

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

SENSILAS ANTENAS DE *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA, TEPHRITIDAE) E
RESPOSTAS A VOLÁTEIS DE FRUTÍFERAS, SUBSTÂNCIAS SINTÉTICAS E A
PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS UTILIZADOS NA PRODUÇÃO ORGÂNICA

Ricardo Bisotto de Oliveira
Biólogo (PUC-RS)
MSc. em Fitotecnia (UFRGS)

Tese apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Doutor em Fitotecnia
Área de Concentração Fitossanidade

Porto Alegre (RS), Brasil
Março de 2010

CIP - CATALOGAÇÃO INTERNACIONAL NA PUBLICAÇÃO
Biblioteca Setorial da Faculdade de Agronomia da UFRGS

O48s Oliveira, Ricardo Bisotto de
Sensilas antenais de *Anastrepha fraterculus* (Diptera, Tephritidae)
e respostas a voláteis de frutíferas, substâncias sintéticas e a produ-
tos fitossanitários utilizados na produção orgânica / Ricardo Bisotto
de Oliveira. -- Porto Alegre : R. B. de Oliveira, 2010.

xi, 88f, Il.

Tese(Doutorado – Fitossanidade) – Programa de Pós-Graduação
em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

1. Mosca das frutas : Antenas : Estruturas sensoriais : Experimen-
to : Produção orgânica. I. Título.

CDD: 632

RICARDO BISOTTO DE OLIVEIRA
Biólogo - PUCRS
Mestre em Fitotecnia - UFRGS

TESE


Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de


DOUTOR EM FITOTECNIA


Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 05.03.2010
Pela Banca Examinadora


Homologado em: 27.04.2010
Por

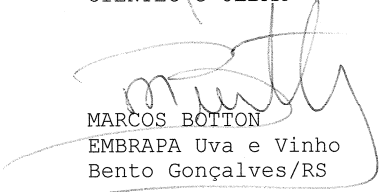

LUIZA RODRIGUES-REDAELLI
Orientadora - PPG Fitotecnia



PAULO VITOR DUTRA DE SOUZA
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia


JOSUE SANT'ANA
Co-orientador - PPG Fitotecnia


SIMONE MUNDSTOCK JAHNE
PPG Fitotecnia


LUIZ ANTONIO MAZZINI FONTOURA
CIENTEC e ULBRA


MARCOS BOTTON
EMBRAPA Uva e Vinho
Bento Gonçalves/RS


PEDRO ALBERTO SELBACH
Diretor da Faculdade
de Agronomia

AGRADECIMENTOS

- Aos meus queridos Pais, Samuel e Angelina, por todo amor, carinho, apoio e incentivo em todas as horas;
- Aos meus irmãos, Lúcia e Felipe, ao Fábio e ao pequeno Gabi por estarem sempre presentes em minha vida, tornando-a mais alegre;
- À Cris, por todo amor e carinho, pela paciência, pelo incentivo em todos os momentos, por entender a minha ausência nessa “finaleira” de tese e principalmente por estar presente na minha vida;
- À minha tia Têre, pelo carinho, apoio e por tudo que fez por mim;
- À toda minha grande família, sempre um Porto Seguro para todas as horas;
- Às grandes amigas Rosaninha Morais e Aline Nondillo, por todo carinho, amizade e por todos os ótimos momentos compartilhados;
- Aos meus amigos-orientadores Luiza e Josué, pela amizade, confiança e apoio, pelos *happy hours* descontraídos e pela oportunidade de trabalharmos juntos;
- Aos amigos Elomar W. Feijó, Sandro Linck e suas famílias, pela grande amizade;
- À professora Simone, pela amizade e apoio nas pesquisas;
- Aos meus amigos da safra 2004, Rosana e Caio, pela parceria;
- Aos divertidos e comunicativos colegas do BIOECOLAB, do Lab 5, do Lab Subterrâneo, obrigado pela oportunidade de trabalhar e aprender com vocês;
- Aos professores e funcionários do Departamento de Fitossanidade – UFRGS, especialmente à Marisa, secretária do PPG, sempre atenciosa;
- Ao CNPq e a CAPES pelo auxílio;
- À EMBRAPA CNPUV, especialmente ao Dr. Marcos Botton, pelo fornecimento dos compostos sintéticos.
- Ao Laboratório de Horticultura, à doutoranda Candida Raquel e ao Prof. Dr. Renar Bender pelo auxílio e disponibilização do material de laboratório para as análises dos frutos utilizados nos experimentos.
- Ao pessoal do Laboratório de Microscopia Eletrônica da UFRGS e do Laboratório de Química Analítica Ambiental e Oleoquímica, do Instituto de Química;

Ao Professor Luiz Antônio Mazzini Fontoura, pela assessoria com a parte química dos experimentos;

Aos professores Carlos Pinent e Fernando Lang, pela assessoria estatística

À galera da Nata-Surf da PUC, pela amizade, pelos churras e *trips* divertidas;

À todos meus amigos que sempre me incentivaram e torceram por mim;

À oportunidade de poder olhar para o céu e ver a lua cheia.

SENSILAS ANTENAS DE *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA, TEPHRITIDAE) E RESPOSTAS A VOLÁTEIS DE FRUTÍFERAS, SUBSTÂNCIAS SINTÉTICAS E A PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS UTILIZADOS NA PRODUÇÃO ORGÂNICA¹

Autor: Ricardo Bisotto de Oliveira
Orientador: Luiza Rodrigues Redaelli
Co-orientador: Josué Sant`Ana

RESUMO

A mosca-das-frutas sul-americana, *Anastrepha fraterculus* (Wied.) tem grande importância econômica na fruticultura no Sul do Brasil. O monitoramento das moscas em pomares é realizado utilizando armadilhas iscadas com sucos de frutas, proteína hidrolisada, torula e vinagre de vinho. No sistema orgânico de produção, o controle é realizado, empiricamente, através da aplicação de óleos, extratos de plantas e caldas. Este trabalho objetivou estudar as estruturas sensoriais das antenas de *A. fraterculus*, com microscopia eletrônica de varredura; avaliar as respostas eletroantegráficas aos produtos fitossanitários, extrato pirolenhoso (BioPirol7M[®]; 0,4%), calda sulfocálcica (Sul Fertilizantes; 1%), nim (Organic Neem[®]; 0,5%) e rotenona (Rotenat[®]; 0,6%); aos extratos etanólicos de frutos verdes e maduros, de maçã (*Pyrus malus* var. Fuji), laranja (*Citrus sinensis* var. Céu), goiaba (*Psidium guajava* var. Paluma) e pêsego (*Prunus persica* var. Chimarrita) e aos compostos sintéticos [(*E*)-3-hexen-1-ol, (*Z*)-3-hexen-1-ol, butirato de etila, octanoato de etila, (*Z*)-3-butirato de hexenila, acetato de hexila e hexanoato de etila], isolados ou em mistura. Avaliou-se, a viabilidade de pupários oriundos de mamões papaia e goiabas (var. Paluma) tratados com extrato pirolenhoso, calda sulfocálcica e o comportamento quimiotaxico das moscas aos padrões sintéticos dos compostos identificados nos extratos de frutos. Constataram-se nas antenas as sensilas dos tipos tricóides, basicônicas, clavadas, estilocônicas e caéticas, além de microtríquias. As respostas eletroantegráficas de *A. fraterculus* foram maiores ao extrato pirolenhoso e à calda sulfocálcica do que ao nim e à rotenona, entretanto, estes produtos não impediram a oviposição e o desenvolvimento dos imaturos em mamões e goiabas com eles tratados. As maiores respostas eletrofisiológicas foram registradas aos extratos de maçã madura, laranja madura e verde. As substâncias (*E*)-3-hexen-1-ol e (*Z*)-3-butirato de hexenila, em combinação, produziram as maiores respostas eletrofisiológicas, quando comparadas às demais. Nos bioensaios comportamentais, os compostos (*E*)-3-hexen-1-ol, (*Z*)-3-hexen-1-ol e (*E*)-3-butirato de hexenila, isolados, não foram atrativos para fêmeas de *A. fraterculus*.

¹ Tese de Doutorado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (88p.). Março, 2010.

ANTENNAL SENSILLA OF *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA, TEPHRITIDAE) AND RESPONSES TO FRUIT VOLATILES, SYNTHETIC COMPOUNDS AND PHYTOSANITARY PRODUCTS USED IN ORGANIC PRODUCTION¹

Author: Ricardo Bisotto de Oliveira
Adviser: Luiza Rodrigues Redaelli
Co-adviser: Josué Sant'Ana

ABSTRACT

The South American fruit fly *Anastrepha fraterculus* (Wied.) has great economic importance in fruit culture in Southern Brazil. The monitoring of flies in orchards is accomplished using traps lured with fruit juices, hydrolyzed protein, torula and wine vinegar. In the organic production system, the control is empirically performed by the application of oils, plant extracts and syrups. This work aimed to study the antennal sensory structures of *A. fraterculus*, using scanning electron microscopy; to evaluate the electroantennographic responses to phytosanitary products: pyroligneous extract (BioPiról7M[®]; 0.4%), lime sulfur (Sul fertilizantes, 1%), neem (Organic Neem[®]; 0.5%) and rotenone (Rotenat[®]; 0.6%); to ethanolic extracts from unripe and ripe fruits: apple (*Pyrus malus* var. Fuji), orange (*Citrus sinensis* var. Céu), guava (*Psidium guajava* var. Paluma) and peach (*Prunus persica* var. Chimarrita), and to synthetic compounds [(*E*)-3-hexen-1-ol, (*Z*)-3-hexen-1-ol, ethyl butyrate, ethyl octanoate, (*Z*)-3-hexenyl butyrate, hexenyl acetate and ethyl hexanoate], isolated or in mixture. The viability of puparies collected from papayas and guavas (var. Paluma) treated with pyroligneous extract and lime sulfur was assessed, and also, the chemotaxic behavior of flies in response to the synthetic patterns identified in the fruit extracts. In the antenna, the following types of sensilla could be observed: trichoide, basiconic, clavated, styloconic and chaetic, besides the microtrichias. The electroantennographic responses of *A. fraterculus* were higher to pyroligneous extract and lime sulfur than to neem and rotenone; however, those products did not prevent the oviposition and immature development in the papayas and guavas treated with them. The highest electrophysiological responses were recorded for ripe apple, and unripe and ripe orange extracts. The combination of the substances (*E*)-3-hexen-1-ol and (*Z*)-3-hexenyl butyrate produced the highest electrophysiological responses, when compared to the others. In the behavioral assay, the compounds (*E*)-3-hexen-1-ol, (*Z*)-3-hexen-1-ol and (*Z*)-3-hexenyl butyrate, isolated, were not attractive to *A. fraterculus* females.

¹ Doctoral thesis in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil (88p.). March, 2010.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Importância das moscas-das-frutas.....	3
2.2 Biologia de espécies do gênero <i>Anastrepha</i>	7
2.3 Hospedeiros de Tephritidae.....	9
2.4 Monitoramento de espécies do gênero <i>Anastrepha</i>	12
2.5 Controle de moscas-das-frutas.....	14
2.6 Comunicação química em mosca-das-frutas.....	18
2.6.1 Sensilas antenais.....	18
2.6.2 Interações de moscas-das-frutas com hospedeiros.....	20
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1 Criação artificial de <i>Anastrepha fraterculus</i>	24
3.2 Descrição e morfometria de estruturas antenais de <i>Anastrepha fraterculus</i> ...	25
3.3 Produtos e extratos utilizados nos bioensaios.....	28
3.3.1 Produtos fitossanitários.....	28
3.3.2 Extratos etanólicos dos frutos	28
3.3.3 Avaliação do estágio de maturação dos frutos	30
3.4 Bioensaios	31
3.4.1 Seletividade das antenas de <i>Anastrepha fraterculus</i> a produtos fitossanitários e a voláteis de plantas	31
3.4.2 Identificação das substâncias nos extratos dos frutos	33

3.4.3 Seletividade e avaliação de dose-resposta a compostos sintéticos.....	34
3.4.4 Viabilidade de pupários de <i>Anastrepha fraterculus</i> em frutos tratados com os produtos fitossanitários	35
3.4.5 Avaliação da atividade quimiotóxica de <i>Anastrepha fraterculus</i> a substâncias sintéticas.....	37
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1 Descrição e morfometria de estruturas antenais de <i>Anastrepha fraterculus</i> ...	40
4.2 Seletividade das antenas de <i>Anastrepha fraterculus</i> a produtos fitossanitários	48
4.3 Viabilidade de pupários de <i>Anastrepha fraterculus</i> em frutos tratados com produtos fitossanitários.....	53
4.4 Seletividade das antenas de <i>Anastrepha fraterculus</i> a extratos de frutos	54
4.5 Identificação das substâncias nos extratos dos frutos.....	61
4.6 Seletividade das antenas de <i>Anastrepha fraterculus</i> a substâncias sintéticas	64
4.7 Sensibilidade de antenas de <i>Anastrepha fraterculus</i> a substâncias sintéticas	67
5 CONCLUSÕES	72
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	75
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1. Média (\pm EP) do comprimento e da largura (μM), no ponto de maior diâmetro, dos segmentos antenais de fêmeas e de machos de <i>Anastrepha fraterculus</i> (n=15).....	42
2. Média (\pm EP) do comprimento, e da largura (μM) por região, das sensilas nos flagelos de fêmeas e machos de <i>Anastrepha fraterculus</i> (n=15).....	42
3. Número médio (\pm EP) das sensilas e microtríquias antenais, nas regiões distal, mediana e proximal numa área de $9.942 \mu\text{M}^2$ em flagelos de <i>Anastrepha fraterculus</i> (n=12).....	44
4. Percentagem da variância das respostas eletroantenográficas de <i>Anastrepha fraterculus</i> em função do coeficiente ETA-Squared (η^2), para os tratamentos e suas interações e grau de significância (P).....	48
5. Percentagem da variância das respostas eletroantenográficas de <i>Anastrepha fraterculus</i> em função do coeficiente ETA-Squared (η^2), para os tratamentos e suas interações e grau de significância (P).....	55
6. Relação de substâncias identificadas, em extratos de goiaba madura, laranja verde e maçã madura, por CG-EM: tempos de retenção (T_R) e similaridade com a coleção de referência do cromatógrafo (S).....	62
7. Relação das substâncias sintéticas e os respectivos tempos de retenção obtidos por CG-EM.....	63

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Pêssego verde com puncturas de <i>Anastrepha fraterculus</i> com resina exsudada.....	5
2. <i>Anastrepha fraterculus</i> puncturando fruto de <i>Carica papaya</i>	7
3. Estruturas antenais de <i>Anastrepha fraterculus</i> em vista dorsal do flagelo: (A) flagelo dividido em três regiões proximal, mediana e distal, os nove retângulos representam as áreas amostrais em cada região; (B) detalhe da área amostral onde os pontos de mesma cor representam um mesmo tipo de estrutura.....	27
4. Sistema de <i>headspace</i> dinâmico: (A) recipiente contendo frutos de goiaba; (B) filtro de carvão ativado; (C) bomba de ar; (D) cartucho contendo adsorvente orgânico.....	29
5. Eletroanténografo utilizado nos bioensaios com <i>Anastrepha fraterculus</i> . A - eletrodo com a antena acoplada; B – pipeta contendo papel filtro com o estímulo e C – registro da resposta eletroanténográfica da antena estimulada.....	33
6. Goiabas tratadas com calda sulfocácica (S), extrato pirolenhoso (P) e água destilada (C) no interior de uma gaiola contendo 15 fêmeas de <i>Anastrepha fraterculus</i> acasaladas, recebendo água e dieta artificial.....	36
7. Gaiola de poliestireno com fêmeas de <i>Anastrepha fraterculus</i> : (A) frasco contendo água destilada; (B) disco de papel filtro.....	38

8. Estruturas presentes nas antenas de *Anastrepha fraterculus*. A – Vista geral da antena, arista (a); escapo (e); pedicelo (p) e flagelo (f). B – Vista geral do escapo (e) e pedicelo (p) com sensilas caéticas (ca). C – Sensila caética (ca) e microtríquias (mt). D-E – Sensilas nos flagelos: tricóides (tr); basicônicas (bc); estiloconicas (es); clavadas tipo I (cl1) e tipo II (cl2) e microtríquias (mt). F – Poros na superfície das sensilas basicônicas (bc). G – Sensila estiloconica (es) com processos digitiformes. H – Microtríquias (mt) com sulcos ao longo do comprimento..... 41
9. Respostas eletrofisiológicas de *Anastrepha fraterculus* aos tratamentos, água, nim (Organic neem[®]) 0,5%, extrato pirolenhoso (Biopiról 7M[®]) 0,4%, rotenona (Rotenat CE[®]) 0,6% e calda sulfocálcica (Sul Fertilizantes) 1%. Barras com letras distintas entre os tratamentos diferem significativamente Kruskal-Wallis (P < 0,05) (n = 120)..... 49
- 10 Respostas eletrofisiológicas de *Anastrepha fraterculus* pré-reprodutivas e reprodutivas acasaladas aos tratamentos, água, nim (Organic neem[®]) 0,5%, extrato pirolenhoso (Biopiról 7M[®]) 0,4%, rotenona (Rotenat CE[®]) 0,6% e calda sulfocálcica (Sul Fertilizantes) 1%. Valores de probabilidade (P) estão expressos acima das barras. Kruskal-Wallis (P < 0,05) (n = 30)..... 52
- 11 Respostas eletroantegráficas de *Anastrepha fraterculus* aos extratos de frutos verdes e maduros. Barras seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal Wallis, (P < 0,0001) (n = 120)..... 56
12. Respostas eletrantenográficas de (A) fêmeas e de (B) machos de *A. fraterculus* a extratos de frutos. Barras seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal Wallis, (P < 0,0001) (n= 60)..... 58
- 13 Respostas eletroantegráficas de *Anastrepha fraterculus* a substâncias sintéticas isoladas [1.hexano; 2. (E)-3-hexen-1-ol, 3. butirato de etila; 4. acetato de hexila; 5. hexanoato de etila; 6. (Z)-3-butilato de hexenila; 7. octanoato de etila] e em misturas [8. (E)-3-hexen-1-ol + (Z)-3-butilato de hexenila; 9. butirato de etila + hexanoato de etila; 10. (E)-3-hexen-1-ol + acetato de hexila + (Z)-3-butilato de hexenila + octanoato de etila e 11. todos os compostos]. Barras com letras distintas, diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis (P < 0,0001) (n = 42)..... 65
- 14 Médias (± EP) das respostas eletroantegráficas de fêmeas de *Anastrepha fraterculus* a cinco concentrações dos compostos sintéticos (A) (E)-3-hexen-1-ol, (B) (Z)-3-hexen-1-ol, (C) butirato de etila, (D) acetato de hexila, (E) hexanoato de etila, (F) (Z)-3-butilato de hexenila e (G) octanoato de etila. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si (P < 0,05) pelo teste do modelo linear geral (GLM) seguido da menor diferença significativa (LSD)..... 68

1 INTRODUÇÃO

A mosca-das-frutas Sul-americana *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera, Tephritidae) é uma espécie de grande importância econômica, tanto pela variedade de hospedeiros, quanto por sua ampla distribuição, ocorrendo desde o México até o Sul da Argentina.

A. fraterculus é a principal praga da fruticultura brasileira. Os danos ocasionados, tanto pela punctura realizada no momento da oviposição, quanto pela alimentação das larvas no interior dos frutos, depreciam e/ou inviabilizam a comercialização de frutos *in natura*. A espécie é abundante nos pomares de citros, videira e de frutíferas de clima temperado cultivadas na região Sul do Brasil, predominando sobre outras espécies de *Anastrepha* e sobre a “mosca-do-mediterrâneo” *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera, Tephritidae).

Estes dípteros ocorrem em frutos de rosáceas como o pessegueiro (*Prunus persica* L.), e macieira (*Malus domestica* L.); de mirtáceas como a guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* Berg), goiabeira (*Psidium guajava* L.) e pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) e de rutáceas como citros (*Citrus* spp.)

A utilização de inseticidas, armadilhas McPhail iscadas com atrativos alimentares (proteínas hidrolisadas e/ou sucos de frutas) e iscas tóxicas, ainda são as principais formas de monitorar e controlar *A. fraterculus* em pomares comerciais. No sistema orgânico de produção, o manejo da população de moscas é realizado através da aplicação de produtos fitossanitários como a calda sulfocálcica, o óleo de nim, a rotenona e o extrato pirolenhoso, porém, apesar desses produtos serem utilizados pelos produtores, o efeito dos mesmos sobre as moscas não é conhecido.

De maneira geral, há carência de informações não somente a respeito da efetividade de produtos fitossanitários não sintéticos no controle de *A. fraterculus*, mas também de pesquisas que investiguem as estruturas quimiorreceptoras presentes nas antenas das moscas e busquem o conhecimento de substâncias atrativas oriundas de extratos de plantas hospedeiras. Este tipo de estudo é fundamental quando se pensa na elaboração de iscas atrativas, com capacidade de monitorar de forma efetiva a população do inseto no campo.

O estudo da influência dos fatores endógenos da mosca como status de cópula, idade e sexo no comportamento quimiotáxico também é outro fator relevante que deve ser levado em consideração quando se pretende manejar populações em pomares comerciais, possibilitando, desta forma, maior adequação e confiabilidade na utilização do controle comportamental com o uso de infoquímicos.

Este trabalho teve como objetivos identificar as estruturas quimiorreceptoras presentes nas antenas de *A. fraterculus* e avaliar as respostas eletrofisiológicas e comportamentais dos indivíduos, em diferentes condições fisiológicas, a produtos fitossanitários utilizados no sistema orgânico de produção, a substâncias sintéticas e a extratos e voláteis sintéticos de frutos hospedeiros.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Importância das moscas-das-frutas

As moscas-das-frutas são as mais importantes pragas da fruticultura, tanto por seu impacto econômico direto na produção de frutos quanto por causarem restrições quarentenárias à exportação (Aluja, 1994; Clark *et al.*, 2005). Pertencem à família Tephritidae, que engloba mais de 4.400 espécies e, embora sejam comumente conhecidas como moscas-das-frutas, os tefritídeos também podem ser galhadores ou minadores. De acordo com o hábito alimentar de cada espécie, pode utilizar diferentes partes do hospedeiro no seu desenvolvimento, tais como frutos (polpa e/ou sementes), flores, ramos, brotos, folhas e raízes. No entanto, a maioria das espécies são carpófagas, incluindo algumas das principais pragas da fruticultura (Norrbon, 2006).

Existem moscas-das-frutas estritamente monófagas, como *Bactrocera oleae* (Gmelin), que se alimenta somente de uma espécie hospedeira, e outras polífagas, como *C. capitata*, que possui mais que 300 hospedeiros registrados (Liquido *et al.*, 1991). Os tefritídeos possuem elevado potencial biótico, facilidade de se dispersarem no ambiente e habilidade de adaptação em diferentes hospedeiros (Salles, 1995). Espécies de *Toxotrypana*, por exemplo, utilizam como hospedeiro, tanto frutos de Caricaceae, quanto de Asclepidaceae, duas famílias de plantas sem relações próximas (Norrbon, 2006). O número de espécies de *Anastrepha* por

família de hospedeiros é de 14/*Myrtaceae*, 15/*Sapotaceae*, 11/*Anacardiaceae* e 9/*Passifloraceae* (Zucchi, 2008). Segundo o mesmo autor, as espécies do gênero com maior número de hospedeiros associados é *A. fraterculus*, com 76, e *A. obliqua*, com 36.

Os danos diretos das moscas-das-frutas são representados pela punctura que a fêmea realiza no momento da oviposição e/ou pelo desenvolvimento da larva no interior do fruto. A punctura pode também servir de entrada para fungos e bactérias causadoras de podridões. As larvas que se desenvolvem no interior dos frutos, ainda causam distúrbios hormonais que provocam a queda prematura dos mesmos (Malavasi *et al.*, 1994; Aguiar-Menezes *et al.*, 2004).

