

Instituto Superior de Psicologia Aplicada

DM.

REGO/C.1

Carla José Azevedo Rego

**Aspectos eco-etológicos de alimentação e oviposição
em *Drosophila subobscura* Collin, 1936**

**Dissertação apresentada no âmbito do
Mestrado em Etologia, orientação
científica da Professora Doutora
Teresa Avelar**

Lisboa - 1997



Centro de Documentação do I.S.P.A.

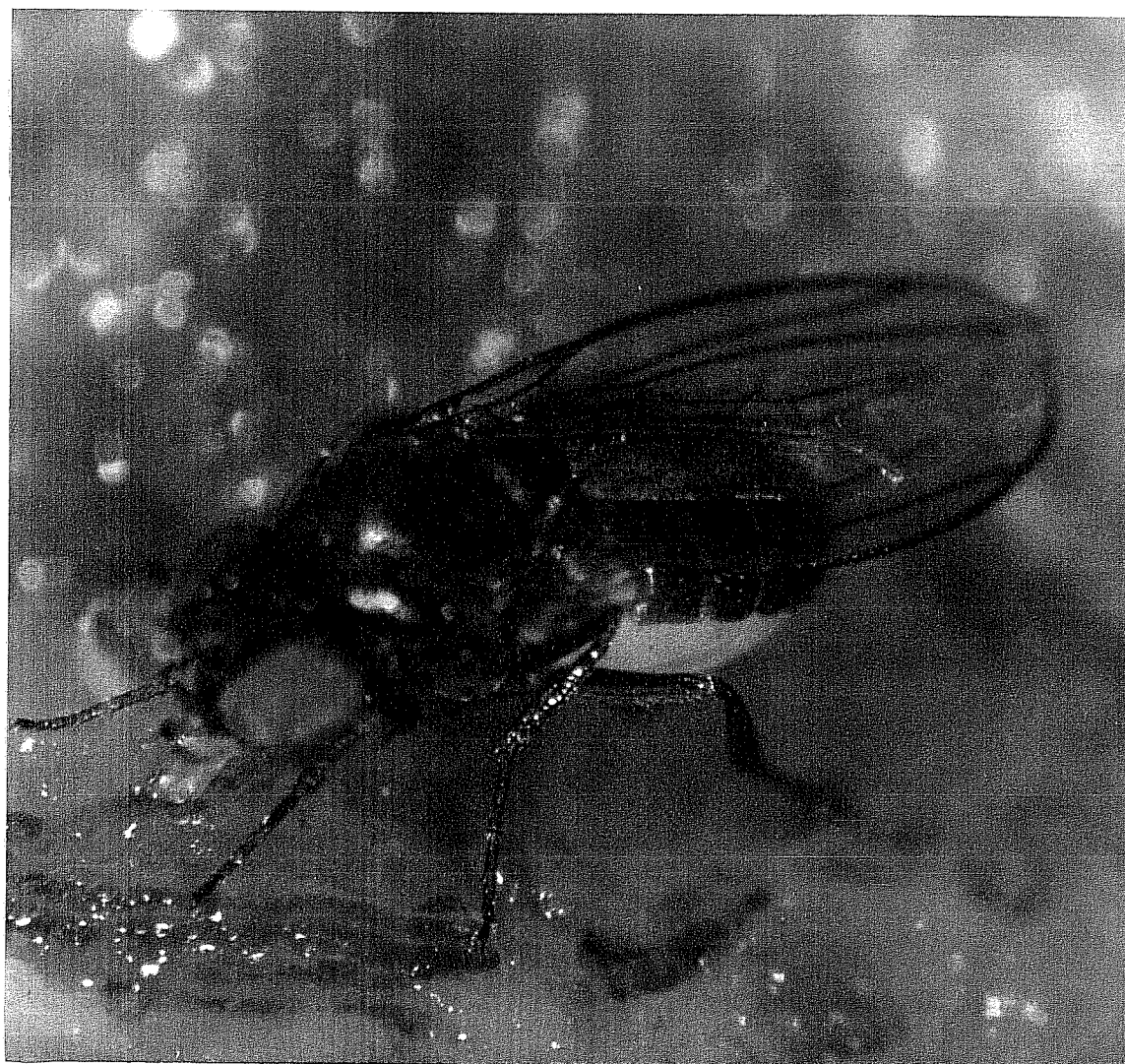
Tel. 886 31 84

Reg. A 0056

Carla José Azevedo Rego

Aspectos eco-etológicos de alimentação e oviposição

em *Drosophila subobscura* Collin, 1936



Lisboa - 1997

Agradecimentos

À Professora Teresa Avelar, que orientou todo o trabalho que conduziu à elaboração desta dissertação, foi incansável nos seus esforços e esteve sempre disponível para me apoiar.

À Professora Maria Teresa Rocha Pité que me possibilitou a utilização das instalações do Laboratório de Entomologia do Departamento de Zoologia e Antropologia da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, do material utilizado, do seu gabinete e me facultou alguma bibliografia.

À Professora Margarida Matos que foi a primeira pessoa a despertar o meu interesse para trabalhar com drosófilas, e me facultou o material biológico utilizado neste trabalho.

À Professora Glória Ramalho que prestou-me ajuda na abordagem estatística efectuada neste trabalho.

À Teresa Rebelo pela ajuda no departamento fotográfico.

A todos os meus colegas e amigos do Laboratório de Entomologia que sempre me apoiaram e ajudaram com a sua amizade.

E finalmente a todos os professores do Mestrado em Etologia pelo modo como me cativaram para o estudo da etologia.

Índice

1 - Introdução	1
2 - Material e métodos	5
2.1 - A população	5
2.2 - Formação das amostras	5
2.3 - Meios de cultura	7
2.3.1 - Meio axénico (David 1959)	7
2.3.2 - Meio de agar (David <i>et al.</i> 1971)	8
2.3.3 - Meio de gelatina (David <i>et al.</i> 1973)	8
2.3.4 - Meio de banana	8
2.4 - Metodologia utilizada nas observações	9
2.4.1 - Alimentação	11
2.4.2 - Oviposição	11
2.5 - Experiências	11
3 - Resultados	13
3.1 - Introdução	13
3.2 - Efeito de posição	13
3.2.1 - Alimentação	13
3.1.2 - Oviposição	17
3.3 - Meios nutritivos <i>versus</i> meio não nutritivo	18
3.3.1 - Meio axénico <i>versus</i> agar	18
3.3.1.1 - Alimentação	18
3.3.1.2. - Oviposição	21
3.3.2 - Banana <i>versus</i> agar	22
3.3.2.1 - Alimentação	22
3.3.2.2. - Oviposição	25
3.3.3 - Gelatina <i>versus</i> agar	26
3.3.3.1 - Alimentação	26
3.3.3.2 - Oviposição	28
3.4. - Comparação entre meios nutritivos	30
3.4.1 - Meio axénico <i>versus</i> banana	30
3.4.1.1 - Alimentação	30
3.4.1.2 - Oviposição	34

