
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ISABELLE BUENO SILVA

Influência da umidade relativa sobre período de pupação, emergência, e longevidade dos adultos e resistência a diferentes tipos de estresse em larvas de *Zaprionus indianus* Gupta, 1970 (DIPTERA: DROSOPHILIDAE)

ISABELLE BUENO SILVA

Influência da umidade relativa sobre período de pupação, emergência, e longevidade dos adultos e resistência a diferentes tipos de estresse em larvas de *Zaprionus indianus* Gupta, 1970 (DIPTERA: DROSOPHILIDAE)

Orientador: Claudio José Von Zuben

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Câmpus de Rio Claro, para obtenção do grau de Bacharela e Licenciada em Ciências Biológicas.

Rio Claro – SP

2016

595.77 Silva, Isabelle Bueno
S586i Influência da umidade relativa sobre período de pupação, emergência, e
longevidade dos adultos e resistência a diferentes tipos de estresse em
larvas de *Zaprionus indianus* Gupta, 1970 (Diptera: Drosophilidae) /
Isabelle Bueno Silva. - Rio Claro, 2016
68 f. : il., figs., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (licenciatura e bacharelado - Ciências
biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de
Rio Claro
Orientador: Claudio José Von Zuben

1. Díptero. 2. Mosca-do-figo. 3. Geometria nutricional. 4. Análise de
sobrevivência. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

Dedico esse trabalho aos meus pais que não mediram esforços para me ajudar a realizar esse sonho, pois sempre me mostraram o quanto eu era e sou capaz.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus primeiramente, por ter chegado até aqui e ter tido essa oportunidade única. Gostaria também de agradecer muito meus pais que sempre me ajudaram e me deram toda a força para que eu realizasse esse sonho, e também toda minha família que sempre torceu por mim e esteve ao meu lado. Não podia esquecer os meus irmãos do ministério “APF” por compartilharem desses anos sempre sendo meus intercessores.

Agradeço à Universidade Estadual Paulista (UNESP), por todo o apoio para a realização da minha graduação e iniciação científica, ao Ministério da Educação (MEC) pelo apoio financeiro durante os dois anos que fui petiana no PET-Biologia, e à Fundação de Amparo e Pesquisa (FAPESP- Processo nº 2014/25384-9) pela realização do meu projeto de Iniciação Científica.

Sou muito grata também ao meu orientador Professor Dr. Claudio José Von Zuben, que com toda atenção, experiência e paciência muito me auxiliou em toda essa trajetória. À Cris e à Lari que me ajudaram muito, tanto na vida acadêmica quanto na pessoal, foram muito importantes para mim. Ao Guilherme Gomes, Carol, Débora, Thiago, Marcela, Isabella, todos os meus colegas de laboratório que estiveram ao meu lado e me ajudaram em vários momentos.

Também agradeço ao pessoal do ERAPI, Guilherme e “Marcão”, que tiveram toda a paciência para me auxiliar tantas vezes, com as minhas inúmeras dúvidas. Aos técnicos Emydgio e Fernando que por diversas vezes não pouparam esforços para me ajudarem, muito obrigada.

Gostaria também de agradecer ao Professor Dr. Silvio Govone, e ao Eduardo, os estatísticos que sempre me apoiaram, tiraram dúvidas e também me ensinaram muito. À professora Dra. Ana Maria Leonardo e suas alunas Vanelize e Lara por me acolherem em seus laboratórios para que eu pudesse realizar as fotos das lâminas de asa. Também a todos os docentes, funcionários e colegas da graduação que foram muito importantes para a minha construção acadêmica e pessoal nesses cinco anos.

Agradeço também à pesquisadora PhD. Christen Mirth pela oportunidade, apoio e supervisão, bem como ao pessoal do laboratório “DEE”, Maria, Claudia, Ana Sofia, Nuno, Marta, Liliana, e todos os demais, que muito me ensinaram enquanto estagiei no IGC-Instituto Gulbenkian de Ciências, em Portugal.

Não podia esquecer-me de agradecer todo o pessoal do PET-Biologia, que esteve comigo por dois anos da minha graduação, e compartilharam momentos únicos de muito

aprendizado. Ao professor Dr. Flávio Caetano, por todo o auxílio e ensinamento durante esse período.

Foram anos maravilhosos, com luta sim, mas com um ensinamento ímpar. Sentirei muita saudade desse capítulo de minha vida, mas sei que tudo o que vivenciei colaborou para eu ser o que sou e também para o novo capítulo que agora se inicia.

Muito obrigada a todos vocês! E àqueles que eu não mencionei diretamente o nome, porém que sabem, no entanto, o quanto foram fundamentais para minha formação.

RESUMO

Devido à invasão do drosofilídeo de origem africana *Zaprionus indianus* Gupta 1970, em território brasileiro, seguido do fato dessa espécie tornar-se praga do figo-roxo através da oviposição no ostíolo, inviabilizando-o para o consumo humano, diversos estudos com essa mosca se fazem necessários. Além do fato de que tentativas de medidas de controles como inseticidas, soluções atrativas nas plantações e protetores de ostíolos não foram eficientes, seria interessante se entender melhor sobre aspectos da biologia dessa espécie. Estudos da influência de fatores abióticos, por exemplo, a umidade relativa, bem como a análise da possível sobrevivência a ambientes estressantes através da qualidade nutricional dessa espécie, são escassos. Assim, o presente estudo analisou a influência da umidade relativa no período de pupação, emergência e longevidade de adultos de *Z. indianus*, além de analisar se a composição de macronutrientes assimilados na fase larval interferia na sobrevivência dos indivíduos em algumas condições estressantes. O teste com pupas mostrou que há influência negativa na emergência quando em condições de baixa umidade relativa, além do fato de que características biométricas, como peso, comprimento e largura, não foram decisivas para uma maior sobrevivência. Em relação aos testes com os adultos, a influência na sobrevivência foi nula em condições de baixa umidade, e foi positiva em alta umidade, já que se verificou a maior média de longevidade em indivíduos submetidos a essa condição. Ademais, ao se verificar se medidas como largura de tórax, comprimento e área de asa eram também características que se relacionavam proporcionalmente com a sobrevivência, viu-se que somente em indivíduos expostos a condições de baixa umidade que a área da asa foi um fator provavelmente decisivo na sobrevivência destes. Quanto ao teste com geometria nutricional em larvas, verificou-se que em condições de estresse, as larvas que se alimentaram com dietas mais ricas em proteínas e com menor quantidade de carboidrato tiveram maiores valores para sobrevivência, por estarem com um desenvolvimento mais adiantado e pela qualidade nutricional de sua dieta. No entanto, são necessários estudos mais refinados que possam assegurar qual macro-nutriente exerce maior influência nesta espécie de drosofilídeo, ou para se verificar de forma detalhada a relação de outras características biométricas com a taxa de sobrevivência dessa espécie. Apesar disso, o presente estudo elucidou aspectos interessantes da biologia da mosca-do-figo frente a condições estressantes, e, dessa forma pode auxiliar próximos projetos que busquem compreender a distribuição e comportamento em campo dessa espécie.

Palavras-chave: *Zaprionus indianus*; Umidade relativa; Geometria Nutricional

ABSTRACT

In spite of the invasion of the african drosophilid *Zaprionus indianus* Gupta 1970, in Brazil's territory, followed by this species become pest of purple-fig through the oviposition in fig ostiole, invalidating it for human consumption, Several studies with this fly are necessary. Besides the fact of control measures like insecticides, attractive solutions in plantations and ostile protectors were not eficiente, would be interesting to understand more about biological aspects of this species. Studies about influence of abiotic factors, for example, relative humidity, and also the survival analysis in stressful environments through the nutritional quality in this species, are limited. Thus, the presente study analyzed the influence of relative humidity in pupal period, emergence and longevity of *Z. indianus* flies, in addition to analyzing if the macronutrients composition assimilated in larval period interfere in survival of individuals in some stressful conditions. The pupal test showed no negative influence on the emergency when in low relative humidity conditions, besides the fact that biometric characteristics, such as weight, length and width were not decisive for greater survival. With respect to the test with adults, the influence in their suvival was nil in low relative humidity conditions, and positive in high relative humidity, since was verified a higher average in logevity in individuals undergoing this condition. Moreover, to check whether the measures like thorax lenght, length and wing area were characteristics related proportionally with survival, was seen only in individuals exposed to low humidity conditions that the wing area was a probably decisive factor in the survival of these. About the nutritional geometry test in larvae, it was found that in stressful conditions, larvae fed in food more rich in protein and with less concentration of carbohydrate had higher values for survival by being with an earlier development and nutritional quality of your diet. However, is necessary more refined studies to ensure which macronutrient exert greater influence in this drosophilid species, or to check in detail the relationship of other biometric features with the survival rate of this species. Nevertheless, this presente study elucidated interesting aspects of purple-fig front of biology to stressful conditions, and thus can help upcoming projects that seek to understand the distribution and behavior of this species in the field.

Key-words: *Zaprionus indianus*; Relative Humidity; Nutriotional Geometry

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Esquema do figo contendo larvas de <i>Zaprionus indianus</i>	12
Figura 2- Esquema da metodologia utilizada para o teste com pupas.....	20
Figura 3- Recipiente utilizado para realização dos experimentos com adultos. A saída circular é por onde os indivíduos eram colocados e retirados.....	21
Figura 4 – Método padronizado para medir os parâmetros de comprimento (A) e Largura de tórax (B) de <i>Zaprionus indianus</i> através de uma régua acoplada no estereomicroscópio.....	22
Figura 5- Adultos de <i>Zaprionus indianus</i> em frascos.....	23
Figura 6- Dietas em diferentes proporções de proteína: carboidrato (P:C). Sendo da esquerda para a direita: 1:16; 1:8; 1:4; 1:2; 1:1; 1.5:1. Foram feitas duas diluições, 45g/L (A) e 90g/L (B)	24
Figura 7- Diferentes dietas para o teste de tolerância a estresses. Da esquerda para a direita, têm-se o frasco vazio, dieta com 1% de ágar, dieta com 1% de ágar + 9,0g de açúcar, dieta com 1% de ágar + 9,0g de levedura, e dieta normal.....	24
Figura 8- Teste para verificação da interferência das variáveis (Peso, comprimento e largura) para emergentes e não emergentes do grupo Controle.....	28
Figura 9- Teste para verificação da interferência das variáveis (Peso, comprimento e largura) para emergentes e não emergentes do grupo Alta Umidade.....	28
Figura 10- Teste para verificação da interferência das variáveis (Peso, comprimento e largura) para emergentes e não emergentes do grupo Baixa Umidade.....	29
Figura 11- Comparação entre as curvas de sobrevivência dos grupos experimentais até 32 horas depois do início do experimento.....	33
Figura 12- Comparação da influência da umidade na taxa de falha de machos para os submetidos à baixa umidade e os do grupo controle.....	33
Figura 13- Comparação da influência da umidade na taxa de falha de fêmeas para as submetidas à baixa umidade e os do grupo controle.....	34
Figura 14- Comparação entre as curvas de sobrevivência dos grupos experimentais até 56 horas depois do início do experimento.....	38
Figura 15- Comparação da influência da umidade na taxa de falha de machos para os submetidos à alta umidade e os do grupo controle.....	39
Figura 16- Comparação da influência da umidade na taxa de falha de fêmeas para as submetidas à alta umidade e as do grupo controle.....	39
Figura 17- Imagem da asa de um adulto de <i>Zaprionus indianus</i> (A), e a forma como foi medida a área, de acordo com o programa ImageJ (B). 40	40
Figura 18- Imagem de uma asa danificada de um adulto de <i>Zaprionus indianus</i> observado pelo estereomicroscópio.....	41
Figura 19- Parâmetros biométricos como comprimento, largura e área de asa, respectivamente, de adultos relacionados com o tempo em horas após o início do experimento, para o grupo controle.....	43
Figura 20- Parâmetros biométricos como comprimento, largura e área de asa, respectivamente, de adultos relacionados com ao tempo máximo de sobrevivência durante o experimento no grupo baixa umidade.....	44
Figura 21- Parâmetros biométricos como comprimento, largura e área de asa, respectivamente, de adultos relacionados com ao tempo máximo de sobrevivência durante o experimento no grupo controle.....	45
Figura 22- Parâmetros biométricos como comprimento, largura e área de asa, respectivamente, de adultos relacionados com ao tempo máximo de sobrevivência durante o experimento no grupo alta umidade.....	46

Figura 23- Proporção de sobrevivência de larvas nas diferentes proporções (P:C) para os cinco diferentes grupos (1% ágar; Frasco vazio; 1% ágar + 9,0g/L açúcar; 1% ágar + 9,0g/L levedura; Dieta normal).....	47
Figura 24- Proporção de sobrevivência de pupas nas diferentes proporções (P:C) para os cinco diferentes grupos (1% ágar; Frasco vazio; 1% ágar + 9,0g/L açúcar; 1% ágar + 9,0g/L levedura; Dieta normal).....	48
Figura 25- Tempo (h) que larvas que foram alimentadas com dietas com 45g/L (cor verde) e com 90g/L (cor vermelha) levaram para completarem seu desenvolvimento, nas diferentes condições de estresse: [Fome (Dieta com 1% ágar), Fome e dessecação (Sem dieta), Privação de proteína (Dieta com 1% ágar e açúcar) e Privação de carboidrato (Dieta com 1% ágar e levedura)] respectivamente.....	49
Figura 26- Efeito da quantidade de proteína (A) e de carboidrato (B), no tempo de desenvolvimento (h) de larvas que foram alimentadas em dietas nas diluições 45g/L e 90g/L, em todos os cinco tratamentos as quais foram submetidas.....	50
Figura 27- Tempo de desenvolvimento (h) de larvas, comparando as diferentes proporções (P:C) entre as diferentes condições de estresse (Da esquerda para a direita: Resistência à fome; Resistência à fome e dessecação; Resistência à privação de proteína; Resistência à falta de açúcar; Grupo controle).....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Teste qui-quadrado de comparação de proporções entre os três grupos.....	26
Tabela 2- Teste qui-quadrado de comparação da emergência de machos e fêmeas de acordo com os três tratamentos.....	26
Tabela 3- Dados do número de machos e fêmeas que emergiram (E) para os três tratamentos, e as médias de período de pupação em dias (M.P.P) e desvio-padrão, para os três tratamentos.....	27
Tabela 4- Média dos valores de umidade relativa (U.R.%) para as cinco réplicas tanto no grupo controle quanto no grupo baixa umidade.	29
Tabela 5- Probabilidade de morte dos adultos nos intervalos de oito em oito horas após o início do experimento.....	30
Tabela 6- Estimativa de sobrevivência dos adultos do grupo controle, para cada período de tempo observado, sendo n_j = número de indivíduos vivos no tempo j (em horas); d_j = número de falhas no tempo j; $1 - d_j/n_j$ = taxa de falha do tempo j; $\hat{S}(t +)$ = Estimador de Kaplan-Meier.....	31
Tabela 7 – Probabilidade de morte dos adultos nos intervalos de oito em oito horas após o início do experimento.....	32
Tabela 8- Estimativa de sobrevivência dos adultos do grupo baixa umidade, para cada período de tempo observado, sendo n_j = número de indivíduos vivos no tempo j (em horas); d_j = número de falhas no tempo j; $1 - d_j/n_j$ = taxa de falha do tempo j; $\hat{S}(t +)$ = Estimador de Kaplan-Meier.....	32
Tabela 9- Média dos valores de umidade relativa (U.R.%) para as cinco réplicas, tanto no grupo controle quanto no grupo alta umidade.....	34
Tabela 10- Probabilidade de morte dos adultos nos intervalos de oito em oito horas após o início do experimento no grupo controle.....	36
Tabela 11- Estimativa de sobrevivência dos adultos do grupo controle (segunda etapa), para cada período de tempo observado, sendo n_j = número de indivíduos vivos no tempo j (em horas); d_j = número de falhas no tempo j; $1 - d_j/n_j$ = taxa de falha do tempo j; $\hat{S}(t +)$ = Estimador de Kaplan-Meier.....	36
Tabela 15- Teste ANOVA para comparar os cinco tratamentos, considerando o tempo de desenvolvimento em h das larvas advindas das diferentes proporções de dieta. Sendo G1= Dieta com ágar, G2= Frasco vazio; G3= Dieta com ágar e açúcar; G4= Dieta com ágar e levedura; G5= Dieta normal.....	51
Tabela 16- Teste ANOVA para comparar os diferentes tratamentos em pares. (G1= Dieta com ágar, G2= Frasco vazio; G3= Dieta com ágar e açúcar; G4= Dieta com ágar e levedura; G5= Dieta normal).....	52
Tabela 17- Teste ANOVA para analisar as diferentes proporções (P:C) no Grupo 1.....	53
Tabela 18- Teste ANOVA para analisar as diferentes proporções (P:C) no Grupo 2.....	53
Tabela 19- Teste ANOVA para analisar as diferentes proporções (P:C) no Grupo 3.....	54
Tabela 20- Teste ANOVA para analisar as diferentes proporções (P:C) no Grupo 4.....	55
Tabela 21- Teste ANOVA para analisar as diferentes proporções (P:C) no Grupo 5.....	55

SUMÁRIO

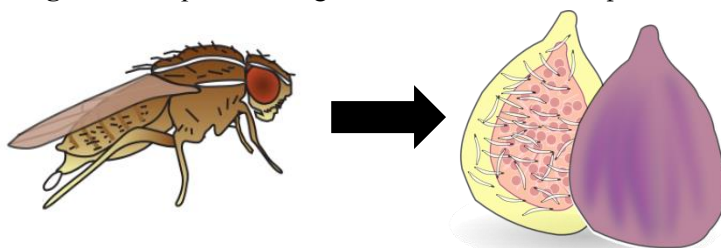
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1. Ficicultura.....	14
2.2. Condições ambientais.....	15
2.3. Ciclo de vida e análise de sobrevivência.....	15
2.4. Importância da nutrição no ciclo de vida de insetos.....	16
2.4.1. Composições alimentares	16
3 OBJETIVOS.....	18
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4.1. Coleta e manutenção dos parentais.....	19
4.2. Teste com pupas	19
4.2.1. Observação dos recipientes	20
4.2.2. Análise estatística	20
4.3. Teste com adultos.....	20
4.3.1. Observações e medições de parâmetros biométricos dos adultos	21
4.3.2. Análise estatística	22
4.4. Teste com larvas.....	22
4.4.1 Manutenção dos adultos	22
4.4.2 Teste com Geometria Nutricional	22
4.4.2.1 Teste de tolerância.....	23
4.4.2.2. Análise estatística	25
5 RESULTADOS	26
5.1. Teste com pupas	26
5.2. Teste com adultos.....	29
5.3. Geometria Nutricional de larvas.....	46
6 DISCUSSÃO.....	56
7 CONCLUSÃO.....	61

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Zaprionus* (COQUILLET, 1902) (Diptera: Drosophilidae) compreende 56 espécies em seu total (KATO et al., 2004), e inclui várias que possuem habilidades para conquistar diversos locais, sendo *Zaprionus indianus* Gupta 1970, uma das espécies que possuem essa facilidade, devido a sua flexibilidade em se adaptar em diferentes nichos (Da Mata et al., 2010).