Em alguns frutos, como ameixa, caqui, goiaba, laranja, nêspera e pêsego, a infestação por larvas pode não ser notada, pois os mesmos permanecem com a aparência externa normal. Entretanto, ao examinar o fruto notam-se pontos de amolecimento da polpa e extravasamento de suco pelo orifício de saída das larvas. Em nêspera, quando a infestação é alta, a epiderme do fruto apresenta diversas pontuações escuras e, em pêsego, ocorre a exsudação de resina (Figura 1) (IB, 2002).

De acordo com Salles (1995), o dano causado pela oviposição é irreversível. Em maçã e pêra, por exemplo, no local da punctura, a epiderme fica marcada e, com o desenvolvimento do fruto, na região onde o ovipositor penetrou se desenvolve uma concavidade, resultando em frutos deformados. Além disso, na parte interna da polpa, forma-se uma massa morta com aspecto de cortiça.



FIGURA 1. Pêssego verde com puncturas de *Anastrepha fraterculus* com resina exsudada.

Esses danos, além de prejudicarem a comercialização de frutos “in natura”, também representam um importante fator de restrição à exportação destes para países que não possuem essas espécies de moscas em seu território, os quais estabelecem barreiras fitossanitárias (Malavasi *et al.*, 1994).

Os gêneros de Tephritidae, com espécies de importância econômica que ocorrem no Brasil, estão incluídos na subfamília Trypetinae, tribo Toxotrypanini, como *Anastrepha*; na tribo Dacini, como *Bactrocera* e *Ceratitis*, e, ainda há relatos da ocorrência de *Rhagoletis*, pertencente à tribo Carpomyini (Zucchi, 2000).

O gênero *Ceratitis* é representado por apenas uma espécie no Brasil, *C. capitata*, a qual está presente em praticamente todas as áreas tropicais e temperadas do mundo. Espécies de *Rhagoletis* ocorrem nas Américas e Europa, enquanto que as de *Bactrocera* distribuem-se, principalmente, na Ásia tropical,

Austrália e ilhas do Pacífico, secundariamente, ocorrem na Ásia temperada, África tropical, Sul da Europa e Norte da América do Sul (Malavasi *et al.*, 2000).

Anastrepha é o gênero com maior número de espécies dentro de Tephritidae contando com 198 espécies reconhecidamente válidas e outras ainda não descritas (Norrbom, 2006). As espécies desse gênero ocorrem na América do Norte (México, Vale Rio Grande no Texas e Sul da Flórida), na América Central, em praticamente toda América do Sul (exceto Chile e Sul da Argentina) e na maioria das ilhas do Caribe (Aluja, 1994). Neste gênero, as espécies de maior importância econômica na fruticultura são *A. fraterculus* (Figura 2), *A. grandis* (Macquart), *A. ludens* (Loew), *A. obliqua* (Macquart), *A. serpentina* (Wiedemann), *A. striata* (Schiner) e *A. suspensa* (Loew) (Aluja, 1994; Sequeira *et al.*, 2001).

Atualmente no Brasil, *Anastrepha* é o gênero de moscas-das-frutas de maior importância, sendo que das espécies já descritas para o mundo, 94 possuem registro para o país (Zucchi, 2000). Dentre outras, *A. fraterculus* se destaca por ser uma espécie polífaga e amplamente dispersa pelo Continente Americano (Kovaleski *et al.*, 2000). Sua importância varia conforme o local de ocorrência, sendo considerada praga primária na Argentina, Uruguai e nos estados do Sul e Sudeste do Brasil (Malavasi *et al.*, 2000). É considerada a principal praga das fruteiras cultivadas dos estados do Sul do Brasil (Salles, 1995), destacando-se o Rio Grande do Sul, sendo frequentemente associada aos danos em frutos nos pomares comerciais (Kovaleski *et al.*, 2000).

2.2 Biologia de espécies do gênero *Anastrepha*

A duração média dos estágios de ovo, larva e pupa em *A. fraterculus*, na temperatura de 25 °C são de 2,8; 12,7 e 14,1 dias, respectivamente. A longevidade máxima para machos e fêmeas, em laboratório (25 °C; 70% UR; fotofase de 16 horas) é de 161 dias (Salles, 2000), em condições de campo, entretanto, a longevidade é desconhecida (Malavasi & Zucchi, 2000).



FIGURA 2. *Anastrepha fraterculus* puncturando fruto de *Carica papaya*.

Malavasi *et al.* (2000) registraram para *A. fraterculus*, em temperatura constante de 25 °C, uma fecundidade média de 25,2 ovos/dia e, duração média dos períodos de pré-oviposição e oviposição de 22,7 dias e de 79,1 dias, respectivamente. Segundo os mesmos autores, quando confinados, os adultos desta espécie podem realizar postura mesmo sem ter acasalado, porém os ovos são inférteis. A maior quantidade de ovos é colocada na temperatura de 25 °C, sendo que a primeira oviposição pode ocorrer aos sete dias de vida da fêmea, prolongando-se até o quadragésimo segundo dia.

Os ovos de espécies de *Anastrepha* possuem coloração que varia de branco a amarelo (Malavasi & Zucchi, 2000), têm forma elíptica, são alongados e ligeiramente curvos, seu maior diâmetro fica na região central ou próximo ao pólo anterior, decrescendo em direção às extremidades, as quais podem terminar de forma afilada ou arredondada (Sugayama & Malavasi, 2000).

Fêmeas de diferentes espécies podem depositar os ovos isolados ou em grupos, na região do epicarpo ou do mesocarpo dos frutos hospedeiros. Aparentemente, a escolha do local para a oviposição é influenciada por fatores olfativos e visuais, mas os que determinam a decisão final são pouco conhecidos (Aluja, 1994; Salles, 1995).

O número de ovos por punctura varia de um, em *A. fraterculus*, até mais de 100, em *A. grandis* (Selivon & Perondini, 2000). Os autores verificaram que em 60% e 19,5% das puncturas efetuadas, respectivamente, por *A. fraterculus* e *A. grandis*, havia ovos.

O comportamento de oviposição de *A. fraterculus* também é afetado pela temperatura. Salles (2000) observou que em temperaturas inferiores a 15 °C e superiores a 35 °C não ocorre oviposição, provavelmente devido a efeitos na maturação ovariana do inseto.

A temperatura é o fator determinante para o melhor desenvolvimento desta espécie e deve estar entre 15 e 27 °C (Malavasi & Zucchi, 2000). Segundo os autores, a umidade relativa do ar é menos importante, as larvas utilizam a umidade da polpa do fruto e as pupas, estão protegidas pelo pupário, sofrendo pouca influência da umidade do ar quando estão enterradas, no entanto, a maioria dos

estudos, em condições de laboratório, são conduzidos com umidade relativa entre 60 e 80%.

As larvas possuem cor que pode variar entre branco e amarelo, são ápodas e possuem a cabeça retrátil (Malavasi & Zucchi, 2000). Em *A. fraterculus*, este estágio pode durar de 11 a 14 dias, sendo mais rápido em temperaturas entre 25 e 30 °C, passando as larvas por três instares (Salles, 2000).

Normalmente, nos tefritídeos, o final do terceiro instar é caracterizado pela ausência de alimentação e saída da larva do fruto, a qual é determinada por características internas como o pH, a temperatura e o grau de maturação (Malavasi & Zucchi, 2000).

Em ambiente natural as larvas empupam a uma profundidade variável, dependente da compactação do solo, podendo chegar a, no máximo, 18 cm, (Salles, 1995). Os pupários têm forma elíptica e coloração em tons castanhos (Malavasi & Zucchi, 2000).

Anastrepha fraterculus é uma espécie multivoltina, apresentando, no mínimo, seis gerações anuais o que possibilita ser encontrada durante todos os meses do ano e, como não ocorre diapausa, a presença dos indivíduos ao longo do ano depende da existência de hospedeiros favoráveis (Salles, 1995).

2.3 Hospedeiros de Tephritidae

Segundo Salles (1995), no extremo sul do Brasil, *A. fraterculus* foi registrada infestando 24 espécies de frutíferas. O autor classificou as mesmas em dois grupos: hospedeiros multiplicadores, os quais permitem o desenvolvimento de grandes quantidades de moscas-das-frutas e alternativos, os que são infestados

ocasionalmente. Dessa forma, considerou 15 fruteiras como hospedeiros alternativos e nove como multiplicadores, sendo cinco destes pertencentes a Myrtaceae, o que demonstra a importância desta família como hospedeira de moscas-das-frutas no Sul do Brasil.

Na região Sul do Brasil, *A. fraterculus* é abundante nos pomares de citros e rosáceas, predominando sobre outras espécies de moscas deste mesmo gênero e sobre a mosca-do-mediterrâneo, *C. capitata* (Salles, 1995).

As frutíferas referidas como preferenciais são pessegueiro (*Prunus persica* L.), ameixeira (*Prunus* spp. Lindl.), guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* Berg), goiabeira (*Psidium guajava* L.), cerejeira (*Eugenia involucrata* DC.), araçazeiro (*Psidium* spp.), entre outras, e como hospedeiros alternativos a jabuticabeira (*Myrciaria trunciflora* Berg), os citros (*Citrus* spp.), a pitangueira (*Eugenia uniflora* L.), a macieira (*Malus domestica* L.) e o mamoeiro (*Carica papaya* L.) (Salles, 1995; Veloso *et al.*, 1998; Nascimento *et al.*, 2000).

Com relação à família Rutaceae, a classificação de Salles (1995) enquadrou a laranja-japonesa (*Fortunella japonica* Swingle) como hospedeiro multiplicador e outras seis espécies de citros, laranja-azedada - *Citrus aurantifolia* Swingle, laranja-crioula - *C. sinensis* (L.) Osbeck, laranja-de-umbigo - *Citrus* sp., laranja-Valência - *C. sinensis*., lima - *C. limmetioides* Tan. e limão-crioulo - *C. lemon* (L.) Burm, como alternativos.

O cultivo de citros geralmente favorece a proliferação desses tefritídeos, pela existência simultânea no pomar, ou em pomares próximos, de espécies e/ou variedades com frutas em diferentes fases de desenvolvimento (Souza Pinto, 1988). A existência de uma grande diversidade de hospedeiros, com frutos amadurecendo

em diferentes períodos do ano, favorece o estabelecimento e a manutenção da alta densidade de mosca-das-frutas (Malavasi & Zucchi, 2000).

Segundo Sugayama *et al.* (1997), *A. fraterculus* se dispersa da vegetação nativa para dentro dos pomares de macieira em busca de sítios de oviposição.

A importância das moscas-das-frutas em citros, conforme Malavasi *et al.* (1994), pode variar de acordo com a região produtora e o cultivar. Estes últimos autores ainda afirmam que, grande parte dos danos causados em citros é devido à incursão de adultos nos pomares, originários de outros hospedeiros localizados em áreas adjacentes ao pomar.

Há registros que certas espécies de moscas-das-frutas parecem não estar bem adaptadas aos citros, em função da presença de glândulas com óleos essenciais na casca. Segundo Greany *et al.* (1983), quando a oviposição é realizada dentro dessas glândulas de óleo, o percentual de eclosão dos ovos é muito pequeno, sendo este fator citado como responsável por grande mortalidade de larvas de primeiro instar de *A. suspensa*, em pomelos (*C. paradisi* Macfad.).

Nos estudos desenvolvidos por Nascimento *et al.* (1984), a viabilidade pupal média de *Anastrepha* spp. foi de 1,88% para as larvas criadas em frutos de citros e, de 71,1% para aquelas provenientes de frutos de mirtáceas. Experimentos realizados por Aluja *et al.* (2000) indicaram que a raça mexicana de *A. fraterculus*, sob condições naturais, não utiliza citros como hospedeiro.

Em pomares de macieira, no município de Caçador, Santa Catarina, Sugayama *et al.* (1997) registraram o comportamento de forrageamento e oviposição de *A. fraterculus* nas cultivares Gala, Fuji e Golden Delicious. Os autores referiram que, para os três cultivares, um pequeno percentual de ovos teve viabilidade, com

poucos indivíduos alcançado o estágio adulto. Apesar disso, *A. fraterculus* é considerada a principal praga das macieiras, podendo causar perdas de 2-3% em pomares comerciais, devido aos danos causados pelas puncturas na epiderme dos frutos.

2.4 Monitoramento de espécies do gênero *Anastrepha*

A informação obtida com a captura das moscas nas armadilhas de monitoramento é a chave para tomada de decisões do início e término da aplicação de medidas de controle, assim como para avaliar a eficácia da estratégia aplicada (Epsky & Heath, 1998). O monitoramento das moscas-das-frutas possibilita conhecer a flutuação populacional dos adultos e a detecção dos focos iniciais de infestação, auxiliando nos programas de manejo e controle da praga (Mendonça *et al.*, 2003).

A ocorrência das moscas nos pomares pode ser monitorada, segundo Lima *et al.* (2001), com a utilização de armadilhas contendo atrativos alimentares como a proteína hidrolisada, o melaço de cana, os sucos de frutas, o açúcar mascavo, o vinagre de vinho e a torula, sendo que o resultado dos experimentos realizados pelos autores demonstrou que o melaço de cana a 10% atraiu, em maior proporção, espécies do gênero *Anastrepha*.

Em pomares de citros, segundo Moraes *et al.* (1988), os atrativos mais eficientes para *Anastrepha* sp. foram melaço de açúcar (7%), melaço de sorgo (7%) e vinagre de laranja (25%), enquanto os sucos de laranja e de maracujá a 25%, o vinagre de vinho tinto (25%) e o açúcar cristal (4%) não apresentaram boa atratividade na captura das moscas. De acordo com Veloso *et al.* (1994), também em pomares de citros, o suco de maracujá (30%) foi o que evidenciou uma maior

atratividade, seguido dos sucos de seriguela (30%), laranja (50%), solução de açúcar mascavo (10%) e sucos de manga, goiaba e jabuticaba, todos na concentração de 30%.

Segundo Pereira & Martinez Júnior (1986), em algumas culturas, como da goiabeira, o uso de iscas atrativas se torna inviável, devido à supremacia do odor dos frutos *in natura*, em relação ao liberado pelos atraentes utilizados nas armadilhas.

No Brasil, o monitoramento dos tefritídeos é tradicionalmente realizado com a utilização de frascos caça-mosca (Morgante, 1991; Malavasi *et al.*, 1994) sendo o nível de controle (NC) estabelecido através do número de moscas capturado por armadilha por dia (MAD). Entretanto, existe uma disparidade nas recomendações do NC, levando-se em consideração o número de MAD, de forma que a sugestão é de 0,5 MAD (Hickel, 1993); 0,8 MAD (Nora & Hickel, 1997) e 1,0 MAD (Nascimento & Carvalho, 2000) para que sejam iniciadas as medidas de controle.

Mesmo diante de algumas dificuldades, como falta de seletividade e/ou pouca eficiência dos atraentes alimentares, as armadilhas de monitoramento ainda são uma das melhores opções para monitorar as populações das moscas-das-frutas nos pomares.

Em áreas tropicais, tem-se observado que a flutuação temporal de moscas-das-frutas está relacionada, principalmente, à disponibilidade de plantas hospedeiras e não às variáveis climáticas (Corsato, 2004). A presença de plantas hospedeiras e o estágio de maturação dos frutos são os principais fatores relacionados às flutuações populacionais (IB, 2002). Segundo Malavasi & Morgante (1981), o pico populacional de *A. fraterculus* ocorre próximo ao final do período de frutificação.

Bleicher *et al.* (1982) observaram que a maior incidência dessa espécie se deu de janeiro a fevereiro, em pomares de macieira no município de Fraiburgo, Santa Catarina. Em pomares de ameixeira e pessegueiro no município de Videira, nesse mesmo Estado, Hickel & Ducroquet (1993) constataram que o período de maior ocorrência de *A. fraterculus* foi em dezembro.

2.5 Controle de moscas-das-frutas

O controle das moscas-das-frutas, principalmente de *Anastrepha* spp., permaneceu técnica e conceitualmente estagnado nas últimas décadas, resumindo-se à utilização de armadilhas McPhail com atraentes para monitoramento e de iscas tóxicas para o controle (Kovaleski *et al.*, 2000).

No Brasil, atualmente, a forma de controle das moscas-das-frutas mais utilizada ainda é a química, empregando-se inseticidas fosforados, os quais possuem elevada toxicidade e carência, além de não serem seletivos aos inimigos naturais (Kovaleski & Ribeiro, 2003; Scoz *et al.*, 2004). Nos cultivos de goiabeira, fruteiras de caroço, maracujazeiro-doce, dentre outros, são empregadas pulverizações de cobertura total, enquanto em áreas de citros, a isca tóxica é preferida (Raga & Sato, 2006). Segundo Nondillo *et al.* (2007), em experimentos conduzidos em vinhedos comerciais, os inseticidas neonicotinóides, acetamiprido e tiametoxam, e o fosforado, fentiona reduziram a ocorrência de danos nas bagas em níveis próximos a 90%. Os princípios ativos registrados no Ministério da Agricultura do Brasil (AGROFIT) para o controle de *A. fraterculus* são deltametrina, dimetoato, fenitrotiona, fentiona, fosmete, malationa, metidationa e triclorfom (Brasil, 2009a).

Com a mudança do perfil do consumidor, particularmente os de fruto *in natura*, exigindo alimentos com níveis reduzidos ou isentos de resíduos de agrotóxicos e da conscientização da população humana sobre os riscos ambientais causados por tais produtos, a pesquisa científica tem buscado alternativas ecológica, social e economicamente viáveis para o controle desses e de outros insetos-praga (Carvalho *et al.*, 2000).

Diante deste cenário, os produtores têm adotado algumas medidas que visam à redução das pulverizações convencionais, tais como, mudanças nas práticas de cultivo, monitoramento dos pomares, ensacamento dos frutos, bem como a preservação dos inimigos naturais, que atuam na regulação da população da praga (Lemos *et al.*, 2002).

De acordo com a Instrução Normativa (IN) nº 64 de 18 de dezembro de 2008, em pomares mantidos sob o sistema orgânico de produção, só podem ser utilizadas substâncias e práticas para manejo e controle de pragas e doenças nos vegetais, aquelas que estão relacionadas no ANEXO VIII desta IN, desde que autorizadas pelo Organismo de Avaliação da Conformidade Orgânica (OAC) e/ou pelo Organismo de Controle Social (OCS) (Brasil, 2009b).

Entre as substâncias que podem ser utilizadas, os óleos e extratos de plantas, principalmente os obtidos de espécies de Meliaceae, como o nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) e o cinamomo (*Melia azedarach* L.), se destacam pelas eficientes propriedades inseticidas (Mordue & Nisbet, 2000). Van-Randen & Roitberg (1998) demonstraram os efeitos negativos do nim sobre a maturação e a viabilidade de ovos de *Rhagoletis indifferens* (Curran) (Diptera: Tephritidae). Salles & Rech (1999)

constataram efeito sobre *A. fraterculus*, através da redução da postura e do desenvolvimento larval e pupal, com a utilização de extratos de nim e de cinamomo.

A rotenona é um isoflavonóide presente em plantas da família Leguminosae, ocorrentes na América do Sul, tais como *Lonchocarpus utilis* (Smith) e *Lonchocarpus urucu* (Killip & Smith), onde são popularmente conhecidas como timbó ou cube. Essa substância também está presente em plantas do gênero *Derris*, na Ásia, como *Derris elliptica* (Wallich) Benth e *Derris malaccensis* (Benth.) Prain, originárias da Malásia e do sul da Índia, onde o produto seco é conhecido por derris ou tuba (Caminha Filho, 1940; Stroll, 1986; Buss & Park-Brown, 2002; Kathrina & Antonio, 2004; Wiesbrook, 2004).

As características inseticidas da rotenona já eram conhecidas desde o século XIX (Caminha Filho, 1940). Esta substância apresenta amplo espectro de ação por contato e ingestão, mas se decompõe rapidamente pela ação da luz e calor, apresentando curto período residual (uma semana a menos) (Aguiar-Menezes, 2005). Segundo o mesmo autor, a rotenona não é tóxica para as abelhas e moscas predadoras (Syrphidae) de pulgões. É usada no controle do coleóptero crisomelídeo, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Hamilton & Lashomb, 1997) e como inseticida contra pulgas, lagartas e espécies de coleópteros pragas do aspargo, batata e framboesa (Buss & Park-Brown, 2010).

A calda sulfocálcica (mistura de enxofre, cal virgem e água), tradicionalmente utilizada para o controle de doenças e insetos-praga, é conhecida como um fungicida protetor à base de enxofre, recomendada nos tratamentos erradicantes de inverno, em plantas de clima temperado (Kimati, 1995). Resultados encontrados por Silva (2005) evidenciaram que a aplicação de calda sulfocálcica, em pomares de

laranjeira Céu e tangoreiro Murcott, deve ser utilizada nas situações em que a infestação por moscas-das-frutas é baixa, ou seja, em média, menos de uma mosca por dia, presente nas armadilhas de monitoramento.

Segundo Claro (2001), a calda também é utilizada como repelente de diversas pragas, entre elas as moscas-das-frutas, em várias culturas, sendo aplicada, empiricamente, para este fim por muitos agricultores. Entretanto, o autor afirma que esses resultados deveriam ser analisados com metodologia experimental adequada, já que atualmente estas indicações, embora pareçam eficientes, são em função de observações isoladas, sem comprovação científica.

Outro produto alternativo que vem ganhando destaque, principalmente como repelente a insetos, é o extrato pirolenhoso, obtido a partir da condensação da fumaça nas usinas carvoeiras. Apesar de ser utilizado há muitos anos, especialmente no Japão, são poucos os trabalhos que têm avaliado seus efeitos sobre insetos-praga, tais como os de Azevedo *et al.* (2005), em *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hem., Aleyrodidae) e Morandi *et al.* (2006) em *Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick) (Lep., Tortricidae).

Cabe salientar ainda que a utilização de técnicas alternativas para o manejo de pragas, que não sejam impactantes ou reducionistas é fundamental para a implantação de sistemas produtivos equilibrados e sustentáveis (Gliessman, 2001).

2.6 Comunicação química em mosca-das-frutas

2.6.1 Sensilas antenais

Um fator importante no estudo das interações inseto-planta são as estruturas de percepção química presentes no corpo dos insetos. Essas estruturas, conhecidas como sensilas, são encontradas nas antenas, podendo ocorrer também, em menor número, em outros apêndices da cabeça, como nas maxilas e nos palpos labiais (Zacharuk, 1980; Zacharuk, 1985; Bruyne & Baker, 2008), nos tarsos e no ovipositor (Giannakakis & Fletcher, 1985).

As sensilas podem ser estruturalmente categorizadas por sua morfologia externa. Porém, normalmente a análise apenas da estrutura isolada é insuficiente para determinar sua função. Embora aparentemente a morfologia de algumas sensilas possa parecer similar, a estrutura fina pode variar consideravelmente dependendo da modalidade sensorial envolvida. De forma geral, no entanto, o esquema de classificação das sensilas em insetos é muito similar. As sensilas tricóides são longas, possuem de um a três dendritos não ramificados, que são cobertos por uma densa cutícula. As sensilas basicônicas são curtas e apresentam de um a três dendritos ramificados também protegidos por uma cutícula muito densa. As sensilas placóides são achatadas e tem de 2 a 50 dendritos ramificados. As sensilas coleocônicas são freqüentemente localizadas dentro dos poros cuticulares e apresentam a superfície cuticular enrugada. Porém, outra maneira de categorização das sensilas é baseada na classificação funcional, de acordo com as respostas exibidas pelos receptores olfativos a determinado estímulo (Klowden, 2007).

Altner & Loftus (1985), referiram que as células termo e higo-sensoriais podem estar associadas a diversas formas de sensilas, como tricóides, basicônicas, coleocônicas e estilocônicas, dificultando a identificação da presença das mesmas, levando-se em consideração apenas caracteres morfológicos. De acordo com os autores, isto se deve ao fato de que dificilmente elas são encontradas sozinhas, existindo combinações de células sensoriais de diferentes modalidades, freqüentemente encontradas juntas, como as termo e as higo-sensoriais. Conforme os autores, uma sensila olfativa de *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae) pode apresentar funções como de higrorrecepção e quimiorrecepção.

