paquímetro digital (Shainless®, modelo Hardened). Nas análises químicas foram determinados: o potencial hidrogeniônico (pH), os sólidos solúveis totais (SST) e a acidez total titulável (ATT), sendo todas as análises feitas em triplicata. O pH foi determinado por meio de peagâmetro digital (Phtek, modelo PHS 3B com eletrodo Ruosull E-900). Nesta análise efetuou-se a medição do pH em amostras de suco, obtidas em microprocessador (Philips Walita, modelo RI7620). Os sólidos solúveis totais foram determinados a partir da amostra de suco dos frutos, utilizando-se um refratômetro digital (Biobrix, modelo 106-D) com compensação de temperatura automática, expressando os resultados em °Brix. A acidez total titulável (ATT) do suco foi determinada por titulometria com solução de NaOH 0,1 N e indicador fenolfetaleína. Os resultados da ATT foram expressos em porcentagem de ácido cítrico, utilizando a seguinte fórmula $\left(\frac{Vg \times N \times f \times Eq.Ac.}{10 \times Va}\right)$, onde Vg: volume de NaOH gasto na titulação (mL); N: normalidade da solução de NaOH utilizada (0,1 N); f: fator de correção obtido para padronização do NaOH = 1,00; Eq. Ac.: equivalente grama do ácido cítrico (64,04) e Va: volume da amostra (1 mL). O índice de maturação ou *ratio* foi calculado pela relação SST/ATT.

Desenvolvimento de *A. fraterculus* e de *C. capitata*. Foram coletados 120 frutos de laranjeira ‘Navelina’ para cada estágio de maturação, sendo utilizados 60 frutos para cada espécie de mosca-das-frutas. Os frutos foram ofertados as fêmeas em gaiolas de madeira (50 x 50 x 40 cm). Foram utilizadas seis gaiolas para cada espécie, contendo 100 fêmeas com 15 dias de idade. Em cada gaiola foram expostos 10 frutos, por um

período de 24 horas. Após, os frutos foram individualizados em recipientes plásticos (10 x 8,5 cm), sobre uma camada de vermiculita de textura fina. Os recipientes foram fechados com TNT e amarrados com atilho de borracha. Após o décimo dia, os frutos foram revisados diariamente para a retirada dos pupários. Estes foram pesados em balança analítica de precisão (Shimadzu do Brasil, modelo AUY 220) 24 horas após serem coletados e em seguida individualizados em tubos de acrílico (2,5 x 4,8 x 2,5 cm), contendo vermiculita de textura fina e úmida, onde permaneceram até a emergência. Assim, determinou-se o peso de pupários, a duração e a viabilidade do estágio de pupa.

Após a emergência foi determinada a razão sexual (rs) e individualizaram-se 25 casais em gaiolas feitas com copos plástico transparente (500 mL), possuindo na parte superior orifícios de 6 mm de diâmetro. Os casais foram alimentados com dieta sólida conforme descrito para criação de manutenção, disponibilizada em recipientes de acrílico (10 mL). Também foi fornecida água por capilaridade em recipientes de acrílico (10 mL), por meio de roletes de algodão hidrófilo.

A fecundidade foi determinada por meio da utilização de substrato artificial de oviposição, conforme metodologia descrita por Salles (1992). Este substrato foi oferecido às fêmeas de *A. fraterculus* e de *C. capitata* e substituídos diariamente. Foram realizadas observações diárias para registrar o número de ovos e a mortalidade, visando determinar os períodos de pré-oviposição e oviposição, a fecundidade e a longevidade de machos e fêmeas.

Para a avaliação da fertilidade foram retirados, dos substratos artificiais, 30 ovos da segunda postura de cada fêmea. Os ovos foram retirados com auxílio de uma lâmina cirúrgica e pincel, e colocados sobre papel filtro previamente disposto sobre pano esponja vegetal umedecido, no interior de placas de Petri, envoltas com filme de PVC,

as quais foram mantidas em câmara climatizada (25°C) até a eclosão, onde foi registrado o número de larvas.

O experimento foi conduzido no delineamento em blocos ao acaso com quatro tratamentos (estádios de maturação) e 60 repetições (frutos). Para a biologia das duas espécies de mosca-das-frutas foram utilizadas 25 repetições, sendo cada uma, constituída por um casal. Os dados foram analisados pela estatística descritiva, obtendo-se a média, o desvio-padrão, o intervalo e o coeficiente de variação, através do programa estatístico Bioestat 5.3 (Ayres et al., 2007).

Os dados de longevidade de machos e fêmeas foram analisados por meio do programa estatístico JMP 5.0.1 (SAS, 2002), utilizando a técnica de análise de sobrevivência. Foram determinadas as curvas de sobrevivência de cada espécie de mosca-das-frutas, considerando o estimador de Kaplan-Meier e estas comparadas por meio do teste de Log-rank (Francis et al., 1993).

Resultados e discussão

Quando os frutos foram oferecidos em conjunto (com chance de escolha), verificou-se que *A. fraterculus* preferiu ovipositar em frutos de tangerineira e *C. capitata* em frutos de laranjeira. Em frutos de limoeiro não houve oviposição, por ambas as espécies (Tabela 1). Este comportamento repetiu-se quando os frutos foram oferecidos em pares (Tabela 2).

Quando analisada a influência da presença do limão nas combinações, tanto para laranja ($P = 0,4970$) como para tangerina ($P = 0,6633$) não houve diferença significativa no número de ovos de *A. fraterculus*, indicando não haver esta influência na escolha do fruto por esta espécie (Tabela 3). Para *C. capitata*, verificou-se que em laranja houve maior oviposição quando este fruto foi oferecido em combinação com limão ($P =$

0,0336) (Tabela 3), parecendo haver um estímulo para oviposição em laranja quando oferecida juntamente com limão. Considerando que a frutificação de laranjeira ‘Navelina’ e de limoeiro ‘Siciliano’ ocorre no mesmo período (fevereiro a julho), pode haver a maior probabilidade de oviposição em laranja, quando estas cultivares cítricas são encontradas na mesma área. López-Guillén et al. (2010) mencionam que a escolha do hospedeiro é influenciada por estímulos químicos e visuais. Desta forma, as fêmeas de *C. capitata* podem ter identificado compostos inadequados para o desenvolvimento dos seus descendentes em frutos de limoeiro ‘Siciliano’. Salvatore et al. (2007) verificaram que os compostos citral, cumarina e linalol, presentes em frutos desta cultivar, apresentaram toxicidade para larvas de *C. capitata*.

A preferência de *A. fraterculus* por frutos de tangerineira foi relatada por Aluja et al. (2003). Os autores verificaram que a infestação de *A. fraterculus* em frutos de laranjeira não gerou indivíduos viáveis. Para *C. capitata*, Staub et al. (2008) verificaram que laranjas ‘Valência’ foram mais suscetíveis a este tefritídeos, que tangerina ‘Imperial’ e limão ‘Siciliano’, corroborando os resultados obtidos no presente trabalho para cultivares do mesmo grupo.

A preferência das fêmeas de tefritídeos por frutos de laranjeira e tangerineira pode estar relacionada com a hipótese de que o desempenho do imaturo prediz a escolha do hospedeiro adequado pelo adulto. Deste modo, a fêmea estaria maximizando sua aptidão ao ovipositar em hospedeiros que otimizam a performance da larva (Nufio & Papaj, 2004), conforme descrito por Emlen (1966) na “teoria do forrageamento ótimo”. Esta teoria apresenta a hipótese de que indivíduos que forrageiam otimamente são mais prováveis de deixarem mais descendentes do que os que não o fazem (Goodenough et al., 2001). A evolução das relações inseto-planta e mudanças na gama de hospedeiros influenciam a escolha do local para oviposição. Embora a correlação entre a preferência

para oviposição e o desempenho de descendentes ainda não esteja perfeitamente definida, a maioria dos insetos dependem de estímulos químicos da planta para selecionar o local mais adequado para o desenvolvimento e sobrevivência de sua prole (Renwick, 1989). No entanto, Mayhew (2001) relatou um novo tipo de correlação entre preferência de oviposição e melhor alimentação para adultos e não para as larvas, evidenciando que este assunto ainda deve ser mais elucidado.

Quando se analisou a oviposição sem chance de escolha não houve diferença significativa entre laranja e tangerina tanto por *A. fraterculus* como por *C. capitata* (Tabela 4). Já em limão, não houve oviposição por ambas as espécies de mosca-das-frutas, corroborando os dados obtidos por Sá et al. (2008), Alvarenga et al. (2009) e Dias & Silva (2014). Embora Quayle (1914) inicialmente aponte a acidez da polpa do fruto como a causa da não aceitação de limão para oviposição por tefritídeos, outros autores acreditam que a polpa de limão pode ser adequada para o desenvolvimento das larvas deste grupo de insetos e que a não aceitação estaria relacionada com os compostos voláteis presentes na casca dos frutos (Ruiz et al., 2014). Salvatore et al. (2007) infestaram artificialmente frutos de limoeiro ‘Siciliano’ com ovos de *C. capitata* e obtiveram resultados de até 98 % de mortalidade de larvas. Os autores atribuíram a elevada mortalidade de imaturos à ação combinada do encapsulamento de ovos nas glândulas de óleo essencial do flavedo e a toxicidade do albedo. Entretanto, a relação da acidez do fruto com o desenvolvimento de moscas-das-frutas ainda não foi demonstrado.

Dos estádios de maturação de frutos de laranjeira ‘Navelina’ avaliados, foi verificada infestação apenas no estágio IV (final da maturação, $ratio \geq 20$), corroborando o resultado obtido por Greany et al. (1985), no qual frutos verdes não apresentam as condições ideais para o desenvolvimento de larvas de tefritídeos. Os

índices de infestação neste estágio foram de 0,72 e de 2,05 pupários/fruto para *A. fraterculus* e *C. capitata*, respectivamente (Tabela 5). Silva et al. (2006) encontraram índices de infestação semelhantes de *A. fraterculus* em laranja ‘Céu’ (0,86 pupários/fruto) na região do Vale do Caí, RS. Na fronteira oeste do Rio Grande do Sul, *C. capitata* apresentou índices inferiores em laranja ‘Valência’ (1,19 pupários/fruto) e em laranja doce (1,09 pupários/fruto) (Dias et al., 2013).

Os dados demonstram a maior suscetibilidade dos frutos de laranja ‘Navelina’ no último estágio de maturação e principalmente à espécie *C. capitata*, corroborando os dados apresentados por Joaquim-Bravo et al. (2001). Lopes et al. (2009) mostraram que *C. capitata* têm preferência em ovipositar quando a maturação do fruto cítrico é mais avançada, tendo em vista a diminuição da acidez e aumento da taxa de açúcares. Conforme ocorreu no presente estudo, em que a acidez total reduziu do estágio I ao IV de 0,85 ($\pm 0,0132$) a 0,52 ($\pm 0,0084$), bem como o teor de sólidos solúveis totais; que inclui os açúcares aumentou de 9,9 ($\pm 0,8829$) a 11,1 ($\pm 0,2590$) (Tabela 5). No caso de *Anastrepha* spp., a preferência por frutos cítricos maduros também é mencionada por Arredondo et al. (2015).

A definição dos quatro estágios de maturação dos frutos de laranja ‘Navelina’ permitiu relacionar as condições dos mesmos adequados à infestação. Embora o desenvolvimento dos frutos no campo esteja relacionado a uma série de fatores, como temperatura, regime pluviométrico e radiação, a caracterização físico-química dos frutos pode fornecer uma indicação do período em que ocorre o desenvolvimento larval de tefritídeos e assim implementar estratégias de controle (Bisognin et al., 2015). Para a cultivar Navelina, constatou-se que a infestação de moscas-das-frutas ocorre somente no último estágio de maturação, correspondendo ao período de junho a julho no estado do RS, Brasil.

Para os parâmetros biológicos, observou-se que a duração do período ovo-adulto de *A. fraterculus* e de *C. capitata* foi de 30,90 e 31,04 dias, respectivamente (Tabela 6). Para *C. capitata* estes resultados diferiram dos dados apresentados por Papachristos et al. (2008), em cultivar de laranja ('Newhall') do mesmo grupo de 'Navelina' (grupo "Umbigo"). Os autores verificaram duração de ovo-adulto de 26,97 dias, indicando que o desenvolvimento de *C. capitata* pode apresentar variações entre cultivares de laranja do mesmo grupo. A fecundidade média de *C. capitata* foi de 180,50 ovos, superior ao total de ovos obtidos por Papachristos et al. (2008), no entanto foram encontrados valores inferiores para a fertilidade (Tabela 6), pressupondo que a cultivar 'Navelina' seja menos favorável ao desenvolvimento desta espécie quando comparada à cultivar 'Newhall'. A fertilidade de *A. fraterculus* foi de 60,44 %, sendo próxima dos dados obtidos por Aluja et al. (2003) em laranja 'Valência' (60,00 %).

O período de pré-oviposição de *A. fraterculus* e de *C. capitata* foi de 15,20 dias e 14,13 dias, respectivamente e o de oviposição foi de 14,22 e 18,20 dias (Tabela 6). Estudando o desenvolvimento de *C. capitata* em laranja 'Newhall', Papachristos et al. (2009) registraram um maior período de pré-oviposição (16,94 dias) e de oviposição (22,84 dias), quando comparada aos resultados obtidos neste trabalho. Estes dados podem indicar que, após a emergência, as fêmeas de *C. capitata* e de *A. fraterculus* levam em média 14 e 15 dias para iniciar a oviposição nos frutos, sendo então importante o monitoramento na área para identificar este momento e realizar o controle antes da oviposição. A maior parte da postura (80%) foi realizada nos primeiros 17 e 20 dias do período de oviposição para *A. fraterculus* e *C. capitata*, respectivamente, sendo que o pico de oviposição ocorreu no décimo primeiro dia (299 ovos) para *A. fraterculus* e no décimo sexto dia para *C. capitata* (269 ovos) (Figura 1).

Em relação à sobrevivência de adultos em frutos de laranja 'Navelina'; fêmeas de *A. fraterculus* apresentaram longevidade de 40,50 dias e *C. capitata* 40,52 dias. A longevidade de machos foi de 46,50 e 65,24 dias, respectivamente, porém não foram identificadas diferenças significativas entre *A. fraterculus* e *C. capitata*, tanto na longevidade de fêmeas ($P = 0,7382$) como de machos ($P = 0,6185$).

Com base na infestação de moscas-das-frutas em frutos de laranja 'Navelina' foi possível verificar que ambas as espécies preferiram ovipositar em frutos maduros, com propriedades físico-químicas condizentes com a maturação.

Conclusões

1. Frutos de laranja 'Navelina' e tangerineira 'Clemenules' são aceitos para oviposição, sem discriminação, por *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitidis capitata*, ao contrário de frutos de limoeiro 'Siciliano'.
2. *A. fraterculus* apresenta preferência para oviposição por frutos de tangerineira 'Clemenules', enquanto *C. capitata* prefere frutos de laranja 'Navelina'.
3. *A. fraterculus* e *C. capitata* completam seu ciclo biológico em frutos de laranja 'Navelina' em estágio IV de maturação.

Referências

- AGUSTÍ, M.; ZARAGOZA, S.; BLEIHOLDER, H.; BUHR, L.; HACK, H.; KLOSE, R.; STAUB, R. Escala BBCH para la descripción de los estadios fenológicos del desarrollo de los agrios (Gén. Citrus). **Levante Agrícola**, n.332, p.189-199, 1995.
- ALUJA, M.; PÉREZ-STAPLES, D.; MACÍAS-ORDÓÑEZ, R.; PIÑERO, J.; McPHERON, B.; HERNÁNDEZ-IRTIZ, V. Nonhost status of *Citrus sinensis* cultivar Valencia and *C. paradisi* cultivar Ruby Red to Mexican *Anastrepha fraterculus*

(Diptera: Tephritidae). **Journal of Economic Entomology**, v.96, n.6, p.1693-1703, 2003.

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

ALVARENGA, C.D.; MATRANGOLO, C.A.R.; LOPES, G.N.; SILVA, M.A.; ALVES, D.A.; NASCIMENTO, A.S.; ZUCCHI, R.A. Moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) e seus parasitoides em plantas hospedeiras de três municípios do norte do estado de Minas Gerais. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.76, n.2, p.195-204, 2009.

ARREDONDO, J.; RUIZ, L.; LÓPEZ, G.; DÍAZ-FLEISCHER, F. Determination of the Host Status of the ‘Persian’ Lime (*Citrus latifolia* Tanaka) for *Anastrepha ludens* (Loew) (Diptera: Tephritidae). **Journal of Economic Entomology**, v.108, n.1, p.77-87, 2015.

AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D.L.; dos SANTOS, A. de A.S. **BioeEstat**: aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Bio-médicas, versão 5.3. Belém, 2007.

BISOGNIN, M.; NAVA, D.E.; DIEZ-RODRÍGUEZ, G.I.; VALGAS, R.A.; GARCIA, M.S.; KROLOW, A.C.R.; ANTUNES, L.E.C. Development of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) related to the phenology of blueberry, blackberry, strawberry guava, and surinam cherry fruits. **Journal of Economic Entomology**, v.108, n.1, p.192-200, 2015.

DIAS, N.P.; SILVA, F.F. da; ABREU, J.A. de; PAZINI, J.B.; BOTTA, R.A. Nível de infestação de moscas-das-frutas em faixa de fronteira, no Rio Grande do Sul. **Revista Ceres**, v.60, n.4, p.589-593, 2013.

DIAS, N.P.; SILVA, F.F.da. Moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae e Lonchaeidae) na região da Fronteira Oeste do Rio Grande do Sul. **Revista de Ciências Agrárias**, v.57, n.1, p.29-34, 2014.