Zaprionus indianus foi introduzida acidentalmente no Brasil, sendo observada pela primeira vez em 1999, no município de Santa Isabel-SP, em frutos de caqui (VILELA, 1999). Pelo fato de ser polífaga, e pela flexibilidade de adaptação a variações climáticas diversas (FERREIRA; TIDON, 2005), essa espécie se expandiu para diversas áreas do país, como descrito por Kato e colaboradores (2004). Porém, se tornou praga do figo-roxo (*Ficus carica*) devido ao fato das fêmeas depositarem seus ovos no ostíolo do figo, tornando-o inviável para o consumo humano (RAGA, 2002) (Figura 1).

Figura 1- Esquema do figo contendo larvas de *Zaprionus indianus*.



Fonte: Esquema da mosca feito por Mirth, C.K, e o do figo-roxo feito pela autora.

Sabe-se que o figo apresenta grande importância econômica para o Brasil, estando entre as quinze frutas frescas mais exportadas pelo país, segundo a IBRAF (2010). Dessa forma, danos causados nos figais por essa espécie-praga podem trazer grandes prejuízos para a economia com relação à exportação, sendo necessário expandir ainda mais os conhecimentos sobre essa mosca, para posteriormente se criar medidas mais efetivas de controle para a mesma.

Algumas medidas já foram propostas para monitorar e controlar esse díptero, como uso de soluções atrativas em plantações de figo, inseticidas e protetores de ostíolo, porém não foi obtido grande sucesso com esses últimos (PASSINI et al, 2013; RAGA, 2002; RAGA, SOUZA FILHO;SATO, 2003). Assim, Matavelli (2014) salientou a importância de estudos

sobre a biologia dessa espécie, que ainda não são muito comuns, e que sirvam de embasamento para estudos posteriores com este díptero.

Sabendo que condições extremas do ambiente podem influenciar na dinâmica populacional (DAVID et al., 1983) bem como na história de vida e comportamento de insetos (TREMMELE; MÜLLER, 2013), muito ainda é preciso entender como *Z. indianus* obteve sucesso na invasão de diversas regiões do planeta, ao se adaptar a condições que podem ser interpretadas como de estresse ambiental, e ainda tornar-se praga.

A relação entre os fatores abióticos e aspectos da biologia de drosofilídeos tem sido analisada por diferentes pesquisadores. Estudos envolvendo, principalmente, o efeito da temperatura no desenvolvimento e morfologia de vários estágios do ciclo de vida de moscas-de-frutas, têm mostrado que existe uma influência desse fator na biologia desses INSETOS (AL-SAFFAR; GRAINGER; ALDRICH, 1996; KARAN; MORETEAU; DAVID, 1999; RAMNIWAS; KAJLA; PARKASH, 2012). Apesar de haver alguns autores que testaram a influência da umidade relativa em drosofilídeos, como Da Lage, Cappy, e David (1990), estudos que relacionam esse fator abiótico com essas moscas são pouco comuns (AL-SAFFAR; GRAINGER; ALDRICH, 1996).

Dessa maneira, esse estudo teve o objetivo de analisar a influência da umidade relativa sobre o ciclo de vida de *Z. indianus* e sua relação com algumas características biométricas - comprimento, largura, peso de pupas e área de asa, além de verificar se houve diferença entre machos e fêmeas dos adultos emergidos. Ademais, tendo em vista a importância da nutrição no sucesso dos estágios no ciclo de vida principalmente em ambientes estressantes, esse estudo também analisou se a qualidade nutricional da alimentação das larvas de *Z. indianus* influencia em seu desenvolvimento, quando submetida à tolerância e resistência a quatro diferentes estresses como fome, dessecação, privação de proteína e falta de açúcar.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Ficicultura

O figo apresenta grande importância cultural e na alimentação da população mundial em diversas regiões do globo, estando presente há mais de 11 mil anos como forma de cultivo utilizado pelo homem. Acredita-se que esse fruto teve sua origem na Ásia, sendo espalhado pelas Américas na época dos descobrimentos, sendo introduzido no Brasil no ano de 1532 (LEONEL;SAMPAIO, 2011).

A espécie *Ficus carica* L., pertencente à família Moraceae, é conhecida também como figueira. No Brasil, o início da exploração econômica de *F. carica* foi no ano de 1910, com a variedade denominada “Roxa de Valinhos”, no interior de São Paulo, município de Valinhos, sendo destinada em sua maioria para o mercado de frutas do país (LEONEL;SAMPAIO, 2011).

De acordo com dados da Ibraf (2010), através do programa “Brazilian fruits”, o Brasil é o terceiro país no ranking mundial da fruticultura, estando segundo Corrêa; Boliani (2010) entre os quinze principais países que produzem figos no mundo. No ano de 2013, a produção brasileira de figos chegou a 28.253 toneladas segundo o IBGE (2014), mostrando a importância econômica do cultivo de figo para o país.

No entanto, nesse contexto tem sido notável a queda da área de cultivo do Estado de São Paulo em relação a períodos anteriores; nas últimas duas décadas, a área cultivada com figos foi reduzida em 78% (PIO et al., 2010). A razão para tal redução envolve diversos fatores, segundo os autores citados anteriormente, entre eles o aumento da exploração imobiliária nessas áreas, a falta de mão-de-obra especializada, e principalmente a presença de pragas. Dentre as pragas das figueiras e do próprio figo, há a lagarta da folha (*Eutromula nemorana*), a mosca do mediterrâneo (*Ceratitis capitata*), a broca-da-figueira (*Azochis gripusalis*) e alguns nematoides (SOUZA, 2010; LEONEL; SAMPAIO, 2011). O drosofilídeo *Z. indianus* foi constatado como uma nova praga do figo no Brasil desde 2000, e a partir disso, tem causado sérios prejuízos à ficicultura.

Logo após essa constatação, os danos causados por *Z. indianus* chegaram a reduzir em 40% a produção de figo, além de diminuir em 80% a exportação desse produto agrícola, sendo que as consequências não se restringiram apenas a ficicultores do Estado de São Paulo, mas também de outros estados brasileiros (STEIN; TEIXEIRA; NOVO, 2003).

2.2. Condições ambientais

As condições do ambiente estão muito ligadas com a dinâmica populacional de insetos e plantas (PARKASH;REDDY, 1979). No caso de drosófilas, foi constatado que dependendo da estação do ano, competição, variação do clima e disponibilidade de alimento, pode haver flutuações notáveis na população (DA MATA;VALADÃO;TIDON, 2015; MATAVELLI, 2014).

Alguns trabalhos ressaltaram que além da influência genética, os fatores bióticos têm sido mais explorados nos estudos de dinâmica populacional de insetos do que os abióticos (DUNSON;TRAVIS, 1990; WORTHEN; MAYROSE; WILSON, 1994). Esses últimos fatores podem estar estritamente ligados com a resistência e sobrevivência de insetos em determinados ambientes (BUBLIY et al., 2012) o que torna ainda mais pertinente o estudo dessa interação.

Dentre os estresses ambientais que mais atingem os insetos encontram-se os fatores abióticos como a dessecação, podendo haver variações de adaptação em relação à permeabilidade cuticular, à umidade e balanço hídrico (GIBBS, CHIPPINDALE;ROSE, 1997). Sabendo que a maioria dos drosofilídeos habita locais relativamente úmidos, e que na maioria das vezes não possuem muita resistência à dessecação quando comparados a outros insetos, a capacidade fisiológica dessas moscas de resistência a esse tipo de estresse é pouco conhecida (DAVID et al., 1983).

2.3. Ciclo de vida e análise de sobrevivência

O ciclo de vida dos insetos pode variar de acordo com o ambiente em que vivem. Os encontrados em ambientes temperados possuem um período de dormência devido às condições mais extremas de alguns fatores abióticos como a temperatura, porém o ciclo dos que vivem nos trópicos ocorre de forma contínua (TRIPLEHORN ; JONNISON, 2011). Dessa forma, a sobrevivência dos diversos estágios de desenvolvimento de insetos está interligada às condições do ambiente em que vivem.

Uma das formas para se estudar a sobrevivência dos indivíduos de acordo com as condições nas quais estão inseridos, é a análise de sobrevivência, que é uma vertente estatística muito ampla para pesquisas dessa área, e que vem sendo muito utilizada desde décadas passadas (COLOSIMO; GIOLO, 2006). Essa análise consiste em verificar o tempo até que ocorra o evento (ou falha) que se está analisando.

Em estudos que envolvem dados de sobrevivência, é possível ocorrerem as chamadas “censuras”, em que algum evento independente acontece, impedindo as observações do experimento ou tornando-as incompletas e parciais. Tal censura pode ser de vários tipos como, por exemplo, a falha ocasionada por uma causa distinta do objetivo do projeto, ou quando as observações terminam e ainda não houve a falha (COLOSIMO; GIOLO, 2006).

Um dos estimadores de sobrevivência que é muito utilizado é o estimador de Kaplan-Meier, por onde é possível verificar a sobrevivência dos indivíduos nos determinados períodos de tempo. Além dessa ferramenta, para se comparar as curvas de sobrevivência existem testes específicos, como por exemplo, o teste de log-rank (COLOSIMO; GIOLO, 2006).

2.4. Importância da nutrição no ciclo de vida de insetos

Os insetos podem obter diferentes respostas a estresses de acordo com a alimentação dos estágios imaturos, pois dependendo do macro-nutriente e da quantidade ingerida, o indivíduo pode obter maior ou menor sucesso em seu crescimento e conseqüentemente em sua sobrevivência (AGUILA, HOSHIZOKI; GIBBS, 2013; RODRIGUES et al., 2015).

Devido ao fato de *Zaprionus indianus* ser encontrada em regiões com condições ambientais diversas, confirmando a sua flexibilidade em se adaptar mesmo em condições de estresse, é necessário também ter em vista que além da diversidade no clima, há ainda diversidade nas fontes de nutrientes disponíveis para esse drosofilídeo.

Diante disso, sabendo que a mosca-do-figo é caracterizada como polífaga e generalista (VILELA, 2000), ou seja, se alimenta de vários tipos de frutos e ainda está associada com leveduras, as principais bases da dieta dessas moscas são proteína e carboidrato. Contudo, a variação na composição desses macro-nutrientes pode ser um dos componentes chave para o entendimento da resistência e conseqüente ampla distribuição geográfica desse inseto-praga.

2.4.1. Composições alimentares

Aluja; Mangan (2008) mostraram a complexa relação entre as moscas-de-fruta e as plantas em que são encontradas, influenciando, por exemplo, na escolha da fêmea para a postura de ovos. Dentre os parâmetros envolvidos nessa relação estão as características morfológicas do fruto, as variações genéticas entre as populações de moscas e as

características individuais de cada fêmea, e sobretudo há ainda as características qualitativas que incluem a composição nutricional.

Considerando que dentre as preferências da maioria dos drosofilídeos, estão os frutos (BURUGA;OLEMBO, 1971), sendo encontrados, por exemplo, em laranjas (NUNEY, 1990) e figos (LACHAISE; TSACAS; COUTURIER, 1982) deve ser pontuado que pode haver variação entre as quantidades de componentes nutricionais disponíveis para diferentes frutos/ infrutescências. Dados da tabela brasileira de composição de alimentos (TACO, 2011) mostram que em figo e laranja, há respectivamente 1,0g proteína e 10,2g de carboidrato e 1,0g de proteína e 11,5g de carboidrato. Por também necessitarem de uma dieta rica em proteína, e tendo em vista a baixa quantidade desse nutriente nos frutos/ infrutescências, esses drosofilídeos se associam com leveduras e outros fungos (GORDON, 1942 apud BURUGA ; OLEMBO, 1971).

A composição nutricional da dieta possui tanta importância para o desenvolvimento, que os organismos podem moldar seus comportamentos de ingestão dependendo do estresse alimentar que enfrentam, para se alcançar um equilíbrio (SIMPSON; BATLEY; RAUBENHEIMER, 2003). Nesse cenário, os organismos necessitam de uma determinada proporção dos macro-nutrientes para não ter o desenvolvimento afetado (ALUJA; MANGAN, 2008; SIMPSON; BATLEY; RAUBENHEIMER, 2003).

Alguns estudos mostraram que de fato, a variação nas proporções de dietas de drosofilídeos influenciou no ciclo de vida dos mesmos (BEADLE et al. 1938; GÜLER et al 2015). Lee e colaboradores (2008) utilizaram a Geometria Nutricional para testar essa influência em espécies de *Drosophila*, variando quantidades de proteína e carboidrato (dietas com várias proporções P:C). Esses autores observaram que características de longevidade e fecundidade realmente apresentaram alterações dependendo da dieta, em que, por exemplo, os indivíduos viviam por mais tempo em proporções com mais carboidrato que proteína (1:16).

Em relação a *Z. indianus*, poucos estudos têm sido feitos para compreender o papel da Geometria Nutricional em seu ciclo de vida. Matavelli et al. (2015) verificaram que certos parâmetros de sobrevivência, tempo de desenvolvimento, e números de ovários dessa espécie são modificados de acordo com a dieta da larva. Entretanto, pouco é sabido se a qualidade nutricional de larvas pode ocasionar diferentes respostas desse drosofilídeo a estresses ambientais.

3 OBJETIVOS

O presente estudo visou analisar a influência da umidade relativa nas fases de pupa e de adultos de *Zaprionus indianus*, bem como verificar se parâmetros biométricos como largura, comprimento, peso de pupas e área de asas foram fatores que se relacionavam com a sobrevivência dos indivíduos à condição a que foram submetidos. Além disso, foi analisado se a qualidade nutricional durante a fase larval, especificamente a proporção de macro-nutrientes como proteína e carboidrato, influenciou na tolerância das larvas em condições estressantes como a privação de proteína, falta de açúcar, fome e dessecação.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Coleta e manutenção dos parentais

Primeiramente, foram coletados indivíduos parentais de *Z. indianus* em áreas de árvores frutíferas, no campus da UNESP (Universidade Estadual “Júlio Mesquita Filho”) na cidade de Rio Claro, SP, através do uso de puçá entomológico. Em seguida, os exemplares coletados foram anestesiados com CO₂, para a realização da triagem dos exemplares de *Z. indianus*, no Laboratório de Entomologia I do Departamento de Zoologia do Instituto de Biociências da UNESP, campus de Rio Claro.

Após a triagem, as moscas foram armazenadas em recipientes plásticos e se alimentaram de dieta artificial à base de banana nanica madura, nypagin, água, agar-agar, fermento biológico, glicose de milho Karo®, e ácido propiônico, com a tampa do frasco substituída por organza, para permitir a entrada de ar. Foram formados casais para a obtenção da geração F₁, que foram colocados em uma câmara climática (B.O.D) com controle de temperatura (25 ± 1 °C) e fotoperíodo (10h de luz e 14h de escuro).

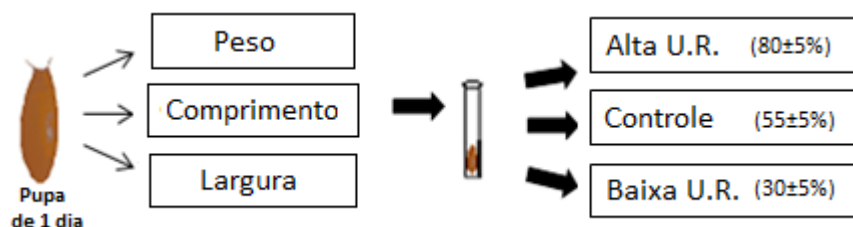
4.2. Teste com pupas

No período de pupação da geração F₂, foram separadas 300 pupas, para a divisão entre os grupos experimentais. O grupo controle foi submetido a uma umidade relativa de 50%, e dois grupos experimentais, a umidades relativas de 30% e 80%, respectivamente. As pupas (com um dia de desenvolvimento) foram primeiramente pesadas em balança analítica e medidas com o auxílio de um estereomicroscópio com ocular micrométrica acoplada, e depois foram separadas individualmente em recipientes de vidro, com a devida etiquetagem (para facilitar o controle dos experimentos).

Os experimentos foram realizados em câmaras climáticas da marca Eletrolab (B.O.Ds), que além de controlarem a temperatura, controlam também a umidade relativa (Figura 2):

- B.O.D com umidade relativa em torno de 30%
- B.O.D com umidade relativa em torno de 80%
- B.O.D com umidade relativa em torno de 50% (grupo controle)

Figura 2- Esquema da metodologia utilizada para o teste com pupas.



Fonte: Arquivo pessoal

4.2.1. Observação dos recipientes

Diariamente, os recipientes eram observados, para se coletar os dados de números de indivíduos que emergiram, bem como o sexo de cada um deles e o período de pupação, para cada tratamento.

4.2.2. Análise estatística

Para a análise dos dados foram utilizados o teste do Qui-quadrado para comparação de proporções e o teste de Kruskal-Wallis, através do software R.

4.3. Teste com adultos

Após a emergência de adultos da geração F_1 , foram formadas cinco réplicas com oito indivíduos (incluindo os dois sexos) em cada, que em seguida foram divididos entre grupos experimentais e grupo controle. Por motivos técnicos e logísticos, o teste com adultos foi dividido em duas etapas, sendo a primeira um teste entre cinco réplicas do grupo controle e cinco réplicas do grupo de baixa umidade, e a segunda etapa entre outras cinco réplicas do grupo controle e cinco do grupo de alta umidade.

As réplicas foram montadas em recipientes de plástico, que não continham dieta, com a tampa devidamente aberta para entrada de ar, coberta com organza e um tubo em uma das laterais coberto por um tecido escuro, por onde os adultos mortos eram retirados (Figura 3). Cada recipiente foi colocado em câmaras climáticas (B.O.D) com controle de temperatura (25

± 1 °C) e umidade relativa para os grupos experimentais (Grupo alta umidade: $85\% \pm 1$, e grupo baixa umidade: $23\% \pm 2$)

Os valores de umidades de todos os tratamentos foram medidos através de um termohigrômetro em todas as observações, e posteriormente foi calculada a média dos valores encontrados para cada réplica.

Figura 3- Recipiente utilizado para realização dos experimentos com adultos. A saída circular é por onde os indivíduos eram colocados e retirados.