Segundo Zacharuk (1980), as sensilas quimiorreceptoras podem ser constituídas de um ou mais neurônios sensoriais, que são responsáveis pela seleção e transmissão dos estímulos químicos aos gânglios cerebrais. As sensilas responsáveis pela percepção química podem ser classificadas, de acordo com sua ultraestrutura, em duas categorias: sensilas de parede dupla e de parede simples (Zacharuk, 1980; Hull & Cribb, 1997).

De acordo com Stensmyr (2004), a cutícula das sensilas quimiorreceptoras é porosa e abriga uma cavidade preenchida com linfa, onde estão localizados os dendritos dos neurônios receptores olfativos (NROs). Vogt & Riddiford (1981) sugeriram que as moléculas de odor que entram nessa linfa, através dos poros cuticulares, podem ser ligadas a proteínas transportadoras que as levariam até os sítios receptores responsáveis pela indução da ação comportamental. Os mesmos autores registraram a existência de proteínas especializadas que atuam, posteriormente, na degradação dessas moléculas de odor, liberando os sítios receptores para novos estímulos.

Estudos com diversas espécies de tefritídeos como o de Giannakakis & Fletcher (1985), descreveram a morfologia e a distribuição das sensilas antenais de *Dacus tryoni* (Froggatt). Este trabalho foi complementado por Hull & Cribb (1997) com a descrição das ultraestruturas. Em relação a *C. capitata*, Levinson *et al.* (1987) identificaram as sensilas presentes nos flagelos. Dickens *et al.* (1988) descreveram as antenas e as sensilas de *A. ludens*, *C. capitata*, *Dacus cucurbitae* (Coquillett) e *Dacus dorsalis* (Hendel). Miranda (2000) focou sua pesquisa na arista de *C. capitata* e na importância desta estrutura no comportamento de acasalamento. Recentemente, Arzuffi *et al.* (2008) estudaram a morfologia das sensilas presentes no flagelo antenal de *Toxotrypana curvicauda* Gerstaecker.

2.6.2 Interações de moscas-das-frutas com hospedeiros

Os comportamentos relacionados ao encontro e seleção da planta hospedeira pelos herbívoros são questões centrais no estudo das interações inseto-planta (Joaquim-Bravo *et al.*, 2001).

Os estímulos utilizados pelos insetos podem ser físicos, como cor, forma e tamanho, e/ou químicos, como substâncias atrativas (caiomônios) e repelentes (alomônios) das plantas. Vários outros fatores como textura, balanço de nutrientes, substâncias secundárias, conteúdo de água e estágio fisiológico da planta podem influenciar na aceitação do hospedeiro pelo inseto (Joaquim-Bravo *et al.*, 2001).

Os semioquímicos (principalmente cairomônios e alomônios) podem ser liberados em diferentes fases de desenvolvimento da planta, por estruturas como folhas, flores e frutos. O clima, o solo e o estágio fenológico do hospedeiro são

fatores que podem alterar a emissão dos voláteis podendo sinalizar, ou não, sítios de alimentação, acasalamento e/ou oviposição.

Segundo Macku & Jennings (1987), a composição e a concentração dos voláteis variam de acordo com o estágio fenológico em que os frutos se encontram, prevalecendo em cada fase de maturação, diferentes tipos de substâncias. Os frutos verdes possuem concentrações maiores de cadeias curtas de alcoóis e aldeídos, enquanto nos maduros têm-se maiores concentrações de ésteres.

Ao final do estágio de maturação, começa a degradação dos frutos, elevando-se a concentração de ésteres e outros voláteis, como a acetona e o 2,3-butanediol, produzidos pela ação de fungos e bactérias (Nout & Bartelt, 1998).

Os tefritídeos possuem uma grande variedade de hospedeiros que liberam uma ampla diversidade de compostos atrativos para as moscas adultas. Muitos estudos têm sido realizados no sentido de identificar esses voláteis, de fundamental importância quando se pensa na elaboração de iscas atrativas. Cruz-Lopez *et al.* (2006), por exemplo, identificaram os compostos butirato de etila, butirato de isobutila, butirato de isopentila, butirato de isopropila, butirato de propila, 1-hexen-3-ol, benzoato de etila, hexanoato de etila e octanoato de etila presentes em cajá, *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae). De argânia, *Argania spinosa* L. (Sapotacea), Bakri *et al.* (2006) isolaram 1-hexen-3-ol, (Z)-3-hexen-1-ol, hexanal e (E)-2-hexen-1-ol. Segundo Siderhust & Jang (2006), entre os voláteis presentes em amendoeira-da-praia, *Terminalia catappa* L. (Combretaceae), os compostos metil-eugenol, acetato de geranila, acetato de etila, hexanoato de etila, acetato de hexila, acetato de linalila, nonanato de etila, acetato de nonila, cinamato de etila e (E)- β -farneseno foram atrativos para *B. dorsalis*. De goiabas foram identificados os

compostos (*E*)-3-hexen-1-ol, (*Z*)-3-hexen-1-ol, butirato de etila, acetato de hexila, hexanoato de etila, (*Z*)-3-butilato de hexenila e octanoato de etila (Malo *et al.*, 2005). Em magnólia, *Cornus florida* L. (Cornaceae), hospedeiro de *R. pomonella*, Nojima *et al.* (2003) encontraram o acetato de etila, 3-metilbutan-1-ol, acetato de isoamila, dimetiltrisulfeto, octan-1-ol e cariofileno. Em maçã, outro hospedeiro de *R. pomonella* foram identificados os compostos butanoato de butila, hexanoato de propila, hexanoato de butila, butanoato de hexila e hexanoato de pentila (Zhang *et al.*, 1999).

Tefritídeos adultos podem detectar voláteis de frutos a vários metros de distância e utilizar estes estímulos olfativos para se orientar em direção à planta hospedeira (Robacker *et al.*, 1990a; 1990b, Aluja & Prokopy, 1992). Após o encontro, a escolha do fruto é baseada na cor, forma, tamanho e voláteis emitidos pelo mesmo (Fletcher & Prokopy, 1991). Em Tephritidae, tem sido demonstrado que os odores dos frutos hospedeiros influenciam a oviposição, a alimentação e a cópula (Fletcher & Prokopy, 1991; Landolt *et al.*, 1992).

Os odores podem resultar em uma maior ou menor atratividade, em decorrência da idade, status de cópula e experiência dos insetos com o hospedeiro (Robacker *et al.*, 1990a; Cornelius *et al.*, 2000). García-Ramírez *et al.* (2004) avaliaram a resposta de *A. ludens* aos voláteis de manga e laranja, verdes e maduras. Os autores constataram que machos e fêmeas copulados foram significativamente ($P < 0,05$) mais atraídos aos frutos das duas espécies quando estavam verdes, enquanto os não copulados foram mais atraídos aos maduros.

Resultados encontrados por Kendra *et al.* (2005), envolvendo o efeito da idade em relação às respostas eletroantegráficas (EAG) de *A. suspensa* a duas

substâncias atraentes, indicaram que as fêmeas desta espécie apresentaram maior sensibilidade à amônia, quando estavam sexualmente imaturas e, ao dióxido de carbono, quando estavam maduras. Entretanto, em ensaios comportamentais, os autores verificaram que tanto as fêmeas imaturas, quanto as maduras, foram atraídas pela amônia. Segundo os autores, esta substância é liberada principalmente, quando alguns alimentos protéicos estão em estágio de decomposição, atraindo naturalmente as moscas para estes recursos. Os autores também observaram que a amônia tornou-se menos atrativa quando sua concentração foi aumentada, podendo ter efeito de repelência para as moscas.

Epsky & Heath (1998) verificaram que os compostos 3-metilbutan-1-ol e amônia, presentes em *Enterobacter agglomerans* (Beijerinck) foram atrativos para fêmeas de *A. suspensa* em bioensaios em túnel-de-vento. Os autores referiram que os dois compostos tiveram o mesmo sucesso na atratividade das moscas, porém, a combinação dos dois foi mais atrativa do que a amônia isolada.

Efeitos aditivos e sinérgicos provenientes da combinação de odores de plantas hospedeiras com feromônios, ou odores produzidos por fermentação bacteriana, também foram referidos para outros tefritídeos como *C. capitata* (Dickens *et al.*, 1990); *T. curvicauda* (Landolt *et al.*, 1992) e *Rhagoletis pomonella* (Walsh) (MacCollom *et al.*, 1994).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Criação artificial de *Anastrepha fraterculus*

Os experimentos foram conduzidos com indivíduos de *A. fraterculus*, provenientes da criação mantida no Laboratório de Biologia, Ecologia e Controle Biológico de Insetos (BIOECOLAB), do Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia da UFRGS, utilizando mamão var. papaia (*Carica papaya* L.) (Caricaceae) como substrato para oviposição e desenvolvimento larval. Os insetos eram criados em câmara climatizada, com temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.

A criação foi estabelecida a partir de larvas da mosca-das-frutas oriundas de frutos da goiabeira, pitangueira, araçazeiro e guabirobeira, coletados no campus da Faculdade de Agronomia da UFRGS e no Centro Agrícola Demonstrativo (CAD) da Secretaria Municipal da Produção, Indústria e Comércio (SMIC) de Porto Alegre, ambos localizados no município de Porto Alegre.

Os frutos infestados eram colocados sobre areia esterilizada, dentro de caixas plásticas (50 cm x 35 cm x 10 cm) cobertas com tecido voile, até que as larvas atingissem o estágio de pupa. A areia era periodicamente peneirada para remoção dos pupários, que eram colocados em placas de Petri (10 cm x 2 cm) sobre papel filtro umedecido com água destilada e mantidas dentro de gaiolas (15 cm x 15 cm x

15 cm) até a emergência. Os adultos eram transferidos em grupos de até 200 indivíduos para as gaiolas de criação (50 cm x 50 cm x 60 cm), recebendo como alimento dieta artificial, à base de açúcar mascavo, germe de trigo e proteína de soja (3:1:1, respectivamente) e água. A partir do vigésimo dia de vida, a cada 24 horas, em cada gaiola eram colocados mamões papaias verdes, que serviam como substrato para oviposição. Os mamões retirados eram individualizados em recipientes plásticos (30 cm x 30 cm x 20 cm) contendo areia e cobertos com tecido voile até obtenção dos pupários. Os adultos obtidos desta geração foram utilizados nos experimentos.

De cada lote de adultos provenientes do campo, eram amostrados 10 indivíduos para confirmação da espécie (*A. fraterculus*), com base na chave proposta por Zucchi (2000).

3.2 Descrição e morfometria de estruturas antenais de *Anastrepha fraterculus*

As antenas de machos e fêmeas de *A. fraterculus* com até um dia de idade, foram preparadas utilizando o protocolo de preparação de amostras biológicas para microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Azevedo *et al.*, 2008) no Centro de Microscopia Eletrônica da UFRGS. As cabeças das moscas foram removidas e transferidas para uma solução fixadora, composta de 1,2 mL de glutaraldeído a 25%, 5,0 mL tampão fosfato 0,2 M e 3,8 mL de água destilada onde permaneceram por um período de 15 dias. Ao final deste período, o material passou por três lavagens, uma a cada 30 min, com uma solução tampão fosfato 0,2 M e água destilada (1:1). Foi realizada a desidratação gradual em sete etapas, com acetona em diferentes

concentrações. Nas quatro primeiras, as concentrações foram de 30, 50, 70 e 90% e na sexta, 100%, com duração de 10 min cada. Na quinta e na sétima, a duração foi de 20 min e a concentração de 90 e 100%, respectivamente. A dessecação do material foi realizada em aparelho de ponto crítico (Balzers CPD030) e metalização com ouro (SPUTTER COATER – Balzers SCD050). As antenas assim preparadas foram visualizadas em MEV JEOL - JSM 6060 utilizando-se aceleração de voltagem de 10 kW. As estruturas foram identificadas e fotografadas em aumentos de 150x, 800x, 2700x e 9500x e mensuradas com o auxílio do software Image Tool 3.0.

Avaliaram-se o comprimento na região central do escapo, do pedicelo e do flagelo e a largura, no ponto de maior diâmetro de cada segmento. Na arista mediu-se apenas o comprimento. Utilizaram-se seis pares de antenas de diferentes indivíduos, de ambos os sexos.

O flagelo foi analisado em vista dorsal e ventral registrando-se a densidade das sensilas em três regiões pré-estabelecidas: proximal, mediana e distal cujas áreas médias tinham, respectivamente, 49, 49 e 35 μM^2 (Figura 3A). Para tanto, um par de antenas foi fixado em *stubs* totalizando seis repetições de cada superfície para cada sexo.

Foram registradas imagens de 1.657 μM^2 de seis pontos (Figura 3B), três na superfície dorsal e três na ventral de cada terço do flagelo, em ambos os sexos. A densidade média de cada tipo de sensila e microtríquia foi obtida pela contagem do número de estruturas presentes nas referidas áreas. O cálculo da densidade média foi obtido através da soma dos valores das seis áreas (9.942 μM^2), tendo em vista que não foram constatadas diferenças no número de estruturas entre as áreas e os

sexos. A estimativa do número total de sensilas e microtríquias foi obtida pela soma do número médio das mesmas presentes nas regiões proximal, mediana e distal das superfícies dorsal e ventral dos flagelos. Para obtenção desses valores utilizou-se a fórmula $NTSr \times Sr / SPA$, onde $NTSr$ é a média do número total de sensilas e microtríquias na região r considerada (proximal, mediana ou distal), Sr é a área da região r e SPA é a constante $9.942 \mu M^2$, que representa a soma de seis unidades de área amostral idênticas ($1.657 \mu M^2$). Os dados foram comparados por ANOVA e/ou Kruskal-Wallis, a 5% de significância, utilizando o software BioEstat v.5.0.

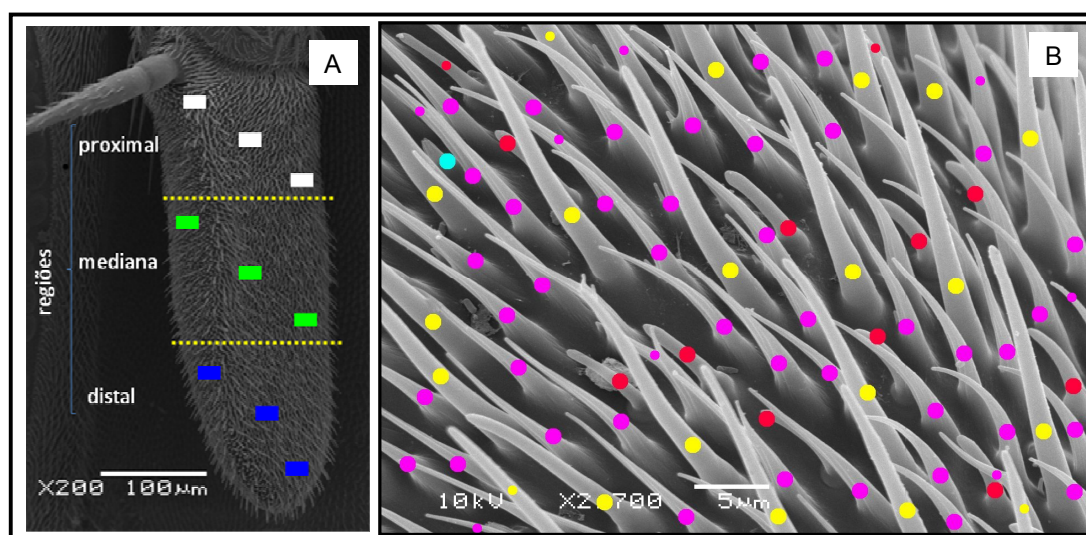


FIGURA 3. Estruturas antenais de *Anastrepha fraterculus* em vista dorsal do flagelo: (A) flagelo dividido em três regiões proximal, mediana e distal, os nove retângulos representam as áreas amostrais em cada região; (B) detalhe da área amostral onde os pontos de mesma cor representam um mesmo tipo de estrutura.

3. 3 Produtos e extratos utilizados nos bioensaios

3.3.1 Produtos fitossanitários

Os produtos fitossanitários utilizados nos bioensaios eletroantegráficos e comportamentais foram o nim (Organic Neem[®]), a rotenona (Rotenat[®]), a calda sulfocálcica e o extrato pirolenhoso (BioPirol 7M[®]), adquiridos, respectivamente, dos fabricantes, Dalquim, Natural Rural, Sul Fertilizantes e BioCarbo.

Os tratamentos consistiram de nim (0,5%), rotenona (0,6%), calda sulfocálcica (1%) e o extrato pirolenhoso (0,4%), todos diluídos em água destilada e preparados no mesmo dia da realização dos bioensaios nas concentrações recomendadas pelos fabricantes.

3.3.2 Extratos etanólicos dos frutos

Os frutos utilizados na preparação dos extratos foram goiaba (*Psidium guajava* L. var. Paluma), laranja (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck var. Céu), maçã (*Pyrus malus* L. var. Fuji), e pêssego (*Prunus persica* L. var. Chimarrita). Os frutos de cada uma das espécies foram coletados em dois estágios, verde e maduro, em pomares livres de aplicação de produtos fitossanitários. As goiabas e os pêssegos foram coletados em Porto Alegre, RS, em 14/1/08 e 19/3/08, e em 10/9/07 e 17/12/07, respectivamente. As laranjas-do-céu, em Ivoti, RS, em 29/3/07 e 15/5/07 e as maçãs, em Ipê, RS, em 14/2/08 e 24/4/08. Os frutos coletados foram acondicionados em recipiente térmico e transportados para o laboratório.

A extração dos voláteis foi realizada através da técnica de *headspace* dinâmico (Figura 4). Os frutos foram acondicionados em um recipiente de vidro de 500 mL, com duas aberturas superiores, sendo uma para entrada e outra para a

saída de ar. Na entrada de ar foi acoplado um cilindro de carvão ativado (filtração do ar) e na de saída, um cartucho contendo adsorvente orgânico (SPE-ed C8), o qual fez a adsorção dos voláteis. A circulação de ar no sistema era mantida por meio de uma bomba de vácuo com fluxo de 4 m/s, durante o período de 24 horas. Todo o sistema foi hermeticamente fechado com filme de PVC. Os voláteis foram desorvidos em 2 mL de etanol P.A. e foram armazenados a -5 °C, até o momento dos bioensaios. Após este procedimento, foram registradas as medidas de massa, altura e largura de todos os frutos utilizados na extração. Para padronização da superfície de liberação de voláteis foram calculadas as áreas superficiais dos frutos utilizando-se medidas de altura e largura.

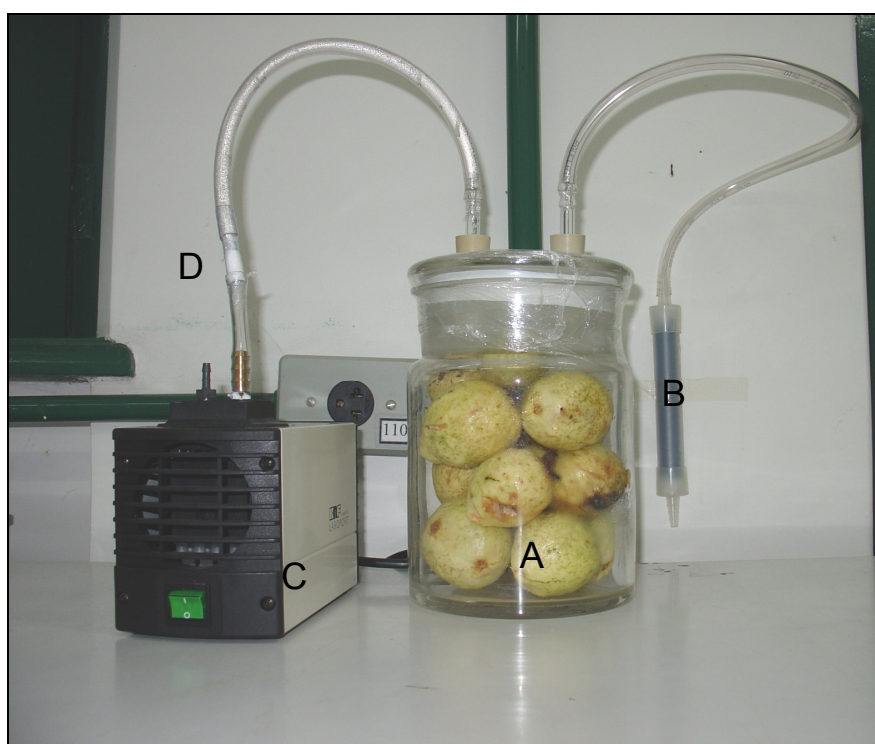


FIGURA 4. Sistema de *headspace* dinâmico: (A) recipiente contendo frutos de goiaba; (B) filtro de carvão ativado; (C) bomba de ar; (D) cartucho contendo adsorvente orgânico.

3.3.3 Avaliação do estágio de maturação dos frutos

A avaliação dos estágios de maturação dos frutos, verde e maduro, foi realizada no Laboratório de Fisiologia Pós-colheita (Departamento de Horticultura e Silvicultura) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, utilizando-se três parâmetros: sólidos solúveis totais (SST), acidez total titulável (ATT) com hidróxido de sódio e colorimetria da superfície da casca dos frutos.

Os sólidos solúveis totais (SST) foram determinados através da medição dos sólidos solúveis contidos no suco dos frutos, extraído manualmente ou com o auxílio de um microprocessador de frutas (Walitta[®]), homogeneizado, e, em seguida, depositando uma gota deste suco puro no refratômetro manual, expressando-se os resultados em ° Brix.

A acidez total titulável (ATT) foi determinada por titulometria, utilizando-se para o cálculo da acidez a fórmula: $\% A = V \times 0,1 N \times 0,064 \times 100 / G$, onde, A = acidez total em gramas (% de ácido cítrico); V = volume de NaOH utilizado; N = NaOH (0,1 N); 0,064 = fator para expressar a acidez em ácido cítrico, em meq; G = massa da amostra (6 g) ou volume da amostra. O pH inicial da amostra foi registrado com peagâmetro digital, antes do início do procedimento de titulometria.

A coloração da superfície da casca dos frutos foi medida com o auxílio do colorímetro, Minolta[®] CR-400 realizando-se quatro leituras, em lados opostos na região equatorial das frutas. Como escala de medida de cores utilizou-se o padrão C.I.E. $L^*a^*b^*$, onde a coordenada L^* expressa o grau de luminosidade da cor medida ($L^* = 100 =$ branco; $L^* = 0 =$ preto). A coordenada a^* expressa o grau de variação entre o vermelho e o verde ($-a^* =$ mais verde; $+a^* =$ mais vermelha) e a coordenada b^* expressa o grau de variação entre o azul e o amarelo ($-b^* =$ mais azul; $+b^* =$ mais

amarelo). Os valores a^* e b^* foram usados para calcular o ângulo Hue ou matiz ($^{\circ}h^* = \arctangente(b^*/a^*) \cdot 180/\pi$) que é uma medida padronizada de coloração.

Os valores de pH, ° Brix, ângulo Hue e acidez total titulável obtidos de frutos verdes / maduros foram, respectivamente, 4,55; 2,26; 121,03 e 0,42 / 4,14; 9,25; 80,68 e 0,79, para goiaba; 6,20; 10,15; 116,75 e 0,09 / 5,81; 13,76; 80,56 e 0,11, para laranja; 3,63; 11,26; 66,75 e 0,512 / 4,11; 15,50; 73,01 e 0,31, para maçã e 4,41; 8,5; 109,83 e 0,35 / 4,44; 12,10; 50,28 e 0,40, para pêssego.

3.4 Bioensaios

3.4.1 Seletividade das antenas de *Anastrepha fraterculus* a produtos fitossanitários e a voláteis de plantas

Foram avaliadas as respostas eletrofisiológicas de antenas de machos e fêmeas de *A. fraterculus* em diferentes idades e status de cópula aos produtos fitossanitários, nim, rotenona, calda sulfocálcica e extrato pirolenhoso, aos extratos etanólicos de frutos verdes e maduros de goiabeira, laranjeira, macieira e pessegueiro e às substâncias, (*E*)-3-hexen-1-ol (97%; Sigma-Aldrich), (*Z*)-3-hexen-1-ol (98%, SAFC; Supply Solutions), butirato de etila (99,7%; Fluka Analytical), acetato de hexila (99,7%; Sigma-Aldrich), hexanoato de etila (99 %; Sigma-Aldrich), (*Z*)-3-butirato de hexenila (98%; SAFC Supply Solutions) e octanoato de etila (98%; SAFC Supply Solutions).