DÍAZ-FLEISCHER, F., PAPAÍ, D.R., PROKOPY, R.J.; ALUJA, M.; NORRBOM, A.L. Evolution of fruit fly oviposition behavior. In: ALUJA, M.; NORRBOM, A.L. **Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and evolution of behavior**. Boca Raton: CRC Press, 2000. p.811–841.

EMLÉN, J.M. The role of time and energy in food preference. **The American Naturalist**, v.100, n.916, p.611-617, 1966.

FRANCIS B.; GREEN M.; PAYNE C. **Statistical system for generalized linear interactive modelling**. Oxford: Clarendon Press, 1993. 840p.

GASTAMINZA, G.; AUGIER, L.; VILLAGRÁN, M.E.; ZAIA, G.; WILLINK, E. Determinación de la condición del limón como hospedero de *Ceratitis capitata* y *Anastrepha fraterculus*. **Moscas de los frutos y su relevancia cuarentenaria en la citricultura del noroeste de Argentina**. Tucumán: EEAOC, 2007. c. IX.

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

GREANY, P.D.; SHAW, P.E.; DAVIS, P.L.; HATTON, T.T. Senescence-related susceptibility of Marsh grapefruit to laboratory infestation by *Anastrepha suspensa*. **Florida Entomologist**, v.68, n.1, p.144–150, 1985.

IOANNOU, C.S.; PAPADOPOULOS, N.T.; KOULOSSIS, N.A.; TANANAKI, C.I.; KATSOYANNO, B.I. Essential oils of citrus fruit stimulate oviposition in the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Physiological Entomology**, v.37, n.4, p.330-339, 2012.

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

LOPES, E.B.; de BRITO, C.H.; BATISTA, J. de L.; de ALBUQUERQUE, I.C. Preferência de oviposição de *Ceratitis capitata* em tangerina (*Citrus reticulata*) sob condições de laboratório. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.3, n.1, p.41-45, 2009.

LÓPEZ-GUILLÉN, G.; TOLEDO, J.; ROJAS, J.C. Response of *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) to fruit odors and protein-based lures in field trials. **Florida Entomologist**, v.93, n.2, p.317-318, 2010.

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

NAVA, D.E.; BOTTON, M. **Bioecologia e Controle de *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* em Pessegueiro**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 29 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 315).

NUFIO, C.R.; PAPA, D.R. Superparasitism of larval hosts by the walnut fly, *Rhagoletis juglandis*, and its implications for female and offspring performance. **Oecologia**, v.141, n.3, p.460-467, 2004.

PAIVA, P.E.B.; PARRA, J.R.P. Hydrogenionic potential (pH) of the attractant, trap density and control threshold for *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) on Hamlin oranges in São Paulo central region, Brazil. **Revista Brasileira Fruticultura**, v.35, n.2, p.464-470, 2013.

PAPACHRISTOS, D.M.; PAPADOPOULOS, N.T.; NANOS, G.D. Survival and development of immature stages of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in citrus fruit. **Journal of Economic Entomology**, v.101, n.3, p.866-872, 2008.

- PEÑARRUBIA-MARÍA, E.; QUILICI, S.; SCHMITT, C.; ESCUDERO-COLOMAR, L.A. Evaluation of candidate systems for mass trapping against *Ceratitis* spp. on La Réunion Island. **Pest Management Science**, v.70, n.3, p.448–453, 2014.
- QUAYLE, H.J. **Citrus fruit insects in Mediterranean countries**. USDA: Bull, 1914. 134p.
- RENEWICK, J.A.A. Chemical ecology of oviposition in phytophagous insects. **Experientia**, v.45, p.223-228, 1989.
- RUIZ, M.J.; JÚAREZ, M.L.; ALZOGARAY, R.A.; ARRIGHI, F.; ARROYO, L.; GASTAMINZA, G.; WILLINK, E.; BARDO, A.D.V.; VERA, T. Toxic effect of *Citrus* peel constituents on *Anastrepha fraterculus* Wiedemann and *Ceratitis capitata* Wiedemann immature stages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.62, n.41, p.84-91, 2014.
- SALLES, L.A.B. Metodologia de criação de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) em dieta artificial em laboratório. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.21, p.479-486, 1992.
- SALVATORE, A.; BORKOSKY, S.; WILLINK, E.; BARDÓN, A. Mecanismos de resistencia química ofrecidos por el limón al ataque de *Ceratitis capitata*. **Moscas de los frutos y su relevancia cuarentenaria en la citricultura del noroeste de Argentina**. Tucumán: EEAOC, 2007. c. VIII.
- SAS Institute. 2002. JMP Version 5.0.1, **SAS Institute**, Cary, NC.
- SÁ, R.F.; CASTELLANI, M.A.; NASCIMENTO, A.S.; BRANDÃO, M.H.S.T.; SILVA, A.N.; PÉREZ-MALUF, R. Índice de infestação e diversidade de moscas-das-frutas em hospedeiros exóticos e nativos no pólo de fruticultura de Anagé, BA. **Bragantia**, v.67, n.2, p.401-411, 2008.

SEGURA, D.F.; VISCARRET, M.M.L.; CARABAJAL PALADINO, Z.; OVRUSKI, S.M.; CLADERA, J.L. Role of visual information and learning in habitat selection by a generalist parasitoid foraging for concealed hosts. **Animal Behaviour**, v.74, n.1, p.131-142, 2007.

SHAPIRO S.S.; WILK, M.B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v.52, p.591-611, 1965.

SILVA, F.F. da; REDAELLI, L.R.; MEIRELLES, R.N.; DAL SOGLIO, F.K. Danos de moscas-das-frutas (Diptera, Tephritidae) em citros, manejados no sistema orgânico de produção. **Revista Ceres**, v.61, n.5, p.637-642, 2014.

STAUB, C.; LIMA de, F.; MAJER, J.D. Determination of host status of citrus fruits against the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Australian Journal of Entomology**, v.47, n.3, p.184-187, 2008.

ZUCCHI, R.A. **Fruit flies in Brazil**. 2008. Disponível em: <<http://www.lea.esalq.usp.br/fruitflies/>>. Acesso em: 25 dez. 2014.

Tabela 1. Número médio de ovos ($\pm$ desvio padrão) depositados por *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* em frutos cítricos oferecidos em conjunto. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Fruto	<i>Anastrepha fraterculus</i>	<i>Ceratitis capitata</i>
Média de ovos ⁽¹⁾		
Laranja ‘Navelina’	1,5 $\pm$ 1,50 b	3,0 $\pm$ 1,69 a
Tangerina ‘Clemenules’	3,5 $\pm$ 0,97 a	1,7 $\pm$ 1,41 b
Limão ‘Siciliano’	0,0 $\pm$ 0,00 c	0,0 $\pm$ 0,00 c
Média geral	1,66	1,56
CV % ⁽²⁾	1,28	1,40

⁽¹⁾Médias originais seguidas por letras iguais minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

⁽²⁾Coeficiente de variação.

Tabela 2. Número médio de ovos ($\pm$ desvio padrão) depositados por *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* em frutos cítricos oferecidos em combinação por pares. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Combinação	<i>Anastrepha fraterculus</i>			CV ⁽¹⁾
	Média de ovos ⁽²⁾	<i>t</i> _(valor) ⁽³⁾	<i>p</i> _(bilateral)	(%)
Laranja ‘Navelina’	1,2 ± 1,61	3,2913	0,004	1,30
Tangerina ‘Clemenules’	3,3 ± 1,63			0,49
Laranja ‘Navelina’	1,8 ± 1,81	-	-	1,00
Limão ‘Siciliano’	0,0 ± 0,00			-
Tangerina ‘Clemenules’	3,5 ± 1,17	-	-	0,33
Limão ‘Siciliano’	0,0 ± 0,00			-
Combinação	<i>Ceratitis capitata</i>			CV
	Média de ovos	<i>t</i> _(valor)	<i>p</i> _(bilateral)	(%)
Laranja ‘Navelina’	2,2 ± 1,54	2,9430	0,0087	0,70
Tangerina ‘Clemenules’	0,5 ± 0,84			1,69
Laranja ‘Navelina’	3,8 ± 1,13	-	-	0,29
Limão ‘Siciliano’	0,0 ± 0,00			-
Tangerina ‘Clemenules’	1,7 ± 1,70	-	-	1,00
Limão ‘Siciliano’	0,0 ± 0,00			-

⁽¹⁾Coeficiente de variação. ⁽²⁾Médias originais do número de ovos para cada fruto, dentro de cada combinação, comparadas pelo teste t de Student bilateral ($P \leq 0,05$). ⁽³⁾Dados transformados em $\text{raiz}(x)+0,5$ para fins de análise.

Tabela 3. Análise da influência da presença de frutos de limoeiro ‘Siciliano’ na oviposição de *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata*, quando oferecidos em combinação com frutos de laranja ‘Navelina’ e tangerineira ‘Clemenules’.

Combinação	<i>Anastrepha fraterculus</i>		
	Média de ovos ⁽¹⁾	$t_{(\text{valor})}$ ⁽²⁾	$p_{(\text{bilateral})}$
Laranja (x limão)	1,8 ⁽³⁾	0,6932	0,4970
Laranja (x tangerina)	1,2		
Tangerina (x limão)	3,5	0,4426	0,6633
Tangerina (x laranja)	3,3		
Combinação	<i>Ceratitis capitata</i>		
	Média de ovos	$t_{(\text{valor})}$	$p_{(\text{bilateral})}$
Laranja (x limão)	3,8	2,4260	0,0336
Laranja (x tangerina)	2,2		
Tangerina (x limão)	1,7	1,7473	0,0975
Tangerina (x laranja)	0,5		

⁽¹⁾Médias originais. ⁽²⁾Dados transformados em $\text{raiz}(x)+0,5$ para fins de análise.

⁽³⁾Médias do número de ovos para cada fruto, dentro de cada combinação, comparadas pelo teste t de Student bilateral ($P \leq 0,05$).

Tabela 4. Número médio de ovos ($\pm$ desvio padrão) depositados por *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* expostas a um só tipo de fruto cítrico. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Fruto	<i>Anastrepha fraterculus</i>	<i>Ceratitis capitata</i>
	Média de ovos ⁽¹⁾	
Laranja ‘Navelina’	$2,8 \pm 1,98$ a	$5,1 \pm 1,66$ a
Tangerina ‘Clemenules’	$3,1 \pm 2,02$ a	$5,7 \pm 2,11$ a
Limão ‘Siciliano’	$0,0 \pm 0,00$ b	$0,0 \pm 0,00$ b
Média geral	1,96	2,78
CV % ⁽²⁾	1,36	0,69

⁽¹⁾Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ⁽²⁾Coeficiente de variação.

Tabela 5. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) de características físicas e químicas de frutos de laranjeira ‘Navelina’ e índice de infestação (IF) de *Anastrepha fraterculus* e de *Ceratitis capitata* em quatro estádios de maturação. Safra agrícola 2013/14.

Estádio ⁽¹⁾	Peso	Diâmetro	Espessura	pH do suco	SST ⁽²⁾	ATT ⁽³⁾	Ratio	IF (pupários/fruto)	
	(g)	(cm)	(mm)	-	Brix°	(%)	(SST/ATT)	<i>Anastrepha fraterculus</i>	<i>Ceratitis capitata</i>
I	55,03 $\pm$ 5,11 (49,43 – 67,00)	4,74 $\pm$ 0,19 (4,46 – 5,01)	7,68 $\pm$ 0,71 (6,63 – 8,71)	2,85 $\pm$ 0,09 (2,71 – 3,04)	9,9 $\pm$ 0,88 (8,60 – 11,30)	0,85 $\pm$ 0,01 (0,83 – 0,86)	12 $\pm$ 1,07 (9,95 – 13,27)	-	-
II	120,04 $\pm$ 8,02 (106,78 – 132,39)	6,19 $\pm$ 0,24 (5,86 – 6,67)	4,43 $\pm$ 0,28 (4,03 – 4,99)	3,12 $\pm$ 0,09 (2,99 – 3,23)	10,2 $\pm$ 0,30 (9,90 – 10,90)	0,78 $\pm$ 0,01 (0,76 – 0,79)	13 $\pm$ 0,34 (12,47 – 13,73)	-	-
III	245,87 $\pm$ 22,45 (210,80 - 284,07)	7,80 $\pm$ 0,27 (7,35 - 8,30)	3,48 $\pm$ 0,34 (3,03 - 3,99)	3,56 $\pm$ 0,14 (3,32 - 3,73)	10,7 $\pm$ 0,50 (10,00 - 11,40)	0,60 $\pm$ 0,00 (0,59 - 0,61)	18 $\pm$ 0,99 (16,44 - 19,18)	-	-
IV	257,30 $\pm$ 23,89 (217, 37 - 281,89)	7,98 $\pm$ 0,32 (7,36 - 8,43)	2,49 $\pm$ 0,37 (1,82 - 2,97)	3,56 $\pm$ 0,05 (3,48 - 3,66)	11,1 $\pm$ 0,25 (10,80 - 11,60)	0,52 $\pm$ 0,00 (0,51 - 0,54)	21 $\pm$ 0,70 (20,08 - 22,17)	0,72	2,05
CV (%) ⁽⁴⁾	8,60	3,93	10,13	2,97	4,70	1,45	5,15	-	-

Valores entre parênteses indicam o intervalo de variação. ⁽¹⁾Estádios: I – fruto com aproximadamente 5,0 cm de diâmetro, II – fruto com 6,0 a 7,0 cm de diâmetro, III – fruto na mudança de cor verde para amarela e IV – final da maturação (*ratio* $\geq$ 20). ⁽²⁾Sólidos solúveis totais. ⁽³⁾Acidez total titulável, expressa em porcentagem de ácido cítrico.

⁽⁴⁾Coefficiente de variação.

Tabela 6. Valores médios ($\pm$ desvio padrão) dos parâmetros biológicos de imaturos e adultos de *Anastrepha fraterculus* e de *Ceratitis capitata* obtidos a partir de frutos de laranja ‘Navelina’ em estágio IV de desenvolvimento. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Parâmetro biológico	<i>Anastrepha fraterculus</i> [60] ^{(1)*}	<i>Ceratitis capitata</i> [60]	CV (%) ⁽²⁾
Período ovo-adulto (dias)	$30,90 \pm 1,30$ (29,0 – 32,0) ⁽³⁾	$31,04 \pm 2,01$ (28,0 – 37,0)	5,34
Peso de pupários (mg)	$12,57 \pm 0,31$ (11,80 – 12,90)	$11,53 \pm 0,53$ (10,20 – 13,00)	3,55
Número de pupas	$0,72 \pm 1,35$ (1,0 – 5,0)	$2,05 \pm 3,18$ (1,0 – 13,0)	17,21
Viabilidade pupal (%)	$61,08 \pm 30,46$ (25,00 – 100,00)	$70,31 \pm 19,60$ (50,00 – 100,00)	38,88
Razão sexual	0,48	0,50	-
Parâmetro biológico	<i>Anastrepha fraterculus</i> [10] ^{**}	<i>Ceratitis capitata</i> [24]	CV (%)
Período de pré-oviposição (dias)	$15,20 \pm 1,54$ (13,0 – 18,0)	$14,13 \pm 2,64$ (8,0 – 21,0)	14,45
Período de oviposição (dias)	$14,22 \pm 2,94$ (10,0 – 19,0)	$18,20 \pm 4,60$ (10,0 – 25,0)	22,86
Fecundidade (número)	$378,70 \pm 61,54$ (306,0 – 473,0)	$183,50 \pm 56,08$ (106,0 – 294,0)	23,40
Fertilidade (%)	$60,44 \pm 7,48$ (43,75 – 69,23)	$62,03 \pm 5,20$ (50,00 – 67,65)	10,38

⁽¹⁾Valores entre colchetes indicam o número de repetições: *frutos e **casais. ⁽²⁾Coeficiente de variação. ⁽³⁾Valores entre parênteses indicam o intervalo de variação.