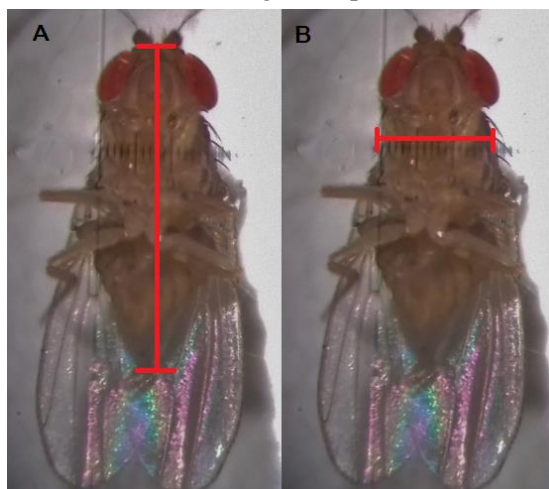
Fonte: Arquivo pessoal

4.3.1. Observações e medições de parâmetros biométricos dos adultos

Todos os recipientes foram observados a cada oito horas, e a cada observação foram coletados os adultos mortos, nos quais foi feita sexagem e foi medido o comprimento (Figura 4A) e largura de tórax (Figura 4B). Esta metodologia foi adaptada de Karan et al. (1998).

Além disso, os adultos foram dissecados para a retirada da asa e montagem das lâminas, as quais foram fotografadas com o software Optikaview usando o microscópio Optika B-350. Com o auxílio do programa ImageJ, foi possível medir as áreas.

Figura 4 – Método padronizado para medir os parâmetros de comprimento (A) e Largura de tórax (B) de *Zaprionus indianus* através de uma régua acoplada no estereomicroscópio



Fonte: Arquivo pessoal.

4.3.2. Análise estatística

Para análise dos resultados obtidos para os dois sexos, nos grupos experimentais e controle, foi utilizado o Teste Exato de Fisher. Já para verificar a análise de sobrevivência para cada grupo, foi utilizado o estimador de Kaplan-Meier, e o Teste de log-rank para a comparação das curvas de sobrevivência (COLOSIMO;GIOLO, 2006).

Os parâmetros biométricos de cada grupo foram comparados através da ANOVA. A Regressão de Cox foi utilizada para se analisar se os parâmetros estabeleciam uma relação com a sobrevivência dos adultos para cada grupo. Todas as análises estatísticas foram feitas com o auxílio do software R.

4.4. Teste com larvas

4.4.1 Manutenção dos adultos

Os adultos foram mantidos em laboratório com temperatura de 25 °C, regime de 12h de claro: 12h de escuro, e se alimentaram com dietas artificiais contendo 45 g/L de melaço, 75 g/L de açúcar, 70 g/L de farinha de milho, 20g/L extrato de levedura, 10 g/L ágar e 0.25 % nipagin, as quais foram preparadas no laboratório “Development, Evolution and the Environment” do Instituto Gulbenkian de Ciências (IGC).

4.4.2 Teste com Geometria Nutricional

Para esse teste, adultos de *Z. indianus* foram colocados em recipientes específicos durante quatro horas para a postura de ovos (Figura 5). Assim, 100 ovos foram transferidos para cada uma das 12 diferentes dietas que diferiram em calorias, e na composição de proteína e carboidrato (Figura 6). Cada dieta foi produzida através da combinação de leveduras (Lesaffre SAF-Instant Red #15909, 31105, 31150) e soluções de açúcar (Sidul, Santa iria de Azóia, Portugal) em duas diferentes diluições (45 e 90 mg/L, cada uma contendo 0.5% de ágar), as quais foram utilizadas para se produzir dietas com seis proporções diferentes P:C (1.5:1; 1:1; 1:2; 1:4; 1:8 e 1:16) (LEE et al., 2008). Para prevenir o crescimento de fungos e bactérias, as dietas foram autoclavadas e foram adicionados 0.25% de nipagin e 0.6% (v/v) de ácido propiônico às misturas resfriadas, antes de colocá-las nos recipientes.

Figura 5- Adultos de *Zaprionus indianus* em frascos.



Fonte: Arquivo pessoal

4.4.2.1 Teste de tolerância

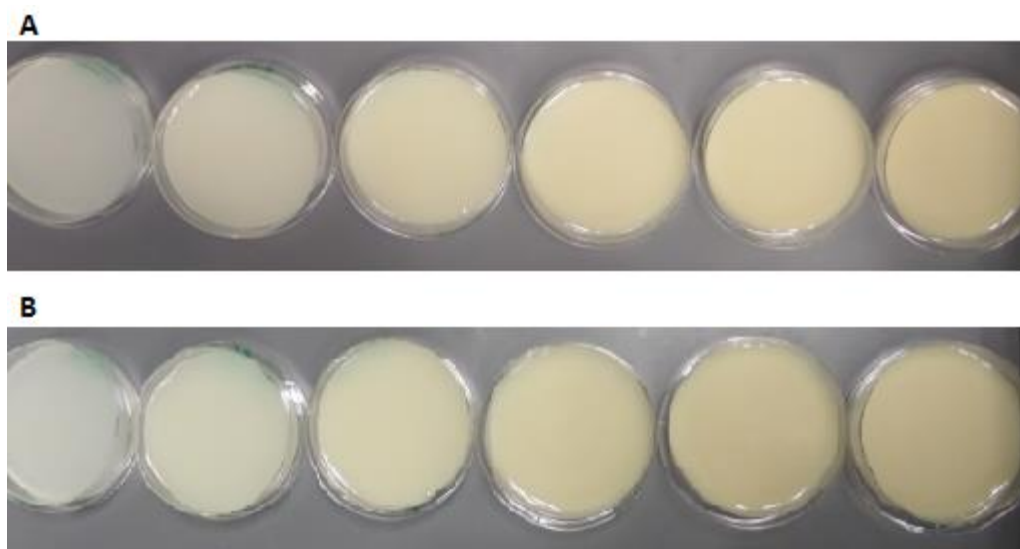
Após três dias e meio da postura de ovos, 50 larvas de cada placa foram separadas em grupos experimentais para se testar os efeitos da dieta na tolerância para quatro condições, além do grupo controle (Figura 7):

- I. Resistência à fome (dieta com 1% ágar);
- II. Resistência à fome e à dessecação (frasco vazio)
- III. Resistência à privação de levedura (dieta com 1% ágar, e 90g/L açúcar)

IV. Resistência à ausência de açúcar (dieta com 1% ágar e 90g/L de levedura)

V. Grupo controle (dieta normal)

Figura 6- Dietas em diferentes proporções de proteína: carboidrato (P:C). Sendo da esquerda para a direita: 1:16; 1:8; 1:4; 1:2; 1:1; 1.5:1. Foram feitas duas diluições, 45g/L (A) e 90g/L (B)



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 7- Diferentes dietas para o teste de tolerância a estresses. Da esquerda para a direita, têm-se o frasco vazio, dieta com 1% de ágar, dieta com 1% de ágar + 9,0g de açúcar, dieta com 1% de ágar + 9,0g de levedura, e dieta normal.



Fonte: Arquivo pessoal

Os grupos foram observados duas vezes ao dia e foi marcado o número de pupas para o período de pupação e os adultos que emergiram.

4.4.2.2. Análise estatística

Para analisar os efeitos da dieta larval na taxa de sobrevivência para cada condição, se ajustou a ANOVA a um modelo linear generalizado, assumindo uma distribuição binomial como quasi-binomial com a função “logit link”. Já para se verificar esse efeito dos grupos e dos macro-nutrientes no tempo de desenvolvimento, se assumiu a distribuição de quasi-Poisson.

Nos modelos, foram incluídos tanto os efeitos dos componentes lineares quanto os quadráticos de carboidrato e proteína, e os multiprodutos (proteína x carboidrato) nas variáveis dependentes.

5 RESULTADOS

5.1. Teste com pupas

I. Número de adultos emergentes

Cada grupo teve um total de 100 pupas individualizadas, para a realização dos testes. No grupo Controle emergiram 74, no grupo da Alta Umidade, 86, finalmente e no grupo da Baixa Umidade, 45. No Controle, não foi possível fazer a sexagem de dois exemplares, o mesmo ocorrendo para um exemplar do grupo de Alta Umidade.

Para a comparação entre os grupos experimentais, quanto ao número de adultos emergidos, foi utilizado o teste qui-quadrado de comparação de proporções, e verificou-se que os grupos Controle e Alta Umidade não tiveram diferenças significativas entre si; porém, o grupo da Baixa Umidade foi significativamente diferente em relação aos outros dois (Tabela 1).

Tabela 1- Teste qui-quadrado de comparação de proporções entre os três grupos.

Comparação entre os grupos	p-valor
Grupo controle x Grupo Alta U.R	0,05183
Grupo controle x Grupo Baixa U.R	$5,501 \times 10^{-5}$
Grupo Baixa U.R x Grupo Alta U.R	$2,682 \times 10^{-9}$

Ao se analisar o número de adultos que emergiram em relação ao sexo, não foram encontradas diferenças significativas entre machos e fêmeas, para os respectivos tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2- Teste qui-quadrado de comparação da emergência de machos e fêmeas de acordo com os três tratamentos.

Comparação entre os grupos (comparando-se os sexos)	p-valor
Grupo controle x Grupo Alta U.R	0,1318
Grupo controle x Grupo Baixa U.R	0,5454
Grupo Baixa U.R x Grupo Alta U.R	0,6556

II. Período de pupação e comparação entre os sexos

Para a realização da análise desse segundo conjunto de dados, primeiro verificou-se a normalidade dos dados pelo teste de Shapiro Wilk, que indicou que para os três tratamentos, a normalidade não ocorreu ($p < 0,001$), justificando assim a utilização do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

Assim, para a comparação das médias do período de pupação, entre machos e fêmeas (Tabela 3), foi utilizado o teste qui-quadrado de Kruskal-Wallis, para cada um dos três grupos separadamente, e não se observou diferença: grupo Controle ($p\text{-valor}=0,2371$), no grupo Alta Umidade ($p\text{-valor}=0,0004$), e na Baixa umidade ($p\text{-valor}=0,9886$).

Tabela 3- Dados do número de machos e fêmeas que emergiram (E) para os três tratamentos, e as médias de período de pupação em dias (M.P.P) e desvio-padrão, para os três tratamentos.

	GRUPOS					
	Controle		Alta U.R		Baixa U.R	
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea
E	22	50	37	48	17	28
M.P.P	5,31 $\pm$ 0.476	5,16 $\pm$ 0.548	5,29 $\pm$ 0.463	4,83 $\pm$ 0.519	5,29 $\pm$ 0,469	5,28 $\pm$ 0,534

Além da comparação dos somatórios de adultos entre os grupos, é interessante observar o número de machos e fêmeas separadamente para cada tratamento (Tabela 3). Entre a emergência de machos, ao se comparar os grupos da alta e baixa umidade, para uma significância de 5%, vê-se que são significativamente diferentes ($p\text{-valor}=0,0064$); já entre os grupos controle e baixa umidade, não houve diferença ($p\text{-valor}=0,4233$). Todavia, ao se compararem os grupos controle e alta umidade, apesar de ser observado um leve aumento, estatisticamente a rigor os grupos não são diferentes ($p\text{-valor}=0,0508$). Esses resultados diferiram do encontrado nas fêmeas, em que nos grupos controle e baixa umidade houve diferença significativa ($p\text{-valor}=0,0127$), bem como os grupos da baixa e da alta umidade ($p\text{-valor}=0,0217$), sendo que nenhuma diferença foi encontrada entre o grupo controle e a alta umidade ($p\text{-valor}=0,8399$).

III. Características biométricas

Ao se analisar se as características biométricas (Comprimento, Largura e Peso) influenciavam na emergência dos adultos, verificou-se que para os três tratamentos, estatisticamente essas variáveis não interferiram (Figuras 8, 9 e 10).

Figura 8- Teste para verificação da interferência das variáveis (Peso, comprimento e largura) para emergentes e não emergentes do grupo Controle.

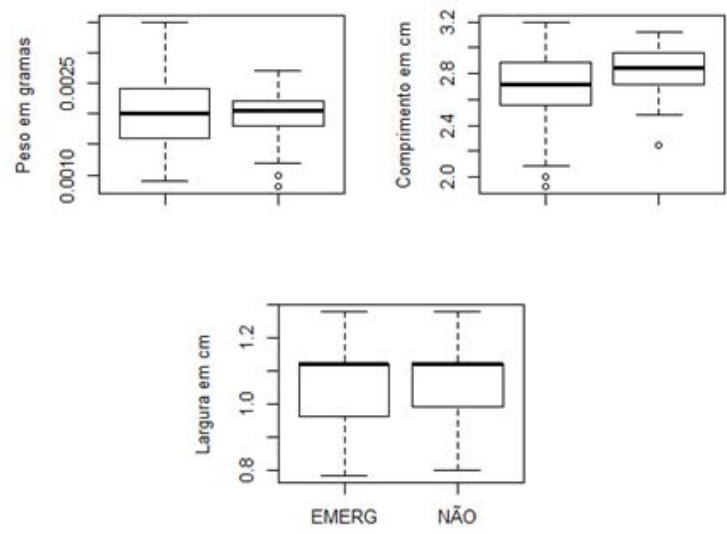


Figura 9- Teste para verificação da interferência das variáveis (Peso, comprimento e largura) para emergentes e não emergentes do grupo Alta Umidade.

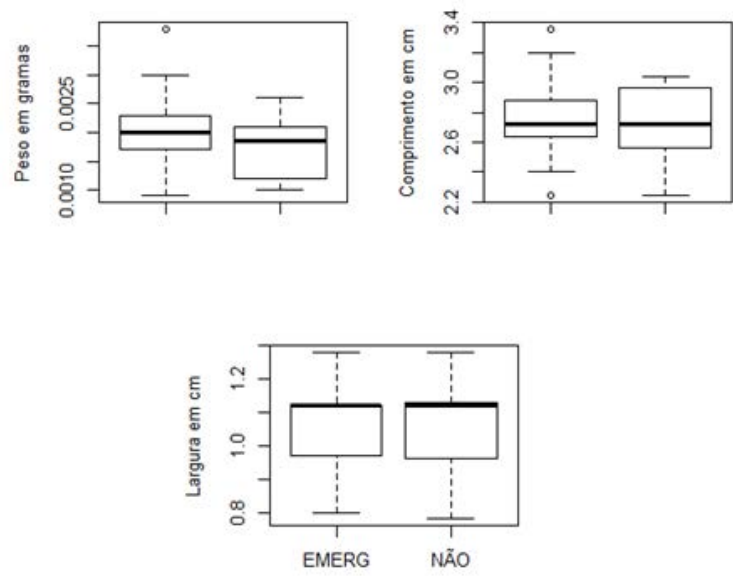
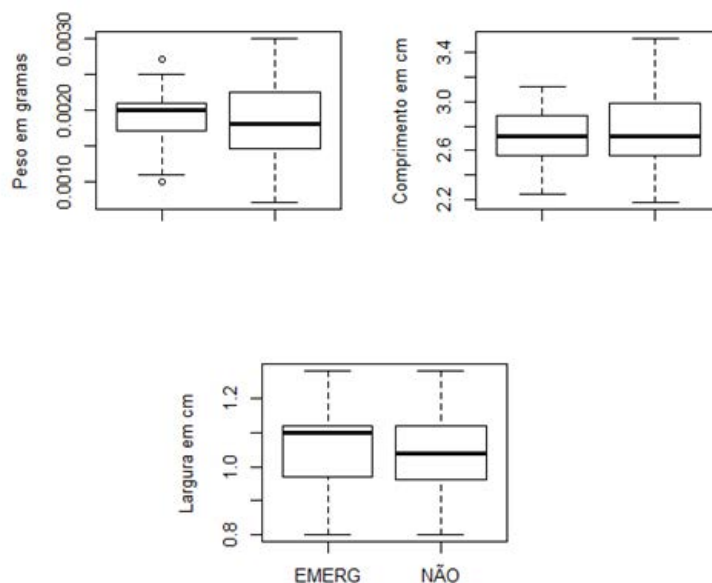


Figura 10- Teste para verificação da interferência das variáveis (Peso, comprimento e largura) para emergentes e não emergentes do grupo Baixa Umidade.



5.2. Teste com adultos

Para as duas etapas, nos grupos controle foram constatadas oscilações entre algumas leituras no termo higrômetro, e por isso os valores de umidade relativa utilizados, de forma padronizada para todos os grupos foram da média dos valores encontrados para cada réplica.

I. Grupo controle x Grupo Baixa umidade

Os valores médios de umidade relativa encontrados para os dois grupos estão registrados na Tabela 4.

Tabela 4– Média dos valores de umidade relativa (U.R.%) para as cinco réplicas tanto no grupo controle quanto no grupo baixa umidade.

Réplicas	Grupo controle	Grupo Baixa umidade
1	U.R. 60%	U.R. 20,98%
2	U.R. 53,5%	U.R. 24,95%
3	U.R. 54%	U.R. 25,6%
4	U.R. 54,33%	U.R. 25,4%
5	U.R. 43,3%	U.R. 24,53%

a) Comparação entre as réplicas

Através do Teste Exato de Fisher, foi possível ver que não houve diferenças significativas considerando $\alpha=0,05$ em ambos os grupos: controle (p-valores= 0,2759; 0,2363; 0,1221; 1) e baixa umidade (p-valores= 0,6085; 0,6495; 0,3703; 1) para cada período respectivamente. A única exceção foi encontrada no período de 32 horas após o início, em que ocorreu uma falha em uma única réplica.

b) Análises de sobrevivência

i. Grupo controle:

Para o grupo controle, devido a cinco censuras de adultos durante o experimento, foram considerados apenas os dados em que foi possível acompanhar o adulto até a sua morte, por isso o t_0 inicia-se com 35 indivíduos. Tendo em vista que o tempo máximo de observação refere-se à última morte, neste grupo, o máximo de horas em que um adulto sobreviveu nessas condições foi 32 horas após o início do experimento.

$t_0 = 35$ indivíduos vivos

$t_8 = 27$ indivíduos vivos

$t_{16} = 19$ indivíduos vivos

$t_{24} = 5$ indivíduos vivos

$t_{32} = 0$ indivíduos vivos

Com o número de mortes em cada período de tempo, foi calculada a probabilidade de falha para cada um deles (Tabela 5), e posteriormente, foi feita uma estimativa de sobrevivência para cada período de tempo (Tabela 6).

Tabela 5– Probabilidade de morte dos adultos nos intervalos de oito em oito horas após o início do experimento.