3.4.2 - Meio axénico <i>versus</i> gelatina	35
3.4.2.1 - Alimentação	35
3.4.2.2 - Oviposição	38
3.4.3 - Banana <i>versus</i> gelatina	38
3.4.3.1 - Alimentação	38
3.4.3.2 - Oviposição	41
3.5 - Efeito da experiência anterior	42
3.5.1 - Alimentação	42
3.5.2 - Oviposição	53
4 - Discussão	59
4.1 - Efeito de posição	59
4.2 - Meios nutritivos <i>versus</i> meio não nutritivo	60
4.3 - Comparação entre meios nutritivos	64
4.3.1 - Meio axénico <i>versus</i> banana	64
4.3.2 - Meio axénico <i>versus</i> gelatina	66
4.3.3 - Banana <i>versus</i> geletina	67
4.4 - Efeito da experiência anterior	68
5 - Conclusões	75
6 - Referências	77

1- Introdução

As drosófilas são primariamente consumidoras de leveduras e bactérias associadas com os estados iniciais da decomposição de materiais vegetais (Begon & Shorrocks 1978). Os locais naturais de alimentação e oviposição são conhecidos apenas para algumas espécies (Offenberger & Klarenberg 1992), pois grande parte dos estudos envolveu apenas colheitas efectuadas com armadilhas contendo isco à base de frutos (Pipkin 1965). Na literatura sobre o género *Drosophila* tem existido alguma confusão entre locais de alimentação (onde os adultos se alimentam de leveduras) e locais de oviposição (onde as fêmeas adultas põem os seus ovos). Frequentemente a presença de adultos de uma determinada espécie em fungos ou fluxos de seiva, tem sido considerada como evidência que essa espécie utiliza esse recurso como local de oviposição, no entanto a identificação destes locais deveria ser feita considerando a presença de estados imaturos (Shorrocks 1982). Este tipo de inferência tem sido posto em causa, pois vários autores encontraram evidências que sugerem que os locais de alimentação de larvas e adultos são diferentes (Gordon 1942, Carson & Stalker 1951, Carson 1951, Carson *et al.* 1956, Begon & Shorrocks 1978 *in* Shorrocks 1982). Estudos em que foram comparadas as leveduras isoladas do aparelho digestivo de algumas espécies de *Drosophila* com as leveduras isoladas dos locais de oviposição utilizados por essas espécies, demonstraram que os adultos não se alimentam e põem ovos nos mesmos recursos (Carson 1951, 1956 *in* Pipkin 1965).

Drosophila subobscura Collin, 1936 (Diptera: Drosophilidae) a espécie abordada neste estudo, ocorre naturalmente na Europa Central e Ocidental. Tradicionalmente os substratos utilizados pelas drosófilas de regiões temperadas, foram agrupados em quatro categorias principais (Carson 1971, Begon & Shorrocks 1978, Shorrocks 1982). Essas categorias são: frutos em fermentação, fluxos de seiva, fungos, e materiais vegetais em decomposição tais como folhas, caules e raízes. Têm sido encontradas larvas desta espécie, em recursos pertencentes a cada uma destas categorias. De acordo com essas observações a espécie é polífaga na sua dieta larvar e pode ser considerada generalista. Os adultos também têm sido observados numa grande variedade de recursos pertencentes às categorias já referidas (Krimbas 1993). Este autor refere que aparentemente esta espécie prefere os frutos em relação aos outros tipos de substrato, pois na natureza quando os frutos ficam disponíveis as moscas mudam para esse substrato (Begon 1975) e em condições laboratoriais preferem-no em relação aos outros (Kearny 1983 *in* Krimbas 1993).

De um modo geral sugere-se que a selecção natural favorecerá indivíduos mais especializados quando os recursos são previsíveis no espaço e no tempo, enquanto que

favorecerá a polifagia quando os recursos são imprevisíveis na sua ocorrência (Begon 1975, Shorrocks & Charlesworth 1980 *in* Shorrocks 1982). Recursos ricos em microorganismos como os que são explorados pelas drosófilas (tais como fungos em decomposição), estão distribuídos de um modo imprevisível (“patchy”) no espaço e no tempo e as moscas têm de os procurar à medida que estes ficam mais adequados para a alimentação e a oviposição.

Vários estudos abordaram as preferências de oviposição em diferentes espécies de *Drosophila* em condições laboratoriais. Os resultados obtidos permitem inferir que factores extrínsecos tais como as condições do substrato (David 1970, Atkinson 1983, Takamura 1984 *in* Ruiz-Dubreuil 1993), humidade (Sameoto & Miller 1966 *in* Ruiz-Dubreuil 1993), densidade das fêmeas (Barker 1973 *in* Ruiz-Dubreuil 1993), temperatura (Fogelman 1979 *in* Ruiz-Dubreuil 1993) e condições de iluminação (Seiger & Khamus 1987 *in* Ruiz-Dubreuil 1993) afectam a escolha do local de oviposição em *Drosophila*.

Brito da Cunha *et al.* (1957) refere que podem existir diferenças genéticas entre espécies e dentro da mesma espécie, determinando as preferências nutricionais e as reacções das moscas. Essas variações constituem a base genética para a adaptação das espécies ou da população ao alimento presente no seu ambiente e às espécies com quem competem. O desenvolvimento de preferências nutricionais diferentes é um dos mecanismos através dos quais as espécies simpátricas podem minimizar a competição entre elas, e adaptarem-se assim a viverem juntas.

Os modelos de processos que mantêm a variação genética através da heterogeneidade ambiental ou os modelos de especiação simpátrica assumem frequentemente que existe uma variação fenotípica nos comportamentos de resposta ao habitat de maneira a que os genótipos se associem aos habitats onde são relativamente melhores (e.g. Futuyma & Petersen 1985, Hedrick 1986 *in* Hoffmann & O'Donnell 1992) Uma das previsões desses modelos é que os indivíduos tendem a voltar aos habitats de onde originaram e onde presumivelmente têm melhores desempenhos (i.e. mostram fidelidade ao habitat). Isto pode ocorrer porque os indivíduos que experimentam um habitat tendem a regressar a ele e/ou devido a variação genética na resposta ao habitat.

Segundo Jaenike (1982), numa espécie fitófaga cujas larvas estão confinadas a uma única planta hospedeiro, são necessárias duas condições para que uma espécie incorpore um tipo de adicional de recurso larvar. Primeiro as fêmeas adultas têm de encontrar e estar disponíveis para porem ovos no novo hospedeiro, e segundo as larvas têm de ser capazes de se desenvolver com sucesso nesse novo recurso. No entanto salienta que estas duas condições não estão necessariamente associadas, e que os insectos não exibem automaticamente um comportamento de oviposição óptimo. Por

exemplo, Wiklund (1975 *in* Jaenike 1982) referiu que existe uma falta de concordância entre as preferências de oviposição e a sobrevivência larvar em várias plantas hospedeiro numa população da borboleta *Papilio machaon*.