Adultos de até 24 h de idade foram separados por sexo e/ou pareados, em gaiolas feitas de garrafa PET, de 1,5 L, contendo dieta artificial (descrita no item 3.1) e água. Previamente à realização dos testes, as moscas foram individualizadas em

gaiolas plásticas (500 mL) ficando em jejum por 24 h, recebendo apenas água destilada.

As respostas eletrofisiológicas foram avaliadas em função do sexo; idade fisiológica, sendo a pré-reprodutiva (PRE) com idade entre 5 a 10 dias e reprodutiva (REP) com idade entre 25 a 30 dias e status de cópula (virgens e acasaladas), admitindo-se que as moscas que foram pareadas com até 24 h de vida e que atingiram a idade reprodutiva nesta condição, tiveram a cópula consumada. Foram realizadas 15 repetições para cada tratamento, sexo, idade e status de cópula.

As moscas foram decapitadas e suas antenas removidas no momento do bioensaio. Padronizou-se utilizar somente as antenas do lado direito (vista superior). Cada antena foi acoplada a um eletrodo de prata de dois filamentos utilizando-se gel condutor (Spectra 360, Electrode Gel – Parker). O escapo foi fixado no filamento que registra os estímulos e o ápice do flagelo no filamento auxiliar. O eletrodo com a antena foi inserido no pré-amplificador de voltagem do eletroanténógrafo e os estímulos foram registrados com a sensibilidade de um milivolt (Figura 5). Aguardou-se a estabilização dos sinais por um período máximo de 5 min antes do estímulo. Nos casos onde não houve estabilização dentro deste período, a antena foi substituída por outra. Para cada antena testada foi realizada a aleatorização da ordem de oferecimento dos tratamentos, através de sorteio.

Aplicou-se, isoladamente, 5 μ L de cada tratamento sobre papel filtro sanfonado (3 cm x 1 cm) e, cada um destes, foi introduzido na extremidade de maior diâmetro de uma pipeta Pasteur, identificada com o nome de cada tratamento. Os papéis filtro contendo os diferentes estímulos foram renovados a cada hora para que a volatilização dos compostos não interferisse nas respostas eletroanténográficas.

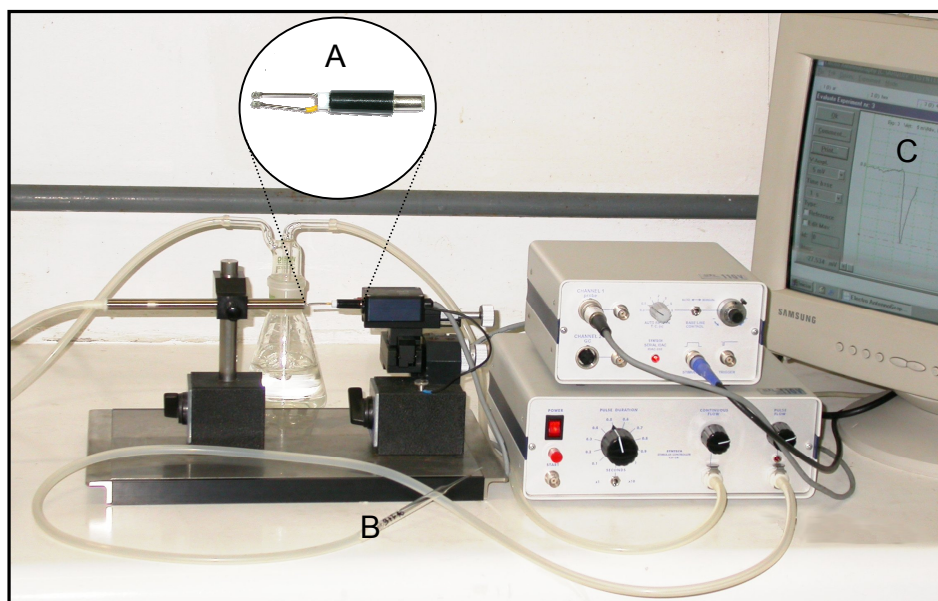


FIGURA 5. Eletroanténógrafo utilizado nos bioensaios com *Anastrepha fraterculus*: (A) eletrodo para acoplamento da antena; (B) pipeta contendo papel filtro com o estímulo e (C) registro da resposta eletroantegráfica da antena estimulada.

As antenas das moscas foram estimuladas através de um fluxo contínuo de ar umidificado, no qual, no momento do registro eletroantegráfico, com o auxílio da pipeta Pasteur, foi adicionado um pulso de ar de um segundo contendo cada um dos tratamentos, em intervalos de 1 min. Os sinais eletrofisiológicos foram amplificados (NL 1200; Syntech, Hilversum, The Netherlands) e observados através do programa “Syntech – EAG”. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de significância e de regressão (ETA-Squared - η^2) utilizando-se o software SPSS v.17.

3.4.2 Identificação das substâncias nos extratos dos frutos

Os extratos que desencadearam as maiores respostas eletroantegráficas (laranja verde, maçã madura e goiaba madura) foram enviados para o Laboratório

de Química Analítica Ambiental e Oleoquímica, do Instituto de Química, da UFRGS, onde foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). Foi injetado 1 μL de cada extrato em um cromatógrafo Shimadzu modelo CG14A acoplado a um detector EM QP5050A. Foi utilizada uma coluna capilar OV-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm), o gás de arraste foi o hélio com fluxo de 1 mL/min, split 1/10, m/z 40-350 amu, corte de solvente em 3 min, detector de voltagem 2 kV, velocidade de scan de 1000 amu/s. O tempo de duração da rampa de foi 23,33 min, iniciando a 50 $^{\circ}\text{C}$ aumentando 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 250 $^{\circ}\text{C}$, permanecendo nessa temperatura por 10 min. A identificação dos compostos foi realizada por comparação entre os tempos de retenção dos compostos obtidos com os tempos de retenção dos padrões presentes na biblioteca Wiley do cromatógrafo.

3.4.3 Seletividade e avaliação de dose-resposta a compostos sintéticos

As antenas de fêmeas de *A. fraterculus* foram estimuladas com as substâncias (*E*)-3-hexen-1-ol, (*Z*)-3-hexen-1-ol, butirato de etila, acetato de hexila, hexanoato de etila, (*Z*)-3-butilato de hexenila e octanoato de etila nas concentrações de 1, 5, 25, 125 e 625 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, diluídas em hexano, preparadas com no máximo 24 h de antecedência aos bioensaios eletroantenográficos. A avaliação do efeito dose-resposta consistiu em estimular as antenas com 5 μL de cada substância, nas diferentes concentrações, oferecidas separadamente, da menor para a maior dose. A metodologia de preparação das antenas e de oferecimento dos estímulos foi igual à utilizada no bioensaio descrito no item 3.4.1. As respostas eletroantenográficas foram normalizadas (%) considerando o tamanho das respostas ao solvente hexano. Os limiares de dose-resposta foram obtidos através da comparação do tamanho das

respostas eletroantegráficas para cada concentração. Considerou-se, desta forma, em ordem crescente, a primeira concentração que diferiu significativamente da dose mais baixa (1 µg/µL). Os dados foram analisados no software SPSS v.17 utilizando-se o modelo linear geral (GLM) de medidas repetidas, seguido da aplicação do método da menor diferença significativa (LSD; $\alpha = 0,05$).

3.4.4 Viabilidade de pupários de *Anastrepha fraterculus* em frutos tratados com os produtos fitossanitários

Neste experimento foram utilizadas gaiolas de plástico, retangulares, de 350 cm³, sendo que na parte interna, no fundo da gaiola, foram fixadas, com cola silicone, três placas de Petri (5 cm x 1,5 cm), que serviram de suporte para os frutos, e ao lado destas, três tubos de vidro (2 cm x 4 cm) com rolos de algodão odontológico na abertura, contendo água destilada e, três placas plásticas (2,5 cm x 0,6 cm), com a dieta artificial descrita no item 3.1.

Os frutos utilizados no experimento foram adquiridos no Supermercado Zaffari; mamão var. Papaia (Calyman) e goiaba var. Paluma (Agrícola Lago). Os frutos foram lavados com água destilada e secos a temperatura ambiente. Os tratamentos consistiram dos produtos fitossanitários, calda sulfocálcica (Sul Fertilizantes) (1%) e extrato pirolenhoso (Biopiról 7M[®]) (0,4%), selecionados com base nas maiores respostas eletroantegráficas observadas no experimento descrito no item 3.4.1, além de água destilada, como controle. Os frutos foram submergidos por 5s em cada um dos tratamentos e secaram sobre papel absorvente por até 2h. Os frutos, um de cada tratamento, foram colocados em gaiolas fechadas

com tecido voile (Figura 6), e em cada uma foram inseridas 15 fêmeas de *A. fraterculus*, acasaladas, com idades entre 20 e 25 dias.

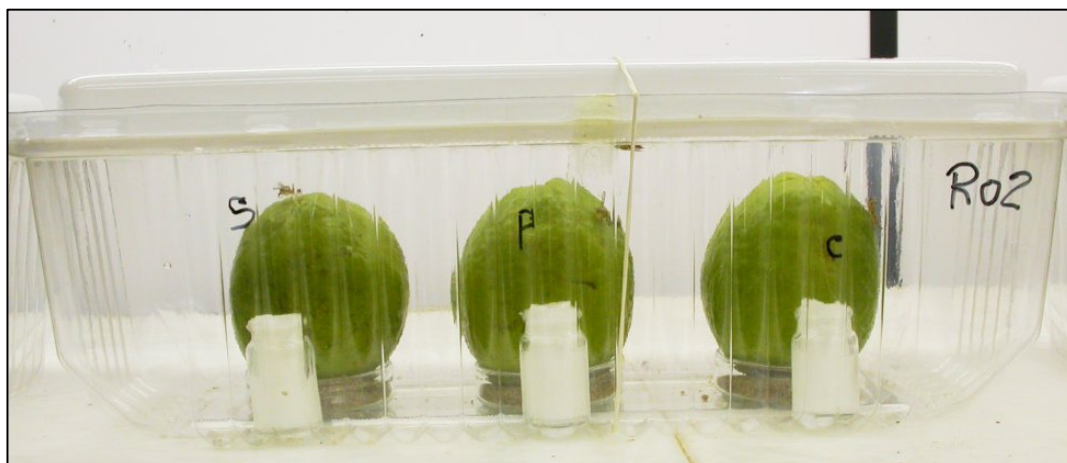


FIGURA 6. Goiabas tratadas com calda sulfocácica (S), extrato pirolenhoso (P) e água destilada (C) no interior de uma gaiola contendo 15 fêmeas de *Anastrepha fraterculus* acasaladas recebendo água e dieta artificial.

A posição dos frutos dentro das gaiolas foi aleatorizada. As moscas permaneceram com os frutos por 48 h, sendo a mortalidade dos adultos registrada nas 24 e 48 h. Ao final desse período os frutos foram removidos e acondicionados em recipientes (500 mL), sobre areia esterilizada (1/3 do volume do pote), fechados com tecido voile e mantidos em câmara climatizada por 20 dias. Após esse período, os frutos foram removidos, a areia peneirada e a quantidade de pupários registrada. Os pupários foram colocados em recipientes (500 mL), sob uma camada de areia esterilizada (2 cm), permanecendo fechados com tecido voile, por um período de até 30 dias, registrando-se o número de insetos emergidos e o sexo.

De cada lote de frutos adquiridos no comércio, foram separadas seis unidades, três servindo de controle negativo e três de controle positivo quanto à possível infestação ou não por alguma espécie de inseto. No controle negativo, os frutos foram acondicionados em recipientes com areia esterilizada, cobertos por tecido voile, por 30 dias, para verificação de uma possível infestação por larvas de moscas-das-frutas. No positivo, os frutos foram colocados dentro de uma gaiola matriz, com moscas acasaladas, e expostos à oviposição por 48h. Após esse período, os frutos foram individualizados e transferidos para recipientes (500 mL) com areia esterilizada e mantidos por 30 dias em câmara climatizada. Ao final desse período, a areia dos recipientes foi peneirada para a contabilização dos pupários.

Todos os procedimentos foram realizados tanto com frutos de mamão quanto de goiaba, com 18 repetições no delineamento inteiramente casualizado. O número de insetos emergidos de cada tratamento foi transformado pela equação $\sqrt{x} + 1$ e submetido à análise de variância (ANOVA) a 5% de significância no software BioEstat v.5.0.

3.4.5 Avaliação da atividade quimiotáxica de *Anastrepha fraterculus* a substâncias sintéticas

As respostas comportamentais de fêmeas de *A. fraterculus* foram avaliadas em gaiolas (30 cm x 30 cm x 30 cm) confeccionadas com placas de poliestireno cobertas com tela de náilon no topo e em duas laterais (Figura 7), contendo no interior um frasco de plástico (40 mL) com água destilada e tampada com chumaço de algodão (Figura 7A).

Inicialmente, quatro discos de papel filtro (3 cm de diâmetro), foram embebidos em água destilada e secos em temperatura ambiente. Sobre estes, isoladamente, foi pipetado 1 μ L das substâncias puras (Z)-3-hexen-1-ol, (E)-3-hexen-1-ol e (Z)-3-butirato de hexenila, sendo que um dos discos recebeu apenas água (controle). Cada disco de papel foi colocado na parte superior da gaiola, próximo aos vértices superiores, sobre um anel de plástico transparente (2,5 cm de diâmetro X 1 cm de altura) (Figura 7B), conforme metodologia proposta por Prokopy *et al.* (1998).



FIGURA 7. Gaiola de poliestireno com fêmeas de *Anastrepha fraterculus*: (A) frasco contendo água destilada; (B) disco de papel filtro.

Foram avaliados quatro lotes, cada um com 40 fêmeas acasaladas. Vinte e quatro horas antes da realização do bioensaio, as fêmeas foram colocadas no interior da gaiola recebendo apenas água destilada. Foram realizadas, com intervalos de 1h, quatro avaliações com cada lote, totalizando 16 repetições, ao longo de quatro dias. Cada bioensaio durou 5min, durante os quais foi registrado o número de moscas que ficaram, por pelo menos, 30s sob cada disco de papel filtro. Após este período, os discos eram retirados e recolocados, rotacionando-os no sentido horário, a cada hora, até que todos tivessem ocupado uma das quatro posições na gaiola. Os discos foram substituídos a cada lote de mosca testado. As substâncias utilizadas nesse bioensaios foram as mesmas relacionadas no item 3.4.1. Os dados foram submetidos à análise de variância (Kruskal-Wallis) a 5% de significância no software BioEstat v.5.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Descrição e morfometria de estruturas antenais de *Anastrepha fraterculus*

As antenas de *A. fraterculus* possuem três segmentos: escapo, pedicelo e flagelo (Figura 8A), semelhantes às de outras espécies de tefritídeos (Giannakakis & Fletcher, 1985; Dickens *et al.*, 1988; Hull & Cribb, 1997; Arzuffi *et al.*, 2008). Na região basal do terço proximal do flagelo encontra-se inserida a arista e, na superfície lateral deste, observa-se um poro sensorial, como registrado por Dickens *et al.*, (1988) para *A. ludens* (Loew), *C. capitata*, *D. cucurbitae* (Coquillett) e *D. dorsalis* (Hendel). O comprimento médio das antenas de fêmeas ($668,4 \pm 13,65 \mu\text{M}$) e de machos ($640,9 \pm 15,00 \mu\text{M}$) não diferiu. O mesmo foi constatado em relação ao comprimento e a largura do escapo, pedicelo, flagelo, assim como o tamanho da arista que foi semelhante entre os sexos (Tabela 1).

Nas antenas de *A. fraterculus* foi possível identificar sensilas do tipo tricóides, basicônicas, clavadas (I e II), estilocônica, caéticas e microtríquias (Figura 8 B-H), as quais não diferiram em tamanho entre os sexos (Tabela 2). As sensilas tricóides, basicônicas, clavadas tipo I e II e estilocônicas foram encontradas apenas no flagelo.

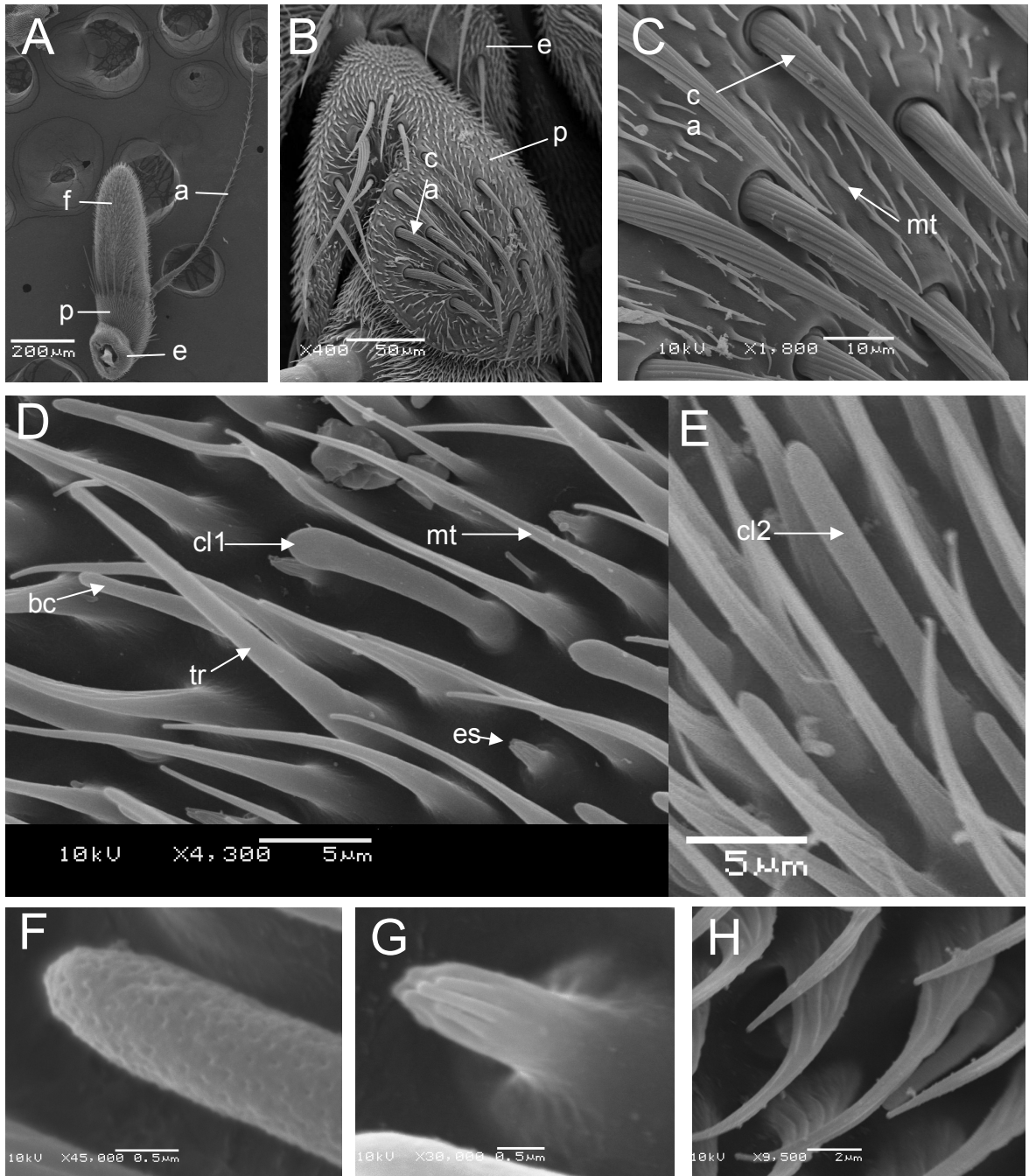


FIGURA 8. Estruturas das antenas de *Anastrepha fraterculus*. A - Vista geral da antena, arista (a); escapo (e); pedicelo (p) e flagelo (f). B - Vista geral do escapo (e) e pedicelo (p) com sensilas caéticas (ca). C - Sensila caética (ca) e microtríquias (mt). D-E - Sensilas nos flagelos: tricóides (tr); basiconicas (bc); estiloconicas (es); clavadas tipo I (cl1) e tipo II (cl2) e microtríquias (mt). F - Poros na superfície das sensilas basiconicas (bc). G - Sensila estiloconica (es) com processos digitiformes. H - Microtríquias (mt) com sulcos ao longo do comprimento.

TABELA 1. Média (\pm EP) do comprimento e da largura (μM), no ponto de maior diâmetro, dos segmentos antenais de fêmeas e de machos de *Anastrepha fraterculus* (n=15).

	Comprimento		Largura	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
Escapo	92,2 \pm 6,36*	95,7 \pm 3,55	162,2 \pm 6,83*	158,5 \pm 4,78
Pedicelo	140,2 \pm 6,52	135,9 \pm 6,04	192,4 \pm 8,44	184,5 \pm 4,56
Flagelo	436,0 \pm 3,78	409,3 \pm 7,37	188,9 \pm 6,83	190,8 \pm 3,88
Arista	1072,6 \pm 18,48	1079,0 \pm 29,33	-	-

* médias do comprimento e da largura não diferem significativamente entre os sexos ($P > 0,05$)

TABELA 2. Média (\pm EP) do comprimento, e da largura (μM) por região, das sensilas nos flagelos de fêmeas e machos de *Anastrepha fraterculus* (n=15).

Tipo de sensila	Comprimento		Região	Largura	
	♀	♂		♀	♂
Tricóide	21,9 \pm 0,67*	23,6 \pm 0,4*	Basal	1,9 \pm 0,04*	2,0 \pm 0,05*
			Apical	0,7 \pm 0,03*	0,7 \pm 0,01*
Basicônica	8,7 \pm 0,03	9,3 \pm 0,24	Basal	1,2 \pm 0,03	1,4 \pm 0,04
			Apical	0,8 \pm 0,03	0,9 \pm 0,03
Clavada tipo I	12,8 \pm 0,25	13,9 \pm 0,29	Basal	1,4 \pm 0,02	1,4 \pm 0,02
			Apical	1,8 \pm 0,04	1,6 \pm 0,03
Clavada tipo II	13,7 \pm 0,41	12,6 \pm 0,46	Basal	1,6 \pm 0,08	1,5 \pm 0,03
			Apical	1,4 \pm 0,06	1,2 \pm 0,07
Estilocônica	3,0 \pm 0,06	3,6 \pm 0,15	Basal	1,0 \pm 0,02	1,1 \pm 0,04
			Apical	0,7 \pm 0,02	0,6 \pm 0,02

*médias do comprimento e da largura nas linhas não diferem significativamente entre os sexos ($P > 0,05$)

As microtríquias foram constatadas nos três segmentos antenais e na arista, enquanto as caéticas, apenas no escapo e no pedicelo.

Giannakakis & Fletcher (1985) também registraram seis tipos de sensilas na antena de *D. tryoni*. Entretanto, os autores, diferentemente do presente estudo, referem dois tipos de sensilas tricóides (tipo I e II) e apenas um tipo de clavada. Dickens *et al.* (1988) utilizaram outros critérios para caracterizar as sensilas encontradas em *C. capitata*, *A. ludens*, *D. cucurbitae* e *D. dorsalis* e referiram quatro tipos: sensilas não porosas (NPS), sensilas porosas com sulcos (MPGS), sensilas multiporos de parede espessa e de parede fina (MPS).

No flagelo de *A. fraterculus*, as sensilas tricóides, basicônicas e estilocônicas distribuíram-se por toda sua superfície, já as clavadas não foram registradas na região distal (Tabela 3). Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre o número de sensilas e microtríquias nas faces dorsal e ventral do flagelo e, entre os sexos ($P > 0,05$), no entanto, variou entre as regiões, distal, mediana e proximal. Foi estimado o número total médio de 803,33 sensilas tricóides, 815,03 basicônicas, 72,83 clavadas I, 55,11 clavadas II, 304,27 estilocônicas e 4916 microtríquias nos flagelos de *A. fraterculus*.