Intervalo de tempo (h)	Probabilidade de morte
0-8	0,028
8-16	0,027
16-24	0,113
24-32	0,125

É importante salientar que mesmo que alguns adultos tenham sobrevivido até 32 horas após o início, é no período de 24 horas que se tem uma grande diminuição da sobrevivência (Tabela 6).

Tabela 6- Estimativa de sobrevivência dos adultos do grupo controle, para cada período de tempo observado, sendo n_j = número de indivíduos vivos no tempo j (em horas); d_j = número de falhas no tempo j ; $1 - d_j/n_j$ = taxa de falha do tempo j ; $\hat{S}(t+)$ = Estimador de Kaplan-Meier.

Tempos	n_j	d_j	$\hat{S}(t+)$
8	36	8	0,7778
16	28	6	0,6111
24	22	20	0,0556
32	2	2	0

ii. Grupo Baixa umidade:

Para o grupo de baixa umidade, também devido a cinco censuras de adultos durante o experimento, foram considerados apenas os dados em que foi possível acompanhar o adulto até a sua morte; por isso, o t_0 inicia-se com 35 indivíduos. O tempo máximo de sobrevivência neste grupo também foi de 32 horas após o início do experimento.

$t_0 = 35$ indivíduos vivos

$t_8 = 27$ indivíduos vivos

$t_{16} = 19$ indivíduos vivos

$t_{24} = 5$ indivíduos vivos

$t_{32} = 0$ indivíduos vivos

A partir do número de mortes para cada período de tempo, foi possível verificar a probabilidade de falha dos adultos submetidos a esse tratamento (Tabela 7). Além disso, foi possível fazer uma estimativa da sobrevivência para cada período de tempo. O maior número de falhas encontrado também foi no período de 24 horas após os adultos serem submetidos ao experimento (Tabela 8).

Tabela 7 – Probabilidade de morte dos adultos nos intervalos de oito em oito horas após o início do experimento.

Intervalo de tempo (h)	Probabilidade de morte
0-8	0,028
8-16	0,037
16-24	0,082
24-32	0,311

Tabela 8- Estimativa de sobrevivência dos adultos do grupo baixa umidade, para cada período de tempo observado, sendo n_j = número de indivíduos vivos no tempo j (em horas); d_j = número de falhas no tempo j; $1 - d_j/n_j$ = taxa de falha do tempo j; $\hat{S}(t+)$ = Estimador de Kaplan-Meier.

Tempos (horas)	n_j	d_j	$\hat{S}(t+)$
8	35	8	0,771
16	27	8	0,543
24	19	14	0,143
32	5	5	0

iii. Comparação entre a sobrevivência no grupo controle e no grupo baixa umidade

Após ser feito o Teste log-rank para comparação das curvas de sobrevivências do grupo controle e do grupo da baixa umidade (Figura 11), observou-se que não houve diferença entre os valores encontrados para os dois tratamentos (p-valor= 0,848).

c) Comparação da sobrevivência dos sexos nos dois grupos

Para comparação da influência da umidade sobre indivíduos dos dois sexos, através do Teste Exato de Fisher, foi possível verificar que não houve diferença de sobrevivência para machos do grupo controle com os de baixa umidade (p-valores= 0,2087; 1; 1) (Figura 12), o mesmo ocorreu para as fêmeas (p-valores= 0,4566; 1; 0,155; 1) (Figura 13), respectivamente para cada intervalo de tempo.

Figura 11- Comparação entre as curvas de sobrevivência dos grupos experimentais até 32 horas depois do início do experimento.

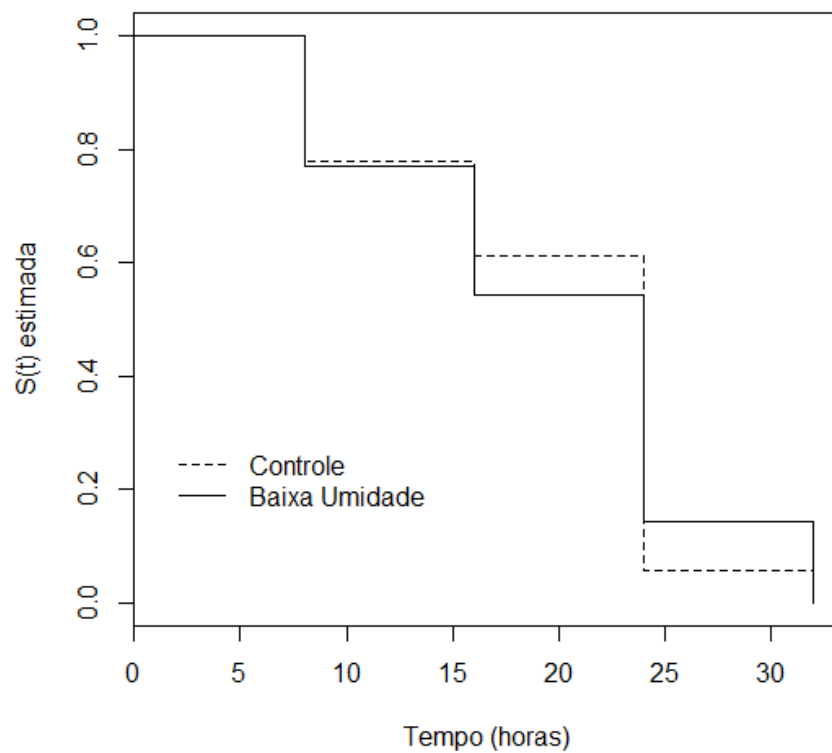


Figura 12- Comparação da influência da umidade na taxa de falha de machos para os submetidos à baixa umidade e os do grupo controle.

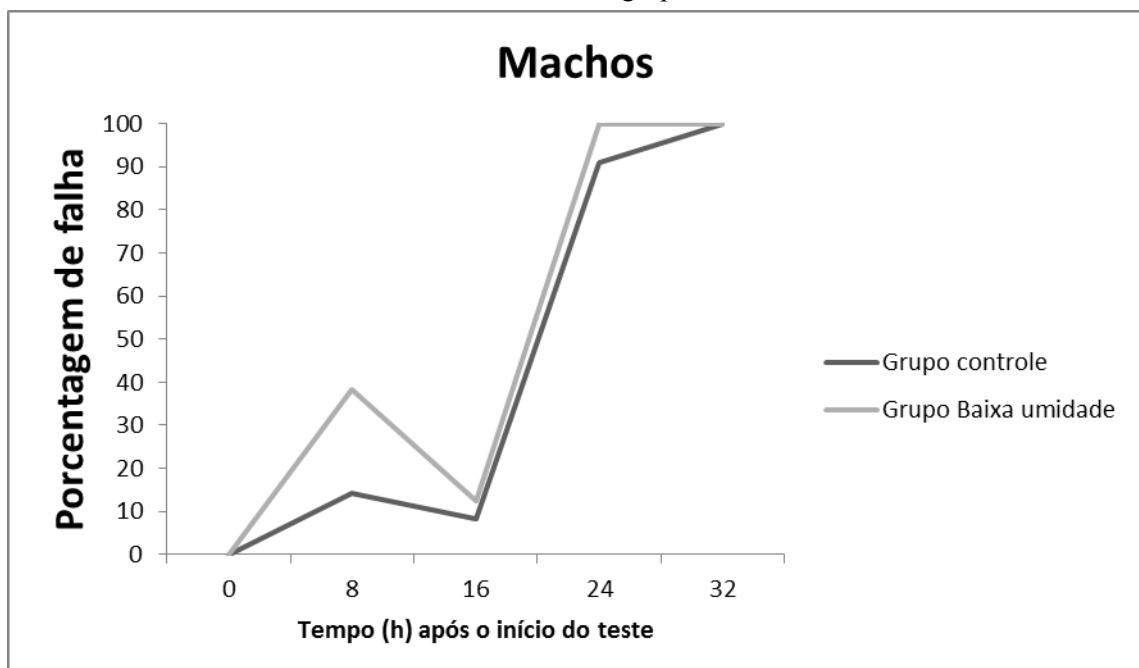
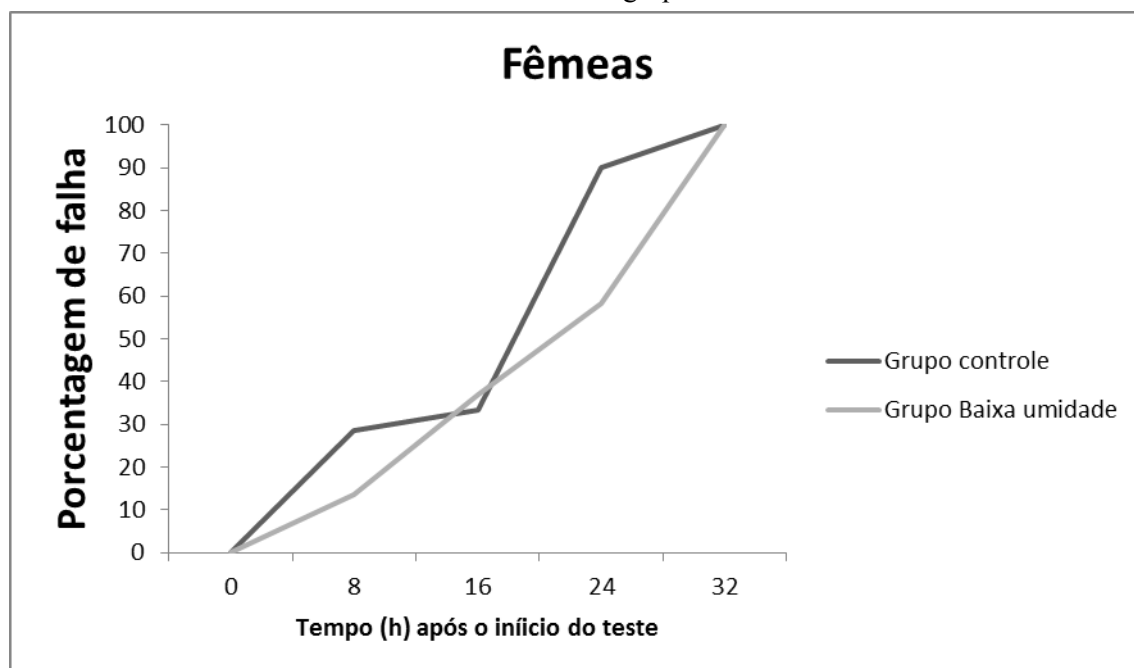


Figura 13- Comparação da influência da umidade na taxa de falha de fêmeas para as submetidas à baixa umidade e os do grupo controle.



II. Grupo controle x Grupo Alta umidade

A média dos valores de umidade relativa encontrados durante as observações, para cada réplica encontra-se na Tabela 9.

Tabela 9– Média dos valores de umidade relativa (U.R.%) para as cinco réplicas, tanto no grupo controle quanto no grupo alta umidade.

Réplicas	Grupo controle	Grupo Alta umidade
1	U.R. 49%	U.R. 84,66%
2	U.R. 49%	U.R. 85,2%
3	U.R. 54%	U.R. 84,57%
4	U.R. 56%	U.R. 84,94%
5	U.R. 56%	U.R. 85,11%

a) Comparação entre as réplicas

Todos os resultados de cada período das cinco réplicas e de cada grupo foram comparados para verificar se eram similares. Através da utilização do Teste Exato de Fisher, viu-se que não houve diferenças significativas considerando $\alpha=0,05$ em ambos os grupos:

controle (p-valores= 0,7759; 0,7291; 0,0428; 1; 1; 1) e do grupo da alta umidade (p-valores = 0,6773; 0,0962; 0,2806; 0,1721; 0,2857; 1; 1) respectivamente para cada período de tempo. A única exceção foi no período de 24 horas após o início do experimento em que as réplicas do grupo controle tiveram resultados um pouco divergentes, resultando num p-valor=0,0428.

b) Análises de sobrevivência

i. Grupo controle:

Para o grupo controle, houve apenas uma censura durante o experimento, e dessa forma, t_0 inicia-se com 39 indivíduos. O tempo máximo de observação considerado foi baseado na última morte, e neste caso, o máximo de horas em que um adulto sobreviveu foi de 48 horas após o início do experimento.

$t_0 = 39$ *indivíduos vivos*

$t_8 = 36$ *indivíduos vivos*

$t_{16} = 30$ *indivíduos vivos*

$t_{24} = 4$ *indivíduos vivos*

$t_{32} = 2$ *indivíduos vivos*

$t_{40} = 1$ *indivíduo vivo*

$t_{48} = 0$ *indivíduos vivos*

A partir do número de indivíduos mortos em cada período, realizou-se a estimativa da probabilidade de ocorrer falha em cada intervalo (Tabela 10), e, além disso, estimou-se a sobrevivência dos adultos nessas condições. O maior número de falhas para esse grupo foi no período de 24 horas depois de submetidos ao experimento (Tabela 11).

ii. Grupo Alta Umidade:

Para o grupo da alta umidade, houve cinco dados censurados durante o experimento, e dessa forma, t_0 inicia-se com 35 indivíduos. Nesse grupo, o tempo máximo em que um adulto sobreviveu nessas condições foi de 56 horas após o início do experimento.

$t_0 = 35$ *indivíduos vivos*

$t_8 = 33$ *indivíduos vivos*

$t_{16} = 28$ *indivíduos vivos*

$t_{24} = 16$ indivíduos vivos

$t_{32} = 10$ indivíduos vivos

$t_{40} = 5$ indivíduos vivos

$t_{48} = 1$ indivíduo vivo

$t_{56} = 0$ indivíduos vivos

Tabela 10– Probabilidade de morte dos adultos nos intervalos de oito em oito horas após o início do experimento no grupo controle.

Intervalo de tempo (h)	Probabilidade de morte
0-8	0,009
8-16	0,020
16-24	0,109
24-32	0,062
32-40	0,063
40-48	0,125

Tabela 11- Estimativa de sobrevivência dos adultos do grupo controle (segunda etapa), para cada período de tempo observado, sendo n_j = número de indivíduos vivos no tempo j (em horas); d_j = número de falhas no tempo j; $1 - d_j/n_j$ = taxa de falha do tempo j; $\hat{S}(t+)$ = Estimador de Kaplan-Meier.

Tempos	n_j	d_j	$\hat{S}(t+)$
8	39	3	0,9231
16	36	6	0,7692
24	30	26	0,1026
32	4	2	0,0513
40	2	1	0,0256
48	1	1	0

De acordo com o registro do número de mortes ocorridas em cada período de tempo, foi calculada a probabilidade de falha para cada intervalo (Tabela 12). Além disso, foi feita uma estimativa de sobrevivência para os adultos submetidos a esse tratamento (Tabela 13).

Tabela 12– Probabilidade de morte dos adultos nos intervalos de oito em oito horas após o início do experimento no grupo alta umidade.

Intervalo de tempo (h)	Probabilidade de morte
0-8	0,007
8-16	0,019
16-24	0,054
24-32	0,047
32-40	0,064
40-48	0,099
48-56	0,125

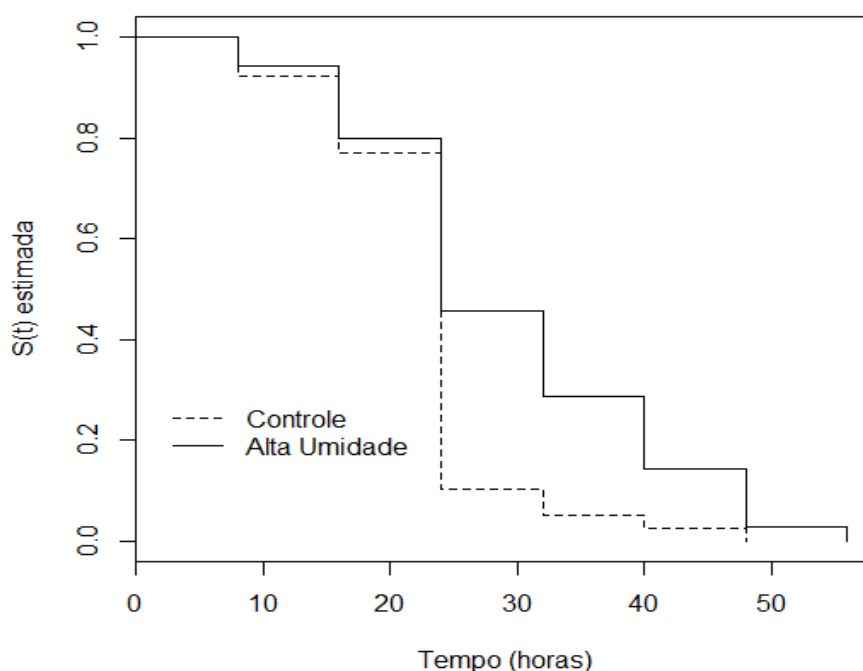
Tabela 13- Estimativa de sobrevivência dos adultos do grupo alta umidade, para cada período de tempo observado, sendo n_j = número de indivíduos vivos no tempo j ; d_j = número de falhas no tempo j ; $1-d_j/n_j$ = taxa de falha do tempo j ; $\hat{S}(t+)$ = Estimador.

Tempos	n_j	d_j	$\hat{S}(t+)$
8	35	2	0,9429
16	33	5	0,8000
24	28	12	0,4571
32	16	6	0,2857
40	10	5	0,1429
48	5	4	0,0286
56	1	1	0

c) Comparação entre a sobrevivência no grupo controle e no grupo alta umidade

Após ser feito o Teste log-rank para se comparar as curvas de sobrevivências do grupo controle e do grupo da alta umidade (Figura 14), obteve-se que houve diferença entre os resultados encontrados nos dois tratamentos (p-valor= 0,0086).

Figura 14- Comparação entre as curvas de sobrevivência dos grupos experimentais até 56 horas depois do início do experimento.



d) Comparação da sobrevivência dos sexos nos dois grupos

Para comparação da influência da umidade sobre indivíduos dos dois sexos, através do Teste Exato de Fisher, foi possível verificar que a sobrevivência para machos do grupo controle em relação aos de alta umidade só diferiu no intervalo de 24 horas após o início do experimento (p-valores=1; 1; 0,005; 1; 1) respectivos para cada intervalo de tempo (Figura 15). Para as fêmeas, não houve diferença entre a sobrevivência entre os grupos para cada intervalo (p-valores=1; 1; 0,114; 1; 1; 1; 1) (Figura 16).

Figura 15- Comparação da influência da umidade na taxa de falha de machos para os submetidos à alta umidade e os do grupo controle.