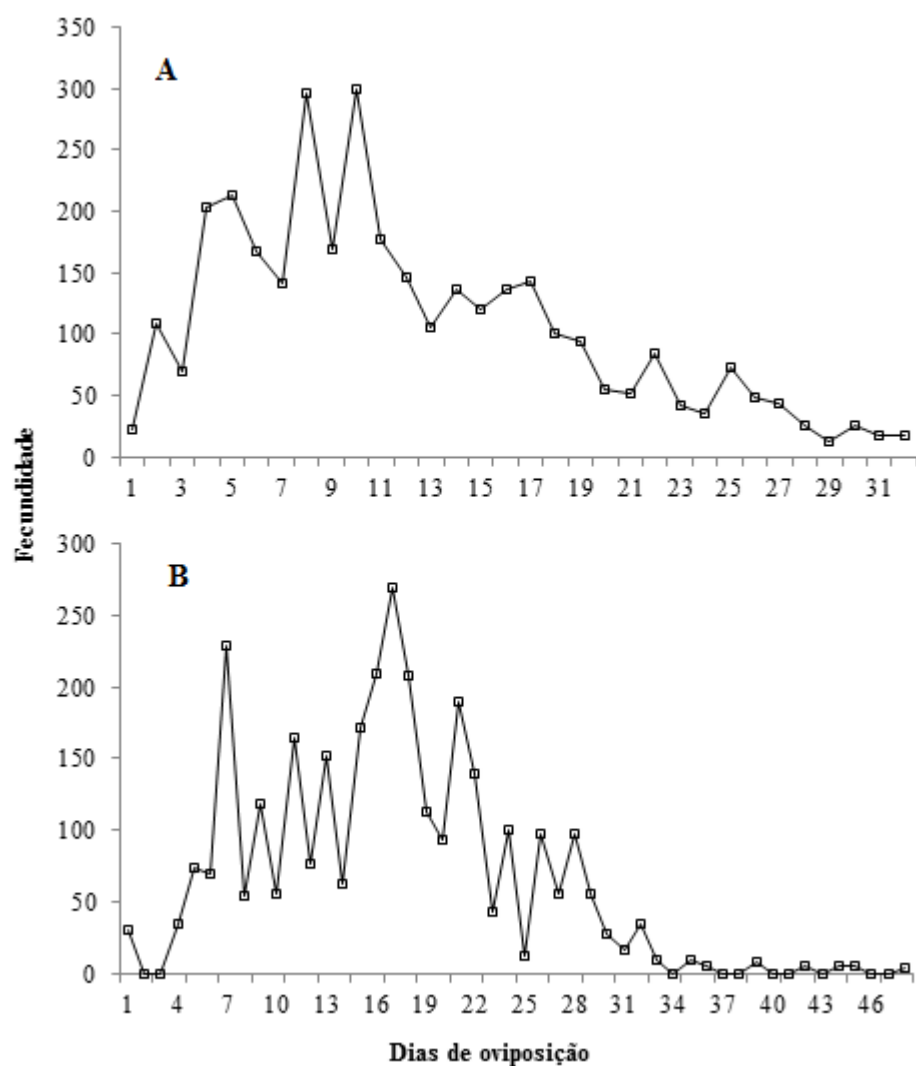


Figura 1. Ritmo diário de oviposição de fêmeas de *Anastrepha fraterculus* (A) e de *Ceratitidis capitata* (B) obtido a partir de larvas mantidas em frutos de laranja 'Navelina'. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

ARTIGO 2 – Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB)

3. Artigo 2

Relação da oviposição de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) com a casca de frutos cítricos

Naymã Pinto Dias⁽¹⁾, Mauro Silveira Garcia⁽¹⁾, Dori Edson Nava⁽²⁾ e Ricardo Alexandre Valgas⁽²⁾

⁽¹⁾Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” (FAEM), Departamento de Fitossanidade, Caixa Postal 354, CEP 96900-010, Capão do Leão, RS, Brasil. E-mail: nayma.dias@gmail.com, garciasmauro@yahoo.com.br.

⁽²⁾Embrapa Clima Temperado (CPACT), BR 392, KM 78, Caixa Postal 403, CEP 96001-970, Pelotas, RS, Brasil. E-mail: dori.edson-nava@embrapa.br, ricardo.valgas@embrapa.br.

Resumo – As moscas-das-frutas (Diptera, Tephritidae) estão dentre as principais pragas da fruticultura no Brasil. Embora estas espécies sejam consideradas importantes na cultura dos citros, sua relação ainda é pouco estudada. O objetivo deste trabalho foi determinar a relação da oviposição de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) e de *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) com a espessura da casca de frutos cítricos e com

o mesocarpo de frutos de tangerineira. Os experimentos foram realizados em condições controladas de temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade relativa do ar ($70 \pm 10\%$) e fotofase (12 horas). Frutos de laranjeira [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck)] ‘Navelina’ e tangerineira [*C. reticulata* (L.)] ‘Clemenules’ foram expostos (sem chance de escolha) para fêmeas de *A. fraterculus* e de *C. capitata*, sendo utilizados como controle, frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) Solo ‘Golden’, mangueira (*Mangifera indica* L.) ‘Tommy Atkins’, e goiabeira (*Psidium guajava* L.) ‘Paluma’. Foi avaliada a profundidade de inserção de cada ovo e a espessura da casca dos frutos. A relação da oviposição com o mesocarpo de frutos de tangerineira ‘Clemenules’ foi verificada através da exposição de substratos (1-fruto inteiro, 2-fruto sem o epicarpo, 3- fruto sem o epicarpo e revestido com Parafilm® e 4-somente o epicarpo) para as fêmeas, sendo avaliado o número de ovos colocados em cada substrato. Verificou-se que *A. fraterculus* e *C. capitata* depositaram ovos no flavedo de frutos de laranjeira ‘Navelina’ e entre o flavedo e o albedo de frutos de tangerineira ‘Clemenules’. Quando exposto somente o mesocarpo, não houve oviposição por ambas as espécies de mosca. A espessura da casca de frutos cítricos não influencia a oviposição de *A. fraterculus* e de *C. capitata*. A oviposição destas espécies não ocorre na presença apenas do mesocarpo de frutos de tangerineira ‘Clemenules’.

Termos para indexação: *Anastrepha fraterculus*, *Ceratitis capitata*, citros, epicarpo, mesocarpo.

Relationship of oviposition of fruit flies (Diptera: Tephritidae) with peel citrus fruits

Abstract – Fruit flies are among the main pests of fruit culture in Brazil. Although these species are considered important in the citrus culture, their relationship with the citrus fruits is still little studied. The aim of this study was to know the relationship of

oviposition of *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) and *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) with peel thickness of citrus fruits and with mesocarp of fruits tangerine. The analyses were carried out under controlled conditions of temperature ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), relative humidity ($70 \pm 10\%$) and photophase (12 h). Fruits of 'Navelina' orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] and 'Clemenules' tangerine [*C. reticulata* (L.)] were exposed (without choice) for females of *A. fraterculus* and *C. capitata*, being used as control, fruits Solo 'Golden' papaya (*Carica papaya* L.), 'Tommy Atkins' mango (*Mangifera indica* L.), and 'Paluma' guava (*Psidium guajava* L.). The depth of insertion of each egg and peel thickness of the fruit was evaluated. The mesocarp relationship with oviposition was verified through exposure of substrates for oviposition of fruit flies (1-whole fruit, 2-fruit without epicarp, 3-fruit without epicarp and covered with Parafilm® and 4-only the epicarp) for females, and evaluated the number of eggs laid on each substrate. *A. fraterculus* and *C. capitata* laid their eggs in the flavedo of 'Navelina' orange between flavedo and albedo of 'Clemenules' tangerine. When exposed only albedo, there was no oviposition by both fly species. The thickness of citrus fruit is not influence oviposition of *A. fraterculus* and *C. capitata*. The oviposition of these species does not occur in the presence only of the mesocarp fruit 'Clemenules' tangerine.

Indexation terms: *Anastrepha fraterculus*, *Ceratitis capitata*, citrus, epicarp, mesocarp.

Introdução

A mosca-das-frutas sul-americana, *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) e a mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera, Tephritidae) estão dentre as principais pragas da fruticultura no Brasil. Os danos são causados pelas fêmeas ao introduzirem o ovipositor nos frutos para deposição dos ovos e pela

alimentação das larvas que formam galerias na polpa, alterando o sabor e comprometendo a produção e a comercialização (Gregório et al., 2012).

O comportamento relacionado à escolha da planta hospedeira representa uma das questões centrais em estudos de interação inseto-planta (Joachim-Bravo et al., 2001). Em insetos fitófagos, a escolha do local de oviposição é fundamental para a sobrevivência e sucesso dos seus descendentes (Díaz-Fleischer et al., 2000).

A oviposição de moscas-das-frutas é influenciada principalmente pela estrutura, tamanho, cor e composição físico-química dos frutos (Branco et al., 2000). Para *A. fraterculus*, este comportamento foi caracterizado por Barros et al. (1983) em quatro etapas: (1) chegada ao fruto (via estímulos visuais e químicos); (2) reconhecimento do local de oviposição (análise das características físicas e químicas do fruto; a fêmea caminha ao longo da superfície do fruto, tocando-a com a porção anterior da cabeça e com o ovipositor); (3) punctura (inserção do acúleo); e, (4) deposição de ovos. Se um ovo é depositado, há o arraste do acúleo, no qual a fêmea caminha ao longo da superfície do fruto com o acúleo estendido, depositando feromônio de marcação (Aluja et al., 2000).

Apesar da possibilidade de oviposição em vários hospedeiros, é comum as fêmeas exibirem uma hierarquia de preferência, sendo que alguns hospedeiros são preferidos em relação a outros (Joachim-Bravo & Silva-Neto, 2004). Na cultura do citros, embora as moscas-das-frutas sejam consideradas pragas importantes (Silva et al., 2006; Gatelli et al., 2008), muitos autores acreditam que os tefritídeos não estão perfeitamente adaptados ao desenvolvimento nesses frutos (Salvatore et al., 2004). Segundo Back & Pemberton (1915), esta menor preferência estaria relacionada aos mecanismos de resistência dos frutos cítricos, como os componentes das glândulas presentes no flavedo (epicarpo), elasticidade do albedo (mesocarpo), gomas produzidas

por certas cultivares de pomelo (*Citrus paradisi*) (Macfad.), lima [*C. aurantifolia* (Cristm.) Swingle] e limão [(*C. limon*) (L. Burm.)] (Rutaceae) e endurecimento dos tecidos em torno do orifício de oviposição.

De acordo com Branco et al. (2000), a suscetibilidade dos citros às moscas-das-frutas varia de acordo com a espécie de mosca, o grau de senescência do fruto e o tipo de fruto, sendo o comportamento de oviposição do inseto e a consistência da casca do fruto fatores que podem estar envolvidos nesse processo. Sabe-se que as fêmeas de moscas-das-frutas consideram aspectos qualitativos e quantitativos da composição de frutos do gênero *Citrus* na seleção hospedeira. No entanto, a localização exata em que as fêmeas tendem a depositar seus ovos em frutas cítricas, bem como os efeitos das características físicas destes frutos na oviposição, permanecem largamente desconhecidos. Prokopy & Vargas (1995) acreditam que a espessura da casca de citros possa ser um critério importante na infestação de moscas-das-frutas.

Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar a relação da oviposição de *A. fraterculus* e de *C. capitata* com a espessura da casca de frutos cítricos e com o mesocarpo de frutos de tangerineira ‘Clemenules’.

Material e métodos

O estudo foi realizado no Laboratório de Entomologia da Embrapa Clima Temperado (Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil), em condições controladas de temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade relativa do ar ($70 \pm 10\%$) e fotofase (12 horas).

Criação de *A. fraterculus* e de *C. capitata*. As moscas utilizadas nos experimentos foram obtidas da criação de manutenção, realizada em frutos de mangueira (*Mangifera indica* L.) (Anacardiaceae) para *A. fraterculus* e de mamoeiro (*Carica papaya* L.) (Caricaceae) para *C. capitata*. Para isso, os frutos foram expostos às moscas para a

oviposição por um período de 24 horas, quando foram retirados e acondicionados em recipientes plásticos (11 x 12 x 19 cm) cobertos com TNT (tecido não tecido). Nos recipientes foi colocada uma camada de vermiculita de textura fina e após a pupação, os insetos foram transferidos para placas de Petri (10 x 1,5 cm) contendo vermiculita umedecida, onde permaneceram até a emergência. Os adultos foram mantidos em gaiolas de madeira (50 x 50 x 40 cm) revestidas com tecido *voile*, contendo uma abertura lateral por onde foi realizada a manutenção da criação. Para a alimentação dos adultos foi oferecida dieta sólida composta de açúcar, germe de trigo e levedura na proporção de 3:1:1 em recipiente plástico (50 mL). Em recipientes semelhantes foram oferecidos açúcar refinado e água destilada, por capilaridade através de pano esponja vegetal (Spontex™).

Relação da oviposição com a espessura da casca de frutos. Os frutos testados no experimento quanto à profundidade de inserção de ovos de *A. fraterculus* e *C. capitata* foram: laranja [*Citrus sinensis* (L. Osbeck)] ‘Navelina’ e tangerina [*C. reticulata* (L.)] ‘Clemenules’ (Rutaceae). Os frutos utilizados como controle foram: mamão (*Carica papaya* L.) Solo ‘Golden’ (Caricaceae), manga (*Mangifera indica* L.) ‘Tommy Atkins’ (Anacardiaceae) e goiaba (*Psidium guajava* L.) ‘Paluma’ (Myrtaceae); por serem frutos reconhecidos como hospedeiros naturais e utilizados em criações de laboratório (Salles, 1995; Rossetto et al., 1989; Machota Jr. et al, 2010). Todos os frutos utilizados no experimento foram obtidos em estado maduro.

Os frutos hospedeiros foram oferecidos para fêmeas de 15 dias de idade das duas espécies de mosca. Para isso, foram utilizadas dez gaiolas plásticas (24 x 12 x 17 cm) com 10 fêmeas cada, para cada espécie de fruto, onde foi colocado um fruto por gaiola, por um período de 24 horas. Para a alimentação das fêmeas foi oferecida dieta sólida (açúcar, germe de trigo e levedura, na proporção de 3:1:1) em um recipiente plástico (50

mL). Também foi disponibilizada água destilada em recipiente semelhante, por meio de capilaridade através de pano esponja vegetal (Spontex™).

Após o período de exposição, os frutos foram cortados em finas fatias (10 mm), perpendicularmente à superfície do fruto e analisados em microscópio estereoscópio (Zeiss, modelo Stemi SV 11, aumento de 10 x) para verificar a localização dos ovos em cada fruto. As medições foram realizadas determinando-se a distância (mm) do polo anterior do ovo à superfície do fruto, conforme descrito por Perondini et al. (1998).

A espessura da casca (mm) de cada fruto hospedeiro foi verificada com auxílio de um paquímetro digital (Shainless®, modelo Hardened), realizando dez repetições para cada espécie de fruto. Para os frutos cítricos, foi realizada a medição da espessura (mm) do flavedo (epicarpo) e do albedo (mesocarpo), sendo a espessura da casca (pericarpo) constituída pela soma das duas medidas.

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos (frutos das diferentes espécies frutíferas) e dez repetições (fruto). Os dados relativos à profundidade de inserção dos ovos e espessura da casca (mm) de cada fruto hospedeiro foram submetidos à correlação linear de Pearson (r) por meio de reamostragem (*bootstrap*) com 5000 simulações, com auxílio do programa estatístico BioEstat 5.3 (Ayres et al., 2007).

Para expressar o grau de inserção do ovipositor em função da espessura da casca dos frutos, estabeleceu-se um índice de inserção, calculado por: $I = o/e$, onde: I = índice de inserção, ou seja, o número de vezes em que o ovipositor ultrapassou a espessura da casca e depositou ovo (s); o = distância entre o polo anterior do ovo à superfície do fruto (mm); e = espessura da casca (mm). Por este índice, quando I for maior que 1 ($I > 1$), considerou-se que o ovipositor ultrapassou totalmente a casca.

Relação da oviposição com o mesocarpo de frutos de tangerineira ‘Clemenules’.

Foram expostos para oviposição, quatro substratos de frutos de tangerineira ‘Clemenules’, para ambas as espécies de mosca-das-frutas: 1) fruto inteiro, 2) fruto sem o epicarpo, 3) fruto sem o epicarpo revestido com Parafilm® e 4) somente o epicarpo cortado em círculo (8 cm de diâmetro x 0,32 cm de espessura). Para isso, foram utilizadas gaiolas plásticas (24 x 12 x 17 cm), onde foi oferecido um tipo de substrato em cada gaiola durante 24 horas, para 10 fêmeas de 15 dias de idade, realizando dez repetições para cada tratamento. A alimentação das fêmeas e a disponibilização de água foram realizadas conforme descrito no experimento anterior. Após a exposição, os substratos foram retirados e analisados em microscópio estereoscópio (Zeiss, modelo Stemi SV 11, aumento de 10 x) para a contagem dos ovos.

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos (tipo de substrato) e dez repetições (substrato). Os dados relativos às médias do número de ovos em cada substrato foram testados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk (Shapiro & Wilk, 1965). As médias foram submetidas à análise de variância através do teste de Kruskal-Wallis, seguida do teste de Wilcoxon (Siegel, 1956). Para todos os testes foi utilizado o programa estatístico BioEstat 5.3 (Ayres et al., 2007), considerando a probabilidade de 5%.

Resultados e discussão

Relação da oviposição com a espessura da casca de frutos. Para *A. fraterculus*, verificou-se que não houve correlação significativa entre a profundidade de inserção de ovos (mm) e a espessura da casca (mm) em nenhum dos hospedeiros avaliados. Já *C. capitata* apresentou correlação significativa e diretamente proporcional apenas para manga ($P = 0,0328$) (Tabela 1). Esses dados corroboram os resultados obtidos por

Papachristos & Papadopoulos (2009), os quais também não encontraram correlação entre a fecundidade de *C. capitata* em frutos cítricos e as características físicas dos mesmos, a exemplo da espessura da casca.

O maior número de ovos foi obtido em mamão para *C. capitata* e em manga para *A. fraterculus* (Tabela 2). No entanto, ambas as situações não indicaram significância para os valores de *r*, tanto a priori como simulado. Desta forma, não se verifica associação entre a profundidade de inserção de ovos e espessura da casca.

É importante ressaltar que o elevado número de ovos de *A. fraterculus* em manga e de *C. capitata* em mamão (Tabela 2) pode estar relacionado ao fenômeno denominado "condicionamento pré-imaginal". Barron (2001) menciona que alguns insetos fitófagos adultos demonstram preferência pelo hospedeiro onde se desenvolvem nos estágios imaturos. Este fato pode ter acontecido devido às populações de *A. fraterculus* e *C. capitata*, utilizadas nos experimentos, serem criadas nestes hospedeiros em laboratório. Barron & Corbet (1999) relatam essa característica para espécies de dípteros do gênero *Drosophila*. Entretanto, outros autores sugerem que a adaptação de tefritídeos às condições de laboratório parece não afetar a capacidade das fêmeas de reconhecer frutos para oviposição, embora possa acarretar mudanças relevantes como aumento na taxa reprodutiva, maturação mais rápida, redução da habilidade para o voo, entre outras características (Joachim-Bravo et al., 2001).