Jaenike (1982) refere que as alterações no comportamento de oviposição, nomeadamente a oviposição num novo recurso, podem resultar de influências genéticas e/ou ambientais nos indivíduos. No que diz respeito a factores ambientais, Thorpe (1939 *in* Jaenike 1982) e Crombie (1944 *in* Jaenike 1982) apresentaram evidências de que os alimentos larvares e dos adultos podem ter influências significativas nas respostas quimio-tacteis de *Drosophila*. Jaenike (*op cit.*) salientou a importância de realizar estudos do comportamento de oviposição para avaliar o efeito da experiência anterior na selecção de hospedeiro. Este autor refere que em estudos anteriores sobre as preferências de local de oviposição os efeitos dos ambientes larvares e do adulto foram confundidos (Suster 1933, Cushing 1941, Montieith 1955, Clutterbuck & Beardmore 1961 Philips & Barnes 1975, Smith & Cornell 1979 *in* Jaenike 1982). Isto é, os insectos cujo comportamento de oviposição estava a ser estudado foram mantidos ou foi-lhes permitido emergir na presença do seu alimento larvar. Uma vez que as alterações comportamentais mediadas pela larva e pelo adulto podem ter consequências ecológicas e evolutivas diferentes, Jaenike (1982) considera que é importante distinguir entre eles.

Jaenike (1982) estudou os efeitos da exposição das larvas e adultos a várias substâncias, e concluiu de que embora a exposição prévia a algumas substâncias possa afectar o comportamento de oviposição, nem todas as que foram testadas tiveram um influência modificadora. Este autor apenas encontrou evidências de que a experiência no estado adulto afecta essas preferências. Mas refere que embora não tenha sido encontrada nenhuma evidência de condicionamento larvar nestas experiências, o ambiente larvar pode ter uma influência no comportamento de oviposição se os adultos emergirem nas proximidades dos seus recursos larvares. Este autor considera o caso em que os indivíduos não pupam muito longe do local onde estiveram como larvas, e que o ambiente é espacialmente “patchy” mas temporalmente razoavelmente estável sob o ponto de vista da espécie. Então, na altura da emergência, os indivíduos encontram um ambiente muito semelhante ao que experimentaram como larvas. Uma vez que as preferências de oviposição podem ser modificadas pelo ambiente do adulto, as consequências ecológicas serão semelhantes às esperadas como resultado do condicionamento larvar.

Hoffmann (1988), refere que vários trabalhos realizados em laboratório e no campo têm apoiado a ideia de que a experiência dos adultos com hospedeiros pode afectar as respostas subsequentes a esses hospedeiros (e.g. Prokopy *et al.* 1982, Jaenike 1982, 1983, Traynier 1984, Hoffman 1985, Papaj 1986 *in* Hoffmann 1988). Segundo

este autor a maioria dos estudos assinalaram efeitos positivos, onde os insectos mostram uma tendência para serem atraídos ou porem mais ovos, no hospedeiro a que foram expostos. No entanto alguns estudos detectaram efeitos negativos (e.g. Dethier 1980, Hoffmann 1985, Blaney & Simmonds 1985 in Hoffmann 1988), e outros não detectaram a presença desse efeito. Hoffmann (1988) refere ainda que os efeitos positivos são geralmente interpretados como evidência de que os insectos podem aprender a ficar associados a hospedeiros particulares (mostrar fidelidade de habitat).

Neste trabalho pretende-se estudar as preferências de alimentação e oviposição de *D. subscura* em condições laboratoriais. O objectivo é averiguar se os indivíduos pertencentes a uma população laboratorial, mantida em condições estáveis há cerca de 70 gerações, têm a capacidade de discriminar entre meios nutritivos (familiares ou não) e um meio não nutritivo nos seus comportamentos alimentar e de oviposição. Outro objectivo é averiguar se estes indivíduos discriminam entre os vários meios alimentares nutritivos testados e avaliar se as escolhas de alimentação e oviposição são influenciadas por factores como a posição relativa em que os alimentos são apresentados, o sexo, a experiência sexual e a experiência prévia que os indivíduos tiveram com os vários meios.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - A população

Foram utilizados indivíduos de uma população laboratorial de *Drosophila subobscura* Collin, 1936, fundada em 1990 por 140 fêmeas e 50 machos capturados num pinhal perto da praia de Adraga na região de Sintra-Colares (Matos 1996).

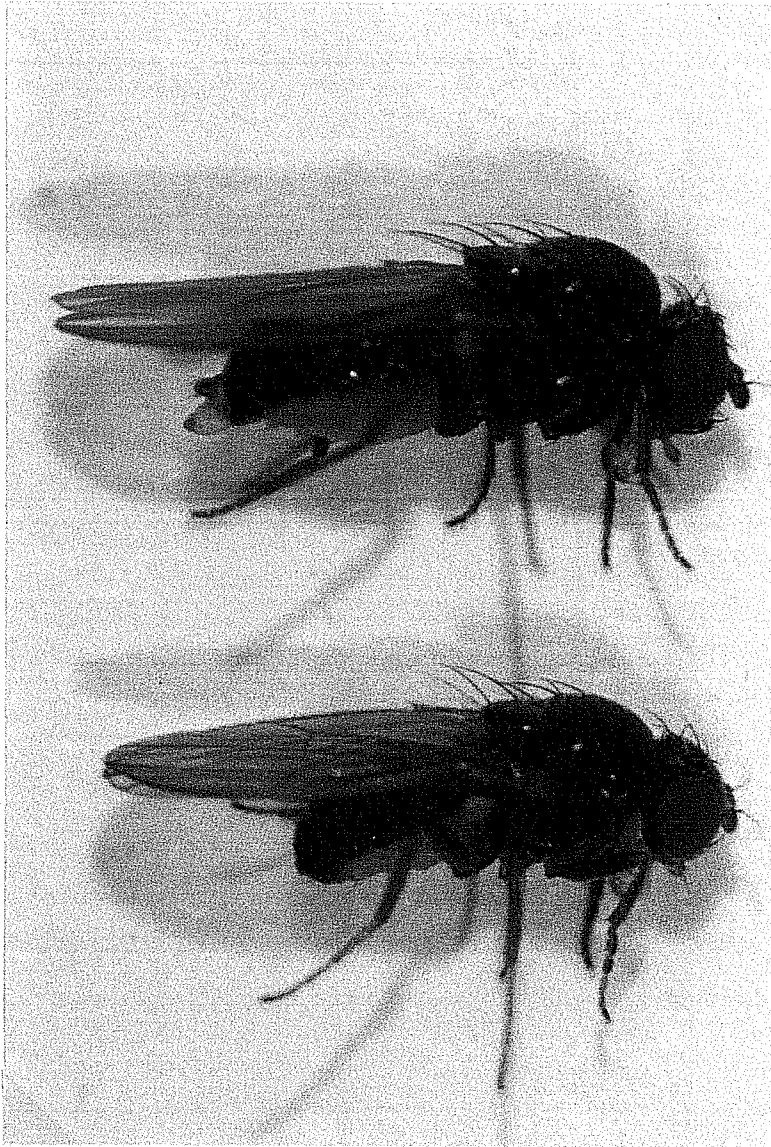
Esta população foi mantida Desde a sua fundação em incubadoras Selecta P (Hot-Cold S) a cerca de 18 °C (ótimo térmico para esta espécie: Rocha Pité 1977, 1980), com um fotoperíodo de 12h L: 12h D. Os indivíduos foram mantidos em tubos de vidro (2x10 cm) contendo cerca de 1 ml de um meio de cultura, semelhante ao meio axénico de David (1959; ver ponto 2.3.1), em densidades controladas, i.e. aproximadamente 50 indivíduos por tubo. A população foi mantida em gerações discretas, sendo o intervalo médio entre gerações (tempo de geração) de 33 dias e o tempo de desenvolvimento máximo dos indivíduos utilizados em cada geração de 21 dias. No início de cada nova geração foram recolhidos os ovos postos durante 24 horas pelas fêmeas da geração anterior, quando estas tinham em média cerca de 14 dias de idade, após o que foram colocados em tubos contendo 3 ml de meio fresco (cerca de 60-80 ovos por tubo). De um modo geral, no dia da recolha de ovos o número de adultos foi cerca de 1000 (Matos *op cit.*).