Levinson *et al.* (1987) e Arzuffi *et al.* (2008) encontraram quatro tipos de sensilas nos flagelos de *C. capitata* e *T. curvicauda*, respectivamente, classificadas como tricóides, basicônicas, clavadas e estilocônicas. Em *B. tryoni*, Hull & Cribb (1997) reconheceram os seguintes tipos: microtríquias não inervadas, sensilas multiporo de parede dupla (Mp-dw), sensilas multiporo de parede simples (Mp-sw) e sensilas não porosas com soquete inflexível (Np-is). De acordo com os autores, as

sensilas Mp-sw podem ser divididas em dois tipos, com base na espessura da parede.

TABELA 3. Número médio (\pm EP) das sensilas e microtríquias antenais, nas regiões distal, mediana e proximal numa área de $9.942 \mu\text{M}^2$ em flagelos de *Anastrepha fraterculus* (n=12).

Tipo de Sensilas/ microtríquea	Região		
	Distal	Mediana	Proximal
Tricóide	97,9 \pm 3,61 a*	69,9 \pm 3,20 b	22,8 \pm 2,46 c
Basicônica	48,7 \pm 1,97 b	56,4 \pm 1,99 b	73,8 \pm 2,85 a
Clavada tipo I	0,0 \pm 0,00 c	3,5 \pm 0,74 b	11,3 \pm 1,31 a
Clavada tipo II	0,0 \pm 0,00 b	2,2 \pm 0,86 b	9,0 \pm 1,78 a
Estilocônica	18,5 \pm 1,67 b	27,4 \pm 1,77 a	20,9 \pm 1,85 b
Microtríquia	332,6 \pm 8,37 b	367,1 \pm 9,74 ab	390,5 \pm 12,54 a

*médias seguidas de mesma letra nas linhas não diferem significativamente ($P > 0,05$)

O escapo e o pedicelo são recobertos por microtríquias, no entanto nesses dois segmentos, também podem ser observadas sensilas caéticas, principalmente na superfície distal e dorsal deste, próximo à região de articulação com o flagelo. Não se verificou diferença significativa entre o número dessas estruturas presentes no escapo e pedicelo de fêmeas e machos de *A. fraterculus* (Kruskal-Wallis; $P > 0,05$; n=20).

As sensilas tricóides, no flagelo de *A. fraterculus*, são as mais longas (Tabela 2), assemelhando-se com as tricóides (Giannakakis & Fletcher, 1985; Levinson *et al.*, 1987 e Arzuffi *et al.*, 2008) e às MP-sw (Hull & Cribb, 1997) e MPS de parede grossa (Dickens *et al.*, 1988), registradas em outras espécies de tefritídeos. De

acordo com Dickens *et al.* (1988), este tipo de sensila possui a superfície da região distal recoberta com poros com aproximadamente 186-240 Å de diâmetro.

O número médio de sensilas tricóides foi superior na região distal e significativamente diferente ($F = 147,66$; $gl = 2$; $P < 0,0001$) entre as três regiões dos flagelos de *A. fraterculus* (Tabela 3). Levinson *et al.* (1987) também registraram na região distal do flagelo de *C. capitata*, um número maior de sensilas tricóides. Dickens *et al.* (1988) observaram o mesmo para *A. ludens*, *C. capitata*, *D. cucurbitae* e *D. dorsalis*. Por outro lado, Giannakakis & Fletcher (1985) encontraram este tipo de sensila uniformemente distribuído por todo o flagelo de *D. tryoni*.

As sensilas tricóides, em *C. capitata*, apresentam poros cuticulares na região distal, indicando a função quimiorreceptora dessas estruturas (Levinson *et al.*, 1987). Dickens *et al.* (1988) verificaram que nessa mesma espécie, este tipo de sensila é responsável pela percepção do atraente trimedlure. De acordo com Levinson *et al.* (1990), em fêmeas de *C. capitata* as sensilas tricóides respondem ao feromônio sexual do macho coespecífico. Embora no presente trabalho não tenha sido possível observar os poros cuticulares na superfície desse tipo de sensilas, admite-se que, devido a semelhança morfológica com as estruturas referidas por outros autores, eles possam estar presentes.

As sensilas basicônicas apresentam uma curvatura que inicia próximo à base e inúmeros poros espalhados pela superfície (Figura 8F). Correspondem às sensilas denominadas, respectivamente, por tricóide tipo 2 e Mp-sw de parede fina subtipo 1, por Giannakakis & Fletcher (1985) e Hull & Cribb (1997). Dickens *et al.* (1988) às referenciaram como sensilas multiporos de parede fina (MPS), com 0,1 µM de espessura e, Arzuffi *et al.* (2008) como basicônicas de aparência digitiforme.

As sensilas basicônicas, embora encontradas por todo o flagelo de *A. fraterculus*, são significativamente ($F = 31,13$; $gl = 2$; $P < 0,0001$) mais numerosas na região proximal (Tabela 3), corroborando os resultados de Dickens *et al.* (1988) para outros tefritídeos. A função dessas sensilas está relacionada à percepção química (Dickens *et al.*, 1988; Hull & Cribb, 1997).

As sensilas clavadas tipo I e II de *A. fraterculus*, são semelhantes entre si no tamanho (Tabela 2) e na forma (Figura 8D e E). A distinção entre ambas foi baseada nas diferenças dos diâmetros entre o ápice, sendo este maior nas sensilas do tipo I ($H = 35,13$; $gl = 2$; $P < 0,0001$). Giannakakis & Fletcher (1985) registraram essas sensilas, principalmente na região proximal do flagelo em *D. tryoni* e verificaram que as mesmas podem ter variação no comprimento e na largura do ápice, de forma que as mais longas teriam o diâmetro distal maior do que as mais curtas.

A região proximal do flagelo, em *A. fraterculus*, apresentou um número significativamente maior ($H = 27,97$ e $H = 23,13$; $gl = 2$; $P < 0,0001$) dos dois tipos de sensilas, clavadas I e II, em relação à região mediana, o que também foi constatado na estimativa do número total. As mesmas não ocorreram na região distal (Tabela 3). As sensilas clavadas do tipo I e II registradas no presente estudo, correspondem àquelas encontradas por Giannakakis & Fletcher (1985) e por Arzuffi *et al.* (2008) e, às Mp-sw de parede fina sub-tipo 3 referidas por Hull & Cribb (1997). Em *T. curvicauda*, Arzuffi *et al.* (2008) também constataram sensilas clavadas na região proximal do flagelo, próximo ao pedicelo. Segundo Dickens *et al.* (1988) e Hull & Cribb (1997), em moscas-das-frutas estes tipos de sensilas são referidas como quimiorreceptoras.

As sensilas estilocônicas estão presentes em toda superfície do flagelo. No entanto, seu número foi significativamente maior ($F = 6,83$; $gl = 2$; $P = 0,0036$) na região mediana (Tabela 3). Estas sensilas são facilmente caracterizadas pela presença de processos digitiformes acima do terço proximal (Figura 8G). Correspondem às sensilas multiporos de parede dupla Mp-dw (Hull & Cribb, 1997), multiporosas com sulcos – MPGS (Dickens *et al.*, 1988) e estilocônicas (Giannakakis & Fletcher, 1985; Levinson *et al.*, 1987 e Arzuffi *et al.*; 2008) registradas em outras espécies de Tephritidae. As sensilas estilocônicas, segundo Hull & Cribb (1997), em *B. tryoni*, podem responder a odores e a mudanças de temperatura.

As sensilas caéticas foram observadas em *A. fraterculus* principalmente, nas margens da região distal do escapo e do pedicelo, estando ausentes no flagelo, apresentando comprimento de $113,1 \pm 7,96 \mu\text{M}$. A base dessa sensila está inserida em um soquete e, ao longo de seu comprimento existem sulcos que se estendem da base ao ápice. As sensilas não porosas NPS (Dickens *et al.*, 1988), as caéticas (Giannakakis & Fletcher, 1985; Hull & Cribb, 1997) e as tricóides sem poros (Arzuffi *et al.* 2008) são semelhantes às encontradas neste trabalho. Segundo Dickens *et al.* (1988), esse tipo de sensila tem função mecanorreceptora.

Microtríquias foram as estruturas mais abundantes, distribuindo-se no escapo, pedicelo, flagelo e arista, representando aproximadamente 70% do número total das sensilas observadas no flagelo de *A. fraterculus*. Na região proximal do flagelo a densidade dessas estruturas foi significativamente maior ($F = 7,90$; $gl = 2$; $P = 0,0019$) do que na região distal (Tabela 3). Apresentaram comprimento médio de $17,3 \pm 0,43 \mu\text{M}$ e sulcos que se estendem da base até o ápice. Correspondem às microtríquias referidas por Levinson *et al.* (1987), Dickens *et al.* (1988), Hull & Cribb

(1997), Miranda (2000) e Arzuffi *et al.* (2008). Giannakakis & Fletcher (1985), referiram as mesmas estruturas como microtríquias não inervadas.

4.2 Seletividade das antenas de *Anastrepha fraterculus* a produtos fitossanitários

Os resultados obtidos através do coeficiente ETA-Squared (η^2) indicam que os fatores produtos fitossanitários, status de cópula e idade explicam, respectivamente, 17,0, 10,0 e 9,5% da variância das respostas eletroantenográficas de *A. fraterculus* (Tabela 4). Os demais fatores e as interações tiveram menor influência nas variações observadas.

TABELA 4. Percentagem da variância das respostas eletroantenográficas de *Anastrepha fraterculus* em função do coeficiente ETA-Squared (η^2), para os tratamentos e suas interações e grau de significância (P).

Tratamentos	% da variância explicada	P
Produtos fitossanitários (PF)	17,0	< 0,001
Status	10,0	< 0,001
Idade	9,5	< 0,001
Idade x Status	4,5	< 0,001
PF x Sexo	4,0	< 0,001
PF x Status	3,0	0,001

As respostas eletroantenográficas de adultos de *A. fraterculus*, independentemente da idade, sexo e status de cópula, foram significativamente mais altas ($H = 77,183$; $gl = 4$; $P < 0,0001$) aos estímulos com a calda sulfocálcica e o extrato pirolenhoso do que com a rotenona e o nim (Figura 9). Verificou-se que os machos exibiram respostas significativamente maiores do que as respostas das

fêmeas apenas para o tratamento com o nim ($H = 97,130$; $gl = 9$; $P = 0,023$), confirmando o baixo poder explicativo (4%) da associação entre os entre esses dois fatores.

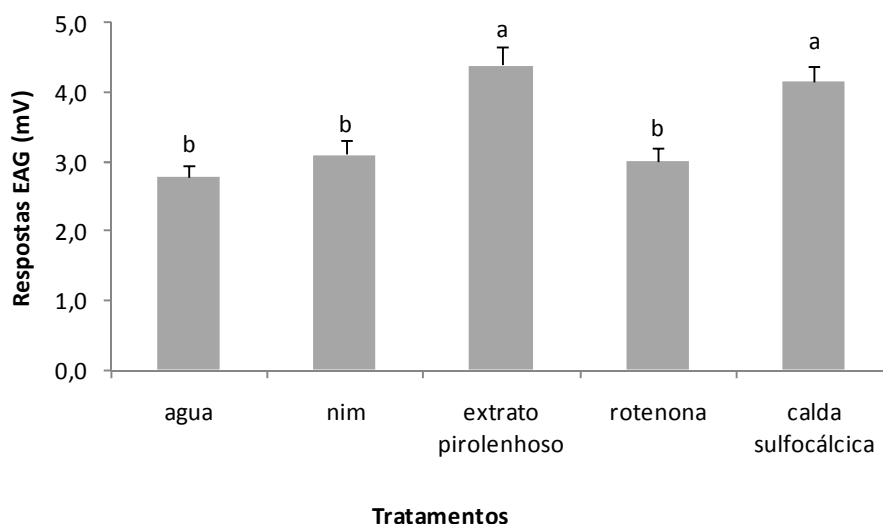


FIGURA 9. Médias das respostas eletrofisiológicas de *Anastrepha fraterculus* aos tratamentos, água, nim (Organic neem[®]) 0,5%, extrato pirolenhoso (Biopiról 7M[®]) 0,4%, rotenona (Rotenat CE[®]) 0,6% e calda sulfocálcica (Sul Fertilizantes) 1%. Barras com letras distintas entre os tratamentos diferem significativamente Kruskal-Wallis ($P < 0,05$) ($n = 120$).

Com o fator produtos fitossanitários, isoladamente, pode-se explicar 17% das variações nas respostas eletroantegráficas de *A. fraterculus*.

A calda sulfocálcica é um fertilizante foliar e fungicida, empiricamente utilizada como repelente de algumas espécies de insetos, inexistindo trabalhos científicos que avaliaram sua ação eletroantegráfica. Segundo Abbot (1945), em condições de campo, o efeito tóxico da calda aos insetos e ácaros é devido à liberação de gás sulfídrico (H_2S) e enxofre coloidal, quando aplicada sobre as plantas.

Segundo Matsumoto (2008), entre os metabolitos secundários de plantas das famílias Brassicaceae, Alliaceae e Asteraceae, por exemplo, alguns tipos de compostos orgânicos derivados do enxofre são de importância considerável, como o glucosinolato, os ácidos aminados derivados da cisteína e seus respectivos produtos de decomposição. Segundo os autores, estes compostos podem influenciar a diversidade dos organismos associados com as plantas que os possuem. De acordo com Kylin *et al.* (1994 apud Burow & Wittstock, 2008), a presença de enxofre elementar na cutícula cerosa de gimnospermas e angiospermas pode estar relacionada a defesa desses grupos de plantas. Ao contrário do que referiu Matsumoto (2008), que alguns compostos sulfurosos volatilizados pela cebola, *Allium cepa* L. (Liliaceae), possuem atratividade para insetos especialistas como *Delia antiqua* (Meigen) (Diptera, Anthomyiidae). Gouinguéné *et al.* (2005) verificaram, em bioensaios eletroantenográficos, com a mesma espécie de díptero, que as fêmeas exibiram grandes respostas ao dissulfeto de dipropila (Pr_2S_2), confirmando a importância desse composto sulfuroso no comportamento de oviposição dessa espécie.

Desta forma, sugere-se que as respostas exibidas por *A. fraterculus*, aos estímulos com a calda sulfocálcica, possam estar relacionadas com presença de receptores antenais com sensibilidade ao enxofre e/ou a compostos sulfurosos.

Outro produto utilizado no controle de insetos-praga em sistemas orgânicos de produção é o extrato pirolenhoso. Segundo Saigusa (2002), a eficiência inseticida deste produto, depende da concentração, da matéria-prima e do método utilizado para sua obtenção.

O extrato pirolenhoso utilizado no presente estudo é derivado da condensação da fumaça proveniente da queima do eucalipto. É constituído por água (92,5%), ácidos acético (3,75%), fórmico (1,35%), e propiônico (0,30%), fenóis (0,08%), cresóis (0,20%), guaiacol (0,13%), siringol (0,15%), cicloteno (0,05%) e maltol (0,01%) (Biocarbo, 2010).

As maiores respostas eletroantenográficas de *A. fraterculus* ao tratamento contendo Biopirol podem ser explicadas pela presença do ácido acético em sua composição. Este composto é um conhecido atraente para diversas espécies de moscas-das-frutas, sendo freqüentemente utilizado como atrativo em sistemas de monitoramento, podendo também ser resultante da fermentação acética dos diferentes sucos utilizados nas armadilhas McPhail, desta forma tendo bioatividade nas antenas das moscas.

Quando foi considerado o fator status de cópula, verificou-se que moscas acasaladas exibiram respostas significativamente maiores do que as virgens ($Z = 6,454$; $gl = 2$; $P < 0,0001$). Segundo Robacker & Garcia (1990), a fisiologia das moscas pode ser alterada a partir da cópula, modificando a percepção olfativa nas antenas, fazendo com que certos odores se tornem mais, ou menos, perceptíveis do que outros como aqueles envolvidos na sinalização de atratividade ou de repelência.

Com relação à idade, moscas em idade pré-reprodutiva exibiram respostas maiores do que aquelas em idade reprodutiva ($Z = 6,282$; $gl = 2$; $P < 0,0001$). Verificou-se através do coeficiente ETA, 4,5% e 3% da variância nas respostas eletroantenográficas de *A. fraterculus* pode ser explicada, respectivamente, pela associação entre os fatores idade e status de cópula, e status de cópula e produto fitossanitário (Tabela 4). Moscas virgens pré-reprodutivas exibiram respostas

maiores do que as virgens reprodutivas apenas ao extrato pirolenhoso ($H = 45,167$; $gl = 9$; $P = 0,025$). No entanto, moscas pré-reprodutivas apresentaram respostas significativamente maiores do que as acasaladas em idade reprodutiva, a cada um dos tratamentos ($H = 104,76$; $gl = 9$; $P < 0,0001$) (Figura 10).

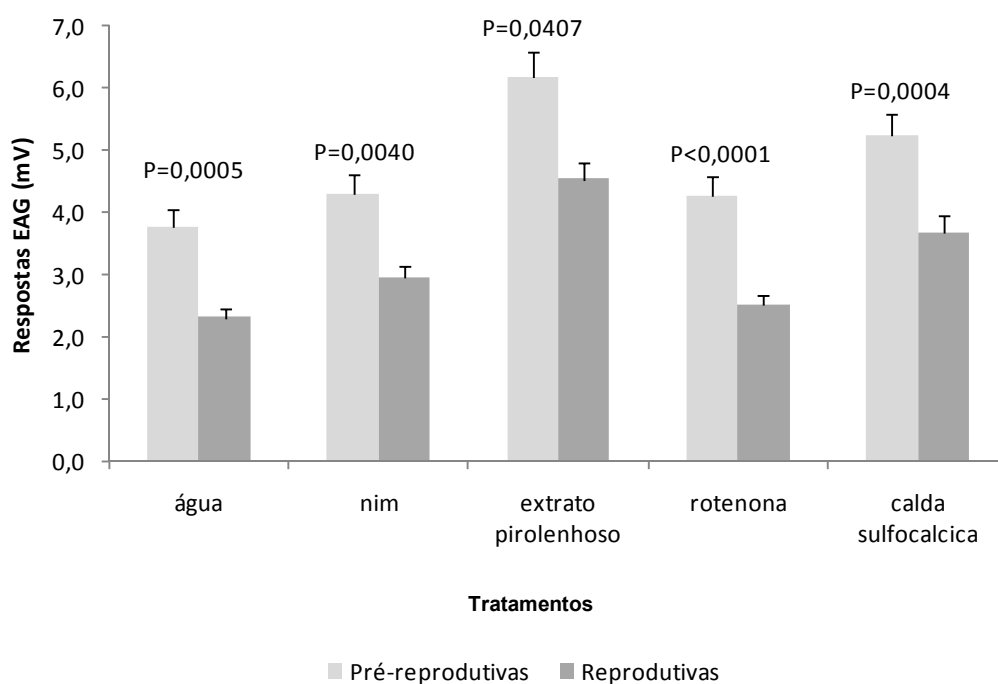


FIGURA 10. Respostas eletrofisiológicas de *Anastrepha fraterculus* pré-reprodutivas e reprodutivas acasaladas aos tratamentos, água, nim (Organic neem[®]) 0,5%, extrato pirolenhoso (Biopirrol 7M[®]) 0,4%, rotenona (Rotenat CE[®]) 0,6% e calda sulfocálcica (Sul Fertilizantes) 1%. Valores de probabilidade (P) estão expressos acima das barras. Kruskal-Wallis ($P < 0,05$) ($n = 30$).

Independente de outros fatores, as maiores repostas eletroantegráficas de *A. fraterculus* foram obtidas mediante o estímulo com o extrato pirolenhoso e com a calda sulfocálcica.

4.3 Viabilidade de pupários de *Anastrepha fraterculus* em frutos tratados com produtos fitossanitários

Nos lotes dos frutos utilizados como controle negativo, de ambas espécies, não se observou a presença de pupários. Naqueles que constituíram o controle positivo, registrou-se o desenvolvimento de *A. fraterculus*.

O número de pupários oriundos de goiabas tratadas com água destilada (controle), calda sulfocálcica e extrato pirolenhoso, não diferiu entre os tratamentos ($H = 3,311$; $gl = 2$; $P = 0,191$), sendo o mesmo observado em mamões ($H = 2,345$; $gl = 2$; $P = 0,309$). Da mesma forma, não foi constatada diferença significativa entre o número de indivíduos emergidos, nos diferentes tratamentos, tanto entre os que se desenvolveram nas goiabas ($H = 0,890$; $gl = 2$; $P = 0,640$) quanto nos mamões ($H = 1,959$; $gl = 2$; $P = 0,375$). A viabilidade média dos pupários foi de 99, 70 e 71% para goiabas, e de 84, 85 e 90% para os mamões, tratados com água destilada, extrato pirolenhoso e calda sulfocálcica, respectivamente.

Silva *et al.* (2007) constataram uma redução nos danos de moscas-das-frutas de 47 % em tangoreiro 'Murcott' e de 58% em laranjeira 'Céu', ambos tratados com calda sulfocálcica. Resultado semelhante foi observado por Afonso *et al.* (2007), os quais registraram uma redução de 79,1% de infestação da cochonilha-parda, *Parthenolecanium persicae* (Fabricius) (Hemiptera, Coccidae), em videiras tratadas com calda sulfocálcica (0,5%). Bellon *et al.* (2009), verificaram efeito deterrente da calda sulfocálcica (28,9%) na oviposição do percevejo *Vatiga manihotae* (Drake) (Hemiptera: Tingidae) em folhas de *Manihot esculenta* Crantz, em condições de laboratório

De acordo com Alves *et al.* (2006), o extrato pirolenhoso não apresenta ação repelente sobre o ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes,) (Acari, Tenuipalpidae), sendo que o efeito acaricida somente foi registrado nas concentrações 1:19, 1:38, 1:75 e 1:150 (extrato pirolenhoso:água). Morandi Filho *et al.* (2006), avaliaram o efeito do extrato pirolenhoso (Biopiról 7M[®]) sobre adultos de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera; Trichogrammatidae), em condições de laboratório, e verificaram que o produto não afetou a sobrevivência dessa espécie.

O presente estudo evidenciou que a calda sulfocálcica (1%) e o extrato pirolenhoso (0,4%) não apresentaram efeito deterrente, assim como não interferiram no desenvolvimento de imaturos de *A. fraterculus* em frutos de goiaba e mamão. Este resultado corrobora os encontrados por Efrom (2009), o qual também verificou a ineficiência do efeito de deterrência de oviposição de *A. fraterculus* em frutos artificiais confeccionados com agar, tratados com ambos os produtos.

Apesar das fêmeas de *A. fraterculus* terem respondido seletivamente ao extrato pirolenhoso e a calda sulfocálcica nos bioensaios eletroantegráficos, os resultados obtidos nos comportamentais demonstraram que as fêmeas não distinguiram entre os dois tratamentos e o controle ao realizarem a oviposição nos frutos.

4.4 Seletividade das antenas de *Anastrepha fraterculus* a extratos de frutos

Os resultados obtidos através do coeficiente ETA-Squared (η^2) indicam que o extrato de fruto explica aproximadamente 42% da variância das respostas eletroantegráficas de *A. fraterculus* (Tabela 5). Os demais fatores e as interações tiveram pouca influência nas variações observadas.

TABELA 5. Percentagem da variância das respostas eletroantenográficas de *Anastrepha fraterculus* em função do coeficiente ETA-Squared (η^2), para os tratamentos e suas interações e grau de significância (P).

Tratamentos	% da variância explicada	P
Extrato	42	< 0,001
Idade	1,7	< 0,001
Sexo	1,5	< 0,001
Extrato x Idade	1,5	0,045
Extrato x Sexo	2,7	< 0,001
Idade x Sexo	3,5	< 0,001
Extrato x Idade x Sexo	2,7	< 0,001

As respostas eletroantenográficas de adultos de *A. fraterculus* foram significativamente mais altas ($H = 390$; $gl = 8$; $P < 0,0001$) aos extratos de maçã madura, laranja verde e madura (Figura 11). Levando-se em consideração os estádios de maturação, os extratos de maçã e pêssigo maduro provocaram respostas significativamente maiores do que os respectivos extratos de frutos verdes, sugerindo que os odores característicos dos maduros podem ser importantes na localização do hospedeiro.