Analisando o índice de inserção (Tabela 2), verificou-se que em manga, este foi bastante elevado, o ovipositor ultrapassou em mais de 16 vezes a espessura da casca para *C. capitata* e em 14 vezes para *A. fraterculus*. Este fato pode ter ocorrido devido à menor espessura da casca dos frutos de mangueira (0,19 mm) em relação aos outros tratamentos testados. Em trabalho realizado por Carvalho et al. (1996) em Petrolina (PE) não foi observada infestação de *Anastrepha obliqua* (Macquart, 1835), em 10 das

18 cultivares de manga estudadas. No entanto, quando os frutos foram expostos sem chance de escolha, em laboratório, todas as cultivares foram infestadas, permitindo o desenvolvimento completo da mosca. Estes dados indicam que a polpa dos frutos de mangueira não limita o desenvolvimento do inseto, sugerindo que na natureza a seleção do hospedeiro para oviposição pode ser feita com base nas características da casca.

Já para mamão, os índices foram inferiores aos registrados para manga (Tabela 2). Esse fato pode estar relacionado à presença da substância benzil isoticianato (BITC) nestes frutos. De acordo com Seo et al. (1983), esta substância está presente em altas concentrações em frutos verdes de mamoeiro e diminui à medida que o fruto amadurece, sugerindo que apenas frutos maduros são infestados a campo, embora em menor número para *A. fraterculus*. Este dado indica que *C. capitata* pode ser menos afetada pelo BITC, corroborando os resultados apresentados por Machota Jr. et al (2010), o qual indica o fruto como hospedeiro para criação da mosca-do-mediterrâneo em laboratório. Joaquim-Bravo e Silva-Neto (2004), também confirmam a preferência de frutos de mamoeiro para oviposição por *C. capitata*, seguido por mangueira e laranjeira, concordando com os dados obtidos no presente trabalho (Tabela 2).

Em goiaba, foi registrado o menor índice em comparação aos demais frutos (Tabela 2), o que pode ter ocorrido devido à influência de características químicas do fruto, como pH e teor de sólidos solúveis (°Brix), conforme descrito por Branco et al. (2000). O maior número de ovos em goiaba foi obtido por *A. fraterculus*, o que pode ter ocorrido devido sua preferência por frutos nativos (Salles, 1995), ao contrário de *C. capitata*, que embora também infeste frutos nativos, relaciona-se principalmente com hospedeiros exóticos (Carvalho, 2005).

Em citros, tanto em laranja como em tangerina o índice de inserção foi inferior aos demais frutos hospedeiros (Tabela 3). Para ambas as espécies de mosca-das-frutas, o

ovipositor não ultrapassou completamente o flavedo de laranja ($I < 1$). Já para tangerina, *A. fraterculus*, ultrapassa o flavedo ($I > 1$), no entanto não ultrapassa o albedo ($I < 1$), atingindo apenas 0,07 mm deste (profundidade de inserção menos a extensão do flavedo). Situação semelhante para a espécie *C. capitata*, que atinge apenas 0,08 mm do albedo. Papachristos & Papadopoulos (2009), avaliando cinco cultivares cítricas (laranjeira ‘Newhall’, laranjeira ‘Merlin’, laranjeira ‘Xino Artas’; tangerina ‘Arta’ e limão ‘Maglini’) também verificaram que fêmeas de *C. capitata* não conseguiram depositar ovos no interior dos frutos.

O menor índice de inserção em laranja pode indicar que este hospedeiro apresenta maior resistência à infestação de moscas-das-frutas, quando comparado à tangerina (Tabela 2). A menor consistência da casca de tangerina também pode ser considerada um fator chave na suscetibilidade do fruto ao ataque de *A. fraterculus*. De acordo Branco et al. (2000), além de ocorrer redução no conteúdo do óleo essencial, verifica-se diminuição da firmeza da casca, permitindo maior sobrevivência larval devido à menor dificuldade da larva em migrar através da casca para a polpa. Os resultados do presente estudo corroboram o trabalho realizado por Greany et al. (1983), o qual verificou que frutos de tangerineira foram mais suscetíveis ao ataque de *Anastrepha suspensa* (Loew) do que frutos de laranjeira e de limoeiro.

O maior índice de inserção de *C. capitata* em laranja, embora não tenha ultrapassado a região do flavedo (Tabela 3) pode ter ocorrido devido ao maior número de ovos desta espécie (Tabela 2). Branco et al. (2000) relatam que quando as fêmeas colocam vários ovos na mesma região do fruto, como ocorre para *C. capitata*, a presença de vários ovos por cavidade pode quebrar em parte a resistência do fruto, permitindo que ao menos parte destes se desenvolvam.

De acordo com os dados obtidos, verifica-se que a espessura da casca de frutos cítricos não influencia a oviposição de tefritídeos, quanto à profundidade de inserção dos ovos, indicando que outros fatores estejam envolvidos nesse processo. A constituição do flavedo é citada por vários autores como o mecanismo de resistência mais crítico à infestação de moscas-das-frutas em citros (Back & Pemberton, 1915; Greany et al., 1983; Salvatore et al., 2004; Ioannou et al., 2012). As glândulas de óleo presentes no flavedo, ao serem rompidas liberam compostos tóxicos para ovos e larvas de primeiro instar de moscas-das-frutas, que morrem antes de atingirem o albedo (região não oleosa da casca), conforme relatado por Greany et al. (1989). Para ambas as espécies cítricas, *C. capitata*, depositou ovos em maior profundidade, quando comparada à *A. fraterculus* (Tabela 2). Back & Pemberton (1915) relatam que ao ovipositar em profundidade, a fêmea garante a sobrevivência da sua prole, por não expor os ovos às glândulas do óleo essenciais presente no flavedo. Greany et al. (1983) relatam que a viabilidade de ovos de *A. suspensa* colocados entre as glândulas de óleo do flavedo foi maior do que a de ovos depositados diretamente nas glândulas.

Estudos confirmaram a toxicidade do óleo presente no flavelo para ovos e larvas de *C. capitata*. Papachristos et al. (2009) atribuíram a toxicidade do óleo essencial de laranja para larvas de *C. capitata* à presença abundante do composto limoneno (96,2-97,4%). Salvatore et al. (2004), avaliando a viabilidade dos ovos desta espécie de Tephritidae, colocados sobre o epicarpo de quatro cultivares de laranja, encontraram valores entre 19 e 49 %. Os mesmos autores verificaram que os compostos citral, cumarina e linalol, extraídos de limão ‘Siciliano’, causaram mortalidade de larvas de *C. capitata* de até 98 %.

Relação da oviposição com o mesocarpo de frutos de tangerineira ‘Clemenules’.

Para *A. fraterculus* foi verificada diferença significativa ($P = 0,0055$) na oviposição

entre os substratos de tangerineira (Tabela 4). Quando utilizado o fruto inteiro observou-se a maior média de ovos para esta espécie, sendo que, quando foi utilizada somente a casca, verificou-se uma média de ovos de apenas 1,1. Já para *C. capitata* não foi constatada diferença significativa ($P = 0,7498$) na oviposição entre os substratos (Tabela 4).

Bodenheimer (1951) atribuiu como fator de mortalidade de ovos de moscas-das-frutas a alta elasticidade do mesocarpo (albedo) de frutos como tangerina, gerando resistência mecânica e causando a sua compactação. No entanto, em ambas as espécies de mosca, não houve oviposição nos substratos onde havia somente o mesocarpo (fruto sem o epicarpo e fruto sem o epicarpo revestido com Parafilm®) (Tabela 4), indicando não haver esta relação.

Estes dados podem sugerir que o epicarpo (flavedo) dos frutos cítricos, embora contenha compostos tóxicos a imaturos, apresenta substâncias atrativas à fêmea adulta. Fato verificado por Ioannou et al. (2012), que identificaram que o composto linalol, presente em diferentes proporções em citros; está associado à mortalidade de estágios imaturos de *C. capitata*, enquanto o limoneno, presente em mais de 90% em todos os óleos cítricos; estimula a oviposição desta espécie, o que poderia justificar infestações destas espécies de moscas-das-frutas em frutos cítricos a campo.

Conclusões

1. A espessura da casca de frutos de laranja 'Navelina' e de tangerineira 'Clemenules' não influencia a oviposição de *Anastrepha fraterculus* e de *Ceratitis capitata*.
2. *A. fraterculus* e *C. capitata* depositam ovos no flavedo de frutos de laranja 'Navelina', enquanto em frutos de tangerineira 'Clemenules' a deposição ocorre entre o flavedo e o albedo.

3. A oviposição de *A. fraterculus* e de *C. capitata* não ocorre apenas na presença do mesocarpo de frutos de tangerineira ‘Clemenules’.

Referências

- ALUJA, M.; PIÑERO, J. JÁCOME, I; DÍAZ-FLEISCHER, F.; SIVINSKI, J. Behavior of flies in the genus *Anastrepha* (Trypetinae: Toxotrypanini). In: ALUJA, M.; NORRBOM, A.L. (Ed.) **Fruit flies (Tephritidae):** Phylogeny and evolution of behavior. NY: CRC Press, 2000. p.375-410.
- AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D.L.; dos SANTOS, A. de A.S. **BioEstat:** aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Bio-médicas, versão 5.3. Belém, 2007.
- BACK, E.A.; PEMBERTON, C.E. Susceptibility of citrus fruits to the attack of the Mediterranean fruit fly. **Journal of Agricultural Research**, v.1, n.3, p.311-330, 1915.
- BARRON, A.B. The life and death of Hopkins' host-selection principle. **Journal of Insect Behavior**, v.14, p.725-737, 2001.
- BARRON, A.B.; CORBET, S.A. Pre-imaginal conditioning in *Drosophila* revised. **Animal Behavior**, v.58, p.621-628, 1999.
- BARROS, M.D.; NOVAES, M.; MALAVASI, A. Estudos de comportamento de oviposição de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) em condições naturais e de laboratório. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.12, n.2, p.243-247, 1983.
- BODENHEIMER, F.S. **Citrus entomology in the Middle East with special references to Egypt, Iran, Irait, Palestine, Syria, Turkey.** S-Gravenhage: W. Junk Publishers Publisher, 1951. 663p.

BRANCO, E. da S.; VENDRAMIM, J.D.; DENARDI, F. Resistência às moscas-das-frutas em fruteiras. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil**: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p.161-168.

CARVALHO, R.S.; NASCIMENTO, A.S.; MORGANTE, J.S.; FONSECA, N. Susceptibility of different mango varieties (*Mangifera indica* L.) to attack of fruit fly, *Anastrepha obliqua*. In: STECK, G.J.; MCPHERON, B.A. (Eds.). **Fruit fly pest**: a world assessment of their biology and management, Delray Beach: St. Lucie Press, 1996. p.325-331.

CARVALHO, R.S. **Metodologia para monitoramento populacional de moscas-das-frutas em pomares comerciais**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2005. 17p. (Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Circular técnica, 75.).

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

GATELLI, T.; SILVA, F.F. da; MEIRELLES, R.N.; REDAELLI, L. R.; DAL SOGLIO, F.K. Moscas frugívoras associadas a mirtáceas e laranjeira 'Céu' na região do Vale do Rio Caí, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v.38, n.1, p.236-239, 2008.

GREANY, P.D.; STYER, S.C.P.; DAVIS, P.L.; SHAW, P.E.; CHAMBERS, D.L. Biochemical resistance of citrus to fruit flies, demonstration and elucidation of resistance to the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.34, n.1, p.40-50, 1983.

- GREGÓRIO, P.L.F.; SANT'ANA, J.; REDAELLI, L.R.; IDALGO, T.D.N. The influence of prior experience with artificial fruits on the ovipositioning behavior of *Anastrepha fraterculus* (Diptera, Tephritidae). **Iheringia**, v.102, n.2, p.138-141, 2012.
- IOANNOU, C.S.; PAPADOPOULOS, N.T.; KOULOSSIS, N.A.; TANANAKI, C.I.; KATSOYANNO, B.I. Essential oils of citrus fruit stimulate oviposition in the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Physiological Entomology**, v.37, n.4, p.330-339, 2012.
- JOAQUIM-BRAVO, I.S.; FERNANDES, O.A.; BORTOLI, S.A.; ZUCOLOTO, F.S. Oviposition preference hierarchy in *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae): Influence of female age and experience. **Iheringia**, v.91, p.93-100, 2001.
- JOAQUIM-BRAVO, I.S.; SILVA-NETO, A.M. Aceitação e preferência de frutos para oviposição em duas populações de *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). **Iheringia**, v.94, n.2, p.171-176, 2004.
- PAPACHRISTOS, D.P.; KIMBARIS, A.C.; PAPADOPOULOS, N.T.; POLISSIOU, M.G. Toxicity of citrus essential oils against *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) larvae. **Annals of Applied Biology**, v.155, n.3, p.381-389, 2009.
- PAPACHRISTOS, D.P.; PAPADOPOULOS, N.K. Are citrus species favorable hosts for the Mediterranean fruit fly? A demographic perspective. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.132, n.1, p.1-12, 2009.
- PERONDINI, A.L.; SELIVON, D.; MORGANTE, J.S. Facultative polar extrusion of yolk masses and of hatching at the posterior egg pole in Tephritid fruit flies (Diptera). **Journal of Insect Morphology and Embryology**, v.27, n.3, p.249-254, 1998.
- PROKOPY, R.J.; VARGAS, R.I. Attraction of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) flies to odor of coffee fruit. **Journal of Chemical Ecology**, v.22, n.4, p.807-820, 1995.

- ROSSETTO, C.J.; RIBEIRO, I.J.A.; GALLO, P.B. Pragas da mangueira e seu controle. In; DONADIO, L.C.; FERREIRA, F.R. SIMPÓSIO SOBRE MANGICULTURA, 2., 1989. Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FCAV-FUNEP, 1989, p. 133-148.
- SALLES, L.A.B. **Bioecologia e controle da mosca-das-frutas sul-americana**. Pelotas: EMBRAPA - CPACT, 58 p. 1995.
- SALVATORE, A.; BORKOSKY, S.; WILLINK, E.; BARDÓN, A. Toxic effects of lemon peel constituents on *Ceratitis capitata*. **Journal of Chemical Ecology**, v.30, n.2, p.323–333, 2004.
- SEO, S.T.; TANG, C.S.; SANIDAD, S.; TAKENAKA, T.H.. Hawaiian fruit flies (Diptera: Tephritidae): variation of index of infestation with benzyl isothiocyanate concentration and color of maturing papaya. **Journal of Economic Entomology**, v.76, p.535-538, 1983.
- SHAPIRO S.S.; WILK, M.B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v.52, p.591-611, 1965.
- SIEGEL, S. **Nonparametric statistics for the behavioral sciences**. New York: MacGraw-Hill. 1956, 340p.
- SILVA, F.F.da; MEIRELLES, R. N.; REDAELLI, L.R.; DAL SOGLIO, F. K. Diversity of flies (Diptera: Tephritidae and Lonchaeidae) in organic citrus orchards in the Vale do Rio Caí, Rio Grande do Sul, Southern Brazil. **Neotropical Entomology**, v.35, n.5, p.666-670, 2006.

Tabela 1. Valores de r (Pearson) da correlação linear e respectivo p-valor para as variáveis, profundidade de inserção de ovos (mm) e espessura da casca (mm), considerando 5000 simulações de reamostragem bootstrap, para frutos hospedeiros e duas espécies de mosca-das-frutas.

Fruto	Espécie	r (priori)	r (simulação)	p-valor
Mamão	<i>A. fraterculus</i>	-0,3506	-0,5739	0,1648
	<i>C. capitata</i>	0,3742	0,3370	0,1422
Manga	<i>A. fraterculus</i>	0,3085	0,2178	0,2126
	<i>C. capitata</i>	0,5414	0,2307	0,0328
Goiaba	<i>A. fraterculus</i>	-0,2421	-0,0356	0,2562
	<i>C. capitata</i>	-0,3097	-0,3111	0,1934
Laranja	<i>A. fraterculus</i>	0,4176	-0,4051	0,1408
	<i>C. capitata</i>	0,1099	0,1170	0,3786
Tangerina	<i>A. fraterculus</i>	0,1210	0,1287	0,3636
	<i>C. capitata</i>	-0,4263	-0,4042	0,1092

Tabela 2. Número de ovos e índice de inserção (*I*), obtido pela relação entre a profundidade de inserção de ovos (mm) e espessura da casca (mm) em cinco hospedeiros para *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* em condições de laboratório. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Fruto ⁽¹⁾	Número total de ovos	Profundidade média de inserção (mm)	Espessura média da casca (mm) ⁽²⁾	Índice de inserção (<i>I</i>)
<i>Anastrepha fraterculus</i>				
Mamão	42	0,72	0,49	1,46
Manga	169	2,63	0,19	14,09
Goiaba	53	5,74	4,86	1,18
Laranja	35	0,15	2,68 (0,60 - 2,08)	0,05
Tangerina	61	1,56	2,11 (1,49 - 0,62)	0,74
<i>Ceratitis capitata</i>				
Mamão	178	1,35	0,49	2,74
Manga	60	3,06	0,19	16,36
Goiaba	43	5,57	4,86	1,15
Laranja	57	0,26	2,68 (0,60 - 2,08)	0,10
Tangerina	55	1,57	2,11 (1,49 - 0,62)	0,74

⁽¹⁾Cultivares: mamão Solo ‘Golden’, manga ‘Tommy Atkins’, goiaba ‘Paluma’, laranja ‘Navelina’ e tangerina ‘Clemenules’. ⁽²⁾A espessura da casca de frutos cítricos foi constituída pela soma da espessura do flavedo e do albedo.