As experiências tiveram o seu início quando a população em questão se encontrava na 70ª geração em ambiente laboratorial e prolongaram-se até à 76ª.

2.2 - Formação das amostras

Em cada uma das gerações analisadas foram recolhidos ovos adicionais (cerca de 48 tubos), para impedir que as experiências em questão interferissem com a manutenção da população. Estes ovos foram recolhidos e mantidos em condições semelhantes às dos ovos utilizados na manutenção da população.

Na altura da emergência dos imagos, estes foram recolhidos diariamente nos dias que corresponderam a uma maior concentração de emergências, e separados de acordo com o sexo (Fotografia 1). Para tal os indivíduos foram anestesiados com CO₂, utilizando uma placa porosa própria para o efeito, ligada a uma botija contendo este gaz, e foram observados num microscópio binocular - Wild Heerbrug M5, ocular 10x, ampliação 12. Após a separação, os adultos foram colocados em tubos contendo meio fresco (cerca de 30 indivíduos por tubo), em três combinações diferentes: apenas



Fotografia 1 - Fêmea (em cima) e macho (em baixo) de *D. subobscura*

fêmeas, apenas machos, e machos e fêmeas em proporções iguais. Esta separação diária foi realizada para garantir que uma parte dos indivíduos eram virgens na altura da formação das amostras, uma vez que se pretendia comparar indivíduos virgens e acasalados. Os imagos foram mantidos em condições semelhantes às da população sendo transferidos para meio fresco em dias alternados.

As experiências foram levadas a cabo quando os indivíduos tinham entre 8 e 14 dias de idade. A escolha da idade deveu-se a dois factores: ao facto de que segundo Atkinson (1979 *in* Prophetou-Athanasiou *et al.* 1993), a 18°C os ovários das fêmeas desta espécie atingem o tamanho máximo no oitavo dia de idade e ao facto das fêmeas apresentarem um pico de fecundidade perto dos 14 dias de idade (Matos 1996). Assim ao escolher esta idade há uma certa garantia por um lado que os indivíduos com oportunidade de acasalar o fizeram, e por outro que a oviposição é possível.

No 7º ou 8º dia de idade os indivíduos dos tubos contendo ambos os sexos, foram separados de acordo com o sexo. Esta separação foi realizada sem recorrer à utilização de CO₂ uma vez que esta poderia alterar o seu comportamento nomeadamente diminuindo a discriminação (David *et al.* 1971), ou afectando a memória (Quinn & Dudai 1976 *in* Jaenike 1982). A separação foi efectuada colocando os adultos individualmente em tubos vazios e observando-os ao microscópio para determinar o seu sexo. Após a separação, foram colocados 30 indivíduos por tubo contendo meio de cultura fresco.

2.3 - Meios de cultura

Neste trabalho foram utilizados vários meios de cultura, nomeadamente meios nutritivos como o meio axénico e os meios à base de banana, e um meio não nutritivo (meio de agar). Nos pontos seguintes far-se-à uma breve descrição da sua composição, modo de preparação e valor nutritivo para as larvas e adultos da espécie estudada.

2.3.1. - Meio axénico (David 1959)

Este meio é composto por: 7,5 g de agar-agar que determina a consistência do meio, 4g de nipagina (um fungicida e bactericida), 55 g de farinha de milho (fonte de carboidratos), 57,5 g de levedura de cerveja (fonte de proteínas e lípidos), e uma colher de sobremesa de carvão animal, utilizado para facilitar a visualização dos ovos. Adicionam-se todos os ingredientes, com excepção do agar, a 450 ml de água

previamente fervida e ligeiramente arrefecida. O agar é fervido separadamente em 200 ml de água, após o que é adicionado à mistura anterior, e o meio resultante era colocado nos tubos. Este meio proporciona todos os elementos necessários a uma boa alimentação das larvas e dos adultos desta espécie.

2.3.2 - Meio de agar (David *et al.* 1971)

Este meio é composto por 1,5 % de agar e 0,4% nipagina. Dissolvem-se 4,5 g de agar-agar e 1,2 g de nipagina em 300ml de água, ferve-se a solução resultante durante alguns minutos e junta-se $\frac{1}{2}$ colher de sobremesa de carvão animal. Este meio é destituído de qualquer valor nutritivo, fornece apenas humidade, permite a sobrevivência dos adultos durante algumas horas (e.g. Matos 1996) e é inadequado para as larvas desta espécie.

2.3.3 - Meio de gelatina (David *et al.* 1973)

Este meio consiste num meio de agar ao qual foi adicionado açúcar numa proporção de 10% (30g para 300ml de água) e tal como os dois meios anteriores, também contém carvão animal. Permite a sobrevivência dos adultos (podendo aumentar a sua longevidade), não permite uma fecundidade normal (por falta de proteínas) e é inadequado para o desenvolvimento larvar.

2.3.4 - Meio de banana

Numa primeira fase foram utilizadas bananas provenientes da Ilha da Madeira, amadurecidas durante cerca de 10 dias. Com o auxílio de um garfo, estas foram esmagadas e colocadas nos recipientes das caixas de observação sem adição de outros produtos. A banana é um bom alimento para larvas e adultos de *Drosophila subobscura* e tem-se revelado um isco atractivo em trabalhos realizados na natureza (Rocha Pité 1972, Krimbas 1993).

Posteriormente foi adicionado agar-agar ao fruto, para aumentar a consistência do meio, pois constatou-se que a banana amadurecida aumentava a mortalidade dos adultos mantidos em condições laboratoriais. Esse aumento deveu-se principalmente a problemas de excesso de humidade e de fungos, resultantes do processo de

amadurecimento do fruto, o que dificultou a transferência dos indivíduos para tubos contendo banana menos liquefeita e contaminada .