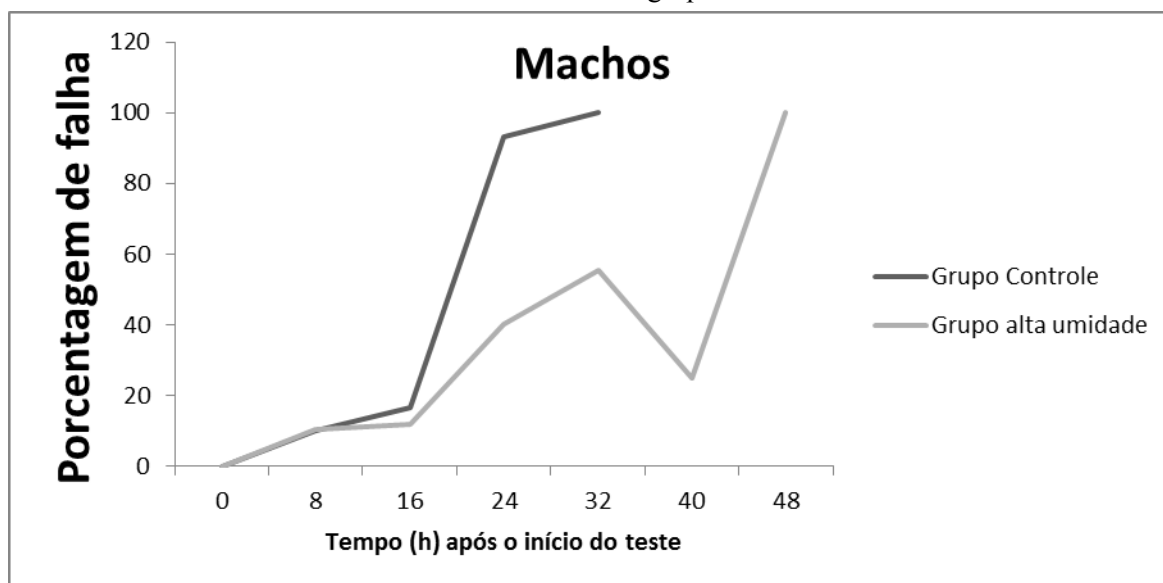
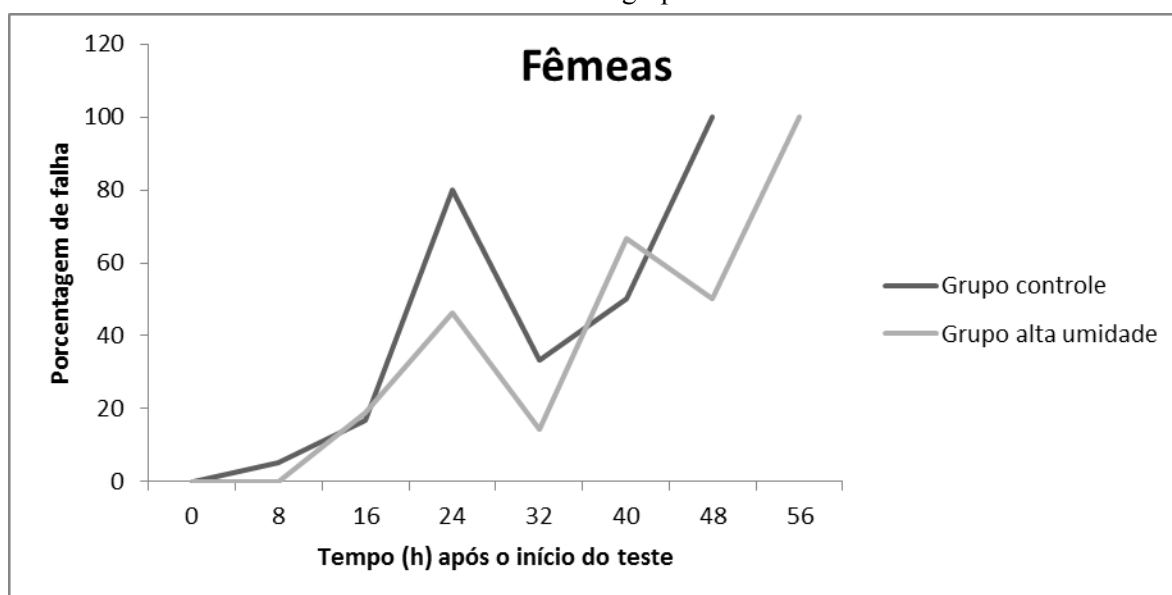


Figura 16- Comparação da influência da umidade na taxa de falha de fêmeas para as submetidas à alta umidade e as do grupo controle.

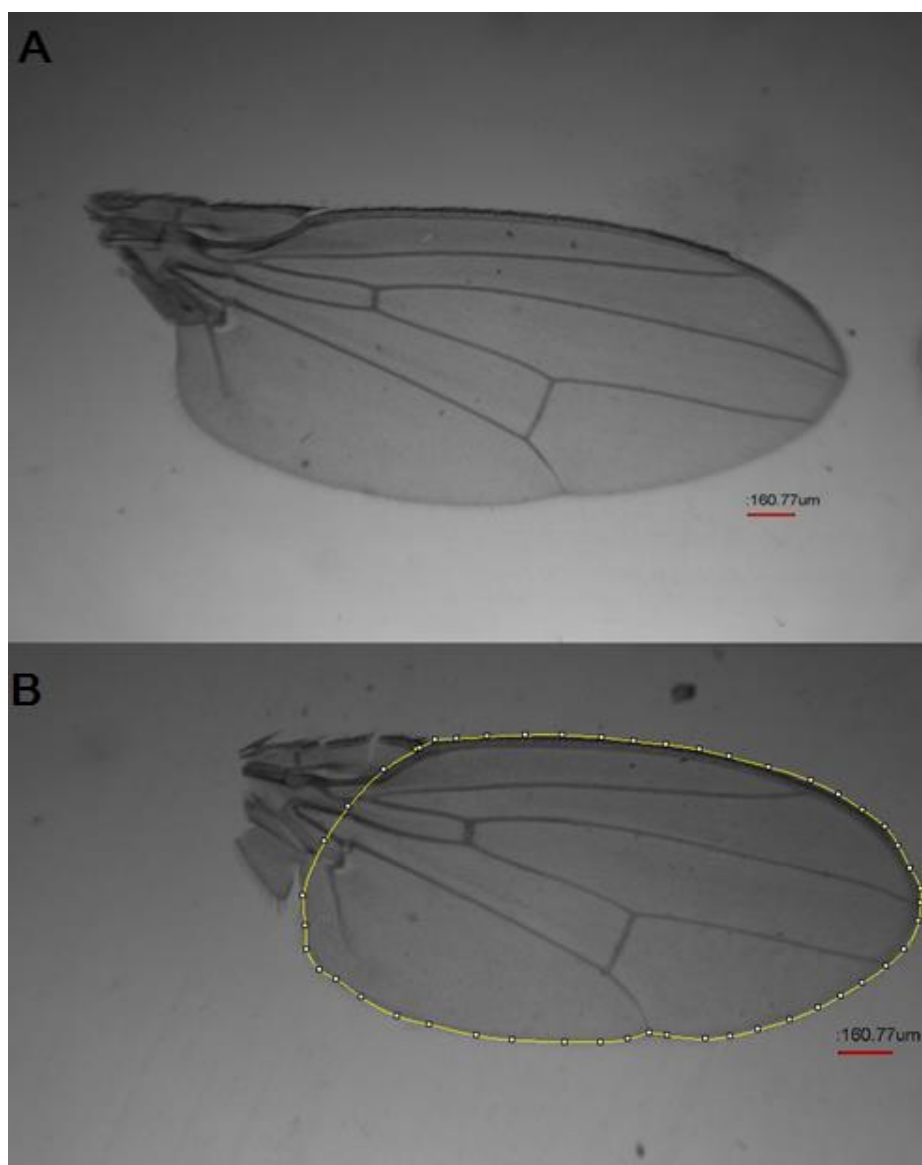


III. Parâmetros biométricos x Sobrevivência

Para as medidas de área de asa (Figura 17), no grupo controle e baixa umidade, somente foi possível dissecar 28 adultos (sendo 20 asas do lado direito e oito do lado esquerdo) e 29 adultos (25 asas do lado direito e quatro do lado esquerdo), respectivamente. Para o grupo controle e alta umidade, foram dissecados 37 adultos (desses 30 asas do lado direito, e sete do

lado esquerdo) e 29 adultos (desses, 23 asas do lado direito e seis do lado esquerdo), respectivamente. Os adultos que não foram dissecados estavam com a asa muito danificada (Figura 18).

Figura 17- Imagem da asa de um adulto de *Zaprionus indianus* (A), e a forma como foi medida a área, de acordo com o programa ImageJ (B).



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 18- Imagem de uma asa danificada de um adulto de *Zaprionus indianus* observado pelo estereomicroscópio.



Fonte: Arquivo pessoal

Já para os outros parâmetros, comparando-se pela análise de variância, as médias dos parâmetros dos grupos controle e baixa umidade e em seguida, controle e alta umidade, têm-se que não houve diferenças significativas entre os grupos, para cada parâmetro, com exceção dos grupos controle e alta umidade, em que o p-valor é $<0,05$, indicando diferença no parâmetro biométrico comprimento, entre ambos (Tabela 14).

Foi feita também uma análise para verificar se havia uma relação entre a sobrevivência ao longo dos períodos e os parâmetros (comprimento, largura de tórax e área da asa) dos adultos, para cada grupo.

Tabela 14- Média dos parâmetros biométricos (comprimento, largura de tórax e área de asa) de todos os tratamentos, e a comparação entre os grupos. O resultado da comparação entre os comprimentos dos adultos do grupo controle e alta umidade está destacado por ser um valor $<0,05$.

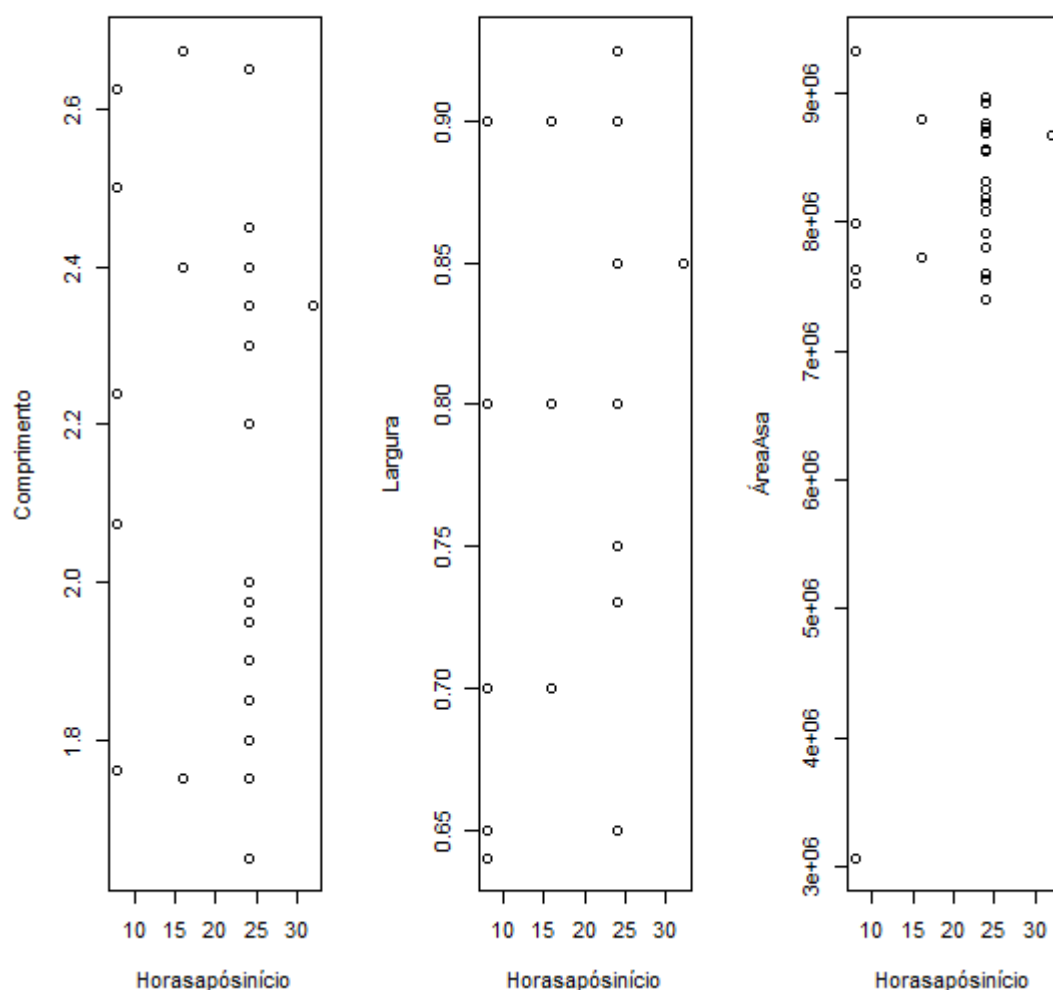
Parâmetros Biométricos	Grupo controle x Grupo baixa umidade			Grupo controle x Grupo alta umidade		
	G. controle	G. Baixa umidade	p-valor	G. controle	G. Alta umidade	p-valor
Comprimento (mm)	2,16 $\pm$ 0,32	2,21 $\pm$ 0,26	0,428	2,12 $\pm$ 0,29	2,31 $\pm$ 0,35	0,009*
Largura tórax (mm)	0,79 $\pm$ 0,07	0,79 $\pm$ 0,07	0,988	0,81 $\pm$ 0,09	0,8 $\pm$ 0,11	0,320
Área asa (μm^2)	8.278.999 $\pm$ 541.730,4	8.332.864 $\pm$ 613.905,9	0,332	8.254.831 $\pm$ 710.892	8.358.271 $\pm$ 836.729,4	0,592

a) **Primeira etapa** (Grupo controle x Grupo baixa umidade)

i. **Grupo controle:**

Para os três parâmetros biométricos e também para o sexo dos indivíduos, não foram encontrados valores significativos pela Regressão de Cox, respectivamente (p -valores= 0,256; 0,356; 0,298; 0,749), ou seja, não estão estatisticamente relacionados com a sobrevivência (Figura 19).

Figura 19- Parâmetros biométricos como comprimento, largura e área de asa, respectivamente, de adultos relacionados com o tempo em horas após o início do experimento, para o grupo controle.

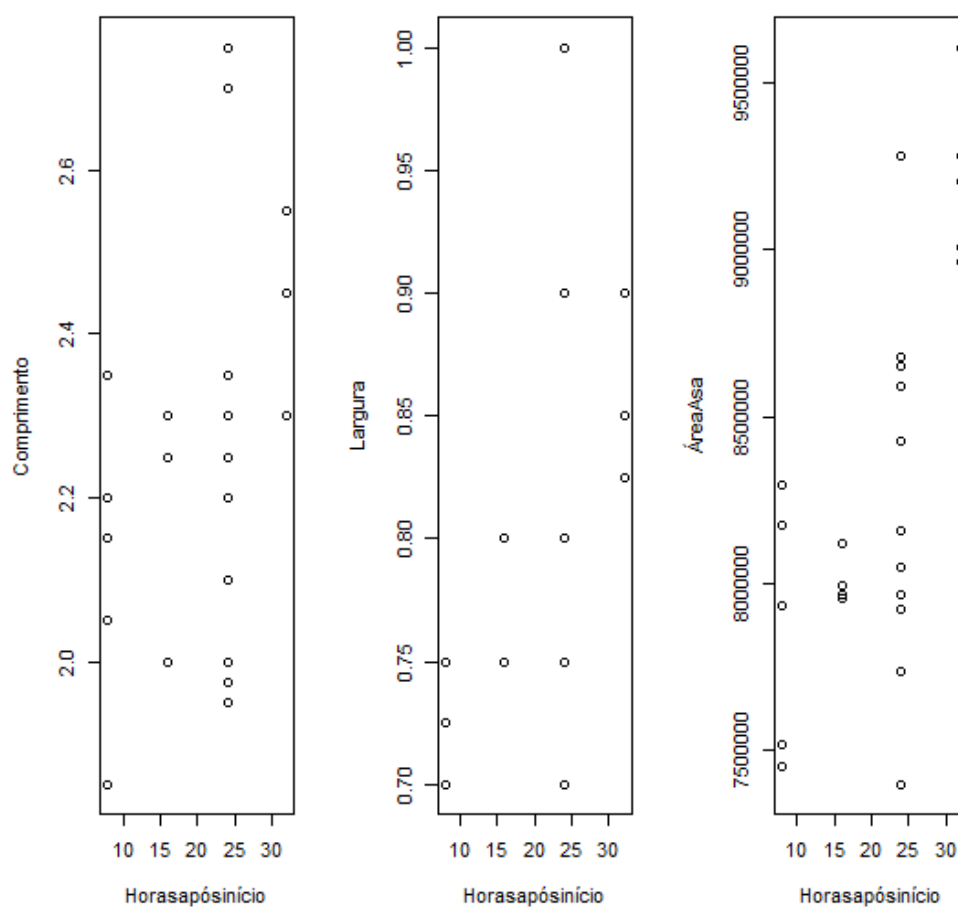


ii. **Grupo baixa umidade:**

As medidas de comprimento e largura de tórax, e o sexo dos indivíduos que foram submetidos a esse tratamento, não tiveram relação estatística significativa com as suas

sobrevivências, segundo a Regressão de Cox (p-valores= 0,1490; 0,0663; 0,4377, respectivamente). Entretanto, as medidas de área de asa tiveram relação com a longevidade dos adultos (p-valor= 0,0078) (Figura 20).

Figura 20- Parâmetros biométricos como comprimento, largura e área de asa, respectivamente, de adultos relacionados com ao tempo máximo de sobrevivência durante o experimento no grupo baixa umidade.