Tabela 3. Índice de inserção (*I*) de *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* no flavedo (epicarpo) e albedo (mesocarpo) de frutos cítricos. Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Fruto	Índice de inserção (<i>I</i>)	
	<i>Anastrepha fraterculus</i>	
	Flavedo	Albedo
Laranja ‘Navelina’	0,25	0,00
Tangerina ‘Clemenules’	1,07	0,17
	<i>Ceratitis capitata</i>	
	Flavedo	Albedo
Laranja ‘Navelina’	0,43	0,00
Tangerina ‘Clemenules’	1,08	0,19

Tabela 4. Número médio de ovos $\pm$ desvio padrão de *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* em substratos de tangerina ‘Clemenules’. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Substrato	Média de ovos ⁽¹⁾	
	<i>Anastrepha fraterculus</i>	<i>Ceratitis capitata</i>
Fruto inteiro	$3,9 \pm 1,10$ a	$2,6 \pm 1,34^{\text{ns}}$
Fruto sem o epicarpo	$0,0 \pm 0,00$ c	$0,0 \pm 0,00^{\text{ns}}$
Fruto sem o epicarpo revestido	$0,0 \pm 0,00$ c	$0,0 \pm 0,00^{\text{ns}}$
Epicarpo cortado em círculo	$1,1 \pm 1,10$ b	$2,3 \pm 1,25^{\text{ns}}$
CV (%) ⁽²⁾	0,64	0,53
p-valor	0,0055	0,7498

⁽¹⁾Valores seguidos pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Wilcoxon, a 5%, ns: não significativo. ⁽²⁾Coeficiente de variação.

ARTIGO 3 – Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB)

4. Artigo 3

Biologia de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) relacionada ao pH em dieta artificial

Naymã Pinto Dias⁽¹⁾, Giovani Smaniotto⁽²⁾, Mauro Silveira Garcia⁽¹⁾ e Dori Edson Nava⁽³⁾

⁽¹⁾Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” (FAEM), Departamento de Fitossanidade, Caixa Postal 354, CEP 96900-010, Capão do Leão, RS, Brasil. E-mail: nayma.dias@gmail.com, garciasmauro@yahoo.com.br.

⁽²⁾Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Caixa Postal 354, CEP 96900-010, Capão do Leão, RS, Brasil. E-mail: giovanismaniotto@hotmail.com.

⁽³⁾Embrapa Clima Temperado, BR 392, KM 78, Caixa Postal 403, CEP 96001-970, Pelotas, RS, Brasil. E-mail: dori.edson-nava@embrapa.br.

Resumo – As moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) estão dentre as principais pragas da fruticultura. O objetivo deste trabalho foi determinar a relação dos parâmetros biológicos de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) e de *Ceratitis capitata*

(Wiedemann, 1824) com o pH em dieta artificial, em função da alteração da dose de ácido clorídrico. As dietas testadas foram: sem ácido clorídrico, e com doses de 3; 6; 9; 12; 15 e 18 mL de ácido clorídrico, correspondendo aos valores médios de pH de 6,0; 5,0; 4,0; 3,0; 2,0; 1,5 e 1,0, respectivamente. Foram avaliadas a duração e a viabilidade dos estágios de larva e pupa, duração do estágio de ovo e do período de ovo-adulto, número e peso de pupários. Após a emergência foi determinada a razão sexual e individualizaram-se 25 casais para cada tratamento, de cada espécie de mosca-das-frutas. Avaliaram-se então, a duração dos períodos de pré-oviposição e oviposição, fecundidade, fertilidade e longevidade de machos e fêmeas. As dietas com pH abaixo de 4,0 (3,0 e 2,0) afetaram o desenvolvimento de *A. fraterculus*, promovendo menor viabilidade de larvas e maior duração do estágio de ovo, do período ovo-adulto e do período de pré-oviposição. Dieta com pH 2,0 promoveu maior duração do estágio de ovo e menor duração do estágio de larva para *C. capitata*. Dietas com pH 4,0 propiciam maior peso de pupas, fecundidade, fertilidade, período de oviposição de longevidade de machos e fêmeas de *A. fraterculus*.

Termos de indexação: *Anastrepha fraterculus*, *Ceratitis capitata*, parâmetros biológicos, potencial hidrogeniônico.

Biology of fruit flies (Diptera: Tephritidae) related to pH in artificial diet

Abstract – Fruit flies (Diptera: Tephritidae) are among the main pests of the fruit culture. This study determined the relationship of biological parameters of *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) and *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) with pH in artificial diet, due of change of dose hydrochloric acid. Diets were tested: hydrochloric acid-free, and with doses of 3, 6, 9, 12, 15, and 18 mL of hydrochloric acid,

corresponding to the average pH values of 6.0, 5.0, 4.0, 3.0, 2.0, 1.5, and 1.0, respectively. We evaluated the duration and viability of larval and pupal stages, egg stage duration, egg-adult period, number and weight of puparia. After emergence, sex ratio was determined and individualized 25 couples for each treatment of each species of fruit flies. After, we evaluated the duration of pre-oviposition and oviposition periods, fecundity, fertility and longevity of males and females. Diets with a pH below 4.0 (3.0 and 2.0) affected the development of *A. fraterculus* promoting lower viability of larvae, longer duration the egg stage, the egg-adult period and the period of pre-oviposition. Diet with pH 2.0 promoted longer duration of egg stage and shorter duration of the larval stage of *C. capitata*. Diets with pH 4.0 provide greater pupal weight, fecundity, fertility, longevity and oviposition period of males and females of *A. fraterculus*.

Indexation terms: *Anastrepha fraterculus*, *Ceratitis capitata*, biological parameters, hydrogenionic potential.

Introdução

No Rio Grande do Sul, duas espécies de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) apresentam importância econômica, a mosca sul-americana, *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) e a mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824), devido aos danos diretos causados aos frutos e as restrições impostas por países importadores (Zucchi, 2000).

Na cultura dos citros as moscas-das-frutas geram perdas significativas (Silva et al., 2014), no entanto, sabe-se que estes frutos apresentam mecanismos que podem afetar o desenvolvimento e a reprodução de tefritídeos (Aluja & Mangan, 2008), a exemplo do pH (Baker et al., 1944).

Durante a fase reprodutiva o pH do fruto é modificado, aumentando seu valor à medida que o mesmo amadurece (Chitarra & Chitarra, 2005). Estudos relacionando o desenvolvimento de moscas-das-frutas em hospedeiros cítricos demonstram que este grupo de insetos apresenta baixo desenvolvimento em frutos com pH ácido, como o limoeiro (Augier et al., 2007; Gastaminza et al., 2007). Entretanto, em meios artificiais, poucos trabalhos discutem os efeitos do pH sobre a biologia de tefritídeos (Vargas et al., 1984; Chan Jr. & Jang, 1995).

O pH em dietas artificiais é controlado principalmente pela adição de acidulantes, que visam impedir o crescimento de microrganismos e promover o tamponamento do meio (Honorato et al., 2014). Para criação de tefritídeos frugívoros, o ajuste é realizado normalmente, com a adição de ácido clorídrico (HCl) ou ácido cítrico. Vargas et al. (1984) constataram que a adição de ambos os ácidos fornecem condições adequadas para o desenvolvimento e a reprodução de *C capitata*. Porém, a quantidade de ácido adicionado às dietas difere de acordo com o nível de contaminação local e ingredientes disponíveis, o que pode influenciar no desenvolvimento do inseto (Valotto et al., 2014).

O conhecimento sobre a biologia da espécie-alvo é determinante no sucesso da criação massal e do controle de pragas (Cladera et al., 2014), sendo que as dietas podem ser consideradas os componentes mais importantes da criação artificial (Parra, 2009). Em função disso, estudos que incluam melhorias em criações massais são necessários para embasar o entendimento sobre os aspectos que influenciam a biologia de insetos de interesse econômico. Assim, sabendo que a composição do alimento ingerido por larvas de moscas-das-frutas pode refletir no seu desenvolvimento, o objetivo deste trabalho foi determinar a relação dos parâmetros biológicos de *A. fraterculus* e de *C. capitata* com o pH em dieta artificial, em função da alteração da dose de ácido clorídrico.

Material e métodos

As criações de manutenção de *A. fraterculus* e de *C. capitata*, bem como os experimentos foram realizados no Laboratório de Entomologia, da Embrapa Clima Temperado (Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil), em salas climatizadas, com temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Os insetos utilizados nos experimentos foram obtidos da criação de manutenção realizada em dieta artificial, conforme metodologia descrita por Nunes et al. (2013).

Biologia em dieta artificial. Para avaliar o efeito do pH sobre a biologia de *A. fraterculus* e de *C. capitata* foi testada uma modificação na dieta artificial para larvas (Salles, 1992 modificada por Nunes et al., 2013), correspondendo ao valor de pH do meio, alterado pela dosagem de ácido clorídrico (HCl).

Foram testadas as dietas sem ácido, e as doses de 3; 6; 9; 12; 15 e 18 mL de ácido clorídrico concentrado a 37% (Synth®), correspondendo aos valores médios de pH de 6,0; 5,0; 4,0; 3,0; 2,0; 1,5 e 1,0, respectivamente. Para o preparo da dieta artificial, primeiramente foram colocados em liquidificador os ingredientes sólidos: açúcar refinado (60 g), levedura de cerveja liofilizada Brewcell™ (Biorigin) (60 g), germe de trigo (Walmon) (60 g) e benzoato de sódio (Vetec) (1 g), com 800 mL de água destilada, 8 mL de Nipagin™ (metilparahidroxibenzoato) (Synth®), diluído a 10% em álcool etílico e a dose de HCl correspondente a cada tratamento. Em seguida, os ingredientes foram homogeneizados por 30 segundos.

O ágar bacteriológico (Alphatec®) foi dissolvido (3,6 g) em 200 mL de água destilada e levado ao fogo, sendo homogeneizado constantemente até a ebulição. Esse foi acrescido aos demais ingredientes no liquidificador e agitado por mais dois minutos, até a homogeneização.

Após o preparo da dieta, a mesma foi distribuída em recipientes plásticos (400 mL) com tampa perfurada. Em cada recipiente foram colocados 100 mL de dieta e após 24 horas foram inoculados, separadamente, 0,1 mL de ovos de *A. fraterculus* (1.170 ovos) e de *C. capitata* (2.485 ovos) sobre papel filtro, com 10 repetições para cada tratamento (pH da dieta). Os recipientes foram acondicionados em sala climatizada e próximo à pupação, as larvas de terceiro instar foram separadas da dieta por lavagem em água corrente, utilizando-se uma peneira para retenção das mesmas. Estas foram transferidas para recipientes contendo vermiculita fina umedecida. Após 10 dias, os recipientes foram inspecionados diariamente para separação dos pupários. Estes foram retirados por peneiramento, pesados com 24 horas em balança analítica de precisão (Shimadzu do Brasil, modelo AUY 220) e acondicionados em novos recipientes até a emergência.

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado com sete tratamentos (pH da dieta) e dez repetições (recipientes de dieta). Foram avaliadas a duração e a viabilidade dos estágios de larva e pupa, duração do estágio de ovo e do período ovo-adulto, número e peso de pupários. Após a emergência foi determinada a razão sexual, através da fórmula $rs = \frac{fêmeas}{fêmeas+machos}$ e separaram-se 25 casais de cada tratamento, para cada espécie de mosca-das-frutas. Estes casais foram colocados em gaiolas feitas com copos plástico transparente (500 mL), possuindo na parte superior orifícios de 6 mm de diâmetro. Os casais foram alimentados com dieta sólida (açúcar, germe de trigo e levedura, na proporção de 3:1:1) disponibilizada em recipientes de acrílico (10 mL). Também foi fornecida água por capilaridade em recipientes semelhantes, por meio de roletes de algodão hidrófilo.

A fecundidade foi determinada por meio da utilização de substratos artificiais, preparados com 100 mL de suco de morango, 14 g de ágar bacteriológico (Alphatec®),

4 mL de Nipagin™ (metilparahidroxibenzoato) (Synth®) e 350 mL de água destilada, conforme descrito por Salles (1992). Após a mistura desses ingredientes em temperatura de ebulição, a solução foi vertida em bandejas de formato oval e, após solidificar, os frutos foram envoltos em filme plástico (Parafilm®). Esses substratos foram oferecidos às fêmeas de *A. fraterculus* e de *C. capitata* e substituídos diariamente. Foram realizadas observações diárias para registrar o número de ovos e a mortalidade, visando determinar os períodos de pré-oviposição e oviposição, a fecundidade e a longevidade de machos e fêmeas.

Para a avaliação da fertilidade foram retirados, dos substratos artificiais, 30 ovos da segunda oviposição de cada casal, com auxílio de uma lâmina cirúrgica e pincel. Estes ovos foram colocados sobre papel filtro previamente disposto sobre pano esponja vegetal umedecido, no interior de placas de Petri, envoltas com filme de PVC, as quais foram mantidas em câmara climatizada ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$) até a eclosão, onde foi registrado o número de larvas.

Os dados foram testados quanto à normalidade pelo teste de Lilliefors ($P \leq 0,05$) (Campos, 1983) e na presença de normalidade, foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Quando não constatada normalidade, os dados foram submetidos à análise de Kruskal-Wallis e os postos médios foram comparados entre si pelo teste de Dunn (Hollander & Wolf, 1973), ao nível de 5% de probabilidade. Para todas as análises foi utilizado o programa estatístico Bioestat 5.3 (Ayres et al., 2007)

Os dados de longevidade de machos e fêmeas foram analisados por meio do programa estatístico JMP 5.0.1 (SAS, 2002) utilizando a técnica de análise de sobrevivência. Para cada espécie de mosca-das-frutas foram determinadas as curvas de

sobrevivência de cada tratamento considerando o estimador de Kaplan-Meier e estas comparadas por meio do teste de Log-rank (Francis et al., 1993).

Resultados e discussão

Houve contaminação microbiológica dois dias após o preparo da dieta em que não foi adicionado ácido clorídrico (HCl) (pH = 6,0). Vargas et al. (1984) também observaram rápida deterioração em dietas artificiais com pH entre 5,0 e 6,0. Geralmente, microrganismos são menos sensíveis a meios próximos à neutralidade (pH = 7,0) (Souza et al., 2008), sendo esse fator que pode ter favorecido a deterioração da dieta sem acidificação. Já nas doses de 15 e 18 mL (pH 1,5 e 1,0, respectivamente) não ocorreu eclosão, para ambas as espécies de mosca-das-frutas. Isto pode ter ocorrido em função de que valores extremamente baixos de pH prejudicam endossimbiontes de tefritídeos, como bactérias do gênero *Wolbachia* (Greany et al., 1983). Nos demais tratamentos foi possível registrar os parâmetros biológicos de imaturos e adultos, ocorrendo apenas uma contaminação inicial na dose de 3 mL (pH = 5,0).

Em relação ao estágio de ovo de *A. fraterculus*, foi observada diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 1). A maior duração desse estágio foi obtida quando utilizada a dose mais alta de HCl, indicando que o pH mais ácido promoveu um atraso na eclosão e, em consequência, no período ovo-adulto, concordando com a discussão apresentada por Malavasi et al. (1994). Os autores relataram que os imaturos de moscas-das-frutas em geral, completam seu desenvolvimento em meios ácidos, no entanto em um período de tempo maior.

Para os estágios de larva e de pupa de *A. fraterculus*, não foram observadas diferenças significativas entre as doses utilizadas (Tabela 1). No entanto, a menor viabilidade de larvas foi encontrada na dose mais alta de HCl (12 mL - pH 2,0), assim

como a menor viabilidade de pupas, porém esta última não diferiu da dose de 9 mL (pH 3,0). O menor desenvolvimento de *A. fraterculus* em meios ácidos pode ser associado ao pH de hospedeiros naturais. Um exemplo, são os frutos cítricos, como o limoeiro [*Citrus limon* (L.)] ‘Siciliano’, que apresenta em média pH muito ácido (entre 2,0 e 3,0) e é pouco infestado por moscas-das-frutas (Augier et al., 2007; Gastaminza et al., 2007), não sendo considerado um hospedeiro para *A. fraterculus* (Cowley et al., 1992).

O maior peso de pupários de *A. fraterculus* foi obtido na dieta com dose de 6 mL de HCl, assim como o maior número de pupas, no entanto este último parâmetro não apresentou diferença para a dose de 3 mL. Silva Neto et al. (2012) verificaram que fêmeas de *C. capitata* apresentaram preferência para cópula com machos maiores, indicando que o tamanho é um fator importante, que pode refletir na competitividade reprodutiva do adulto. Nunes et al. (2013) encontraram valores semelhantes de peso de pupas (15, 33 mg) de *A. fraterculus*, utilizando a mesma dieta artificial com dose 6 mL de HCl. O maior peso e número de pupários pode ter ocorrido em função da condição favorável para o desenvolvimento larval em dietas com pH 4,0 (dose de 6 mL), bem como para as bactérias associadas à sua flora intestinal, que auxiliam na digestão do alimento (Wu et al., 2006). Esta dieta apresenta pH próximo ao de frutos maduros de laranja doce [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], (pH = 3,69) (Parra et al., 2001), conhecido hospedeiro de *A. fraterculus* (Zucchi, 2008).