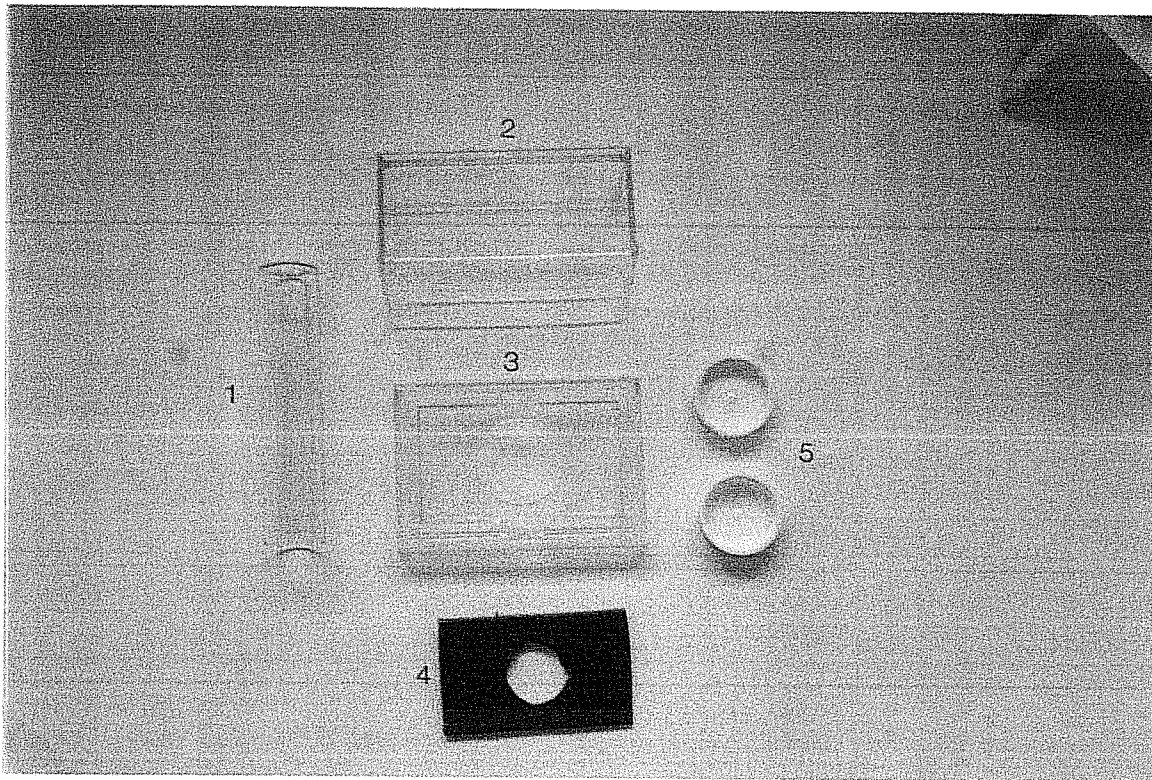
A adição do agar foi realizada do seguinte modo: 3g de agar foram dissolvidas em 200ml de água que ferveu durante alguns minutos, após o que se deixou que a solução arrefecesse até cerca de 30 °C, antes de adicionar 50g de banana amadurecida. Esta temperatura era suficiente para possibilitar a dissolução da banana e ao mesmo tempo diminuir alterações provocadas pelo calor.

2.4 - Metodologia utilizada nas observações

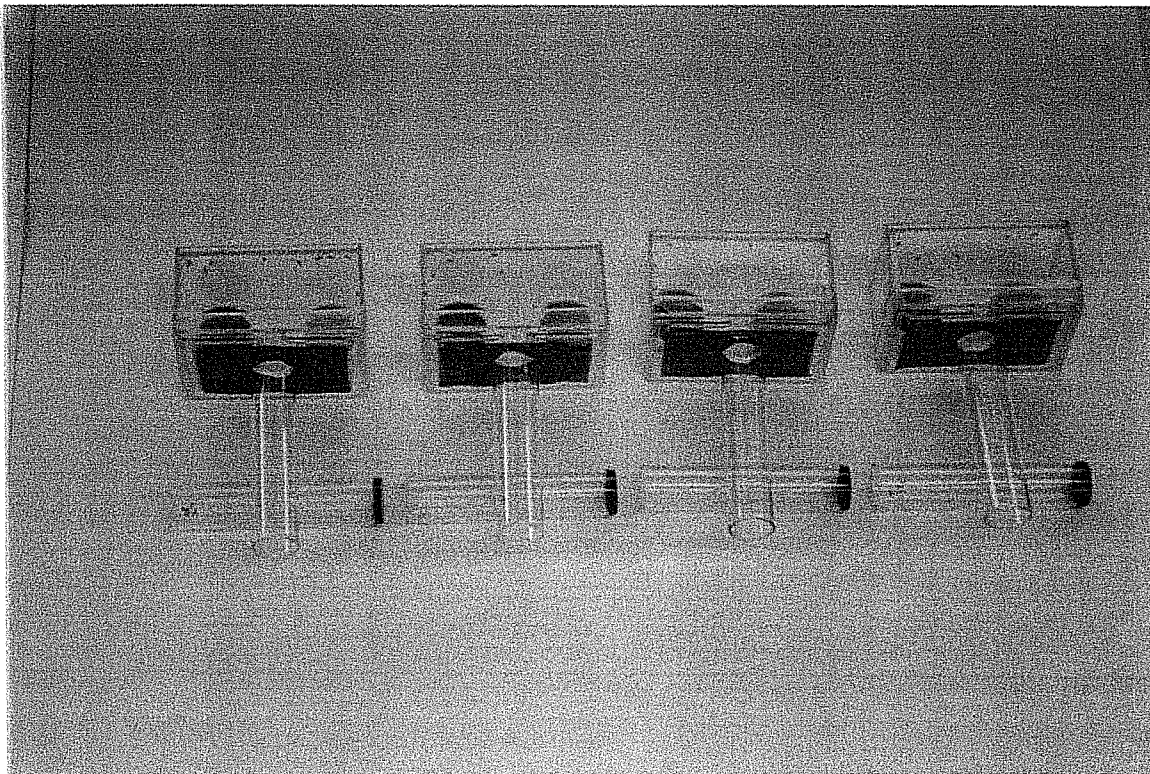
Os indivíduos observados foram sujeitos a um período prévio de privação de alimento, passando cerca de catorze horas (das 19h de um dia até às 8h30 do dia seguinte) em tubos contendo um meio não nutritivo designado por meio de agar (ver ponto 2.3.2). Após este período, foram transferidos para as caixas de observação, em grupos de 15 indivíduos de uma das quatro categorias a observar (machos virgens, machos acasalados, fêmeas virgens e fêmeas acasaladas). Em cada ensaio foram constituídas duas amostras de cada uma das quatro situações.

Os indivíduos foram observados em caixas de plástico transparente com um volume de cerca de 190 ml. Essas caixas possuem na tampa um orifício ao qual foi acoplado um tubo de vidro para possibilitar a entrada dos indivíduos. No interior de cada caixa foram colocados dois recipientes, cada um deles contendo um dos alimentos em análise: meio axénico, agar, meio de gelatina ou banana. Os alimentos foram colocados alternamente à esquerda e à direita do ponto de entrada: assim em cada ensaio, uma das caixas tinha um dos alimentos à esquerda e a respectiva réplica tinha o mesmo alimento à direita. Isto foi feito para eliminar um eventual efeito de posição. A existência deste efeito foi testada em dois ensaios em que ambos os recipientes continham meio axénico (ver ponto 3.1).