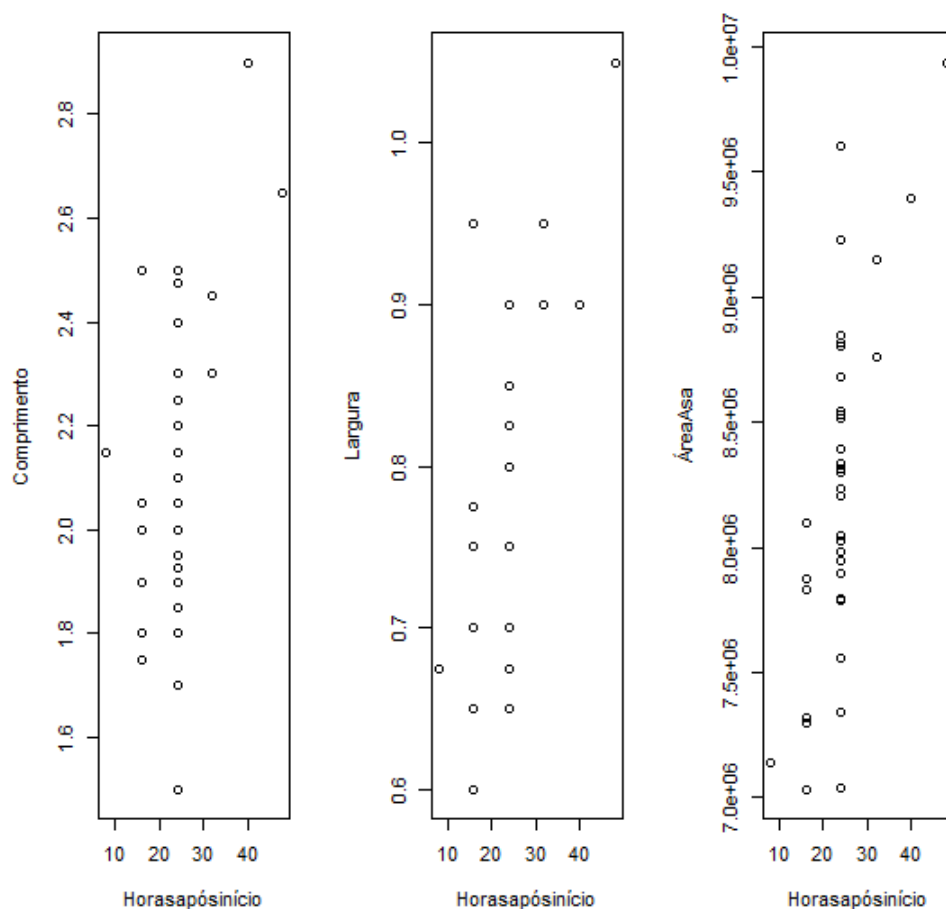
b) **Segunda etapa** (Grupo controle x Grupo alta umidade)

i. Grupo controle:

Nesse grupo, os valores encontrados pela análise de Regressão de Cox demonstraram que não há relação dos parâmetros de comprimento, largura de tórax, área de asa e sexo dos

indivíduos respectivamente (p-valores= 0,814; 0,481; 0,452; 0,678), com as suas sobrevivências em cada período (Figura 21).

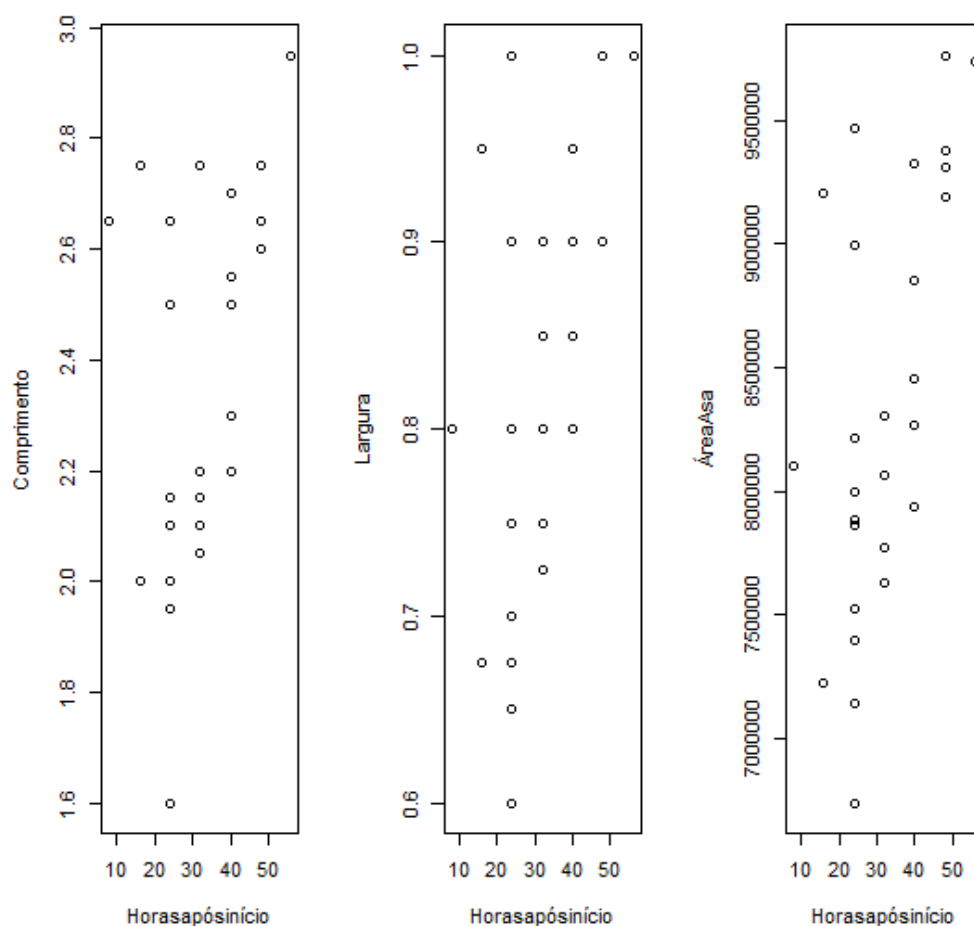
Figura 21- Parâmetros biométricos como comprimento, largura e área de asa, respectivamente, de adultos relacionados com ao tempo máximo de sobrevivência durante o experimento no grupo controle.



ii. Grupo alta umidade:

A análise feita para verificar a relação dos parâmetros biométricos, além do sexo, com a sobrevivência de adultos em alta umidade, mostrou que não houve relação estatística significativa para comprimento, largura de tórax, área de asa e sexo, respectivamente (p-valores= 0,838; 0,498; 0,360; 0,612) com a longevidade de adultos (Figura 22).

Figura 22- Parâmetros biométricos como comprimento, largura e área de asa, respectivamente, de adultos relacionados com ao tempo máximo de sobrevivência durante o experimento no grupo alta umidade.

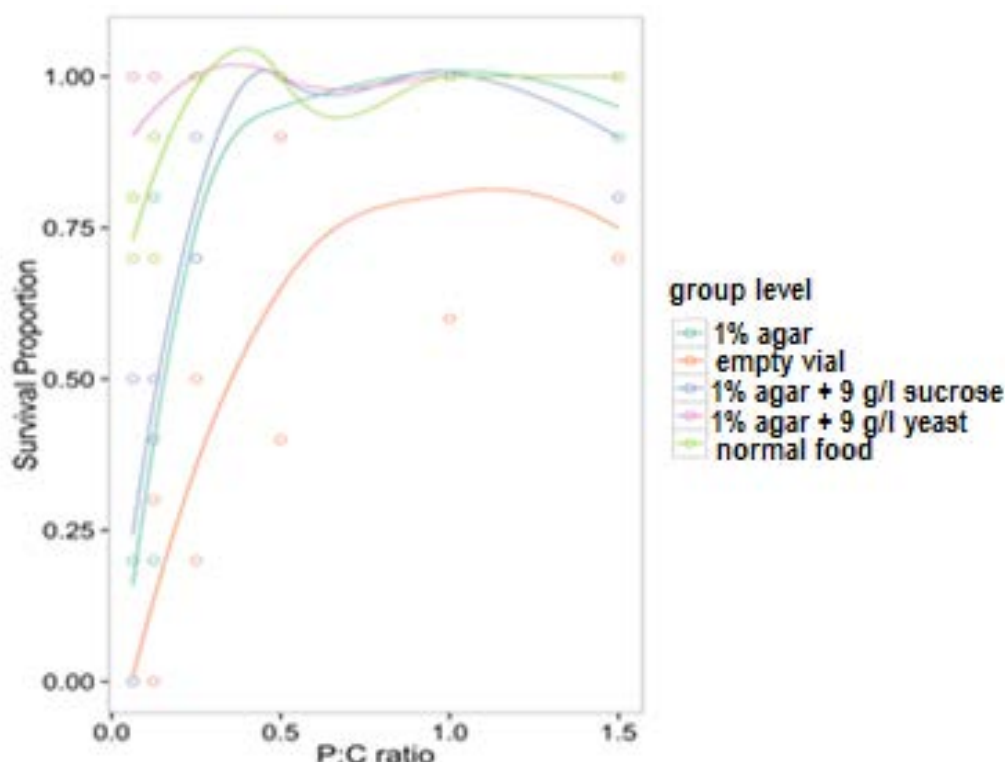


5.3. Geometria Nutricional de larvas

I. Sobrevivência de larvas e de pupas nas diferentes condições de estresse

Os resultados obtidos das observações mostraram que a sobrevivência de larvas (até o estágio de pupa) realmente varia de acordo com a proporção de P:C das dietas e com a condição de estresse. Quanto maior a proporção P:C de dieta em que as larvas foram alimentadas, maior a sobrevivência. Mesmo na condição mais estressante (frasco vazio), obteve-se uma sobrevivência de mais que 75% (Figura 23).

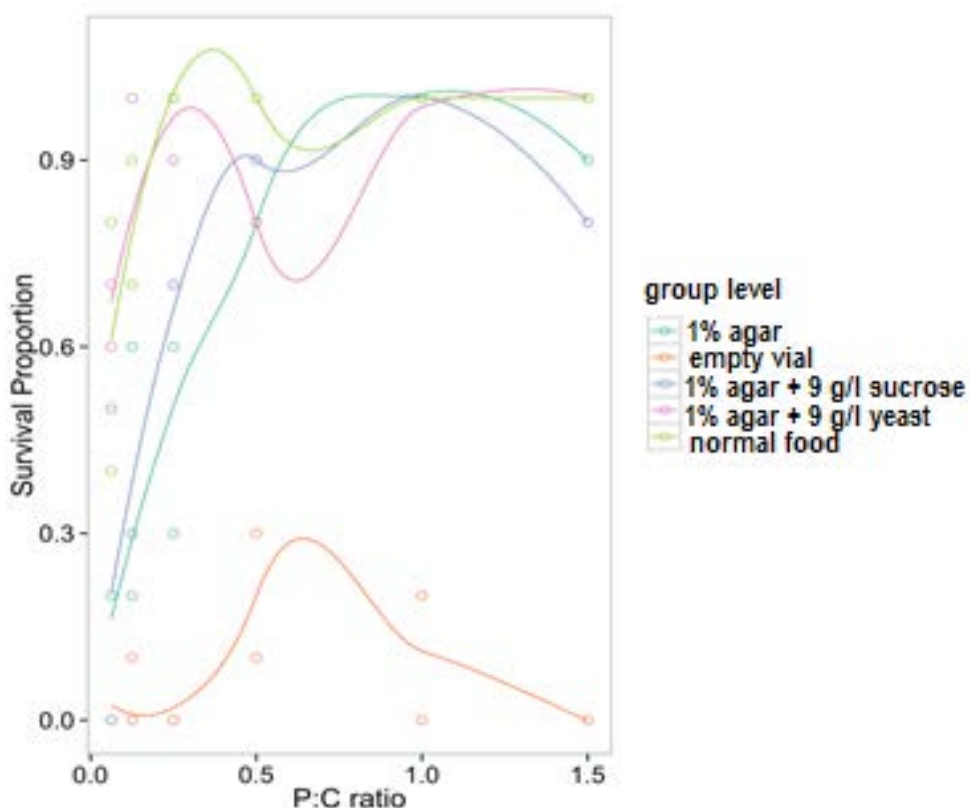
Figura 23- Proporção de sobrevivência de larvas nas diferentes proporções (P:C) para os cinco diferentes grupos (1% ágar; Frasco vazio; 1% ágar + 9,0g/L açúcar; 1% ágar + 9,0g/L levedura; Dieta normal).



Fonte: Arquivo pessoal

Em relação à viabilidade das pupas, através do número de adultos emergidos em cada recipiente, foi possível observar que nas condições com dieta com 1% de ágar, com 1% ágar e açúcar, e com 1% ágar e levedura, e com as larvas originadas de dietas com proporções P:C menores e intermediárias, houve um pico maior de sobrevivência que as proporções maiores. Entretanto, na condição sem alimento e sem água para as larvas (frasco vazio), a sobrevivência das pupas originadas foi inferior aos demais grupos, chegando a um máximo de 30% apenas, pico esse alcançado por pupas cujas larvas foram alimentadas em proporções intermediárias de P:C (Figura 24).

Figura 24- Proporção de sobrevivência de pupas nas diferentes proporções (P:C) para os cinco diferentes grupos (1% ágar; Frasco vazio; 1% ágar + 9,0g/L açúcar; 1% ágar + 9,0g/L levedura; Dieta normal).



Fonte: Arquivo pessoal

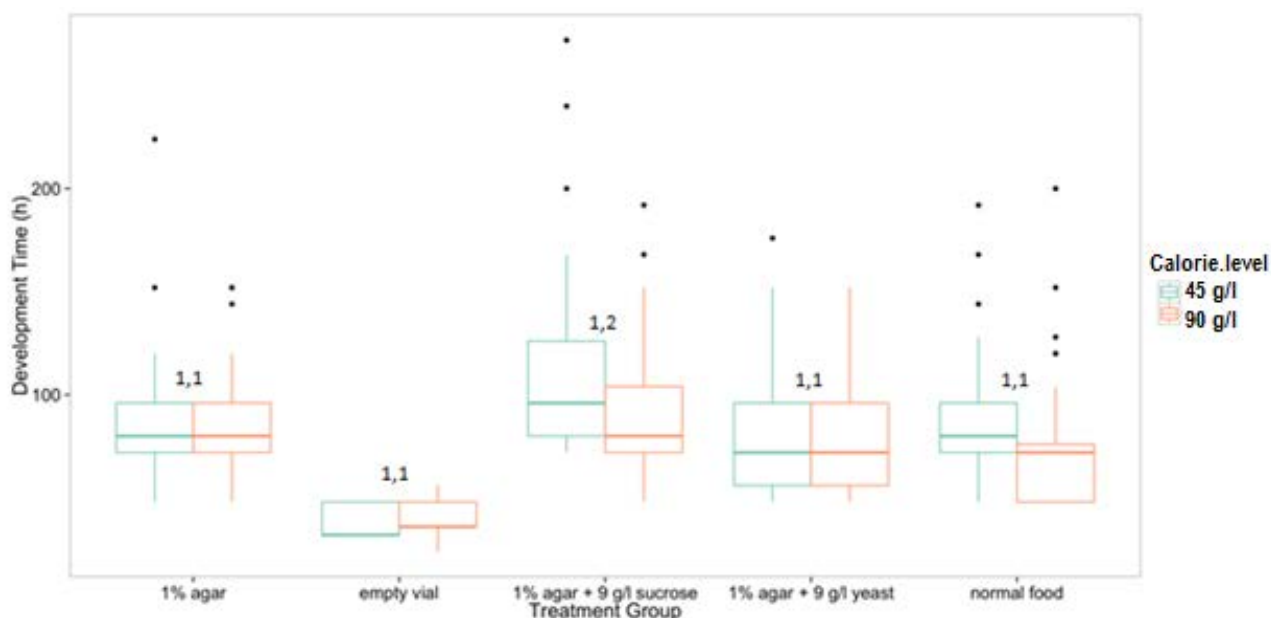
II. Tempo de desenvolvimento das larvas

A cada observação foi checado o tempo (h) desde a transferência das larvas até que se verificasse a presença de pupas em cada um dos 60 recipientes, a fim de analisar o tempo que as larvas transferidas para os grupos levariam para concluir seu desenvolvimento. Dessa forma, se comparou cada variável para analisar se as proporções de proteína e carboidrato (P:C) e as calorias (diluição g/L) das dietas em que as larvas foram alimentadas, influenciavam em diferentes respostas para as condições estressantes às quais foram submetidas.

a) Comparação do efeito das duas diluições (45g/L e 90g/L) nas respostas das larvas às diferentes condições de estresse

Primeiramente se comparou o efeito das duas diluições utilizadas, no tempo de desenvolvimento em cada tratamento. Para isso agrupou-se todos os dados das larvas que foram alimentadas em dietas com 45g/L, bem como com as de 90g/L. Assim, através da análise ANOVA, com intervalo de confiança de 95% e $\alpha = 0,05$, foi verificado que não houve diferença significativa no tempo de desenvolvimento em cada tratamento nas duas diluições em todos os grupos (1% ágar: p-valor= 0,8934; frasco vazio: p-valor=0,9667; ágar e levedura: p-valor= 0,5317), exceto o grupo com ágar e açúcar (p-valor= 0,0123) e grupo controle (p-valor= 0,0417) (Figura 25).

Figura 25- Tempo (h) que larvas que foram alimentadas com dietas com 45g/L (cor verde) e com 90g/L (cor vermelha) levaram para completarem seu desenvolvimento, nas diferentes condições de estresse: [Fome (Dieta com 1% ágar), Fome e dessecação (Sem dieta), Privação de proteína (Dieta com 1% ágar e açúcar) e Privação de carboidrato (Dieta com 1% ágar e levedura)] respectivamente.



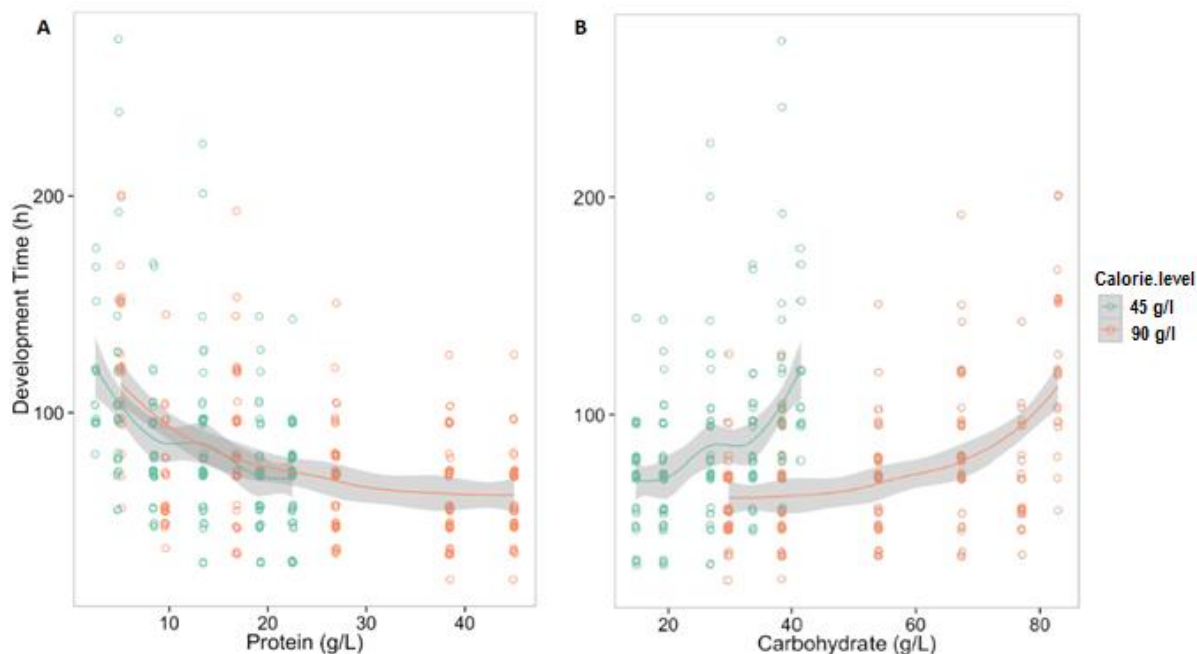
Fonte: Arquivo pessoal

b) Comparação do efeito das quantidades de proteína e de carboidrato

Verificou-se também se havia diferença entre o efeito de proteína e de carboidrato ainda sobre o tempo de desenvolvimento, nas duas diferentes diluições (45g/L e 90g/L). Para isso, utilizando a ANOVA (com distribuição de quasi-Poisson), apesar dos dados estarem bem dispersos, foi possível observar que ambos os constituintes da dieta exercem influência, pois a quantidade de proteína é inversamente proporcional ao tempo de desenvolvimento, enquanto

que a quantidade de carboidrato é diretamente proporcional, sendo que nessa última há uma pequena distinção entre as duas diluições (45g/L e 90g/L) (Figura 26).