Para *C. capitata* a menor duração do estágio de ovo foi obtida na menor dose de HCl (Tabela 2), porém não diferindo da dose de 6 mL, assim como observado para *A. fraterculus*. Já para o estágio larval, estas doses propiciaram maior tempo de desenvolvimento, corroborando os dados de Papachristos et al. (2008), provavelmente em função da acidez das dietas de 9 e 12 mL afetarem a microbiota intestinal das larvas de *C. capitata*. Conforme já apresentado, os principais endossimbiontes associados à

moscas-das-frutas pertencem ao gênero *Wolbachia* (Selivon et al., 2002; Coscrato et al., 2009). No Brasil, este gênero de bactérias foi associado na última década a três populações de *C. capitata* (Rocha et al., 2005), no entanto a comunidade de bactérias associadas ao trato digestivo pode sofrer forte influência da fonte de alimento utilizada pelo hospedeiro, dada às diferenças na composição química entre os diferentes tipos de alimento (Engel & Moran, 2013).

Outro fator a ser considerado é que, a colonização microbiana depende das condições físicas do lúmen do intestino e este pode exibir variações extremas de pH, visto que é regulado ativamente em função do alimento ingerido (Engel & Moran, 2013). Um exemplo disso, é o pH do lúmen de lepidópteros, que está correlacionado com a alta ingestão de taninos e tem sido interpretado como uma adaptação que favorece a disponibilidade de nutrientes (Berenbaum, 1980), porém também tem consequências importantes para as comunidades microbianas, em que exclui a maioria das bactérias (Engel & Moran, 2013).

Para o estágio de pupa de *C. capitata*, foi observada diferença significativa apenas entre as doses de 6 e 9 mL (Tabela 2). O maior período de ovo-adulto foi obtido na dose de 6 mL, porém não diferindo da dose de 12 mL, em função da maior duração do estágio de ovo nesses tratamentos. As dietas com doses de 9 e 12 mL de HCl promoveram menor peso de pupas, no entanto não diferiram da dose de 6 mL. Esta dose promoveu maior número de pupas e maior viabilidade de larvas, corroborando os resultados de Chan Jr & Jang (1995). Observa-se que as larvas que permaneceram por mais tempo na dieta resultaram em um maior número de pupas. Vargas et al. (1984) também encontraram resultados inferiores de peso de pupários (7,80 mg) e viabilidade de pupas (34,40 %) de *C. capitata* em dieta artificial com pH mais ácido (3,6), quando comparados às dietas com valores de pH de 4,6 e 5,6.

Fêmeas de *A. fraterculus* mantidas durante a fase larval em dieta artificial com 12 mL de HCl apresentaram maior período de pré-oviposição (16,95 dias), diferindo dos demais tratamentos (Tabela 3). O maior período de oviposição, a maior fecundidade e fertilidade foram registrados na dose de 6 mL. A dose de 6 mL utilizada na dieta artificial de larvas de *A. fraterculus* influenciou significativamente a fecundidade, de forma que as fêmeas depositaram um maior número de ovos em relação às demais, com pico de 1402 ovos (Figura 1). Para razão sexual não foi constatada diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 3).

Para *C. capitata*, o maiores períodos de pré-oviposição foram registrados nas doses de 9 e 3 mL, sendo que esta última não diferiu dos demais tratamentos (Tabela 4). Para o período de oviposição e fecundidade não houve diferença significativa entre as doses. A fertilidade foi maior nas doses de 3 e 6 mL, porém a maior razão sexual foi encontrada na dose de 12 mL, diferindo somente da dose de 6 mL. O ritmo diário de oviposição de *C. capitata* foi aproximado em todos os tratamentos, porém a dieta com dose de 6 mL de HCl apresentou pico de 794 ovos (Figura 2).

Em relação à longevidade de *A. fraterculus*, foi constatada diferença significativa para fêmeas ($P = 0,0013$) e machos ($P < 0,0001$). Os adultos de *A. fraterculus* quando mantidos na dieta com 6 mL de ácido apresentaram maior longevidade, diferindo das demais doses (Figura 3A,B). Já para as fêmeas de *C. capitata*, não foi detectada diferença significativa entre os tratamentos ($P = 0,2748$). (Figura 4A). Os machos desta espécie apresentaram menor longevidade quando mantidos durante a fase imatura em dieta com dose de 3 mL ($P = 0,0046$). (Figura 4B), indicando não serem tão afetados pela redução do pH quanto adultos de *A. fraterculus*.

Conclusões

1. Dietas artificiais com pH abaixo de 4,0 (3,0 e 2,0) afetam o desenvolvimento de *Anastrepha fraterculus*, promovendo menor viabilidade de larvas e maior duração do estágio de ovo, do período ovo-adulto e do período de pré-oviposição.
2. Dieta com pH 2,0 promove maior duração do estágio de ovo e menor duração do estágio de larva para *Ceratitis capitata*.
3. Dietas com pH 4,0 propiciam maior peso de pupas, fecundidade, fertilidade, período de oviposição de longevidade de machos e fêmeas de *A. fraterculus*.

Referências

- ALUJA, M.; MANGAN, R.L. Fruit fly (Diptera: Tephritidae) host status determination: critical conceptual, methodological, and regulatory considerations. **Annual Review of Entomology**, v.53, p.473–502, 2008.
- AUGIER, L.; GASTAMINZA, G.; VILLAGRÁN, M.E.; ZAIA, G.; WILLINK, E.; STEIN, B. Monitoreo de adultos de moscas de los frutos en cultivos de limón. **Moscas de los frutos y su relevancia cuarentenaria en la citricultura del noroeste de Argentina**. Tucumán: EEAOC, 2007. c. VI.
- AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D.L.; dos SANTOS, A. de A.S. **BioEstat**: aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Bio-médicas, versão 5.3. Belém, 2007.
- BAKER, A.C.; STONE, W.E.; PLUMMER, C.C.; MCPHAIL, M. A review of studies of the Mexican fruit fly and related mexican species. **U.S.D.A Miscellaneous publications**, n.531, 1944.
- BERENBAUM, M. Adaptive significance of midgut pH in larval Lepidoptera. **American Naturalist**, v.115, n.1, p. 138-146, 1980.

- CAMPOS, H. **Estatística experimental não-paramétrica**. 4.ed. Piracicaba: Esalq, Departamento de Matemática e Estatística, 1983. 349p.
- CHAN JR, H.T.; JANG, E.B. Diet pH effects on mass rearing of Mediterranean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae). **Journal of Economic Entomology**, v.88, n.3, p. 569-753, 1995.
- CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA, 2005. 785p.
- CLADERA, J.L.; VILARDI, J.C.; JURI, M. PAULIN, L.E.; GIARDINI, M.C.; GÓMEZ CENDRA, P.V.; SEGURA, D.F.; LANZAVECCHIA, S.B. Genetics and biology of *Anastrepha fraterculus*: research supporting the use of the sterile insect technique (SIT) to control this pest in Argentina. **BMC Genetics**, v.15, n.2, p.1-14, 2014.
- COSCRATO, V.E.; BRAZ, A.S.; PERONDINI, A.L.P.; SELIVON, D.; MARINO, C.L. *Wolbachia* in *Anastrepha* fruit flies (Diptera: Tephritidae). **Current Microbiology**, v.59, n.3, p.295-301, 2009.
- COWLEY, J.M.; BACKER, R.T.; HARTE, D.S. Definition and determination of host status for multivoltine fruit fly (Diptera: Tephritidae) species. **Journal of Economic Entomology**, v.85, n.2, p.312-317, 1992.
- ENGEL, P.; MORAN, N.A. The gut microbiota of insects: diversity in structure and function. **FEMS Microbiology Reviews**, v.37, p. 699-735, 2013.
- FRANCIS B.; GREEN M; PAYNE C. **Statistical system for generalized linear interactive modelling**. Oxford: Clarendon Press, 1993. 840p.
- GASTAMINZA, G.; AUGIER, L.; VILLAGRÁN, M.E.; ZAIA, G.; WILLINK, E. Determinación de la condición del limón como hospedero de *Ceratitis capitata* y

Anastrepha fraterculus. **Moscas de los frutos y su relevancia cuarentenaria en la citricultura del noroeste de Argentina**. Tucumán: EEAOC, 2007. c. IX.

GREANY, P.D.; STYER, S.C.P.; DAVIS, P.L.; SHAW, P.E.; CHAMBERS, D.L. Biochemical resistance of citrus to fruit flies, demonstration and elucidation of resistance to the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.34, n.1, p.40-50, 1983.

HOLLANDER, M.; WOLF, D. A. **Nonparametric statistical methods**. New York: John Wiley & Sons, 1973. p.184-193.

HONORATO, T.C.; BATISTA, E.; NASCIMENTO, K.D.O.D.; PIRES, T. Aditivos alimentares: aplicações e toxicologia. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.8, n.5, p.1-11, 2014.

MALAVASI, A.; NASCIMENTO, A.S.; CARVALHO, R. da S. Moscas-das-frutas no MIP-Citros. In: III Seminário Internacional de Citros, Manejo Integrado de Pragas, 3., Bebedouro, 1994. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1994. p. 211-231.

NUNES, A.M.; COSTA, K.Z.; FAGGIONI, K.M.; COSTA, M. de L.Z.; GONÇALVES, R. da S.; WALDER, J.M.M.; GARCIA, M.S.; NAVA, D.E. Dietas artificiais para a criação de larvas e adultos da mosca-das-frutas sul-americana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, n.10, p. 1309-1314, 2013.

PAPACHRISTOS, D.M.; PAPADOPOULOS, N.T.; NANOS, G.D. Survival and development of immature stages of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in citrus fruit. **Journal of Economic Entomology**, v.101, n.3, p.866-872, 2008.

PARRA, JR.P. A evolução das dietas artificiais e suas interações em ciência e tecnologia. In: PANIZZII, A.R. (Ed.). **Bioecologia e nutrição de insetos**: base para o manejo integrado de pragas. Embrapa: Brasília, p. 91-174, 2009.

- PARRA, JR.P.; KASTEN JÚNIOR, P.; MOLINA, R.M.S.; HADDAD, M.L. Efeito do pH no desenvolvimento do bicho-furão. **Laranja**, v.22, n.2, p.321-332, 2001.
- ROCHA, L.S.; MASCARENHAS, R.O.; PERONDINI, A.L.P.; SELIVON, D. Occurrence of *Wolbachia* in Brazilian samples of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Neotropical Entomology**, v.34, n.6, p.1013-1015, 2005.
- SALLES, L.A.B. Metodologia de criação de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) em dieta artificial em laboratório. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.21, p.479-486, 1992.
- SAS Institute. 2002. JMP Version 5.0.1, **SAS Institute**, Cary, NC.
- SELIVON, D.; PERONDINI, A.L.P.; RIBEIRO, A.F.; MARINO, C.L.; LIMA, M.M.A.; COSCRATO, V.E. *Wolbachia* endosymbiont in a species of *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera: Tephritidae). **Invertebrate Reproduction & Development**, v.42, n.2, p.121-127, 2002.
- SILVA NETO, A.M.; DIAS, V.S.; JOACHIM-BRAVO, I.S. Comportamento reprodutivo de *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera Tephritidae): Efeito do tamanho dos machos sobre o seu sucesso de cópula. **EntomoBrasilis**, v.5, n.3, p.190-197, 2012.
- SILVA, F.F. da; REDAELLI, L.R.; MEIRELLES, R.N.; DAL SOGLIO, F.K. Danos de moscas-das-frutas (Diptera, Tephritidae) em citros, manejados no sistema orgânico de produção. **Revista Ceres**, v.61, n.5, p.637-642, 2014.
- SOUZA, J.M.L.; ÁLVARES, V.S., LEITE, F.M.N.; REIS, F.S., FELISBERTO, F.A.V. Caracterização físico-química de farinhas oriundas de variedades de mandioca utilizadas no Vale do Juruá, Acre. **Acta Amazônica**, v.38, p.761-766, 2008.
- VALOTTO, C.F.B.; CAVASIN, G.; DA SILVA, H.H.G.; GERIS, R.; DA SILVA, I.G. Atividade larvicida do ácido 3--acetoxylabdan-8 (17)-13-dien-15-óico isolado da planta medicinal *Copaifera reticulata* (Leguminosae) sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae)

evidenciada pelas alterações morfohistológicas. **Revista de Patologia Tropical**, v.43, n.3, p.375-384, 2014.

VARGAS, R.I.; WILLIAMSON, D.L.; CHANG, H.; KOMURA, M. Effects of larval-diet pH on worker confort and insect quality during mass production of mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Hawaii. **Journal of Environmental Science**, v.19, n.5, p.621-630, 1984.

WU, M.; SUN, L.V.; VAMATHEVAN, J.; RIEGLER, M.; DEBOY, R.; BROWNLIE, J.C.; MCGRAW, E.A.; MARTIN, W.; ESSER, C.; AHMADINEJAD, N.; WIEGAND C.; MADUPU. R.; BEANAN, M.J.; BRINKAC, L.M.; DAUGHERTY, S.C.; DURKIN, A.S.; KOLONAY, J.F.; NELSON, W.C.; MOHAMOUD, Y.; LEE, P.; BERRY, K.; YOUNG, M.B.; UTTERBACK, T.; WEIDMAN, J.; NIERMAN, W.C.; PAULSEN, I.T.; NELSON, K.E.; TETTELIN, H.; O'NEILL, S.L.; EISEN, J.A. Phylogenomics of the reproductive parasite *Wolbachia pipientis* wMel: a streamlined genome overrun by mobile genetic elements. **PlosBiology**, v.2, n.3, p.1-15, 2004.

ZUCCHI, R.A. Espécies de *Anastrepha*, sinónímias, plantas hospedeiras e parasitóides. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Eds.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil**: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto, Holos, 2000. p.41-48.

ZUCCHI, R.A. **Fruit flies in Brazil**. 2008. Disponível em: <<http://www.lea.esalq.usp.br/fruitflies/>>. Acesso em: 16 jan. 2015.

Tabela 1. Valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros biológicos de estágios imaturos de *Anastrepha fraterculus* mantidos em dieta artificial com diferentes doses (mL) de ácido clorídrico. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Parâmetro biológico	Doses de ácido clorídrico				CV ⁽³⁾ (%)
	3 mL [10] ⁽¹⁾ pH 5,0	6 mL [10] pH 4,0	9 mL [10] pH 3,0	12 mL [10] pH 2,0	
Duração do estágio de ovo (dias) ¹	4,35 $\pm$ 0,83 b (3,0 – 6,0) ⁽²⁾	5,12 $\pm$ 0,66 b (4,0 – 6,0)	4,69 $\pm$ 0,83 b (4,0 – 7,0)	6,67 $\pm$ 1,01 a (5,0 – 9,0)	16,28
Duração do estágio de larva (dias)	7,90 $\pm$ 1,28 ns (6,0 – 10,0)	8,10 $\pm$ 1,52 ns (7,0 – 11,0)	8,60 $\pm$ 2,59 ns (6,0 – 11,0)	6,50 $\pm$ 2,01 ns (4,0 – 10,0)	24,05
Duração do estágio de pupa (dias)	9,70 $\pm$ 0,94 ns (8,0 – 11,0)	10,30 $\pm$ 2,05 ns (7,0 – 13,0)	9,90 $\pm$ 1,72 ns (8,0 – 13,0)	10,80 $\pm$ 1,31 ns (9,0 -13,0)	14,85
Período ovo-adulto (dias) ¹	21,30 $\pm$ 0,82 b (20,0 – 23,0)	23,50 $\pm$ 1,77 a (22,0 – 26,0)	22,90 $\pm$ 1,28 ab (22,0 – 26,0)	24,0 $\pm$ 1,24 a (23,0 – 26,0)	5,56
Peso de pupas (mg) ²	12,79 $\pm$ 0,49 bc (12,10 – 13,90)	15,74 $\pm$ 1,02 a (14,40 – 17,70)	13,53 $\pm$ 0,56 b (12,30 – 14,20)	11,98 $\pm$ 0,71 c (11,00 – 12,80)	5,14
Número de pupas ¹	19,60 $\pm$ 3,33 ab (14,0 – 24,0)	34,80 $\pm$ 3,79 a (30,0 – 39,0)	17,80 $\pm$ 2,04 bc (15,0 – 21,0)	8,2 $\pm$ 1,93 c (5,0-11,0)	15,74
Viabilidade larval (%) ¹	75,81 $\pm$ 5,23 ab (68,00 – 84,00)	83,08 $\pm$ 4,50 a (78,26 – 91,18)	81,94 $\pm$ 5,30 a (74,07 – 88,24)	65,83 $\pm$ 3,66 b (60,00 – 72,73)	6,09
Viabilidade pupal (%) ²	82,27 $\pm$ 6,53 a (70,83 – 90,48)	86,90 $\pm$ 6,46 a (78,38 – 97,37)	82,93 $\pm$ 13,51 ab (61,11 – 100,0)	65,85 $\pm$ 20,10 b (33,33 – 88,89)	15,66

Valores seguidos pela mesma letra na linha não diferem entre si pelos testes de ¹Dunn e ²Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ⁽¹⁾Valores entre colchetes indicam o número de repetições. ⁽²⁾Valores entre parênteses indicam o intervalo de variação. ⁽³⁾Coefficiente de variação.