A colocação dos indivíduos nas caixas de observação foi efectuada, transferindo-os dos tubos com meio de gelatina para tubos vazios, tubos esses que foram acoplados às caixas de observação. Após a entrada de todos os indivíduos para o interior das caixas, os tubos de entrada foram invertidos, ficando a extremidade fechada virada para o interior, impossibilitando assim os movimentos das drosófilas para o interior dos mesmos.



Fotografia 2 - Material utilizado na montagem das caixas de observação. 1- tubo de vidro, 2- caixa de observação, 3 - tampa da caixa de observação, 4 - cartão utilizado na acoplagem do tubo à caixa, 5 - recipientes para conter os meios analisados.



Fotografia 3 - Caixas de observação contendo os indivíduos em estudo

2.4.1 - Alimentação

As observações respeitantes à alimentação foram realizadas em três períodos distintos, o primeiro teve início logo após a transferência dos indivíduos para as caixas e foi constituído por quatro pontos de amostragem; o segundo iniciou-se uma hora após o final do período anterior, abrangendo 3 pontos de amostragem e o último, envolvendo igualmente 3 pontos de amostragem, decorreu passadas 24 horas após o final do segundo. Dentro de cada período de observação, o intervalo entre pontos de amostragem foi de 10 minutos. Todos os períodos de observação foram efectuados durante a manhã (tiveram o seu início cerca das 8h 30, 11h do primeiro dia e 11h do dia seguinte respectivamente), pois esta espécie tem dois picos de actividade diária um ao amanhecer e outro ao entardecer (Krimbas 1993). Em cada ponto de amostragem foi contabilizado o número de indivíduos presentes em cada meio. No final de cada período de observação os indivíduos foram contabilizados para detectar eventuais fugas ou mortes.

2.4.2 - Oviposição

No final das observações respeitantes à alimentação, os indivíduos foram retirados das caixas, e os recipientes provenientes das caixas que haviam contido fêmeas (virgens e acasaladas) foram observados num microscópio binocular (Wild Heerbrug M5, ocular 10x, ampliação 12) para contabilizar os ovos postos.

Entre ensaios todo o material utilizado nas caixas foi lavado para impedir que os vestígios de um ensaio alterassem os resultados do ensaio seguinte.

2.5 - Experiências

Numa primeira fase foram testadas as preferências alimentares e de oviposição de indivíduos que apenas tiveram contacto com meio axénico, desde a fase larvar até ao momento em que foram sujeitos ao período de fome para posteriormente serem observados. Para testar se os indivíduos conseguiam discriminar entre um meio nutritivo (i.e. contendo pelo menos açúcares) familiar ou não e um meio não nutritivo, foram efectuados as seguintes experiências: meio axénico *versus* agar (para o qual foram realizados três ensaios), banana *versus* agar (dois ensaios) e gelatina *versus* agar (dois ensaios). Também foram realizadas experiências que envolveram a escolha entre dois meios nutritivos: meio axénico

versus banana (três ensaios), meio axénico *versus* gelatina (um ensaio) e banana *versus* gelatina (um ensaio).

Posteriormente foram realizadas mais três grupos de ensaios, em que se manipularam os meios de cultura com que as drosófilas contactaram durante as suas fases larvar e adulta. Estes ensaios foram realizados com o objectivo de tentar detectar a possível existência de um processo de aprendizagem, numa das duas fases do seu ciclo de vida, no que se refere aos dois comportamentos abordados.

Assim foram realizados ensaios com indivíduos que passaram a fase larvar em banana e a fase adulta em meio axénico (indivíduos BA). Estes indivíduos foram transferidos na fase de pupa para tubos vazios e mais tarde os adultos recém-emergidos foram transferidos para tubos com meio axénico. Esta manipulação foi necessária para garantir que os adultos não tivessem qualquer contacto com a banana. Os ensaios realizados com estes indivíduos envolveram a escolha entre meio axénico e banana (dois ensaios).

A fase seguinte de ensaios envolveu indivíduos que passaram toda a sua vida em contacto com banana (indivíduos BB). A sua manutenção na fase adulta envolveu a alteração do meio “banana”, pelas razões referidas no ponto 2.3.4. As experiências envolvendo estes indivíduos foram semelhantes aos da fase anterior, sendo a banana substituída pelo novo meio à base de banana. Foram realizados três ensaios para a experiência meio axénico *versus* banana

A última fase de ensaios envolveu indivíduos que se desenvolveram na fase larvar em meio axénico, e passaram a fase adulta em banana (indivíduos AB). Tal como na situação anterior estes indivíduos foram mantidos em banana mais gelatina até à altura das experiências que foram semelhantes aos da fase anterior (dois ensaios).

Nas várias experiências efectuadas, o número de ensaios realizados para cada uma variou, pois o número de indivíduos em condições de serem observados em cada um dos casos, nem sempre permitiu a realização de todos ensaios planeados.

A análise estatística efectuada no tratamento dos resultados consistiu principalmente em testes Qui-quadrado (de aderência e independência), uma vez que os dados obtidos consistiram em contagens do número de indivíduos ou do número de ovos observados em cada meio. Para a apresentação e tratamento dos resultados foram utilizados os programas EXCEL, ACTUS e STATISTICA.

3 - RESULTADOS

3.1 - Introdução

No âmbito deste trabalho foram efectuadas experiências para tentar determinar se existia um efeito consistente de posição dos meios nas caixas, que afectasse os comportamentos em análise. Foram igualmente realizados testes para avaliar se os indivíduos tinham a capacidade de discriminar entre meios nutritivos e não nutritivos (testes envolvendo o meio agar), e entre vários tipos de meios nutritivos. Finalmente foram efectuadas experiências com vista a analisar se o contacto prévio com os diferentes meios alimentares, nomeadamente a altura do ciclo de vida em que esse contacto ocorre, influencia as escolhas de alimentação e oviposição nestes indivíduos.

3.2 - Efeito de posição

3.2.1 - Alimentação

Os dados relativos aos dois ensaios efectuados para testar a existência de um eventual efeito de posição dos meios nas caixas, estão representados nas Figuras 1 e 2. Em cada gráfico estão representados os dados referentes aos 30 indivíduos com o mesmo sexo e o mesmo estado de acasalamento (fêmeas virgens, fêmeas acasaladas, etc.). Os dados de alimentação das duas caixas observadas, foram somados para aumentar o tamanho da amostra, uma vez que em cada caixa o número de indivíduos observados nos meios foi pequeno. No primeiro ensaio foram registadas quatro fugas numa das caixas contendo fêmeas virgens e no segundo foi registada uma morte numa caixa contendo machos virgens. Em ambos os ensaios a diminuição de indivíduos ocorreu no intervalo de tempo entre o segundo e o terceiro períodos de amostragem.