Figura 26- Efeito da quantidade de proteína (A) e de carboidrato (B), no tempo de desenvolvimento (h) de larvas que foram alimentadas em dietas nas diluições 45g/L e 90g/L, em todos os cinco tratamentos as quais foram submetidas.



c) Comparação entre as diferentes condições de estresse

Comparou-se também o tempo de desenvolvimento das diferentes proporções (P:C) nas cinco condições de estresse (Figura 27). Para isso, utilizando o teste ANOVA (com distribuição de quasi-Poisson) verificou-se que no geral, com exceção do grupo 2 (Frasco vazio), e grupo 3 (Ágar e açúcar), foi obtida uma resposta similar no tempo de desenvolvimento (Tabela 15). Ao se comparar os grupos experimentais aos pares, é possível ver que os grupos têm, em média, diferentes tempos globais de desenvolvimento (Tabela 16).

Figura 27- Tempo de desenvolvimento (h) de larvas, comparando as diferentes proporções (P:C) entre as diferentes condições de estresse (Da esquerda para a direita: Resistência à fome; Resistência à fome e dessecação; Resistência à privação de proteína; Resistência à falta de açúcar; Grupo controle).

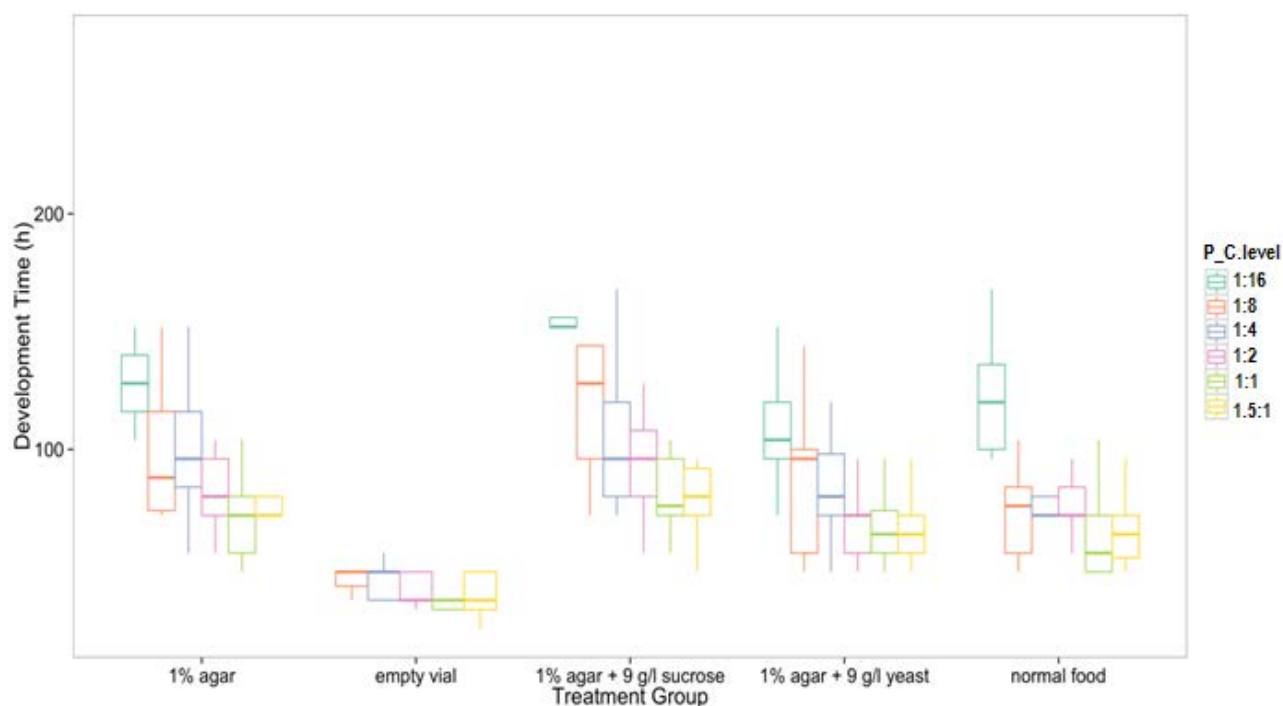


Tabela 15- Teste ANOVA para comparar os cinco tratamentos, considerando o tempo de desenvolvimento em h das larvas advindas das diferentes proporções de dieta. Sendo G1= Dieta com ágar, G2= Frasco vazio; G3= Dieta com ágar e açúcar; G4= Dieta com ágar e levedura; G5= Dieta normal.

Tratamentos	Ls mean	SE	Grupo
G2	3.660709	0.06950896	1
G4	4.378602	0.03298040	2
G5	4.382027	0.03380208	2
G1	4.442091	0.03770708	2
G3	4.612043	0.03403281	3

Tabela 16- Teste ANOVA para comparar os diferentes tratamentos em pares. (G1= Dieta com ágar, G2= Frasco vazio; G3= Dieta com ágar e açúcar; G4= Dieta com ágar e levedura; G5= Dieta normal).

Grupos	SE	p-valor
G1-G2	0.07907793	<.0001
G1-G3	0.05079425	0.0033
G1-G4	0.05009522	0.6152
G1-G5	0.05063995	0.6152
G2-G3	0.07739333	<.0001
G2-G4	0.07693635	<.0001
G2-G5	0.07729214	<.0001
G3-G4	0.04739134	<.0001
G3-G5	0.04796679	<.0001
G4-G5	0.04722592	0.9422

Os resultados para as larvas que foram submetidas à condição do estresse de dessecação e de fome mostraram que essas tiveram o desenvolvimento mais rápido do que as dos outros grupos. Além disso, não houve uma diminuição gradativa no tempo de desenvolvimento entre as diferentes proporções.

Ademais, se analisou mais precisamente as respostas do tempo de desenvolvimento de acordo com a dieta que se alimentaram, nos diferentes grupos:

i. Grupo 1 (Resistência à fome):

As larvas que foram alimentadas em dietas 1.5:1 e 1:1 tiveram a mesma resposta, diferente das larvas que foram alimentadas em 1:4, bem como daquelas que foram alimentadas em dietas com proporções intermediárias 1:2 e 1:8. Não foi possível observar o padrão de resposta das larvas alimentadas com dietas 1:16, devido ao fato de muitas não concluírem seu desenvolvimento (Tabela 17).

ii. Grupo 2 (Resistência à fome e à dessecação):

Através da análise estatística, foi possível verificar que em todas as proporções, exceto 1:8 e 1:16 (em que nenhuma larva completou seu desenvolvimento), houve respostas

parecidas (Tabela 18), ou seja, as larvas adiantaram o seu desenvolvimento, porém as que não tornaram-se pupas rapidamente, morreram.

Tabela 17- Teste ANOVA para analisar as diferentes proporções (P:C) no Grupo 1.

Grupo 1 (1% agar)			
Concentração F	Ls mean	SE	Grupo
1.5:1	4.318110	0.06494484	1
1:1	4.276419	0.06441421	1
1:2	4.454461	0.06049432	12
1:4	4.596126	0.06609323	2
1:8	4.477853	0.10794350	12
1:16	NA	NA	

Tabela 18- Teste ANOVA para analisar as diferentes proporções (P:C) no Grupo 2.

Grupo 2 (Frascos vazios)			
Concentração F	Lsmean	SE	Grupo
1.5:1	3.631414	0.10303923	1
1:1	3.584752	0.10466707	1
1:2	3.688879	0.11609570	1
1:4	3.809175	0.15031334	1
1:8	NA	NA	
1:16	NA	NA	

iii. Grupo 3 (Resistência à privação de proteína):

Nesse grupo, as larvas que foram alimentadas em dietas com as maiores proporções P:C (1,5:1 e 1:1) tiveram respostas semelhantes à esse estresse, enquanto que as alimentadas com

dieta 1:2 tiveram uma resposta intermediária. Nas proporções 1:4 e 1:8, obteve-se a mesma resposta entre elas, porém diferente das outras proporções (Tabela 19), já que as larvas que foram alimentadas com essas dietas levaram mais tempo (em horas) para terminarem seus desenvolvimentos.

Tabela 19- Teste ANOVA para analisar as diferentes proporções (P:C) no Grupo 3.

Grupo 3 (1% agar + 9,0g de açúcar)			
ConcentraçãoF	Lsmean	SE	Grupo
1.5:1	4.423392	0.06370913	1
1:1	4.413373	0.06038078	1
1:2	4.584259	0.05535027	12
1:4	4.686521	0.05899251	2
1:8	4.841769	0.07667088	2
1:16	NA	NA	

iv. Grupo 4 (Resistência à falta de açúcar):

Nesse grupo, obteve-se um quadro um pouco distinto dos demais grupos, em que não há uma gradação nas respostas de acordo com as proporção P:C (Tabela 20). As respostas das larvas advindas das dietas 1:1, 1:2 e 1:8 não podem ser distinguidas das que vieram das proporções 1.5:1 ou 1:4. Porém, as respostas em 1.5:1 e 1:4 são diferentes entre si, e todas são diferentes das obtidas de dietas 1:16.

Tabela 20- Teste ANOVA para analisar as diferentes proporções (P:C) no Grupo 4.

Grupo 4 (1% agar + 9,0g de proteína)			
ConcentraçãoF	Lsmean	SE	Grupo
1,5:1	4.171229	0.06788695	1
1:1	4.256255	0.06517621	12
1:2	4.213450	0.06647155	12
1:4	4.444373	0.05937600	2
1:8	4.422817	0.06151441	12
1:16	4.698493	0.05520312	3

v. Grupo 5 (Grupo controle):

Nesse grupo, não foi possível observar diferença significativa entre as proporções (P:C) em relação ao tempo de desenvolvimento das larvas, com exceção do resultado encontrado na proporção 1:16 (Tabela 21).

Tabela 21- Teste ANOVA para analisar as diferentes proporções (P:C) no Grupo 5.

Grupo 5 (Dieta normal)			
ConcentraçãoF	Lsmean	SE	Grupo
1,5:1	4.152515	0.06874111	1
1:1	4.170619	0.06792834	1
1:2	4.348957	0.06267234	1
1:4	4.323984	0.06310517	1
1:8	4.338521	0.07190590	1
1:16	4.847757	0.05625110	2

6 DISCUSSÃO

Devido às observações feitas em campo, em que um aumento brusco na umidade relativa ocasionava um aumento exponencial no número de adultos de *Z. indianus* coletados, viu-se a necessidade de se investigar como tal fator abiótico influenciava no ciclo de vida desse drosofilídeo. Além disso, objetivou-se verificar até que ponto diferentes respostas ao estresse de baixa umidade poderiam ser obtidas de acordo com parâmetros biométricos, já que se sabe que alguns espécimes podem resistir a condições estressantes visto a sua ocorrência até em ambientes de clima mais extremos, como o do Nordeste brasileiro (FERNANDES ; ARAÚJO, 2011).

Os resultados desse estudo indicaram que uma possível resposta para as observações feitas em campo seria a influência da umidade relativa na emergência de adultos, principalmente quando as pupas foram submetidas a valores mais extremos. O efeito de fatores ambientais, tanto bióticos quanto abióticos na fase de pupa, já foi observado em alguns drosofilídeos em estudos anteriores (SOKOLOWSKI; HANSELI, 1983; KARAN; MORETEAU; DAVID, 1999). Ademais, em *Drosophila melanogaster* foi relatado um aumento da mortalidade de pupas quando submetidas a umidades relativas baixas (AL-SAFFAR; GRAINGER; ALDRICH, 1996).

Apesar do período de pupação para várias espécies de *Drosophila* ser diferente entre os sexos, sendo que as fêmeas possuem um período de pupação menor, ou seja, emergem antes que os machos (BAKKER; NELISSEN, 1963; WELBERGEN; SOKOLOWSKI, 1994; NUNNEY, 1996), ou ainda o oposto para outros insetos (WIKLUND, 1977), nenhuma diferença no período de pupação entre os sexos foi encontrada no presente estudo com *Z. indianus*, parecendo não ser este o caso para essa espécie. Todavia, são necessários outros estudos para verificar se há alguma especificidade em relação ao período de pupação para essa mosca.

Com relação às diferentes respostas das características biométricas às condições de estresse, o esperado era que pupas que possuísem maiores valores biométricos teriam maior probabilidade de apresentarem emergência dos adultos do que as com menores valores, principalmente em condições de baixa umidade. No entanto, ainda que o desenvolvimento das larvas influencie em parâmetros como o peso, comprimento e largura das pupas, não se observou nenhuma relação dessas variáveis com a sobrevivência. Esse resultado corrobora com os resultados obtidos por Nunney (2007), em que o desenvolvimento larval como um todo pode não interferir diretamente no período de pupação.

Entretanto, deve ser considerado que nesse experimento, as larvas foram alimentadas com a mesma dieta, sendo, portanto, a quantidade ingerida e assimilada por cada larva o fator que levou às variações morfológicas. Assim, é necessário correlacionar não somente a quantidade, mas também a qualidade nutricional do alimento ingerido pelas larvas, com as variações biométricas, e assim entender como isso interfere nas respostas da espécie às condições ambientais.

A influência da umidade relativa, no entanto, pode não ocorrer somente na fase de pupa, já que com o que se observa em campo, se pensou na hipótese de todo o ciclo de vida dessa mosca ser afetado por esse fator. Matavelli (2014) verificou que em um município da região do Sudeste brasileiro, o número de adultos dessa espécie varia ao longo do ano, podendo realmente diminuir drasticamente em determinados meses, sendo esses relacionados principalmente com estações mais secas. Em outras regiões do país como o Centro-Oeste, também foram relatadas flutuações populacionais de *Z. indianus*, relacionadas com diferentes variáveis, entre elas a condição ambiental (DÖGE OLIVEIRA;TIDON, 2015).

No presente estudo, o fato da baixa umidade não ser uma condição limitante na sobrevivência dos adultos, além da observação de que o tempo máximo de sobrevivência dos indivíduos ocorre em condições de alta umidade, permite concluir que há de fato uma influência desse fator abiótico na longevidade da espécie, de modo a resistir a ambientes mais secos e serem favorecidos em ambientes mais úmidos.

Mesmo tendo sido observada uma maior sobrevivência dos adultos em condições de alta umidade, quando se verificou a diferença entre os sexos neste grupo, as análises indicaram que essa relação positiva com o fator abiótico ocorre somente com machos, porém o motivo para isso não está muito claro. Além dos estudos anteriores já citados que apontaram a diferença no tempo de desenvolvimento entre os sexos até a emergência de adultos, para alguns drosofilídeos e outros insetos, e outros estudos ainda em que se analisou a possibilidade de haver divergência sexual na resistência de adultos a estresses ambientais (SHARMILA BHARATHI et al., 2003, 2004), ainda não se sabe de fato a possível existência de diferença entre machos e fêmeas na sobrevivência do estágio adulto de *Z. indianus* em condições estressantes.

Com relação às diferentes respostas das características biométricas às condições de estresse, o esperado era que a sobrevivência poderia estar relacionada com parâmetros biométricos, nos quais os indivíduos maiores ou com asas maiores poderiam sobreviver por mais tempo em tratamentos considerados de estresse. No entanto, somente em um grupo experimental, o da baixa umidade, é que houve relação da área da asa com a maior

sobrevivência de indivíduos, o que corrobora com os resultados obtidos por Baker; Krebs (1995), em que é proposto que em ambientes estressantes, a chance de variação das características morfológicas, a nível genético, aumenta. Para *Z. indianus*, tinha sido observada apenas a relação de tamanho de asa com o fator abiótico temperatura (BONIN, 2010), sendo interessante investigar o quanto variações morfológicas da população podem ser um fator importante para a resistência de adultos em ambiente estressantes.

Tendo em vista que as duas primeiras etapas do trabalho foram realizadas com pupas e adultos em que nos períodos larvais foram alimentaram da mesma qualidade nutricional, o teste com geometria nutricional confirmou a possibilidade da resistência a estresses ambientais de acordo com a composição de macro-nutrientes. A influência da nutrição das larvas para garantia das demais fases de desenvolvimento foi relatada por Aguilla, Hoshizoki e Gibbs, (2013) e Rodrigues e colaboradores (2015). Ademais, sabendo que a base das dietas das moscas-de-fruta é carboidrato, proveniente principalmente de frutos, segundo Buruga, Olembo (1971), e proteínas (originados de leveduras e outros fungos, como observado por GORDON (1942 apud BURUGA;OLEMBO, 1971), a variação da proporção desses macro-nutrientes pode influenciar no desenvolvimento desses drosofilídeos.

Segundo Davidowitz, D'Amico e Nijhout (2003), nas fases finais do desenvolvimento larval (últimos instares) dos insetos, a interação de três fatores é essencial para que concluam seu desenvolvimento e façam enfim a metamorfose: 1) taxa de crescimento, 2) peso crítico, e 3) secreção do hormônio ecdisona. Entretanto, dependendo das condições nutricionais ou ambientais às quais as larvas são submetidas, os fatores necessários para iniciar a metamorfose podem ser alterados (MIRTH; SHINGLETON, 2012).