Segundo Macku & Jannings (1987), a composição e a concentração dos voláteis mudam durante a maturação dos frutos, com diferentes tipos de voláteis prevalecendo ao longo deste período. De acordo com os autores, frutos verdes são caracterizados pela grande quantidade dos chamados *green leaf volatiles* (GLV's), que são tipicamente álcoois e aldeídos de cadeias curtas. Em bananas, o conteúdo dos GLV's diminui com a maturação e aumenta a quantidade de acetatos e outros

ésteres. Após esse estágio, inicia o processo de decomposição por microorganismos, aumentando o conteúdo de ésteres e de cetonas.

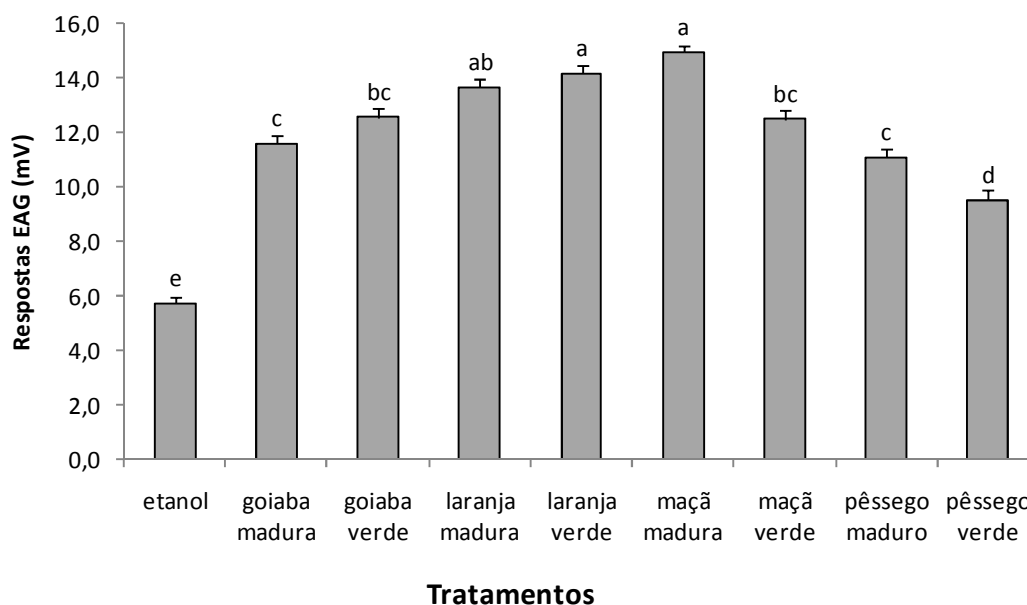


FIGURA 11. Respostas eletroantenográficas de *Anastrepha fraterculus* aos extratos de frutos verdes e maduros. Barras seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal Wallis ($P < 0,0001$) ($n = 120$).

Ésteres provenientes de maçã madura foram registrados como compostos chave para atração de *R. pomonella* (Fein *et al.*, 1982; Reissig *et al.*, 1982). Outros ésteres e monoterpenos oxigenados (linalol e óxido de linalol) também foram registrados por produzirem grandes respostas eletroantenográficas em *B. dorsalis* e atuar em sinergia com outros voláteis de frutos na atração de outras espécies de tefritídeos (Jang & Light, 1991).

Espécies polípagas, segundo Diaz-Fleischer *et al.* (2003), podem responder a uma maior variedade de compostos do que as monófagas ou oligófagas. Esta afirmação corrobora os resultados de eletroantenografia obtidos neste estudo com *A.*

fraterculus e os relatados por Light *et al.* (1988), os quais observaram que *C. capitata*, espécie também polífaga, responde a uma ampla gama de voláteis de plantas pertencentes a diversas funções químicas, como, alcoóis, aldeídos, ésteres alifáticos e lactonas. O mesmo foi constatado por Siderhust & Jang (2006), através de bioensaios eletroantegráficos, os quais comprovaram a seletividade das antenas de *B. dorsalis* a 22 compostos identificados a partir de frutos de *Terminalia catappa* L. (Combretaceae).

Por outro lado, Zhang *et al.* (1999) verificaram que *R. pomonella*, espécie oligófaga, é mais seletiva e responde apenas a grupo limitado de voláteis oriundos, principalmente de maçãs.

Os resultados encontrados neste estudo comprovaram que *A. fraterculus* responde a estímulos de diferentes hospedeiros, os quais estariam sinalizando sítios de alimentação, reprodução e oviposição. Este fato, em parte, pode explicar a presença dessa espécie tanto em frutíferas exóticas (*P. malus*, *P. persica* e *C. sinensis*) e nativas (*P. guajava*).

Verificou-se que 1,5% da variância nas respostas eletroantegráficas pode ser explicada pelo fator sexo (Tabela 5). Comparando os resultados eletrofisiológicos entre os sexos, a todos os extratos, verificou-se que na média nas fêmeas de *A. fraterculus* estes foram significativamente mais altos, independentemente da idade e do status de cópula ($Z = 4,39$; $gl = 1$; $P < 0,001$). Os extratos de maçã madura, assim como laranja madura e verde desencadearam, nas fêmeas, as maiores respostas, no entanto não diferiram entre si ($H = 201,20$; $gl = 8$; $P < 0,0001$) (Figura 12A). Nos machos as maiores respostas foram evidenciadas aos extratos de maçã madura e laranja verde ($H = 199,51$; $gl = 8$; $P = 0,0001$) (Figura 12B). A utilização

dos sinais químicos emitidos pelos voláteis dos frutos pode ser interpretada de maneira diferente por machos e fêmeas de moscas-das-frutas.

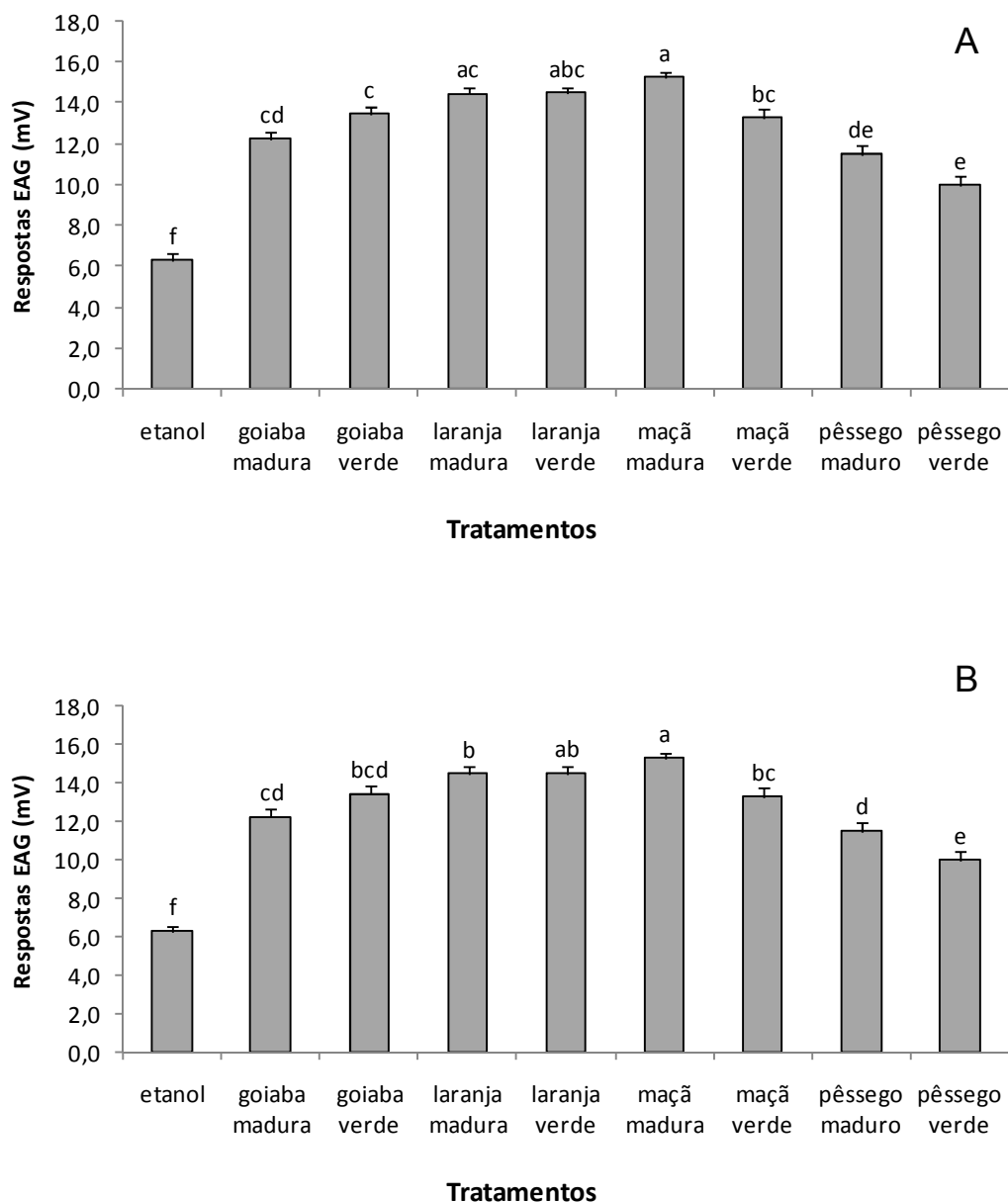


FIGURA 12. Respostas eletrantenográficas de (A) fêmeas e de (B) machos de *A. fraterculus* a extratos de frutos. Barras seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal Wallis ($P < 0,0001$) ($n = 60$).

Cruz-Lopez *et al.* (2006), em experimentos realizados em túnel-de-vento, observaram que, tanto machos quanto fêmeas de *A. obliqua* foram atraídos e se alimentaram em frutos de cajazeiro, *Spondias mombin* (L.) (Anacardiaceae) e que as fêmeas também ovipositaram nos frutos.

Fêmeas de *D. dorsalis* exibiram maiores respostas eletroantenográficas do que os machos para os compostos (*E*)-2 e (*E*)-3-buten-1-ol (Light & Jang, 1987). Os autores sugerem que percepção olfativa nesta espécie possa representar a sinalização de recursos como alimento, sítios de acasalamento e oviposição.

Levinson *et al.* (1990) em bioensaios eletrofisiológicos e em túnel-de-vento, verificaram que fêmeas de *C. capitata* exibiram maiores respostas e foram mais atraídas, para os tratamentos que continham óleos essenciais de laranja, bergamota, limão e damasco, do que os machos.

Em relação ao status de cópula, não houve diferença significativa no tamanho das respostas de *A. fraterculus*, virgens e acasaladas, aos extratos de frutos ($Z = 1,12$; $gl = 1$; $P = 0,13$). Entretanto, outros autores, como Jang *et al.* (1997), verificaram em túnel-de-vento e olfatômetro, que fêmeas virgens de *B. dorsalis* responderam significativamente menos às substâncias presentes no extrato de *Polyscias guilfoylei* (Bull) (Araliaceae) do que as acasaladas, o mesmo foi observado em machos quando expostos ao atrativo alimentar Nulure.

Por outro lado, machos e fêmeas acasalados de *A. ludens*, em bioensaios utilizando gaiolas com possibilidade de múltipla escolha, foram mais atraídos por frutos verdes de manga e laranja, do que os virgens (Garcia-Ramírez *et al.*, 2004).

Em *A. fraterculus*, independentemente do sexo, indivíduos em idade pré-reprodutiva exibiram respostas maiores do que aqueles em idade reprodutiva ($Z =$

4,67; $P < 0,0001$). As moscas pré-reprodutivas exibiram respostas mais altas para os extratos de maçã madura, laranja madura e laranja verde ($H = 175,77$; $gl = 8$; $P < 0,0001$), sendo estas estatisticamente iguais. Nas reprodutivas as maiores respostas foram aos extratos de maçã madura e laranja verde ($H = 225,98$; $gl = 8$; $P < 0,0001$).

Segundo Kendra *et al.* (2005a), fêmeas de *A. suspensa*, em bioensaios eletroantagráficos, apresentaram maior sensibilidade à amônia, quando estavam sexualmente imaturas e, ao dióxido de carbono, quando maduras. Por outro lado, em bioensaios comportamentais, os autores verificaram que moscas de ambas as idades foram igualmente atraídas para a amônia.

Em túnel-de-vento, fêmeas de *B. dorsalis* com até oito dias de idade foram mais atraídas do que as de 11 dias, para voláteis de mamão maduro em relação aos de outros estádios de amadurecimento (Jang & Light, 1991). Machos de *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock (Diptera, Tephritidae), com cinco dias de idade, em túnel-de-vento, não responderam ao metil eugenol (Wee & Tan, 2000). Segundo os autores, as respostas de atratividade iniciam a partir dos 10 dias e aumentam significativamente com o avanço da idade. O metil-eugenol pode estar presente em óleos essenciais de algumas espécies de plantas, como *Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae) e é utilizado como precursor para síntese do feromônio de acasalamento dos machos de *B. carambolae*.

A interação entre os fatores sexo e idade teve o coeficiente explicativo de 3,5% da variância das respostas eletrofisiológicas de *A. fraterculus*. Fêmeas em idade pré-reprodutiva e reprodutiva responderam de forma semelhante aos extratos ($Z = 1,22$; $gl = 1$; $P = 0,11$). No entanto, machos pré-reprodutivos apresentaram respostas significativamente maiores aos extratos de goiaba madura ($H = 232,85$; gl

= 17; P = 0,004), laranja madura (H = 232,85; gl = 17; P = 0,036), pêssego maduro (H = 232,85; gl = 17; P = 0,014) e pêssego verde (H = 232,85; gl = 17; P = 0,024), quando comparadas as dos reprodutivos. A percepção diferencial entre os dois grupos de machos pode estar associada ao fato de que os pré-reprodutivos buscam por sítios de alimentação e acasalamento, enquanto os reprodutivos, por já terem obtido estes recursos, estariam menos perceptivos a esses odores. Segundo Alagarmalai *et al.* (2006), em bioensaios comportamentais com *D. ciliatus*, os machos foram significativamente mais atraídos para o (E)- β -farneseno do que para os outros compostos isolados. De acordo com os autores, este composto não foi atrativo para fêmeas e, em doses elevadas, tornou-se repelente para às mesmas. Assim como o (E)- β -farneseno, o metil-eugenol também é um composto altamente atrativo para machos. Em *Bactrocera papayae* Drew & Hancock (Diptera, Tephritidae) (Hee & Tan, 1998; 2004) e *B. dorsalis* (Jang *et al.*, 1997; Siderhust & Jang, 2006; Khrimian *et al.*, 2009), os machos o utilizam como precursor para a síntese do feromônio de acasalamento (Hee & Tan, 1998; Papadopoulos *et al.*, 2006).

4.5 Identificação das substâncias nos extratos dos frutos

Através da análise por CG-EM dos extratos de maçã madura, laranja verde e goiaba madura e comparação entre índices de similaridade com a biblioteca do espectômetro de massas foi possível a identificação das substâncias relacionadas na Tabela 6. Dentre essas, foram selecionadas para os bioensaios eletroantagráficos e comportamentais, as substâncias (E)-3-hexen-1-ol, (Z)-3-hexen-1-ol, butirato de etila, acetato de hexila, hexanoato de etila, (Z)-3-butirato de

TABELA 6. Relação de substâncias identificadas em extratos de goiaba madura, laranja verde e maçã madura, por CG-EM: tempos de retenção (T_R) e similaridade com a coleção de referência do cromatógrafo (S).

Composto	Goiaba madura		Laranja verde		Maçã madura	
	t_R (min)	S	t_R (min)	S	t_R (min)	S
(E)-3-hexen-1-ol*	3,29	93	-	-	-	-
(E)-ocimeno	-	-	6,79	72	-	-
(Z)-3-butilato de hexenila*	6,63	82	6,60	-	6,64	86
(Z)-3-hexen-1-ol*	3,27	88	-	-	-	-
2-metilbutirato de butila	-	-	-	-	5,06	94
3,3,5-trimetil-1,4-hexadieno	-	-	5,90	81	-	-
acetato de (Z)-3-hexenila	4,71	96	-	-	-	-
acetato de 2-metil butila	-	-	-	-	3,41	96
acetato de 2-pentila	4,29	81	-	-	-	-
acetato de hexila*	4,78	95	-	-	4,78	95
acetato de isopentila	-	-	-	-	3,41	96
acetato de isopropila	-	-	-	-	4,27	78
allo-ocimeno	-	-	6,66	83	-	-
azuleno	-	-	-	-	6,77	79
butirato de 2-metil hexila	-	-	-	-	7,12	93
butirato de butila	-	-	-	-	4,56	94
butirato de etila*	2,80	91	-	-	-	-
butirato de pentila	-	-	-	-	5,23	92
farneseno	-	-	-	-	9,75	93
hexanoato de etila*	4,63	95	-	-	4,62	93
hexanoato de hexila	-	-	-	-	8,59	82
hexanoato de isopentila	-	-	-	-	7,28	86
hexanoato de propila	-	-	-	-	5,62	92
octanoato de etila*	6,73	93	-	-	-	-
pentanoato de hexila	-	-	-	-	7,12	93
propionato de hexila	-	-	-	-	5,73	92
propionato de isopentila	-	-	-	-	4,32	94
β -cariofileno	9,17	72	9,17	85	-	-

*compostos utilizados nos bioensaios eletroantagráficos e comportamentais.

hexenila e octanoato de etila, por constarem na relação de voláteis com bioatividade em tefritídeos (Zhang *et al.*, 1999; Nojima *et al.*, 2003; Malo *et al.*, 2005; Bakri *et al.*, 2006; Cruz-Lopez *et al.*, 2006; Pherobase, 2010). A identificação desses compostos foi confirmada pela comparação entre os espectros de massa e os tempos de retenção dos compostos presentes nos extratos com os dos padrões sintéticos relacionados na Tabela 7.

TABELA 7. Relação das substâncias sintéticas e os respectivos tempos de retenção obtidos por CG-EM.

Composto	T _R (min)
(E)-3-hexen-1-ol	3,22
(Z)-3-hexen-1-ol	3,27
(Z)-3-butirato de hexenila	6,61
acetato de hexila	4,77
butirato de etila	2,77
hexanoato de etila	4,61
octanoato de etila	6,75

Segundo Light *et al.* (1988), as fragrâncias de frutos são normalmente um complexo de diversos compostos voláteis, com diferentes funções, abrangendo desde aqueles que possuem estruturas simples, com poucas cadeias de carbono, até os mais complexos, como os sesquiterpenos.

Algumas substâncias identificadas no presente estudo, já foram observadas em frutos hospedeiros de outros tefritídeos. Os compostos butanoato de butila, hexanoato de propila, hexanoato de butila, butanoato de hexila e hexanoato de

pentila foram, por exemplo, identificados por Zhang *et al.* (1999) em frutos de maçã. Nojima *et al.* (2003) observaram a presença de acetato de etila, 3-metilbutan-1-ol, acetato de isoamila, trissulfeto de dimetila, 1-octen-3-ol e cariofileno em frutos de magnólia, *Cornus florida* L. (Cornaceae), hospedeiro de *R. pomonella*.

Em extratos de frutos de argan, *Argania spinosa* L. (Sapotaceae), hospedeiro de *C. capitata* foram constatadas as substâncias, (*E*)-3-hexen-1-ol e (*Z*)-3-hexen-1-ol (Bakri *et al.*, 2006), semelhantes às verificadas neste trabalho. Da mesma forma, Cruz-Lopez *et al.* (2006), além do hexanoato de etila e octanoato de etila, também presentes nos extratos de goiaba madura aqui avaliados, identificaram butirato de etila, butirato de isobutila, butirato de isopentila, butirato de isopropila, butirato de propila, hexan-1-ol e benzoato de etila em extrato de cajá, *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae), hospedeiro de *A. ludens*.

4.6 Seletividade das antenas de *Anastrepha fraterculus* a substâncias sintéticas

Fêmeas e machos de *A. fraterculus*, tanto no estágio pré-reprodutivo, quanto no reprodutivo, responderam aos compostos isolados ou em mistura, de forma semelhante ($Z = 0,885$; $gl = 1$; $P = 0188$).

As respostas eletroantenográficas de adultos de *A. fraterculus* foram significativamente mais altas quando as substâncias, (*E*)-3-hexen-1-ol e (*Z*)-3-butilato de hexenila fizeram parte da mistura ($H = 155,36$; $gl = 10$; $P < 0,0001$), em comparação com as dos compostos isolados, evidenciando um efeito aditivo desta combinação (Figura 13). De modo geral as misturas provocaram as maiores respostas eletroantenográficas.

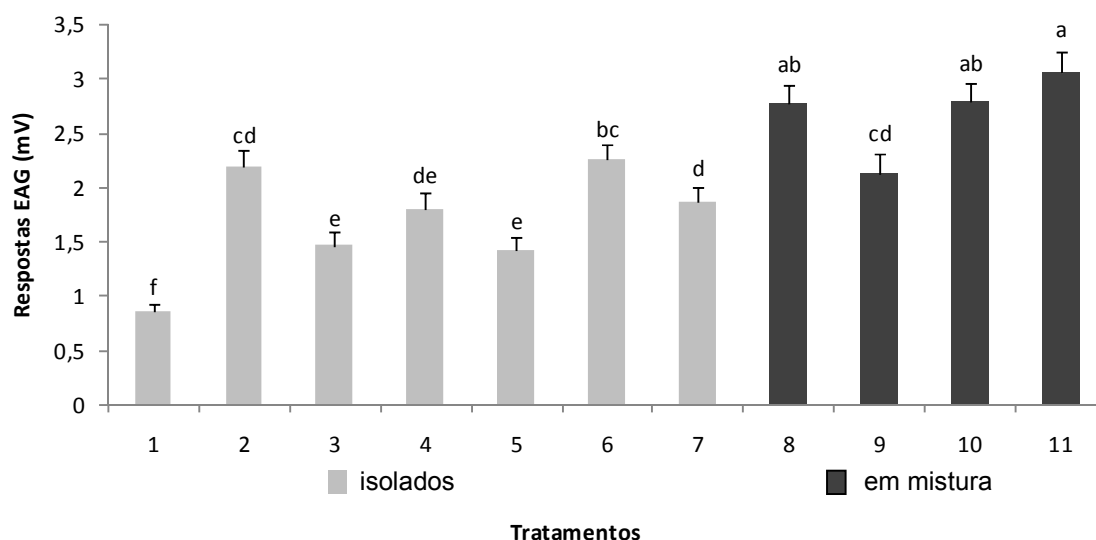


FIGURA 13. Respostas eletroantenográficas de *Anastrepha fraterculus* a substâncias sintéticas isoladas [1. hexano; 2. (*E*)-3-hexen-1-ol, 3. butirato de etila; 4. acetato de hexila; 5. hexanoato de etila; 6. (*Z*)-3-butirato de hexenila; 7. octanoato de etila] e em misturas [8. (*E*)-3-hexenol + (*Z*)-3-butirato de hexenila; 9. butirato de etila + hexanoato de etila; 10. (*E*)-3-hexen-1-ol + acetato de hexila + (*Z*)-3-butirato de hexenila + octanoato de etila e 11. todos os compostos]. Barras com letras distintas, diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis, ($P < 0,0001$) ($n = 42$).

Alguns dos compostos utilizados no presente estudo também foram avaliados em outras espécies de tefritídeos. Bakri *et al.* (2006) verificaram que *C. capitata*, em bioensaios de eletroantenografia, respondeu aos compostos 1-hexanol, hexanal, (*E*)-3-hexen-1-ol, (*Z*)-3-hexen-1-ol, presentes em extratos de frutos de *Argania spinosa* L. (Sapotaceae). Os autores verificaram que as respostas dos machos foram maiores do que as das fêmeas para todos os compostos. O mesmo não foi observado no presente estudo para o (*E*)-3-hexen-1-ol.