Observando as figuras, o primeiro aspecto a salientar é que na maior parte dos pontos de amostragem, a maioria dos indivíduos encontra-se fora de qualquer um dos meios. Apenas as fêmeas virgens apresentam pontos em que os indivíduos não se encontram predominantemente na categoria "F", correspondente a estar nas paredes das caixas (pontos 8, 9 e 10 das figuras 1d e 2d). Para avaliar se as diferenças detectadas entre estar dentro e fora dos meios alimentares eram significativas, foram realizados testes Qui-quadrado de aderência, para cada um dos pontos de amostragem realizados nos vários ensaios. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela I

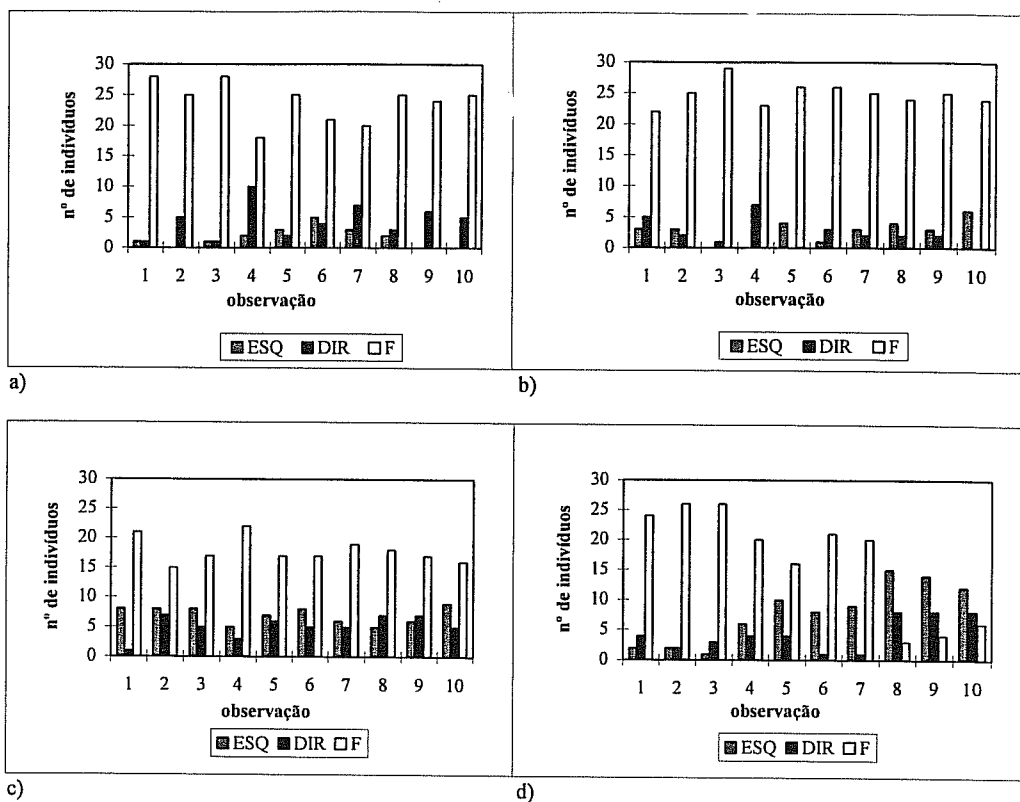


Figura 1 - Número de indivíduos observados à esquerda (ESQ), direita (DIR) e fora dos meios (F) no primeiro ensaio realizado para o teste esquerda versus direita (28 e 29/ 11/ 96). a) machos acasalados , b) machos virgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas virgens.

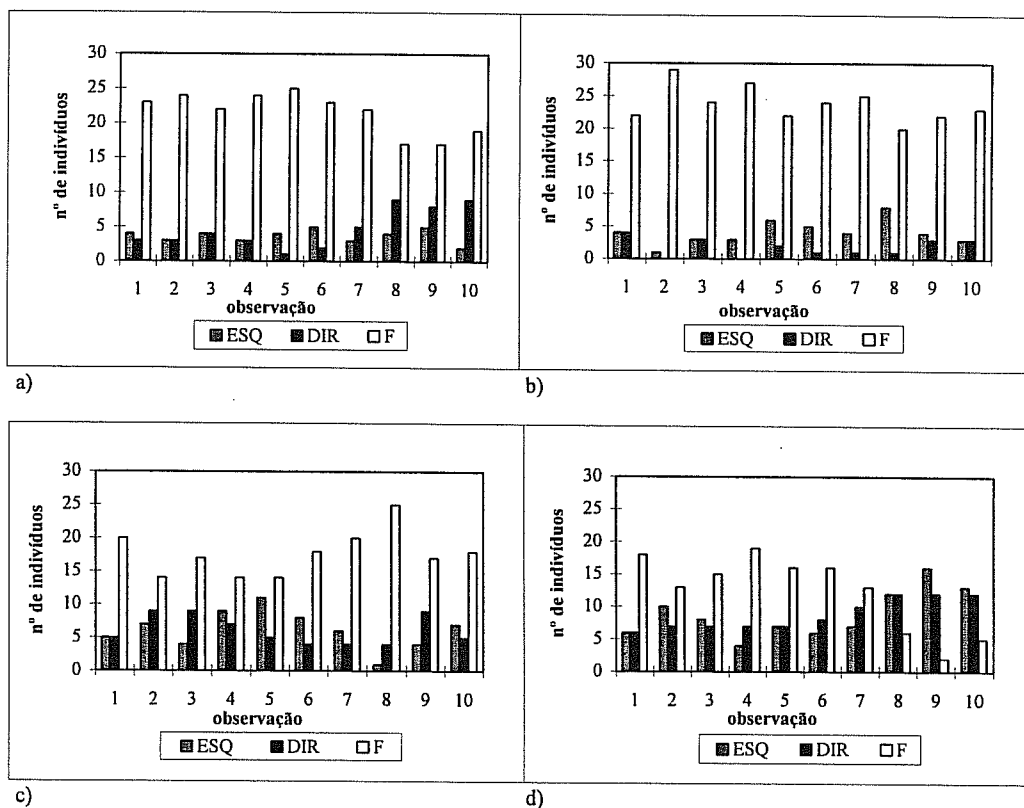


Figura 2 - Número de indivíduos observados à esquerda (ESQ), direita (DIR) e fora dos meios (F) no segundo ensaio realizado para o teste esquerda versus direita (28 e 29/ 11/ 96). a) machos acasalados , b) machos virgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas virgens.

Observando a Tabela I, podemos constatar que no conjunto dos dois ensaios efectuados, os machos e as fêmeas aparentemente apresentam padrões diferentes. Os machos (acasalados e virgens) são observados predominantemente fora dos meios. Na maioria dos pontos de amostragem o número de indivíduos fora dos alimentos é significativamente maior. As fêmeas, apresentam uma predominância de pontos em que não existem diferenças significativas entre estar dentro e fora dos alimentos. E as fêmeas virgens foram os únicos indivíduos a manifestar uma preferência por estar nos meios, embora essa preferência apenas se manifeste no último período de amostragem.