Tabela 7. Valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros biológicos de estágios imaturos de *Ceratitis capitata* mantidos em dieta artificial com diferentes doses de ácido clorídrico (mL). Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Parâmetro biológico	Doses de ácido clorídrico				CV ⁽³⁾ (%)
	3 mL [10] ⁽¹⁾	6 mL [10]	9 mL [10]	12 mL [10]	
	pH 5,0	pH 4,0	pH 3,0	pH 2,0	
Duração do estágio de ovo (dias) ¹	4,89 $\pm$ 0,99 b (4,0 – 7,0) ⁽²⁾	5,72 $\pm$ 0,84 ab (4,0 – 7,0)	6,17 $\pm$ 0,70 a (5,0 – 8,0)	6,50 $\pm$ 0,85 a (5,0 – 8,0)	14,90
Duração do estágio de larva (dias) ¹	7,30 $\pm$ 0,48 ab (7,0 – 8,0)	7,70 $\pm$ 0,82 a (7,0 – 9,0)	5,40 $\pm$ 0,84 c (4,0 – 7,0)	6,10 $\pm$ 0,73 bc (5,0 – 8,0)	11,25
Duração do estágio de pupa (dias) ¹	8,00 $\pm$ 0,47 abc (7,0 -9,0)	9,10 $\pm$ 0,87 a (8,0 – 11,0)	7,20 $\pm$ 0,91 c (6,0 – 8,0)	8,20 $\pm$ 0,63 abc (7,0 – 9,0)	8,99
Período ovo-adulto (dias) ¹	20,00 $\pm$ 0,47 b (19,0 – 21,0)	22,10 $\pm$ 0,87 a (21,0 – 24,0)	19,20 $\pm$ 0,91 b (18,0 – 20,0)	21,20 $\pm$ 0,63 ab (20,0 – 22,2)	3,52
Peso de pupas (mg) ¹	13,37 $\pm$ 0,48 a (12,30 – 13,90)	12,92 $\pm$ 0,32 ab (12,50 – 13,50)	11,30 $\pm$ 0,70 b (10,30 – 13,0)	10,01 $\pm$ 0,41 b (9,20 – 10,80)	4,13
Número de pupas ²	52,0 $\pm$ 7,40 b (44,0 – 67,0)	63,80 $\pm$ 6,10 a (55,0 – 74,0)	40,30 $\pm$ 6,66 c (33,0 – 53,0)	37,60 $\pm$ 7,38 c (26,0 – 51,0)	15,00
Viabilidade larval (%) ²	82,15 $\pm$ 8,33 b (70,97 – 97,10)	93,87 $\pm$ 2,78 a (87,30 – 97,37)	64,17 $\pm$ 10,02 c (53,23 – 81,97)	62,37 $\pm$ 12,32 d (40,63 – 78,46)	12,12
Viabilidade pupal (%) ¹	91,56 $\pm$ 5,99 a (82,00 – 97,73)	98,77 $\pm$ 1,77 a (95,16 – 100,00)	91,40 $\pm$ 2,19 ab (87,88 – 94,12)	78,86 $\pm$ 5,84 b (66,67 – 85,71)	4,54

Valores seguidos pela mesma letra na linha não diferem entre si pelos testes de ¹Dunn e ²Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ⁽¹⁾Valores entre colchetes indicam o número de repetições. ⁽²⁾Valores entre parênteses indicam o intervalo de variação. ⁽³⁾Coefficiente de variação.

Tabela 8. Valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros biológicos de adultos de *Anastrepha fraterculus* mantidos durante a fase larval em dieta artificial com diferentes doses de ácido clorídrico. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Parâmetro biológico	Doses de ácido clorídrico				CV ⁽³⁾ (%)
	3 mL [23] ⁽¹⁾ pH 5,0	6 mL [25] pH 4,0	9 mL [18] pH 3,0	12 mL [21] pH 2,0	
Período de pré-oviposição (dias)	13,91 $\pm$ 1,08 b (13,0 – 16,0) ⁽²⁾	12,72 $\pm$ 1,64 c (12,0 – 20,0)	16,22 $\pm$ 6,93 bc (12,0 – 32,0)	16,95 $\pm$ 3,72 a (15,0 – 31,0)	21,35
Período de oviposição (dias)	14,65 $\pm$ 10,83 b (1,0 – 41,0)	26,84 $\pm$ 11,45 a (4,0 – 44,0)	12,06 $\pm$ 12,60 b (1,0 – 51,0)	14,57 $\pm$ 10,93 b (2,0 – 34,0)	7,40
Fecundidade	416,78 $\pm$ 31,02 b (20,0 – 991,0)	1302,84 $\pm$ 60,82 a (134,0 – 2181,0)	322,80 $\pm$ 36,33 b (35,0 – 1323,0)	313,60 $\pm$ 26,47 b (53,0 – 820,0)	7,98
Fertilidade (%)	61,25 $\pm$ 5,68 b (43,33 – 68,00)	73,13 $\pm$ 2,64 a (70,00 – 76,67)	60,98 $\pm$ 4,13 b (53,33 – 66,67)	57,70 $\pm$ 7,02 b (43,33 – 66,67)	7,96
Razão sexual	0,48 $\pm$ 0,06 ns (0,40 – 0,61)	0,50 $\pm$ 0,01 ns (0,46 – 0,52)	0,48 $\pm$ 0,09 ns (0,36 – 0,63)	0,46 $\pm$ 0,18 ns (0,20 – 0,71)	19,17

Valores seguidos pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Dunn, ao nível de 5% de probabilidade. ⁽¹⁾Valores entre colchetes indicam o número de repetições (casais) utilizados para o estudo da biologia de adultos de *Anastrepha fraterculus*. ⁽²⁾Valores entre parênteses indicam o intervalo de variação. ⁽³⁾Coefficiente de variação.

Tabela 9. Valores médios $\pm$ desvio padrão dos parâmetros biológicos de adultos de *Ceratitis capitata* mantidos durante a fase larval em dieta artificial com diferentes doses de ácido clorídrico. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Parâmetro biológico	Doses de ácido clorídrico				CV ⁽³⁾ (%)
	3 mL [18] ⁽¹⁾ pH 5,0	6 mL [25] pH 4,0	9 mL [25] pH 3,0	12 mL [19] pH 2,0	
Período de pré-oviposição (dias)	12,22 $\pm$ 2,57 ab (10,0 – 21,0) ⁽²⁾	11,16 $\pm$ 1,43 b (10,0 – 14,0)	15,72 $\pm$ 6,16 a (10,0 – 35,0)	13,79 $\pm$ 8,01 b (9,0 – 38,0)	32,81
Período de oviposição (dias)	11,92 $\pm$ 10,89 ns (1,0 – 33,0)	17,76 $\pm$ 9,78 ns (1,0 – 32,0)	15,20 $\pm$ 11,36 ns (1,0 – 36,0)	13,00 $\pm$ 13,37 ns (1,0 – 45,0)	81,03
Fecundidade	304,04 $\pm$ 29,23 ns (9,0 – 1109,0)	429,0 $\pm$ 23,65 ns (13,0 – 921,0)	311,44 $\pm$ 29,42 ns (3,0 – 1067,0)	257,28 $\pm$ 28,22 ns (10,0 – 910,0)	89,43
Fertilidade (%)	73,33 $\pm$ 6,16 a (63,33 – 86,67)	79,47 $\pm$ 4,55 a (70,00 – 86,67)	64,58 $\pm$ 9,99 b (50,0 – 95,0)	62,87 $\pm$ 7,04 b (50,0 – 73,33)	10,20
Razão sexual	0,52 $\pm$ 0,03 ab (0,48 – 0,60)	0,50 $\pm$ 0,01 b (0,50 – 0,51)	0,55 $\pm$ 0,04 ab (0,50 – 0,65)	0,55 $\pm$ 0,07 a (0,42 – 0,65)	7,36

Valores seguidos pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Dunn, ao nível de 5% de probabilidade. ⁽¹⁾Valores entre colchetes indicam o número de repetições (casais) utilizados para o estudo da biologia de adultos de *Ceratitis capitata*. ⁽²⁾Valores entre parênteses indicam o intervalo de variação. ⁽³⁾Coefficiente de variação.

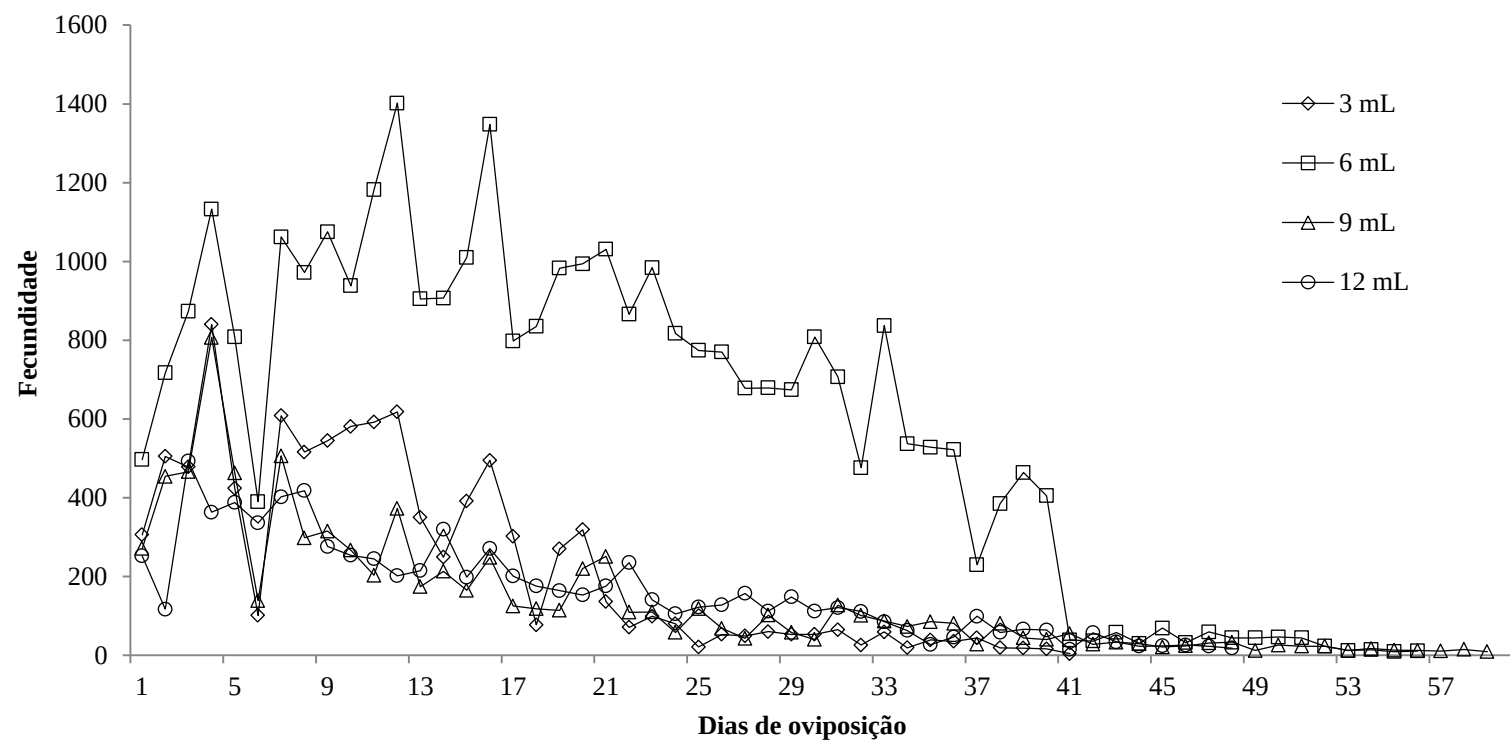


Figura 1. Ritmo diário de oviposição de fêmeas de *Anastrepha fraterculus* mantidas durante a fase larval em dieta artificial com diferentes doses de ácido clorídrico. Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

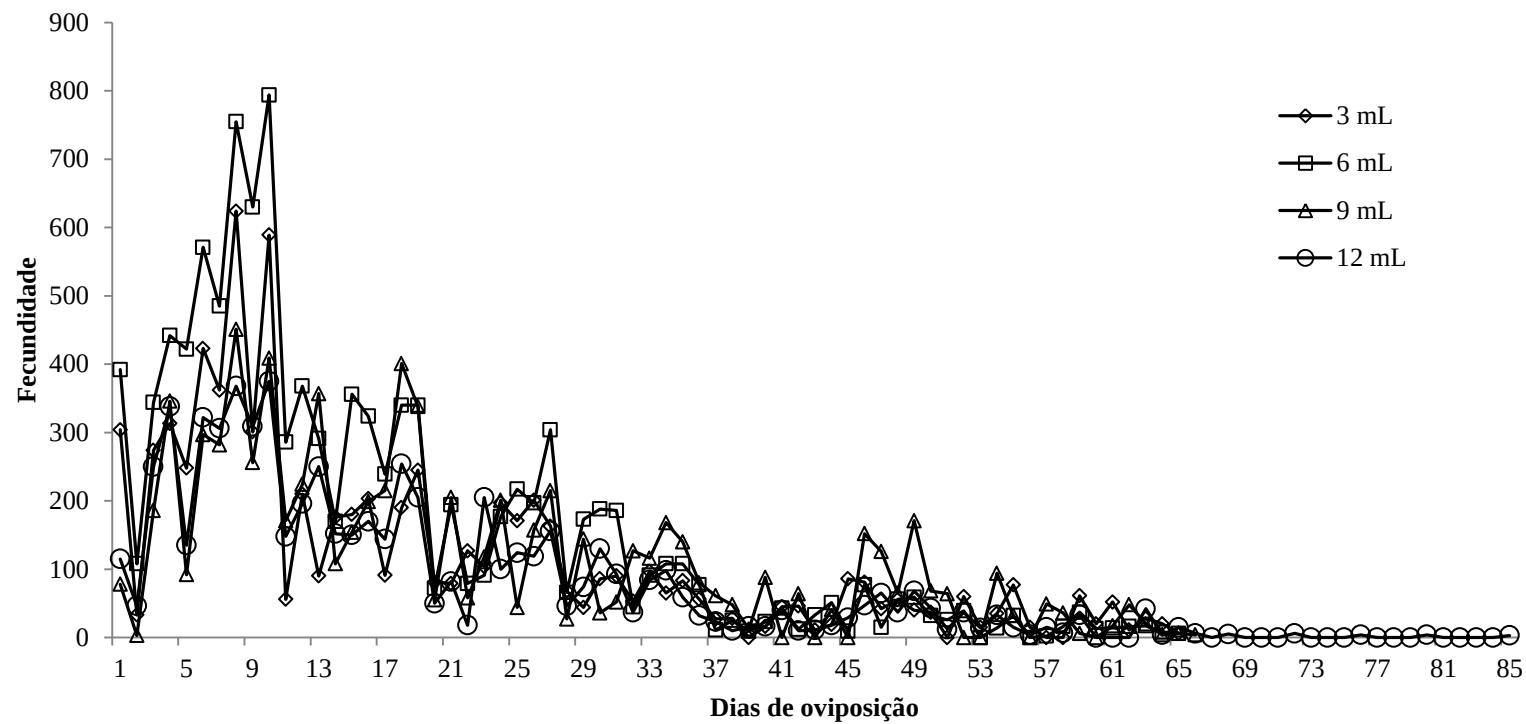


Figura 2. Ritmo diário de oviposição de fêmeas de *Ceratitis capitata* mantidas durante a fase larval em dieta artificial com diferentes doses de ácido clorídrico. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

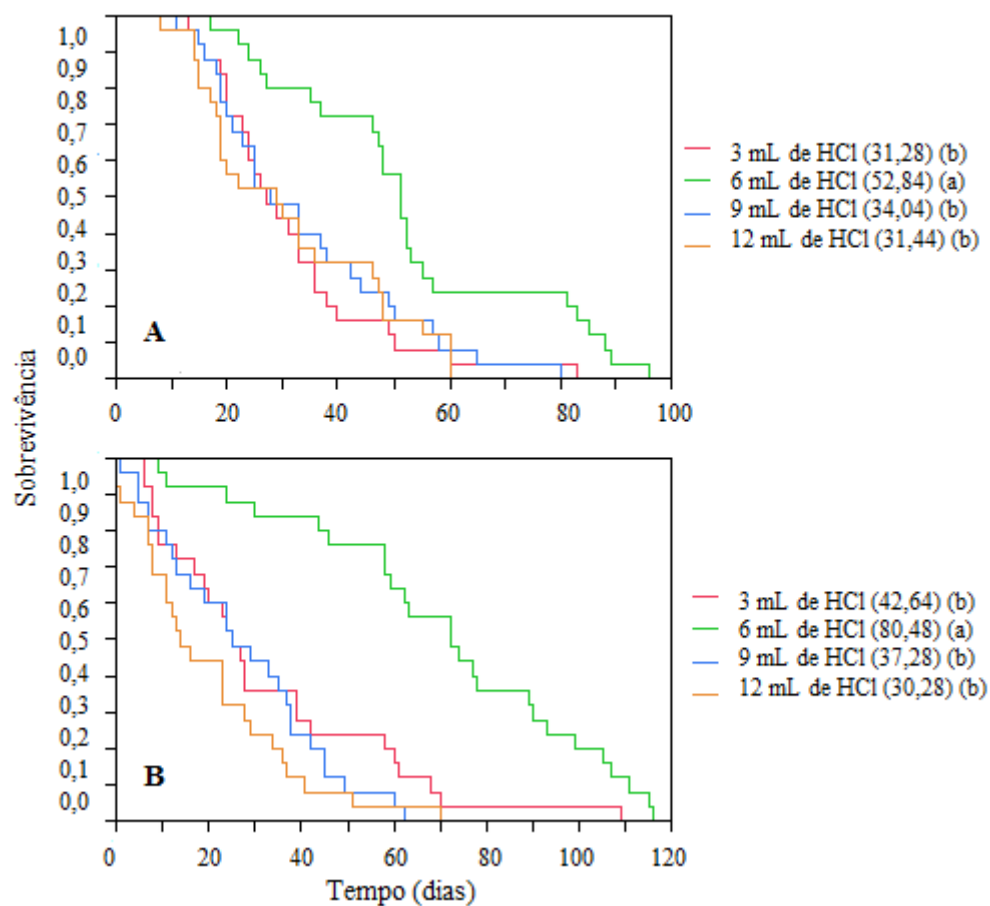


Figura 3. Curvas de sobrevivência de fêmeas (A) e de machos (B) de *Anastrepha fraterculus* mantidos durante a fase larval em dieta artificial com diferentes doses (mL) de ácido clorídrico (HCl). Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Médias identificadas com mesma letra não diferem significativamente entre si.