Cruz-Lopez *et al.* (2006) encontraram os compostos butirato de etila, butirato de isobutila, butirato de isopentila, butirato de isopropila, butirato de propila, 1-

hexanol, benzoato de etila, hexanoato de etila e octanoato de etila em extrato de cajá, *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae), hospedeiro de *A. ludens*. Os resultados em CG-EAD evidenciaram que machos e fêmeas apresentaram as maiores respostas para os compostos butirato de propila, butirato de etila e hexanoato de etila, ao contrário do encontrado para *A. fraterculus*, onde as menores respostas foram obtidas com esses dois últimos compostos.

Em CG-EAD, Siderhust & Jang (2006) observaram a presença de 22 compostos bioativos em antenas de *B. dorsalis* presentes no extrato de *Terminalia catappa* L. (Combretaceae). Dentre estas, o acetato de geranila, o acetato de etila, o hexanoato de etila, o acetato de hexila, o acetato de linalila, o nonanato de etila, o acetato de nonila, o cinamato de etila e o (*E*)- β -farneseno, os quais misturados em partes iguais, desencadearam menores respostas eletroantegráficas nessa espécie, do que quando isolados. O acetato de hexila e o hexanoato de etila, apesar de apresentarem bioatividade em *A. fraterculus*, foram as que produziram as menores respostas.

Diferentemente do presente estudo, Malo *et al.* (2005) verificaram respostas eletrofisiológicas, em machos e fêmeas de *A. ludens*, maiores ao hexanoato de etila e ao octanoato de etila, do que ao (*Z*)-3-butilato de hexenila, (*E*)-3-hexen-1-ol, (*Z*)-3-hexen-1-ol e ao butirato de etila. Estes resultados sugerem a existência de uma especificidade química para cada espécie de *Anastrepha*.

Assim como o constatado em *A. fraterculus*, Light *et al.* (1988) verificaram que ambos os sexos de *C. capitata* apresentaram alta resposta eletrofisiológica ao (*E*)-3-hexen-1-ol. No entanto, ao acetato de hexila, as repostas foram maiores em *C. capitata* do que em *A. fraterculus*.

Espécies com uma grande quantidade de hospedeiros normalmente respondem a uma maior variedade de compostos do que as monófagas ou oligófagas (Diaz-Fleischer *et al.*, 2003). Esta hipótese é corroborada pelos estudos de Siderhust & Jang (2006), com *B. dorsalis*, e de Light *et al.* (1988) com *C. capitata*, os quais verificaram que ambas respondem a um vasto número de compostos, enquanto *R. pomonella*, oligófaga, respondeu a uma quantidade bem mais limitada (Zhang *et al.*, 1999; Nojima *et al.*, 2003).

Espécies polífagas, como *A. fraterculus*, também podem responder a uma ampla gama de voláteis, compartilhados por vários hospedeiros. No entanto, diferentes tefritídeos utilizam essas pistas químicas de forma diversa explicando o fato de algumas espécies serem mais atraídas por alguns hospedeiros do que outras.

O conhecimento das substâncias que intermediam a comunicação entre *Anastrepha* spp. – planta, é um passo importante para elucidar a interação de diferentes espécies com seus hospedeiros, assim como para formulação de atrativos para monitoramento e controle destas.

4.7 Sensibilidade de antenas de *Anastrepha fraterculus* a substâncias sintéticas

As respostas das antenas de fêmeas foram dose-dependente para todos os compostos (Figura 14). O limiar de resposta para (*E*)-3-hexen-1-ol e (*Z*)-3-hexen-1-ol foi de 5 µg/µL, para butirato de etila, octanoato de etila e (*Z*)-3-butirato de hexenila, de 25 µg/µL e para os compostos acetato de hexila e hexanoato de etila, foi de 125 µg/µL. As curvas dose-resposta para os compostos (*E*)-3-hexen-1-ol e

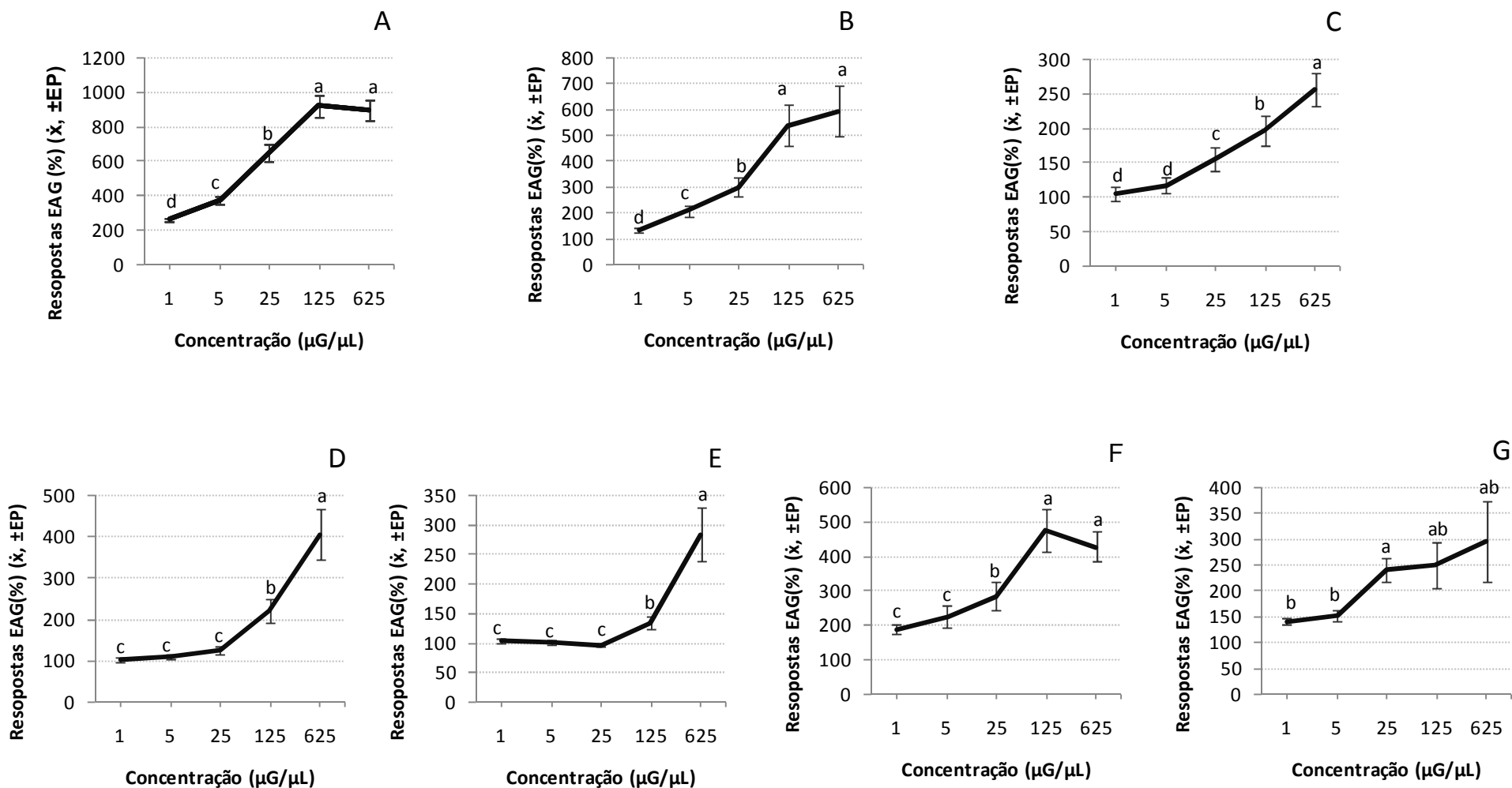


FIGURA 14. Médias (± EP) das respostas eletroantenográficas de fêmeas de *Anastrepha fraterculus* a cinco concentrações dos compostos sintéticos: (A) (E)-3-hexen-1-ol, (B) (Z)-3-hexen-1-ol, (C) butirato de etila, (D) acetato de hexila, (E) hexanoato de etila, (F) (Z)-3-butirato de hexenila e (G) octanoato de etila. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste do modelo linear geral, GLM, seguido da menor diferença significativa, LSD.

butirato de hexenila apresentaram uma queda após a concentração de 125 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ indicando que a partir desta dose ocorre a saturação das sensilas antenais (Figura 14A e F). No entanto, mesmo naquelas onde o declínio da resposta não foi verificado (Figura 14B e G), há um indicativo de saturação devido à similaridade estatística entre as doses mais elevadas. Em outras substâncias não foi constatada a saturação, pois mesmo entre as doses de 125 e 625 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, houve um acréscimo significativo nas respostas eletroantenográficas (Figura 14C, D e E).

Na natureza, os voláteis são liberados simultaneamente, em diferentes concentrações pelas plantas hospedeiras, de forma que uma mistura específica de voláteis pode sinalizar um recurso para uma espécie de inseto. Dessa maneira, os fitófagos especialistas podem ser mais seletivos a alguns compostos, enquanto que os generalistas, devido a sua grande variedade de hospedeiros, podem responder a uma ampla gama de voláteis (Metcalf & Metcalf, 1992).

A seletividade das sensilas antenais a voláteis de hospedeiros não está somente relacionada ao tipo de substâncias que compõe a mistura bioativa, mas também à concentração em que estas estão presentes. Determinados compostos, em baixas concentrações, são suficientes para desencadear um efeito de atração, enquanto outros, precisam estar altamente concentrados para que o mesmo comportamento seja exibido. Assim, a ação aditiva e/ou sinérgica entre essas substâncias é que desencadeará a resposta motora do inseto ao estímulo (Bell & Cardé, 1984).

4.8 Avaliação da atividade quimiotática de *Anastrepha fraterculus* a substâncias sintéticas em condições de laboratório

O número médio de fêmeas de *A. fraterculus* presentes sob os discos de papel filtro contendo água destilada ($0,7 \pm 0,22$) e as substâncias (*E*)-3-hexen-1-ol ($\bar{X} = 0,9$; EP = 0,18), (*Z*)-3-hexen-1-ol ($\bar{X} = 0,7$; EP = 0,20) e (*E*)-3-butirato de hexenila ($\bar{X} = 0,8$; EP = 0,31) não diferiu significativamente ($H = 1,122$; gl = 3; $P = 0,771$).

Resultados semelhantes foram observados por Bakri et al. (2006), os quais não observaram atratividade de *C. capitata* aos compostos sintéticos 1-hexanol, (*Z*)-3-hexen-1-ol, 1-hexenol e (*E*)-2-hexen-1-ol, isolados ou em combinação.

Os autores, em bioensaios de laboratório (arenas com estímulo em papel filtro) e campo, verificaram que a mosca-do-mediterrâneo foi significativamente mais atraída ao extrato natural de argan, *Argania spinosa* L. (Sapotaceae), o qual contém estas substâncias.

Por outro lado, Epsky & Heath (1998) observaram atratividade de fêmeas de *A. suspensa* em bioensaios em túnel-de-vento pelos compostos isolados, 3-metilbutan-1-ol e amônia, identificados a partir do extrato da bactéria *Enterobacter agglomerans*.

Prokopy et al. (1998), utilizando a mesma metodologia do presente trabalho, verificaram que fêmeas de *C. capitata*, alimentadas com dieta protéica não foram atraídas aos compostos sintéticos isolados, 3-metilbutanal, 3-metil-1-butanol e decanal, semelhante aos resultados obtidos com *A. fraterculus*, onde os insetos também receberam alimento protéico.

Cruz-Lopez *et al.* (2006), em campo e em túnel-de-vento, constataram que fêmeas e machos de *A. obliqua* foram mais atraídos pela mistura de nove compostos presentes no extrato de cajá, *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) ou seja, butirato de etila, butirato de isobutila, butirato de isopentila, butirato de isopropila, butirato de propila, 1-hexenol, benzoato de etila, hexanoato de etila e octanoato de etila, do que para a proteína hidrolisada e a água.

No entanto, a atratividade não está apenas vinculada ao fato do estímulo ser uma mistura de compostos, o tipo e a proporção das substâncias que estão presentes podem ser determinantes no comportamento quimiotático. Em bioensaios de campo e túnel-de-vento com *R. pomonella*, Zhang *et al.* (1999) evidenciaram uma atração significativamente maior a uma mistura de cinco substâncias identificadas a partir de voláteis oriundos de maçãs [butanoato de butila (10%), hexanoato de propila (4%), hexanoato de butila (37%), butanoato de hexila (44%) e hexanoato de pentila (5%)], do que a uma outra contendo outros voláteis de maçã, acetato de hexila (35%), acetato de (*E*)-2-hexenila (2%), 2-metilbutanoato de metila (8%), hexanoato de propila (12%), propanoato de hexenila (5%), hexanoato de butila (28%) e butanoato de hexenila (10%), e ao hexanoato de butila isolado, o qual é usado para o monitoramento desta espécie, em pomares de macieira.

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente estudo e nas condições sob as quais foram realizados os experimentos, foi possível concluir que:

- as antenas de *A. fraterculus* possuem sensilas tricóides, basicônicas, clavadas, estilocônicas e caéticas, além de microtríquias;
- o tamanho das sensilas e microtríquias de *A. fraterculus* são semelhantes entre os sexos distribuindo-se de forma heterogênea nos flagelos;
- as respostas eletroantenográficas de *A. fraterculus* são maiores ao extrato pirolenhoso (BioPirol 7M[®]; 0,4%) e à calda sulfocálcica (Sul Fertilizantes;1%) do que ao nim (Organic Neem[®]; 0,5%) e à rotenona (Rotenat[®]; 0,6%);
- antenas de indivíduos de *A. fraterculus* acasalados e em idade pré-reprodutiva apresentam maiores respostas aos produtos fitossanitários [extrato pirolenhoso (BioPirol7M[®]; 0,4%), calda sulfocálcica (Sul Fertilizantes; 1%), nim (Organic Neem[®]; 0,5%) e rotenona (Rotenat[®]; 0,6%)];
- o extrato pirolenhoso (BioPirol7M[®]; 0,4%) e a calda sulfocálcica (Sul Fertilizantes;1%), aplicados em mamão papaia (*Carica papaya* var. Papaia) e goiaba (*Psidium guajava* var. Paluma), não impedem a

- oviposição de *A. fraterculus*, o desenvolvimento dos imaturos e a emergência;
- as maiores respostas eletroantegráficas de *A. fraterculus* foram aos extratos etanólicos de maçã madura (*Pyrus malus* var. Fuji) e de laranja verde e madura (*Citrus sinensis* var. Céu), em comparação aos de maçã verde, goiaba (*Psidium guajava* var. Paluma) e pêsego (*Prunus persica* var. Chimarrita);
 - fêmeas de *A. fraterculus* apresentam maiores respostas eletrofisiológicas aos extratos etanólicos de frutos verdes e maduros [maçã (*Pyrus malus* var. Fuji), laranja (*Citrus sinensis* var. Céu), goiaba (*Psidium guajava* var. Paluma) e pêsego (*Prunus persica* var. Chimarrita)] do que machos;
 - as respostas eletrofisiológicas de *A. fraterculus* aos extratos etanólicos de frutos [maçã (*Pyrus malus* var. Fuji), laranja (*Citrus sinensis* var. Céu), goiaba (*Psidium guajava* var. Paluma) e pêsego (*Prunus persica* var. Chimarrita)] independem do status de cópula sendo maiores em moscas em idade pré-reprodutiva;
 - as substâncias (*E*)-3-hexen-1-ol e (*Z*)-3-butirato de hexenila, combinadas em igual proporção, desencadeiam maiores respostas em antenas de *A. fraterculus*, quando comparadas com (*Z*)-3-hexen-1-ol, butirato de etila, octanoato de etila, acetato de hexila e hexanoato de etila isoladas ou em mistura;
 - as respostas das antenas de fêmeas de *A. fraterculus* foram dose-dependente para os compostos [(*E*)-3-hexen-1-ol, (*Z*)-3-hexen-1-ol, butirato de etila, octanoato de etila, (*Z*)-3-butirato de hexenila, acetato de

hexila e hexanoato de etila];

- nos bioensaios comportamentais em gaiola com opção de múltipla escolha, as substâncias (*E*)-3-hexen-1-ol, (*Z*)-3-hexen-1-ol e (*E*)-3-butirato de hexenila, isoladas, não são atrativas para fêmeas de *A. fraterculus*

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados do presente trabalho fornecem informações relevantes a respeito da percepção de voláteis de frutos pela mosca-das-frutas Sul americana, *Anastrepha fraterculus*, e da ação de produtos fitossanitários sobre este inseto.

Com as informações obtidas através dos bioensaios comportamentais com a calda sulfocálcica e o extrato pirolenhoso, foi possível verificar que esses produtos não tiveram efeito de deterrência de oviposição para *A. fraterculus* e também não impediram o desenvolvimento dos imaturos e a emergência, como preconizado pelos produtores que os utilizam para o controle da mosca-das-frutas. Porém, para determinar com certeza a eficiência destes produtos nos pomares, seriam necessários ensaios a campo, uma vez que nestas condições, podem ocorrer interações entre os compostos presentes na sua formulação com os dos frutos, levando a uma liberação de voláteis com efeito deterrente. No entanto, mesmo que essa hipótese seja considerada verdadeira, pressupõe-se que se os adultos de *A. fraterculus* não tiverem outro substrato para oviposição, em condições de campo, provavelmente farão a postura em frutos tratados.

Sendo assim, com base nos resultados, sugere-se que deve haver uma melhor avaliação, embasada em conhecimentos científicos, sobre a efetividade destes produtos para manejo e controle de mosca-das-frutas antes de sua recomendação e aplicação.

No que se refere aos bioensaios com os voláteis de frutos, pôde-se observar que as respostas eletroantegráficas de *A. fraterculus* aos estímulos em misturas são maiores do que às das substâncias isoladas, e que essas últimas, não desencadeiam respostas comportamentais. Esse resultado evidencia a necessidade de serem elaboradas misturas de compostos que formem um *blend* atrativo, capaz de produzir um comportamento quimiotático. O fato de *A. fraterculus* ser uma espécie polífaga, pode explicar, de certa forma, a falta de atratividade aos compostos isolados, já que as moscas necessitariam de estímulos de mais de um composto para encontrar o hospedeiro, ao contrário de espécies oligófagas, como *R. pomonella*, que pode localizar seu hospedeiro apenas pela presença de um composto.

Mais estudos são necessários para que seja possível formular um *blend* atrativo para *A. fraterculus*, devendo-se considerar a proporção e a concentração de cada composto na mistura, à semelhança dos encontrados naturalmente nos hospedeiros.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, C.E. The toxic gases of lime-sulfur. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 38, p. 618-620, 1945.

AGUIAR-MENEZES, E.L.; FERRARA, F. A. A.; MENEZES, E. B. Moscas-das-frutas. In: CASSINO P. C. R.; RODRIGUES W. C. (Coord) **Citricultura Fluminense**: principais pragas e seus inimigos naturais. Seropédica: Ed. Universidade Rural do Rio de Janeiro, 2004. p. 67-84.

AGUIAR-MENEZES, E.L. **Inseticidas botânicos**: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58p.

AFONSO, A.P.S.; FARIA, J.L.C.; BOTTON, M.; ZANARDI, O. Z. Avaliação da calda sulfocálcica e do óleo mineral no controle da cochonilha-parda *Parthenolecanium persicae* (Hemiptera, Coccidae) na cultura da videira. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 74, n. 2, p. 167-169, abr./jun., 2007.

ALAGARMALAI, J.; NESTEL, D.; DRAGUSHICH, D.; NEMNY-LAVY, E.; ANSHELEVICH, L.; ZADA, A.; SOROKER, V. Identification of host attractants for the Ethiopian fruit fly, *Dacus ciliatus* Loew. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 35, p. 542–551, 2009.

ALTNER, H.; LOFTUS, R. Ultrastructure and function of insect thermo and hygroreceptors. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 30, p. 273-295, 1985.

ALUJA, M.; PROKOPY, R.J. Host search behaviour by *Rhagoletis pomonella* Flies: inter-tree movement patterns in response to wind-borne fruit volatiles under field conditions. **Physiology Entomology**, Oxford, v. 17, p.1-8, 1992.

ALUJA, M. Bionomics and management of *Anastrepha*. **Annual Review of Entomology**, Stanford, US, v. 39, p. 155-178, 1994.

ALUJA, M.; PIÑERO, J.; LÓPEZ, M.; RUIZ, A.C.; ZUNIGA, E.P.; DÍAZ-FLEISCHER, F.; SIVINSKI, J. New host plant and distribution records in Mexico for *Anastrepha* spp., *Toxotrypana curvicauda* Gerstaecker, *Rhagoletis zoqui* Bush, *Rhagoletis* sp., and *Hexachaeta* sp (Diptera : Tephritidae). **Proceedings of The Entomological Society of Washington**, Washington, US, v.102, p. 802-815, 2000.

ALVES, M. **Impactos da utilização de fino de carvão e extrato pirolenhoso na agricultura**. 2006. 43f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2006.

ARZUFFI, R.; ROBLEDO, N.; VALDEZ, J. Antennal sensilla of *Toxotrypana curvicauda* (Diptera, Tephritidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 91, p. 669-673, 2008.

AZEVEDO-FILHO, W.S.; CASTRO, L.A.S.; BOTTON, M.; NAVA, D.E. **Técnicas de preparação de amostras para estudos de insetos com microscópio eletrônico de varredura**. Pelotas: EMBRAPA Clima Temperado, 2008. 34p.

AZEVEDO, F.R. DE; GUIMARÃES, J.A.; BRAGA SOBRINHO, R.; LIMA, M.A.A. Eficiência de produtos naturais para o controle de *Bemisia tabaci* biótipo b (Hemiptera: Aleyrodidae) em meloeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 1, p. 73-79, 2005.

BAKRI, A.; DUEBEN, B.D.; PROVEAUX, A.T.; HEATH, R.R. Isolation, identification and determination of the biological activity of candidate fruit volatile components from *Argania spinosa* L. (Sapotacea). In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FRUIT FLIES OF ECONOMIC IMPORTANCE, 7, Salvador, 2006. **Proceedings...**: Fruit Flies of economic Importance: From Basic to Applied Knowledge. Salvador, 2006. p. 107-112.

BELL, W.J.; CARDÉ, R.T. **Chemical ecology of insects**. London : Chapman ; Hall, 1984. 345p.

BELLON, P.P.; RHEINHEIMER, A.R.; GAZOLA, D.; MIRANDA, A.M.; SANTOS, A. A.; MONDARDO, D.; PIETROWSKI, V.; ALVES, L.F.A. Ação de produtos utilizados no sistema agroecológico na oviposição do percevejo da renda (*Vatiga manihotae*) (Hemiptera: Tingidae) em mandioca. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, Botucatu-SP, v. 5, p. 207-211, 2009.

BIOCARBO. **[Informações]** Disponível em: <http://www.biopirol.com.br/>. Acesso em: 07 jan. 2010.

BLEICHER, J.; GASSEN, D.N.; RIBEIRO, L.G.; TANAKA, H.; ORTH, A.I. **Moscas-das-frutas em macieira e pessegueiro** . Florianópolis : EMPASC, 1982. 28 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. **Agrofit on-line**. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 07 dez. 2009a.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. **Instrução normativa n.64/2008**. Disponível em:

http://www.prefiraorganicos.com.br/media/5921/instrucao_normativa_n-64-de-dezembro-2008.pdf. Acesso em: 07 dez. 2009b.

BRUYNE, M.; BAKER, T.C. Odor detection in Insects: Volatile Codes. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 34, p. 882-897, 2008.

BUROW, M.; WITTSTOCK, U. Sulfur-containing secondary metabolites and their role in plant defense. In: HELL, R. et al. (Eds.). **Sulfur Metabolism in Phototrophic Organisms**. Netherlands : Springer, 2008. p. 201–222.

BUSS, E.A.; PARK-BROWN, S.G. **Natural products for insect pest management**. Gainesville: UF/IFAS, 2002. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/IN197>. Acesso em: 29 mar. 2010.