Assim sendo, a priori, a hipótese era que dependendo da proporção P:C das dietas em que as larvas foram alimentadas, bem como a condição em que essas foram transferidas, teriam menos ou mais sucesso em sua metamorfose, e consequentemente na sua sobrevivência até o estágio adulto. Os resultados encontrados nesse estudo confirmaram essa hipótese, já que houve diferença tanto na sobrevivência de larvas quanto de pupas, conforme a dieta larval e as condições de estresse às quais foram submetidas variavam.

Em estudos em que se explorou a fisiologia dos eventos de metamorfose de insetos (MIRTH; TRUMAN ; RIDDIFORD, 2005; DAVIDOWITZ; D'AMICO ; NIJHOUT, 2003) foi ressaltada a importância das larvas atingirem o peso crítico para concluir seu desenvolvimento. Assim, nesse experimento, o fato das larvas serem transferidas no mesmo período (três dias e meio após a postura de ovos) para as condições estressantes auxiliou na interpretação dos resultados, já que devido à alimentação que tiveram, o tempo de

desenvolvimento entre elas era diferente (as larvas que ficaram os três dias e meio em dietas 1:16 demoraram mais para atingirem o terceiro instar, do que as larvas que ficaram o mesmo período em dietas 1,5:1).

Mirth, Truman e Riddiford (2005) verificaram que larvas transferidas para condições de inanição antes de atingirem o peso crítico têm atraso no desenvolvimento e consequentemente na metamorfose. Com isso, no presente experimento, as larvas colocadas antes de atingirem o peso crítico em recipientes que continham apenas ágar (no caso as que foram alimentadas em dietas com proporções mais baixas de P:C) demoraram mais tempo para se tornarem pupas, corroborando com os resultados desses autores.

As pupas que foram encontradas na condição de inanição e dessecação correspondiam em maior número às larvas que foram alimentadas anteriormente com dietas com maiores concentração de P:C, estando portanto na fase “pós peso crítico”, o que explica adiantarem a metamorfose mesmo nessa condição. Entretanto, as larvas alimentadas em dietas com menores proporções P:C tiveram um número muito baixo de sobrevivência nesses grupos. O fato de ter sido encontrada pupa pode ser devido a fator genético, ou ainda por talvez haver uma associação com a ausência de água que de alguma maneira acelerou o processo de desenvolvimento por um mecanismo ainda desconhecido, mas para confirmar, ainda são necessários mais estudos que testem essa hipótese.

Entre os grupos, o maior sucesso de sobrevivência foi das larvas que tinham sido alimentadas com dietas mais ricas em proteínas e com menores quantidades de carboidratos (1,5:1 e 1:1), o que corrobora parcialmente os resultados de Rodrigues et al (2015), em que para *Drosophila melanogaster*, foi visto que a quantidade de proteína se relacionava positivamente com o desenvolvimento, sendo os picos encontrados em proporções intermediárias. Entretanto, esses autores avaliaram o efeito da geometria nutricional em todo o desenvolvimento da mosca além de outros aspectos do ciclo de vida, e não na diferença de tolerância a condições estressantes, como no caso do presente estudo.

Em relação à diluição das dietas larvais, a priori se imaginava que as larvas alimentadas em dietas mais concentradas talvez conseguissem um melhor desempenho frente às condições estressantes. No entanto, o que pode estar mais relacionado com a maior sobrevivência é a proporção de macro-nutrientes nas dietas, já que nas análises não foi observada diferença significativa entre o tempo de desenvolvimento das larvas, comparando as diluições das dietas nas quais foram alimentadas, em todos os cinco tratamentos, corroborando com os resultados do estudo de Matavelli (2014).

O resultado da comparação do efeito dos macro-nutrientes mostrou que tanto proteína quanto carboidrato são importantes para a conclusão do desenvolvimento da larva; assim, possivelmente o que pode estar regendo a sobrevivência é a proporção de ambos encontrada na dieta. No entanto, não se sabe ainda se entre as proporções P:C em que há maior sobrevivência, é devido à baixa quantidade de carboidrato ou à alta quantidade de proteína. Para isso, seriam necessários testes que utilizassem especificamente de técnicas bioquímicas, para de fato isolar esses macro-nutrientes e verificar minuciosamente qual possui maior importância para a resistência desses insetos.

Contudo, para se entender ainda mais como a resistência a estresses pode ser de fato influenciada pela dieta larval em *Z. indianus*, são necessários mais estudos, além de testes mais refinados que permitam a transferência das larvas rigorosamente no mesmo estágio de desenvolvimento.

7 CONCLUSÃO

O entendimento da influência de fatores abióticos na história de vida de drosofilídeos, principalmente os que possuem alto potencial de invasão e os que são praga, permite melhor elucidar aspectos da dinâmica populacional desses, bem como sua distribuição geográfica. Para *Z. indianus*, a flutuação da população relacionada com a umidade relativa que foi encontrada no campo em outros estudos, em conjunto com os resultados obtidos nesse projeto, mostram que de fato há influência desse fator abiótico em seu ciclo de vida. A não ocorrência de diferentes respostas ao estresse hídrico de acordo com valores de parâmetros biométricos precisa ser melhor investigada, já que foi visto nesse estudo que a qualidade nutricional é um dos fatores limitantes também para a resistência desses organismos.

Estudos que visam uma melhor compreensão da biologia e ecologia da mosca-do-figo, contextualizando com a sua ocorrência e distribuição, são muito importantes para auxiliar futuras investigações, principalmente para embasar medidas de controle mais específicas e eficazes para essa espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALUJA, M.; MANGAN, R.L. Fruit fly (Diptera: Tephritidae) host status determination: Critical conceptual, methodological, and regulatory considerations. **Annu. Rev. Entomol.** V.53, p. 473–502, 2008.
- AGUILA, J.R.; HOSHIZAKI, D.K. & GIBBS, A. G. Contribution of larval nutrition to adult reproduction in *Drosophila melanogaster*. **J. Experim. Biol.**, v. 216, p.399-406, 2013.
- AL-SAFFAR, Z.Y.; GRAINGER, J.N.R.; ALDRICH, J. Temperature and humidity affecting development, survival and weight loss on the pupal stage of *Drosophila melanogaster*, and the influence of alternating temperature on the larvae. **J.f Thermal Biol.**, v. 21, n. 5/6, p. 389-396, 1996.
- BARKER, J.S.F.; & KREBS, R.A. Genetic variation and plasticity of thorax length and wing length in *Drosophila aldrichi* and *D. buzzatii*. **J. Evol. Biol.**, v., p. 689-709, 1995.
- BAKKER, K.; NELISSEN, F. X. On the relations between the duration of the larval and pupal period, weight and diurnal rhythm in emergence in *Drosophila melanogaster*. **Entomol. Experim.**, v. 6, n. 1, p. 37–52, 1963.
- BEADLE, G.W., TATUM, E.L. & CLANCY, C.W. Food level in relation to rate of development and eye pigmentation in *Drosophila melanogaster*. **Biol. Bull**, v.75, p.447-462, 1938.
- BURUGA, J. H.; OLEMBO, R. J. Plant food preferences of some sympatric Drosophilids of tropical Africa. **Biotropica**, v. 22, p. 151-158, 1971.
- BONIN, T.G. **Variação na curva de crescimento e tamanho de asa de *Zaprionus indianus* (GUPTA, 1970) (DIPTERA: DROSOPHILIDAE) de acordo com diferentes temperaturas.** TCC, UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”, Rio Claro, 2010.

- BUBLIY, O. A. et al.. Humidity affects genetic architecture of heat resistance in *Drosophila melanogaster*. **J. Evol. Biol.**, v. 25, p. 1180–1188, 2012.
- COLOSIMO, E.A; GIOLO, S.R. **Análise de Sobrevivência aplicada**. 1ª Ed. Editora Edgard Blücher, São Paulo, 2006.
- COQUILLET, D.W. New Diptera from Southern Africa. **Proc. U. S. Nat. Mus.**, v. 24, p. 27-32, 1902.
- CORRÊA, L. de S.; BOLIANI, A.C. Panorama de pesquisas com figueiras. In: **2º Simpósio Brasileiro sobre a Cultura da Figueira**, Campinas, 2010.
- DA LAGE, JL.; CAPY, P. & DAVID, JR. Starvation and desiccation tolerance in *Drosophila melanogaster*: differences between European, North African and Afrotropical populations. **Genet. Sel. Evol**, v.22, p. 381-391, 1990.
- DA MATA, et al. Invasive and flexible: niche shift in the drosophilid *Zaprionus indianus* (Insecta, Diptera). **Biol. Invasions**, v.12, n. 5, p.1231-1241, 2010.
- DA MATA, R.A.; VALADÃO, H.;TIDON, R. Spatial and temporal dynamics of drosophilid larval assemblages associated to fruits. **Rev. Brasil.Entomol.**, v. 59, p. 50–57, 2015.
- DAVID, J. R.; et al., Y. **Ecophysiology: abiotic factors [Drosophila melanogaster]**, v. 3d, p. 105-170, 1983.
- DAVIDOWITZ, G.; D'AMICO, L.J.; NIJHOUT, H.F. Critical weight in the development of insect body size. **Evol.Develop.**, v.5, n. 2, p. 188–197, 2003.
- DÖGE, J. da S.; OLIVEIRA, H. V. de.; TIDON, R. Rapid response to abiotic and biotic factors controls population growth of two invasive drosophilids (Diptera) in the Brazilian Savanna, **Biol. Invasions**, v. 17, p. 2461-2474, 2015.
- DUNSON, W.A.;TRAVIS, J. The role of abiotic factors in community organization. **.Am. Nat.**, v. 138, n. 5, 1990.

FERNANDES, D.R.R.; ARAÚJO, E.L. Occurrence of *Zaprionus indianus* GUPTA (Diptera: Drosophilidae) in “juazeiro” fruits *Ziziphus joazeiro* MART. (Rhamnaceae) in the state of Rio Grande do Norte, Brazil. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 33, n. 4, p. 1356-1358, 2011.

FERREIRA, L.B.; TIDON, R. Colonizing potential of Drosophilidae (Insecta, Diptera) in environments with different grades of urbanization. **Biol. Conserv.**, v. 17, p. 2461-2474, 2005.

GIBBS A. G.; CHIPPINDALE A.K.; ROSE, M.R. Physiological mechanisms of evolved desiccation resistance in *Drosophila melanogaster*. **J. Experim. Biol.** v.200, p. 1821-1832, 1997.

GÜLER, P. et al. The effects of larval diet restriction on developmental time, preadult survival, and wing length in *Drosophila melanogaster*. **Turk. J. Zool.**, v.38, p.1305-1342, 2015.

GUPTA, J.P. Description of a new species of *Phorticella* and *Zaprionus* (Drosophilidae) from Índia. **Proc. Indian Nat. Sci. Acad.**, v. 36, p. 62-70, 1970.

GORDON, C. Natural breeding sites of *Drosophila obscura*. In: BURUGA, J.H.; OLEMBO, R.J. Plant Food Preferences of Some Sympatric Drosophilids of Tropical Africa. **Biotropica**. V. 3, p. 151-158, 1971.

IBRAF - INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS, 2010. Disponível em:
<<http://www.ibraf.org.br>>. Acesso em: 01/07/2016.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. - Produção agrícola municipal. Rio de Janeiro: IBGE, 2014. Disponível em: <
[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Producao_Agricola_Municipal_\[anual\]/2013/pam2013.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Producao_Agricola_Municipal_[anual]/2013/pam2013.pdf)>. Acesso em: 04/07/2016.

KARAN, D.; et al. Desiccation and starvation tolerance of adult *Drosophila*: opposite latitudinal clines in natural populations of three different species. **Evolution**, p.825-831. 1998.

KARAN, D.; MORETEAU, B.; DAVID, J. R. Growth temperature and reaction norms of morphometrical traits in a tropical drosophilid: *Zaprionus indianus*. **Heredity**, v. 83, p. 398-407, 1999.

KATO, C.M. et AL. Ocorrência de *Zaprionus indianus*, Gupta, 1970, (Diptera: Drosophilidae) no Estado de Minas Gerais. **Ciênc. Agrotéc**, v. 28, p. 454-455, 2004.

LACHAISE, D.,; TSACAS, L.; COUTURIER, G. The Drosophilidae associated with tropical African figs. **Evolution**. V. 36, p.141-151, 1982.

LEONEL, S.; SAMPAIO, A.C. **A figueira**. São Paulo: Editora Unesp. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/113695>>, 2011. Acesso em: 07/10/2014.

LEE, K. P.; et al. Lifespan and reproduction in *Drosophila*: new insights from nutritional geometry. **P.Nat. Acad.Sci.**, v. 105, n. 7, p. 2498-2503, 2008.

MATAVELLI, C. **Dinâmica populacional de *Zaprionus indianus* Gupta 1970 (Diptera: Drosophilidae) e caracterização de alguns aspectos biológicos**. PhD, UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”, Rio Claro, 2014.

MATAVELLI, C.; et al. Differences in larval nutritional requirements and female oviposition preference reflect the order of fruit colonization of *Zaprionus indianus* and *Drosophila simulans*. **J. Insect Physiology**, 2015, Disponível : [10.1016/j.jinsphys.2015.09.003](https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2015.09.003). Acesso em 20/08/2015.

MIRTH, C.K.; TRUMAN, J.W.; RIDDIFORD, L.M. The Role of the Prothoracic Gland in Determining Critical Weight for Metamorphosis in *Drosophila melanogaster*. **Curr. Biol.**, v.15, p. 1796–1807, 2005.

MIRTH, C.K. ; SHINGLETON, A.W. Integrating body and organ size in *Drosophila*: recente advances and outstanding problems. **Front. Endocrinol.**, v.3, 2012.

NUNNEY, L. The Response to selection for fast larval development in *Drosophila melanogaster* and its effect on adult weight: An example of a fitness trade-off. **Evolution**, v. 50, n. 3, p. 1193-1204, 1996.

NUNNEY, L. Pupal period and adult size in *Drosophila melanogaster*: a cautionary tale of contrasting correlations between two sexually dimorphic traits. **Journal Compilation-European Society for Evolutionary Biology**, p. 141-151, 2007.

PASSINI, M.P.B.; et al. Soluções atrativas para o monitoramento populacional de *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae) em pomar de figo. **Pesq. Agropec. Trop**, v. 43, n. 3, p. 272-277, 2013.

PARKASH, H.S.; REDDY, G.S. Seasonality and population fluctuations in the *Drosophila* of Western Ghats. **P. Indian. As-Anim. Sci**, v. 88, p. 193-204, 1979.

PIO, R. et al.. Evolução do cultivo de figos em São Paulo e Minas Gerais. In: **2º Simpósio Brasileiro sobre a Cultura da Figueira**, Campinas, 2010.

RAGA, A. Mosca do figo. In: **Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto biológico**, 7, Indaiatuba. **Anais**. Campinas, p. 54-57, 2002.

RAGA, A.; SOUZA FILHO, M.F.; & SATO, M.E. Eficiência de protetores de ostíolo do figo sobre a infestação da mosca *Zaprionus indianus* (GUPTA) (GUPTA) (DIPTERA: DROSOPHILIDAE) no campo. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 70, n. 3, p. 287-289, 2003.

RAMNIWAS, S.; KAJLA, B.; PARKASH, R. Extreme physiological tolerance leads the wide distribution of *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae) in temperate world. **Acta Entomol. Sin.**, v. 55, n.11, p. 1295-1305, 2012.

RODRIGUES, M. A.; et al.. *Drosophila melanogaster* larvae make nutritional choices that minimize developmental time. **J. Insect Physiol.**, v. 81, p.69-80, 2015.

SHARMILA BHARATHI, N; et al. Variation in adult life history and stress resistance across five species of *Drosophila*. **Journal of Genetics**, V. 82, n. 3, 2003.

SHARMILA BHARATHI, N; PRASAD, N. G.; MALLIKARJUN SHAKAR, A D. & JOSHI, A. Correlates of sexual dimorphism for dry weight and development time in five species of *Drosophila*. **J. Zool.**, v. 264, p. 87-95, 2004.

SIMPSON, S.J.; BATLEY, R.; RAUBENHEIMER, D. Geometric analysis of macronutrient intake in humans: the power of protein? **Appetite**, v.41, p.123– 140, 2003.

SOKOLOWSKI, M. B.; HANSELL, R. I. C. Elucidating the Behavioral Phenotype of *Drosophila melanogaster* Larvae: Correlations Between Larval Foraging Strategies and Pupation Height. **Behav. Genet.**, v. 13, n. 3, 1983.

SOUZA, R. M. Histórico da ficicultura na Península Ibérica: do campo ao Mercado. In: **2º Simpósio Brasileiro sobre a Cultura da Figueira**, Campinas, 2010.

STEIN, C.P.; TEIXEIRA, E.P.; NOVO, J.P.S. Aspectos biológicos da mosca do figo, *Zaprionus indianus* Gupta, 1970 (Diptera: Drosophilidae). **Entomotropica**, v.18, n. 3, 2003.

TACO - TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS - NEPA – UNICAMP.- 4.- Campinas: NEPA- UNICAMP, 161 p, 2011.

TREMMEL, M.; MÜLLER, C. Insect personality depends on environmental conditions. **Behav. Ecol.** , v. 24, n. 2, p. 386-392, 2013.

TRIPLEHORN, C. A. ;JONNISON, N. F. Anatomia, fisiologia e desenvolvimento dos insetos. In: **Estudo dos insetos**. 7ª ed. Tradução de Borror and Delong's. São Paulo: Cengage Learning, 2011, 809 p.

VILELA, C.R. Is *Zaprionus indianus* Gupta, 1970 (Diptera, Drosophilidae) currently colonizing the Neotropical Region? **Drosoph. Inf. Serv.**, v. 82, p. 37-39, 1999.

VILELA, C.R.; TEIXEIRA, E.P.; STEIN, C.P. Mosca-africana-do-figo, *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae). In: Vilela, E.F., Zucchi, R.A., Cantor, F. (Eds.) **Histórico e impacto das pragas introduzidas**. Ribeirão Preto: Holos Editora, p.48-52, 2000.

WELBERGEN, P.; SOKOLOWSKI, M.B. Development Time and Pupation Behavior in the *Drosophila melanogaster* Subgroup (Diptera: Drosophilidae). **J. Ins. Behav.**, v. 7, n.3, 1994.

WIKLUND, C. Why Do Males Emerge before Females? A hypothesis to explain the incidence of protandry in butterflies. **Oecologia** (Berl.), v. 31, p. 153-158, 1977

WORTHEN, W.B.; MAYROSE, S.; WILSON, R.G. Complex Interactions between Biotic and Abiotic Factors: Effects on Mycophagous Fly Communities. **Oikos**, v. 69, p. 277-286, 1994.