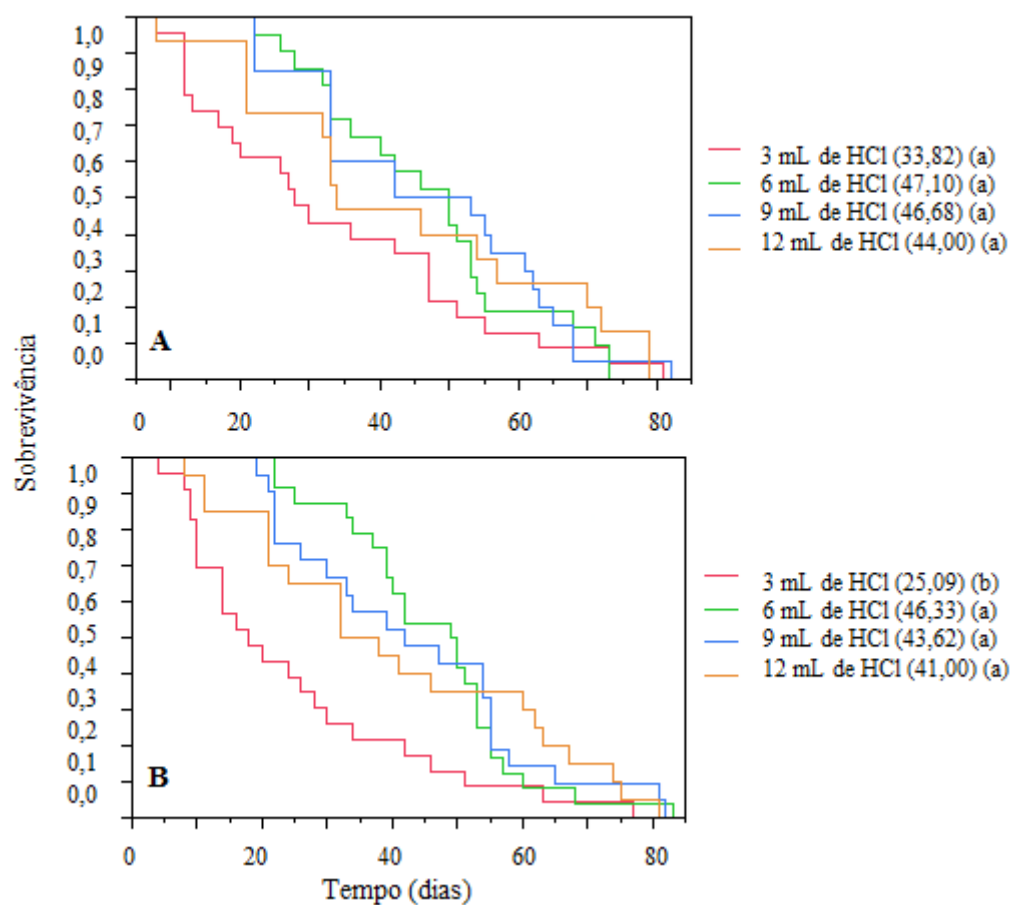


Figura 4. Curvas de sobrevivência de fêmeas (A) e de machos (B) de *Ceratitis capitata* mantidos durante a fase larval em dieta artificial com diferentes doses (mL) de ácido clorídrico (HCl). Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Médias identificadas com a mesma letra não diferem significativamente entre si.

5. Considerações finais

A suscetibilidade do gênero *Citrus* à infestação por moscas-das-frutas envolve variações, especialmente quanto à espécie e cultivar usadas como hospedeiros. A cultivar de laranjeira 'Navelina' estudada no artigo 1 apresentou maior suscetibilidade à infestação por *Ceratitis capitata*, enquanto a cultivar de tangerineira 'Clemenules' foi mais suscetível à *Anastrepha fraterculus*, embora também tenha completado seu desenvolvimento em frutos de laranjeira. Foi verificado que a oviposição de moscas-das-frutas na cultivar 'Navelina' inicia quando os frutos já estão maduros, próximo ao período da colheita, sendo assim, necessário, o monitoramento antes desse período. Neste trabalho, também foi verificado que no último estágio de maturação de frutos de laranjeira, as características físico-químicas, apresentaram condições favoráveis ao desenvolvimento de moscas-das-frutas.

O mesmo estudo demonstrou que o limoeiro 'Siciliano' apresentou não-preferência à oviposição por ambas as espécies de tefritídeos, o que é desejável para o cultivo, pois evita o ataque do inseto. Isto pode ter ocorrido em função das características químicas específicas da cultivar, visto que a oviposição não está relacionada a fatores físicos do fruto, conforme verificado no artigo 2. Observou-se que a presença de frutos de limoeiro 'Siciliano' estimula a maior oviposição de *C. capitata* em frutos de laranjeira 'Navelina'. Este fato é importante de ser apresentado, pois como a época de cultivo destas frutíferas é semelhante no Rio Grande do Sul, a presença de frutos de limoeiro 'Siciliano' em pomar de laranjeira 'Navelina' pode não ser desejável, em função de que espécies polífagas, como *C. capitata* apresentam mecanismos de defesa que podem discriminar hospedeiros inadequados.

No artigo 2, foi verificado que *A. fraterculus* e *C. capitata* depositam ovos no flavedo de laranjeira 'Navelina', enquanto em tangerina 'Clemenules' a

deposição ocorre entre o flavedo e o albedo. Isto provavelmente está relacionado aos compostos e às suas concentrações nos frutos estudados, sendo necessário estudos futuros para identificação da composição do óleo essencial.

No último artigo, foi constatado que dietas artificiais com pH abaixo de 4,0 afetam o desenvolvimento de *A. fraterculus* e de *C. capitata*, promovendo alterações na sua biologia. Esse fato pode ser associado ao pH do limoeiro 'Siciliano', que apresenta valores baixos (entre 2,0 e 3,0), não sendo considerado um hospedeiro adequado para estas espécies de moscas-das-frutas, conforme discutido anteriormente.

Por fim, em relação aos meios artificiais de criação de tefritídeos, foi confirmado que dietas com pH 4,0 são adequadas ao desenvolvimento de moscas-das-frutas, promovendo resultados satisfatórios para estudos biológicos em laboratório.

6. Referências gerais

AGRIANUAL. Anuário da Agricultura Brasileira. **Agrianual 2010**. Disponível em: <<http://www.informaecon-fnp.com/publicacoes/anuarios/agrianual>>. Acesso em 19 jun.2014.

AZEVEDO, C.L.L. **Produção Integrada de Citros – BA**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2007. (Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Sistemas de produção, 15).

BACK, E.A.; PEMBERTON, C.E. Susceptibility of citrus fruits to the attack of the Mediterranean fruit fly. **Journal of Agricultural Research**, v.1, n.3, p.311-330, 1915.

BAKER, A.C.; STONE, W.E.; PLUMMER, C.C.; MCPHAIL, M. A review of studies of the Mexican fruit fly and related mexican species. **U.S.D.A Miscellaneous publications**, n.531, 1944.

BARROS, G.S.C.; SPOLADOR, H.F.S.; BACCHI, M.R.P. Supply and demand shocks and the growth of the Brazilian agriculture. **Revista Brasileira de Economia**, v.63, n.1, p.35–50, 2009.

BISOGNIN, M.; NAVA, D.E.; LISBÔA, H.; BISOGNIN, A.Z.; GARCIA, M.S.; VALGAS, R.A.; DIEZ-RODRÍGUEZ, G.I.; BOTTON, M.; ANTUNES, L.E.C.A. Biologia da mosca-das-frutas sul-americana em frutos de mirtilo, amoreira-preta, araçazeiro e pitangueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, n.2, p.141-147, 2013.

BODENHEIMER, F.S. **Citrus entomology in the Middle East**. W. Junk, The Hague, The Netherlands. 1951.

BORTOLI, L.C.; MACHOTA JUNIOR, R.; BOTTON, M.; GARCIA, F.R.M. Ocorrência da mosca-do-mediterrâneo em áreas de produção de frutíferas de clima temperado na Região da Serra Gaúcha, RS. In: Encontro de Iniciação Científica da Embrapa Uva e Vinho, 11., Bento Gonçalves, 2013. **Resumos...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2013, p.24.

BRIGATI, J.B. **Análise anatômica e molecular do albedo de frutos de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck ‘Pera’ na interação com *Guignardia citricarpa***. Piracicaba: USP, 2009. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Área de

concentração em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

CANGUSSU, J.A.; ZUCOLOTO, F.S. Effect of protein sources on fecundity, food acceptance and sexual choice by *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v.57, p.611-618, 1997.

CARVALHO, R. de. **Variabilidade cromossômica e relação entre espécies e cultivares de *Citrus***. Recife: UFPE, 2003. 133f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Área de concentração em Genética) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

CARVALHO, R.S, NASCIMENTO, A.S. Criação e utilização de *Diachasmimorpha longicaudata* para o controle de moscas-das-frutas. In: PARRA, J.P.; BOTELHO, P.S.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.) **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo, Manole, 2002. p.165-179.

CNA. Confederação Nacional da Agricultura e Pecuária. **Fruticultura**. Disponível em: <<http://www.canaldoprodutor.com.br/home/comissao/10/fruticultura#wrapper>>. Acesso em: 07 ago. 2014.

DIAS, N.P.; SILVA, F.F. da; ABREU, J.A. de; PAZINI, J.B.; BOTTA, R.A. Nível de infestação de moscas-das-frutas em faixa de fronteira, no Rio Grande do Sul. **Revista Ceres**, v.60, n.4, p.589-593, 2013.

DIAS, N.P.; SILVA, F.F.da. Moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae e Lonchaeidae) na região da Fronteira Oeste do Rio Grande do Sul. **Revista de Ciências Agrárias**, v.57, n.1, p.29-34, 2014.

DUARTE, A. L.; A. MALAVASI. Tratamentos quarentenários, In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p.187-192.

FACHOLI-BENDASSOLLI, M.C.N.; UCHÔA-FERNANDES, M.A. Comportamento sexual de *Anastrepha sororcula* Zucchi (Diptera, Tephritidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.50, n.3, p.406-412, 2006.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 07 set. 2014.

FOFONKA, L. **Espaço agrícola, ambiente e agroecologia: incidência de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) nos pomares de laranja no município de Cará, RS**. Porto Alegre, UFRGS, 2006. 149f. Dissertação (Mestrado em Geografia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

GARCIA, F.R.M.; CORSEUIL, E. Flutuação populacional de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) e *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) em pomares de pessegueiro em Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.15, n.1, p.153-158, 1998.

GATELLI, T.; SILVA, F.F. da; MEIRELLES, R.N.; REDAELLI, L. R.; DAL SOGLIO, F.K. Moscas frugívoras associadas a mirtáceas e laranjeira 'Céu' na região do Vale do Rio Caí, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v.38, n.1, p.236-239, 2008.

GREANY, P.D.; STYER, S.C.P.; DAVIS, P.L.; SHAW, P.E.; CHAMBERS, D.L. Biochemical resistance of citrus to fruit flies, demonstration and elucidation of resistance to the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.34, n.1, p.40-50, 1983.

IAEA. International Atomic Energy Agency. **Trapping Guidelines for Area-Wide Fruit Fly Programmes**, Vienna: IAEA, 2003. 46p.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 01 jun. 2013.

IBRAF. Instituto Brasileiro de Fruticultura. **Estatísticas**. Disponível em: <http://www.ibraf.org.br/estatisticas/est_frutas.asp>. Acesso em: 04 ago. 2014.

IHERING, H.V. Laranjas bichadas. **Revista Agrícola**, v.70, p.179-181, 1901.

JOAQUIM-BRAVO, I.S.; GUIMARÃES, A.N.; MAGALHÃES, T.C.; NASCIMENTO, A.S. Performance de *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) em frutos: comparação de duas populações criadas em laboratório. **Neotropical Entomology**, v.39, n.1, p.9-14, 2010.

KOVALESKI, A. **Tecnologias para o manejo integrado da mosca-das-frutas sul-americana em fruteiras temperadas**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2010. (Embrapa Uva e Vinha, Macroprograma, 2).

MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A.; SUGAYAMA, R.L. Biogeografia. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p.93-98.

MULLER, F.A. **Microbiota intestinal de larvas e adultos de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae): diversidade e efeito do alimento**. Piracicaba: USP, 2013. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciências - Área de concentração em Entomologia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

NUNES, A.M.; MÜLLER, F.M.; GONÇALVES, R.S.; GARCIA, M.S.; COSTA, V.A.; NAVA, D.E. Moscas frugívoras e seus parasitóides nos municípios de Pelotas e Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v.42, n.1, p.6-12, 2012.

PAPACHRISTOS, D.M.; PAPADOPOULOS, N.T.; NANOS, G.D. Survival and development of immature stages of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in citrus fruit. **Journal of Economic Entomology**, v.101, n.3, p.866-872, 2008.

PEREIRA-RÊGO, D.R.G.; JAHNKE, S.M.; REDAELLI, L.R.; SCHAFFER, N. Variação na infestação de mosca-das-frutas (Diptera: Tephritidae) e parasitismo em diferentes fases de frutificação em mirtáceas nativas no Rio Grande do Sul. **EntomoBrasilis**, v.6, n.2, p.141-145, 2013.

QUAYLE, H.J. **Citrus fruit insects in Mediterranean countries**. U.S., Department of Agriculture. Bulletin, 1914. 134p.

SALLES, L.A.B. **Bioecologia e controle da mosca-das-frutas sul-americana**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1995, 58p. (Embrapa Clima Temperado, Circular técnica, 81).

SALLES, L.A.B. Principais pragas e seu controle. In: MEDEIROS, C.A.B.; RASEIRA, M. DO C. **A cultura do pessegueiro**. Brasília: Embrapa-CPACT, 1998. p.205-242.

SALVATORE, A.; BORKOSKY, S.; WILLINK, E.; BARDÓN, A. Mecanismos de resistencia química ofrecidos por el limón al ataque de *Ceratitidis capitata*. In: WILLINK, E.; GASTAMINZA, G.; AUGIER, L.; STEIN, B. (Eds.). **Moscas de los frutos y su relevancia cuarentenaria en la citricultura del noroeste de Argentina**: Once años de investigaciones 1996-2007. Tucumán, Las Talitas, 2007, p.1-5. Disponível em: <<http://www.eeaoc.org.ar/publicaciones/categoria/18/80/LZ-Mecanismos-de-resistencia-quimica-ofrecidos-por-el-limon-al-ataque-de-C-capitata---cap-8.html>>. Acesso em: 14 ago. 2014.

SAMPAIO, A.S.; MYAZAKY, I.; SUPLICY FILHO. Fatores possíveis de determinar o grau de suscetibilidade de certas variedades cítricas ao parasitismo por “moscas-das-frutas” (*Ceratitidis capitata* Wied., 1824 e *Anastrepha* spp.), **O Biológico**, n.12, p.273-284, 1984.

SILVA, F.F.da; MEIRELLES, R. N.; REDAELLI, L.R.; DAL SOGLIO, F. K. Diversity of flies (Diptera: Tephritidae and Lonchaeidae) in organic citrus orchards in the Vale do Rio Caí, Rio Grande do Sul, Southern Brazil. **Neotropical Entomology**, v.35, n.5, p.666-670, 2006.

SILVA, F.F.da; MEIRELLES, R.N.; DAL SOGLIO, F.K.; REDAELLI, L.R. Comparação de métodos de controle de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) na produção orgânica de citros. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v.14, n.1, p.36-52, 2007.

SPITLER, G. H.; ARMSTRONG, J.W.; COUEY, H.M. Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) host status of commercial lemon. **Journal of Economic Entomology**, v.77, n.6, p.1441-1444, 1984.

SUGAYAMA, R.L. ***Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) na região produtora de maçãs do Rio Grande do Sul: relação com os inimigos naturais e potencial para o controle biológico.** São Paulo: USP. 117f. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

SWINGLE, W.T. The botany of citrus and its wild relatives in the orange subfamily. In: WEBBER, H.J.; BATCHELOR, L.D. (Ed.) **The Citrus industry.** 2.ed. Berkeley, University of California, 1967. v.1, p.190-430.

TANAKA, T. Fundamental discussion of *Citrus* classification. **Studia Citrologica**, n.14, p.1-6, 1977.

TING, S.V.; ROUSEFF, R.L. **Citrus fruits and their products:** analysis and technology. New York, Marcel Dekker, 1994. 293p.

ZANARDI, O.Z.; NAVA, D.E.; BOTTON, M.; GRUTZMACHER, A.D.; MACHOTA JUNIOR, R.; BISOGNIN, M. Desenvolvimento e reprodução da mosca-do-mediterrâneo em caqui, macieira, pessegueiro e videira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.7, p.682-688, 2011.

ZART, M.; FERNANDES, O. ; BOTTON, M. Biology and fertility life table of the South American fruit fly *Anastrepha fraterculus* on grape. **Bulletin of Insectology**, v.63, n.2, p.237-242, 2010.

ZUCCHI, R.A. Espécies de *Anastrepha*, sinonímias, plantas hospedeiras e parasitóides. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Eds.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil:** conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto, Holos, 2000. p.41-48.

ZUCCHI, R.A. **Fruit flies in Brazil.** 2008. Disponível em: <<http://www.lea.esalq.usp.br/fruitflies/>>. Acesso em: 08 fev. 2015.