CAMINHA FILHO, A. **Timbós e rotenona: uma riqueza nacional inexplorada**. 2. ed. Rio de Janeiro: Serviço de Informação Agrícola, 1940. 14 p.

CARVALHO, R.S.; NASCIMENTO, A.S.; MATRANGALO, W.J.R. Controle Biológico In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Eds.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 113-117.

CLARK, A.R.; ARMSTRONG K.F.; CARMICHAEL A.E.; MILNE J.R. ; RAGHU S. Invasive phytophagous pests arising through a recent tropical evolutionary radiation: the *Bactrocera dorsalis* complex of fruit flies. **Annual Review Entomology**, Stanford, v. 50, p. 293–319, 2005.

CLARO, S.A. **Referenciais tecnológicos para a agricultura familiar ecológica: a experiência da Região Centro-Serra do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre : Emater/RS-ASCAR, 2001. 250p.

CORNELIUS, M.L.; NERGEL, L.; DUAN, J.J.; MESSING, R.H. Responses of female oriental fruit flies(Diptera: Tephritidae) to protein and host fruit odors in field cage and open field tests. **Environmental Entomology**, College Park, Madison, US., v. 29, p. 14-19, 2000.

CORSATO, C.D.A. **Moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) em pomares de goiaba no norte de Minas Gerais: biodiversidade, parasitóides e controle biológico**. 2004. 83f. Tese (doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2004.

CRUZ-LOPES, L.; MALO, E.; TOLEDO, J.; VIRGEN, A.; MAZO, A.; ROJAS, J. A new potential attractant for *Anastrepha obliqua* from *Spondias mombin* fruits. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 32, n. 2, p. 351-365, 2006.

DIAZ-FLEISCHER, F.; ALUJA, M. Clutch size in frugivorous insects as a function of host firmness: the case of the tephritid fly *Anastrepha ludens*. **Ecological entomology**, Oxford, v. 28, p. 268-277, 2003.

DICKENS, J.C.; HART, W.G.; LIGTH, D.M.; JANG, E.B. Tephritid Olfation: Morphology of the Antennae of Four Tropical Species of Economic Importance (Diptera: Tephritidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 81, n. 2, p. 325-331, 1988.

DICKENS, J.C.; JANG, E.B.; LIGHT, D.M.; ALFORD, A.R.. Enhancement of insect pheromone responses by green leaf volatiles. **Naturwissenschaften**, Berlin, DE, v. 77, p. 29-31, 1990.

EFROM, C.F.S. **Criação de *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) em dieta artificial e avaliação de produtos fitossanitários utilizados no sistema orgânico de produção sobre esta espécie e insetos benéficos**. 2009. 89 f. Tese (Doutorado - Fitossanidade) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

EPSKY, N.D.; HEATH R.R. Exploiting the interactions of chemical and visual cues in behavioral control measures for pest tephritid fruit flies. **Florida Entomologist**, Gainesville, Fla., US. v. 81, p. 273–282, 1998.

FEIN, B.L.; REISSIG, W.H.; ROELOFS, W.L. Identification of apple volatiles attractive to the apple maggot fly. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 8, p. 1473-1487, 1982.

FLETCHER, B.S.; PROKOPY, R.J. Host location and oviposition in tephritid fruit flies. In: BAILEY, W.J.; RIDSDILL-SMITH, J. (Eds.). **Reproductive behaviour of insects: individuals and populations**. London : Chapman Hall, 1991. p.139-171.

GARCÍA-RAMÍREZ M. DE J.; CIBRIÁN T.; ARZUFÍ B.R.; LÓPEZ C.J.; SOTO H.M. Preferencia de *Anastrepha ludens* (loew) (Diptera: Tephritidae) por volátiles de frutos verdes o amarillos de mango y naranja. **Agrociencia**, Chapingo, Mexico, v. 38, n. 4, p. 423-430, 2004.

GIANNAKAKIS, A.; FLETCHER, B.S. Morphology and distribution of antennal sensilla of *Dacus tryoni* (Froggatt) (Diptera, Tephritidae). **Journal of the Australian of Entomological Society**, Brisbane, v. 24, p. 31-35, 1985.

GLIESSMAN, S.R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. 2. ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2001. 649p.

GOINGUENÉ, S.P.; BUSER, HANS-RUEDIGER; STÄDLER, E. Host-plant leaf surface compounds influencing oviposition in *Delia antiqua*. **Chemoecology**, Bruxelles, v. 15, p. 243–249, 2005.

GREANY, P.D.; STYER S.C.; DAVIS P.L.; SHAW P.E.; CHAMBERS D.L. Biochemical resistance of citrus to fruit flies. Demonstration and elucidation of resistance to the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* **Entomologia Experimentalis Et Applicata**, Dordrecht, Holanda, NL., v. 34, p. 40–50, 1983.

HAMILTON, G.C.; LASHOMB, J.H. Effect of insecticides on two predators of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 80, p. 10-23, 1997.

HEE, A. KAH-WEI ; TAN, KENG-HONG. Male sex pheromonal components derived from methyl eugenol in the hemolymph of the fruit fly *Bactrocera papayae*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 30, p. 2127-2138, 2004.

HEE, A. KAH-WEI ; TAN, KENG-HONG. Attraction of female and male *Bactrocera papayae* to conspecific males fed with methyl eugenol and attraction of females to male sex pheromone components. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 24, p. 753-764, 1998.

HICKEL, E.R.; DUCROQUET, J.P.H.J. Flutuação populacional de espécies de *Anastrepha* sp. (Diptera: Tephritidae) relacionadas com a fenologia de frutificação do pêsego e ameixa em Santa Catarina. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, Jaboticabal, SP, v. 22, n.3, p. 591-596, 1993.

HICKEL, E.R. **Pragas do pessegueiro e da ameixeira e seu controle no Estado de Santa Catarina**. Florianópolis: EPAGRI, 1993. 45p. (EPAGRI. Boletim Técnico, 66).

HULL, C.D.; CRIBB, B.W. Ultrastructure of the antennal sensilla of queensland fruit fly, *Bactrocera tryoni* (Froggatt) (Diptera: Tephritidae). **International Journal of Insect Morphology and Embriology**, Oxford, Inglaterra, GB, v. 26, n. 1, p. 27-34, 1997.

IB-INSTITUTO BIOLÓGICO. Frutas. In: REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE, 7., 2002, Indaiatuba, SP. **Anais...** Indaiatuba, São Paulo, 2002.

JANG, E.B.; LIGHT, D.M. Behavioral responses of female oriental fruit flies to the odor of papayas at three ripeness stages in a laboratory flight tunnel (Diptera: Tephritidae). **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 4, p. 751-762, 1991.

JOAQUIM-BRAVO, I.S.; GUIMARÃES, A.N.; MAGALHÃES, T.C. Influência de substâncias atrativas no comportamento alimentar e na preferência de oviposição de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Sitientibus. Série Ciências Biológicas**, Feira de Santana, Bahia. v. 1, p. 60-65, 2001.

KATHRINA, G.A.; ANTONIO, L.O.J. Controle biológico de insectos mediante extractos botánicos. In: CARBALL, M.; GUAHARAY, F. (Ed.). **Control biológico de plagas agrícolas**. Managua: CATIE, 2004. p. 137-160.

KENDRA P.E.; MONTGOMERY, W.S.; MATEO, D.M.; PUCHE, H.; EPSKY, N. D.; HEATH, R.R. Effect of age on EAG response and attraction of female *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae) to ammonia and carbon dioxide. **Environmental Entomology**, College Park, US. v. 34, p. 584-590, 2005a.

KHRIMIAN, A.; SIDERHURST, M.S.; MCQUATE, G.T.; LIQUIDO, N.J.; NAGATA, J.; CARVALHO, L.; GUZMAN, F.; JANG, E.B. Ring-fluorinated analog of methyl-eugenol: attractiveness to and metabolism in the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 35, p. 209–218, 2009.

KIMATI, H. Controle Químico. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. v. 1. São Paulo: Ceres, 1995.

KLOWDEN, M.J. **Physiological systems in insects**. 2.Ed. San Diego, California : Elsevier, 2007. 668p.

KOVALESKI, A.; RIBEIRO, L.G. Manejo de pragas na produção integrada de maçãs. In: PROTAS, J.F.S.; SANHUEZA, R.M.V. **Produção integrada de frutas: o caso da maçã no Brasil**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p. 61-76. (EMBRAPA. Circular Técnica, 34).

KOVALESKI, A.; SUGAYAMA, R.L.; URAMOTO, K.; MALAVASI, A. Rio Grande do Sul. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 285-290.

KOVALESKI, A.; SUGAYAMA, R.L.; MALAVASI, A. Controle químico em macieiras. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto : Holos, 2000. Cap.17. p.135-141.

KYLIN, H.A.S.; HOVANDER, L.; JENSEN, S. Elemental sulphur (S₈) in higher plants: biogenic or anthropogenic origin? **Experientia**. Basel, Suíça, v. 50, p. 80–85, 1994.

LANDOLT, P.J.; REED, H.C.; HEATH, R.R. Attraction of female papaya fruit fly (Diptera: Tephritidae) to male pheromone and host fruit. **Environmental Entomology**. College Park, Md., US. v. 21, p. 1154-1159, 1992.

LEMONS, R.N.S.; SILVA, C.M.C.; ARAUJO, J.R.G.; COSTA, L.J.M.P.; SALLES, J.R.J. Eficiência de substâncias atrativas na captura de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) em goiabeiras no município de Itapecuru-Mirim (MA). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, Bahia, v. 24, n. 3, p. 687-689, 2002.

LEVINSON, H.Z.; LEVINSON, A.R.; SCHAFER, K. Pheromone biology of the Mediterranean fruit fly (*Ceratitidis capitata* Wied.) with emphasis on the functional anatomy of the pheromone glands and antennae as well as mating behaviour. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 104, p. 448-461, 1987.

LEVINSON, H.Z.; LEVINSON, A.R.; MÜLLER, K. Influence of some olfactory and optical properties of fruits on host location by the Mediterranean fruit fly

(*Ceratitis capitata* Wied.). **Journal Applied Entomology**, Berlin, n. 109, p. 44-54, 1990.

LIGHT, D.M.; JANG, E.B. Electroantennogram responses of the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis*, to a spectrum of alcohol and aldehyde plant volatiles. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, Holanda, n. 45, p. 55-64, 1987.

LIGHT, D.M.; JANG, E.B. ; DICKENS, J.C. Electroantennogram responses of the mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*, to a spectrum of plant volatiles. **Journal of Chemical Ecology**, New York, US, v. 14, p. 159-180, 1988.

LIQUIDO, N.J.; SHINODA, L.A.; CUNNINGHAM, R.T. Host plants of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): an annotated world review. Miscellaneous. **Miscellaneous publications of Entomological Society of America**, n. 77, p. 1-52, 1991.

LIMA, I.S.; HOUSE, P.E.; NASCIMENTO, R.R. Volatile substances from male *Anastrepha fraterculus* wied. (Diptera: Tephritidae): identification and behavioural activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 12, n. 2, 2001.

MACCOLLUM, G.B.; LAUZON, C.R.; PAYNE, E.B.; CURRIER, W.W. Apple maggot (Diptera: Tephritidae) trap enhancement with washed bacterial cells. **Environmental Entomology**, College Park, Md., v. 23, p. 354-359, 1994.

MACKU, C.; JENNINGS, W.G. Production of Volatiles by ripening bananas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, Pa., US. v. 35, p. 845-848, 1987.

MALAVASI, A.; MORGANTE, J.S. Adult and larval population fluctuation of *Anastrepha fraterculus* and its relationship to host availability. **Environmental Entomology**, College Park, Md., v. 10, p. 275-278, 1981.

MALAVASI, A.; NASCIMENTO, A.S.; CARVALHO, R.S. Moscas-das-frutas no MIP-Citros. In: DONADIO, L.C.; GRAVENA, S. (Coord.) **Manejo integrado de pragas dos citros**. Campinas: Fundação Cargill, 1994. p. 211-231.

MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. 327p.

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

MALO, E.A.; CRUZ-LÓPEZ, L.; TOLEDO, J.; DEL MAZO, A.; VIRGEN, A.; ROJAS, J.C. Behavioral and electrophysiological responses of the mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) to guava volatiles. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 88. p. 364-371, 2005.

MAKLOUF, L.A. volta do timbó: o terror das pragas. **Globo Rural**, São Paulo, n. 11, p. 86-89, 1986.

MATSUMOTO, Y. Attraction of insects to organic sulfur compounds in plants. In: CAPINERA, J.L. (Ed.) **Encyclopedia of Entomology**, Springer, Netherlands. 2ed., p. 424-426, 2008.

MENDONÇA, M.C.; NASCIMENTO, A.S.; MELO, A.S. Eficiência de atratividade da isca fotoativa para moscas-das-frutas (Díptera: Tephritidae). **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 34, n. 2, p. 147-152, 2003.

METCALF, R. L. ; METCALF, E.R. **Plant kairomones in insect ecology and control**. New York : Chapman and Hall, 1992. 168 p.

MIRANDA, X. Sexual dimorphism in the aristae of *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) and its possible importance in courtship. **Journal of the New York Entomology Society**, Lawrence, Kan., US, v. 108, n. 3-4, p. 339-348, 2000.

MORAES, L.A.H.; CHOUENE, E.C.; BRAUN, J. Efeito de atrativos na captura de *Anastrepha spp.* (Diptera:Tephritidae). **Agronomia Sulriograndense**, Porto Alegre, v. 24, n. 1, p. 45-62, 1988.

MORANDI FILHO, W.J. ; BOTTON, M.; GRUTZMACHER, A.D.; GIOLO, F.P.; MANZONI, C.G. Ação de produtos naturais sobre a sobrevivência de *Argyrotaenia sphaleropa* (MEYRICK) (LEP: Tortricidae) e Seletividade de inseticidas utilizados na produção orgânica de videira sobre *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciencia Rural**, Santa Maria, RS, v. 36, n. 4, p. 1072-1078, 2006.

MORDUE (LUNTZ), A. J.; NISBET, A. J. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its actions against insects. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, Jaboticabal, SP, v. 29, n. 4, p. 615-632, 2000.

MORGANTE, J. S. **Moscas-das-frutas (Tephritidae):** características biológicas, descrição e controle. Brasília: SENIR, 1991. 19p. (Boletim técnico de recomendações para o perímetro irrigado do Vale do São Francisco, 2).

NASCIMENTO, A.S.; CARVALHO, R.S. Manejo integrado de moscas-das-frutas. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 169-173.

NASCIMENTO, A.S.; MESQUITA, A.L.M.; ZUCCHI, R.A. Parasitism of pupae of *Anastrepha spp.* (Dip., Tephritidae) by *Doryctobracon areolatus* (Szépliget, 1911) (Hym., Braconidae) in citros and tropical fruits, p.239-246. In JAPAN-BRAZIL SYMPOSIUM ON SCIENCE AND TECHNOLOGY, 4., São Paulo, 1984. **Annals**. São Paulo, 1984. v. 2.

NASCIMENTO, A.S.; MATRANGOLO, W.J.R.; BARBOSA, C.J.; MARQUES, O.M.; HABIBE, T.C. Associação de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae)

com a meleira do mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 29, n. 4, p. 821-825, 2000.

NOJIMA, S.; LINN, JR.C. ; ROELOFS, W. Identification of host fruit volatiles from flowering dogwood (*Cornus florida*) attractive to dogwood-origin *Rhagoletis pomonella* flies. **Journal of Chemical Ecology**, New York, US. v. 29, p. 2347-2357, 2003.

NONDILLO, A.; ZANARDI, O.; AFONSO, A.P.S.; BENEDETTI, A.J.; BOTTON, M. Efeito de inseticidas neonicotinóides sobre a mosca-das-frutas sul americana *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) na cultura da videira. **Bioassay**, Piracicaba, v. 2, n. 9, p. 1-9, 2007.

NORA, I.; HICKEL, E.R. **Controle integrado de mosca-das –frutas**. Manual do produtor. Florianópolis: EPAGRI, 1997.21p.

NORRBOM, A.L. THE DIPTERA SITE - Systematic Entomology Laboratory, ARS, USDA. Department of Entomology, NMNH, SI. Disponível em: <http://www.sel.barc.usda.gov/Diptera>. Acesso em: 15-10-2006.

NOUT, M.J.R.; BARTELT, R.J. Attraction of a flying nitidulid (*Carpophilus humeralis*) to volatiles produced by yeasts grown on sweet corn and a corn-based medium. **Journal of Chemical Ecology**, New York, US. v. 24, p. 1217-1239, 1998.

PAPADOPOULOS, N.T.; SHELLY, T.E.; NIYAZI, N.; JANG, E. Olfactory and behavioral mechanisms underlying enhanced mating competitiveness following exposure to ginger root oil and orange oil in males of the mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 19, p. 403-418, 2006.

PEREIRA, F.M.; MARTINEZ-JÚNIOR, M. **Goiaba para industrialização**. Ribeirão Preto: Legis Summa, 1986. 142p.

PHEROBASE. 2010. Semiochemicals of Genus *Anastrepha*. Disponível em: <http://www.pherobase.com/database/genus/genus-Anastrepha.php>. Acesso em: 11-02-2010.

PROKOPY, R.J.; HU, X.; JANG, E.B; VARGAS, R.I.; J. WARTHEN, D. Attraction of mature *Ceratitis capitata* females to 2-heptanone, a component of coffee fruit odor. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 24, p. 1293-1309, 1998.

RAGA, A.; SATO, M.E. Time-mortality for fruit flies (Diptera: Tephritidae) exposed to insecticides in laboratory. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, SP. v. 73, n. 1, p. 73-77, 2006.

REISSIG, W.H.; STANLEY, B.H.; ROELOFS, W.L.; SCHWARZ, M.R. Tests of synthetic apple volatiles in traps as attractants for apple maggot flies (Diptera:

Tephritidae) in commercial apple orchards. **Environment Entomology**, College Park, MD., v.14, p. 55-59, 1985.

ROBACKER, D.C.; GARCIA, J.A.; HART, W.G. Attraction of a laboratory strain of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) to the odor of fermented chapote fruit and to pheromone in laboratory experiments. **Environmental Entomology**, College Park, Md., v. 19, p. 403-408, 1990a.

ROBACKER, D.C.; TARSHIS-MORENO, A.M.; GARCIA, J.A.; FLATH, R.A. A novel attractant for Mexican fruit fly, *Anastrepha bludens*, from fermented host fruit. **Journal of Chemical Ecology**, New York, US, v. 16, p. 2799-2815, 1990b.

SAIGUSA, T. **Aplicação de extrato pirolenhoso na agricultura**. Associação dos Produtores de Agricultura Natural, 2002. Apostila.

SALLES, L.A.B. **Bioecologia e controle da mosca-das-frutas sul-americana**. Pelotas: Embrapa – CPACT, 1995. 58p.

SALLES, L.A.B.; RECH, N.L. Efeitos de extratos de nim (*Azadiractha indica*) e cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, RS. v. 5, n. 3, p. 225-227, 1999.

SALLES, L.A.B. Biologia e ciclo de vida de *Anastrepha fraterculus*. In: MALAVASI, A; ZUCCHI, R. A. (eds.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 81-86.

SELIVON, D.; PERONDINI, A.L.P. Morfologia dos ovos de *Anastrepha*. In: MALAVASI, A; ZUCCHI, R.A. (eds.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 49-54.

SEQUEIRA, R.; MILLAR, L.; BARTELS, D. **Identification of susceptible areas for the establishment of *Anastrepha* spp. fruit flies in the United States and analysis of selected pathways**. [Washington]: USDA, 2001. 28p.

SCOZ, P.L.; BOTTON, M.; GARCIA, M.S. Controle químico de *Anastrepha fraterculus* Wied (Diptera: Tephritidae) em laboratório. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 6, p. 1689-1694, 2004.

SIDERHURST, M.S. ; JANG, E.B. Female-biased attraction of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel), to a blend of host fruit volatiles from *Terminalia catappa* L. **Journal of Chemical Ecology**, New York, US. v. 32. p. 2513–2524, 2006.

SILVA, F.F. da. **Espécies de moscas frugívoras (Diptera: Tephritidae e Lonchaeidae), quantificação de danos e avaliação de medidas para o seu manejo em pomares orgânicos de citros**. 2005. 152 f. Tese (Doutorado -

Fitossanidade) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

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

SOUZA PINTO, W.B. Os graves danos das moscas das frutas. **Correio Agrícola**, São Paulo, n. 2, p. 8-11, 1988.

STENSMYR, M.C. **The fruit fly nose** – Function and Evolution. 2004. 50f. Dissertation(Doctoral) - Department of Crop Science SLU, Annarp, Sweden, 2004.

STEINBRECHT, R.A. Pore structures in insect olfactory sensilla: a review of data and concepts. **International Journal of Insect Morphology and Embriology**, Oxford, v. 26, p. 229-245, 1997.

STROLL, G. **Insecticidal plants**: Natural crop protection in the Tropics. Margraf Publishers Scientific, 1986. Disponível em: <<http://wwbota.free.fr/XMLPublication/text+index/biopesticides.htm>>. Acesso em: 04-01-2007.

SUGAYAMA, R.L. ; BRANCO, E. da S. ; MALAVASI, A.; KOVALESKI, A.; NORA, I. Oviposition behavior and preference of *Anastrepha fraterculus* in apple and diel pattern of activity in an apple orchard in Brazil. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, Holanda, NL., v. 83, p. 239-245, 1997.

SUGAYAMA, R.L.; MALAVASI, A. Ecologia Comportamental. In: MALAVASI, A; ZUCCHI, R.A. (eds.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil**: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 103-108.

WEE, SUK-LING; TAN, KENG-HONG. Female sexual response to male rectal volatile constituents in the fruit fly, *Bactrocera carambolae* (Diptera: Tephritidae). **Applied entomology and zoology**, Tokyo, v. 40, p. 365–372, 2005.

VAN-RANDEN, E.J. ; ROITBERG, B.D. Effect of a neem (*Azadirachta indica*)-based insecticide on oviposition deterrence, survival, behavior, and reproduction of adult western cherry fruit fly (Diptera: Tephritidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, Md, US. v. 91, n. 1, p. 123-131, 1998.

VELOSO, V.R.S.; FERNANDES, P.M.; ROCHA, M.R.; QUEIROZ, M.V.; SILVA, R.M.R. Armadilha para monitoramento e controle das moscas-das-frutas *Anastrepha* spp. e *Ceratitis capitata* (Wied.). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 23, n. 3, p. 487-493, 1994.

VELOSO, V.R.S.; ZUCCHI, R.A.; NAVES, R.V.; FERNANDES, P.M.; FERREIRA, G.A.; MACÊDO, L.B. Plantas nativas hospedeiras de moscas-das-frutas (Diptera, Tephritidae) nos cerrados de Goiás. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 17., 1998, Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 1998. v. 1. p. 260.

VOGT, R.G.; RIDDIFORD, L.M. Pheromone binding and inactivation by moth antennae. **Nature**, New York, v. 193, p. 161-163. 1981.

WIESBROOK, M.L. Natural indeed: Are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? **Illinois Pesticide Review**, Urbana, v. 17, n. 3, p. 1-8, 2004.

ZACHARUK, R.Y. Ultrastructure and function of insect chemosensilla. . **Annual Review Entomology**, Stanford, v. 25, p. 27-47, 1980.

ZACHARUK, R.Y. Antennae and sensilla. In: GILBERT, L.I. ; KERKUT, G.A. (eds). **Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology** Oxford : Pergamon Press, 1985. p. 1-70. v. 6.

ZHANG, A.; LINN, JR.C.; WRIGHT, S.; PROKOPY, R.; REISSIG, W.; ROELOFS, W. Identification of a new blend of apple volatiles attractive to the apple maggot, *Rhagoletis pomonella*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 25. p. 1221-1232, 1999.

ZUCCHI, R.A. **Fruit flies in Brazil - *Anastrepha* species and their hosts plants.** Disponível em: www.leaf.esalq.usp.br/anastrepha/. Acesso em: 12-02-2010.

ZUCCHI, R.A. Taxonomia. In: MALAVASI, A; ZUCCHI, R.A. (eds.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado.** Ribeirão Preto: Holos, 2000. p.13-24.