Nos pontos em que foi detectada uma preferência por estar nos alimentos, foram efectuados testes Qui-quadrado de aderência para averiguar se existia alguma preferência no que diz respeito à posição do alimento em relação ao ponto de entrada dos indivíduos. Os resultados desses testes estão representados na Tabela II.

Tabela I - Valores de Qui-quadrado comparando estar nos meios (D) com estar fora (F), nas células em que os valores são significativos está assinalado o sentido da preferência. As células sombreadas correspondem a células em os valores são não significativos ou significativos no sentido de estar nos meios. P.a. - ponto de amostragem, Mac - machos acasalados, Mv - machos virgens, Fac - fêmeas acasaladas, Fv - fêmeas virgens, n.s. - não significativo, * - $0.025 < p < 0.05$, ** - $0.01 < p < 0.025$, *** - $0.01 < p < 0.005$, **** - $0.005 < p < 0.001$, ***** - $p < 0.001$. Em todas as células o número de graus de liberdade foi igual a 1.

P.a.	1º ensaio				2º ensaio			
	Mac	Mv	Fac	Fv	Mac	Mv	Fac	Fv
1	22.53	6.53	4.80	10.80	8.53	6.53	3.33	1.20
	***** F	** F	* F	**** F	**** F	** F	n.s. n.s.	n.s. n.s.
2	13.33	13.33	0	16.13	10.80	26.13	0.13	0.53
	***** F	***** F	n.s. n.s.	***** F	***** F	***** F	n.s. n.s.	n.s. n.s.
3	22.53	26.13	0.53	16.13	6.53	10.80	0.53	0
	***** F	***** F	n.s. n.s.	***** F	** F	***** F	n.s. n.s.	n.s. n.s.
4	1.20	8.53	6.53	3.33	10.80	19.20	0.13	2.13
	n.s. n.s.	***** F	** F	n.s. n.s.	***** F	***** F	n.s. n.s.	n.s. n.s.
5	13.33	16.13	0.53	0.13	13.33	6.53	0.13	0.13
	***** F	***** F	n.s. n.s.	n.s. n.s.	***** F	** F	n.s. n.s.	n.s. n.s.
6	4.80	16.13	0.53	4.80	8.53	10.80	1.20	0.13
	* F	***** F	n.s. n.s.	* F	**** F	**** F	n.s. n.s.	n.s. n.s.
7	3.33	13.33	2.13	3.33	6.53	13.33	3.33	0.53
	n.s. n.s.	***** F	n.s. n.s.	n.s. n.s.	** F	***** F	n.s. n.s.	n.s. n.s.
8	13.33	10.80	1.20	15.13	0.53	4.17	13.33	10.80
	***** F	**** F	n.s. n.s.	***** D	n.s. n.s.	* F	***** F	**** D
9	10.80	13.33	0.53	15.46	0.53	7.76	0.53	22.53
	**** F	***** F	n.s. n.s.	***** D	n.s. n.s.	*** F	n.s. n.s.	***** D
10	13.33	10.80	0.13	7.54	2.13	11.17	1.20	13.33
	***** F	**** F	n.s. n.s.	*** D	n.s. n.s.	***** F	n.s. n.s.	***** D

Tabela II - Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, comparando estas do lado esquerdo com estar do lado direito, para os pontos em que as fêmeas virgens preferiram estar nos meios. P.a. - ponto de amostragem, Pref. - preferência, n.s. - não significativo. Todos os valores correspondem a 1 grau de liberdade.

Ensaio	p.a.	X ²	p	Pref.
1º	8	2.13	n.s.	----
	9	1.64	"	----
	10	0.80	"	----
2º	8	0.00	"	----
	9	0.57	"	----
	10	0.04	"	----

Da observação da Tabela II podemos inferir que não existe uma preferência em relação à posição em que os meios são apresentados, pois a distribuição dos indivíduos pelos dois meios, não difere significativamente do que seria de esperar se esta fosse aleatória.

Em seguida foram realizados testes semelhantes para os pontos de amostragem em que não foram detectadas diferenças significativas entre o número de indivíduos observados dentro e fora dos meios. Também neste caso a tendência foi para a grande maioria dos pontos não apresentarem diferenças significativas entre as duas posições. Existem apenas três pontos em que surgem diferenças significativas num dos sentidos. Nomeadamente no 7º ponto de amostragem das fêmeas virgens do primeiro ensaio, em que foi detectada uma preferência pelo meio colocado à esquerda ($X^2 = 6.40$, g.l. = 1, $0.01 < p < 0.02$), e nos pontos 4 e 10 dos machos acasalados do 1º e 2º ensaios respectivamente, em que a preferência é pelo meio colocado no lado direito ($X^2 = 5.33$, g.l. = 1, $0.02 < p < 0.025$; $X^2 = 4.45$, g.l. = 1, $0.025 < p < 0.05$).

Nos pontos de amostragem correspondentes ao último período de observação, foram ainda realizados testes Qui-quadrado de independência, para testar o eventual efeito do estado de acasalamento na escolha de posição efectada pelas fêmeas acasaladas e virgens. Esta análise não foi realizada para os machos uma vez que estes de um modo geral foram observados em número muito reduzido nos meios (ver Figuras 1 e 2). Os resultados apontam para o facto de não existirem diferenças significativas entre indivíduos virgens e acasalados no que diz respeito à sua distribuição pelas suas posições (Tabela III).

Tabela III - Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, comparando o número de fêmeas virgens e acasalados, observado à esquerda e à direita, nos pontos de amostragem (p.a.) do último período de observação. Ver legenda da Tabela I para valores de significância.

p.a.	1º ensaio	2º ensaio
8	1.786 n.s.	1.501 n.s.
9	1.020 n.s.	1.365 n.s.
10	0.064 n.s.	0.131 n.s.

3.2.2 - Oviposição

Os dados referentes à oviposição estão representados na Tabela IV. Observando essa tabela podemos constatar que apenas as fêmeas acasaladas realizaram posturas. Na Tabela V estão representados os valores dos testes Qui-quadrado realizados para comparar o número de ovos colocados em cada uma das posições. Da sua observação podemos constatar que as posturas não apresentam um padrão consistente de preferência por uma das posições em que o meio é apresentado. Em ambos os ensaios os indivíduos de uma das caixas preferiram uma posição enquanto que os da outra caixa preferiram a posição contrária.

Tabela IV- Número de ovos postos por fêmeas acasaladas (fêmeas aca.) e fêmeas virgens (fêmeas vir.) em cada uma das caixas (C1 e C2) dos dois ensaios realizados para o teste sobre o efeito de posição.

	1º ensaio				2º ensaio			
	fêmeas aca.		fêmeas vir.		fêmeas aca.		fêmeas vir.	
	esq.	dir.	esq.	dir.	esq.	dir.	esq.	dir.
C1	73	34	0	0	36	170	0	0
C2	104	146	0	0	92	29	0	0

Tabela V- Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, para o número de ovos postos pelas fêmeas acasaladas à esquerda e à direita do ponto de entrada. Pref. - preferência, ver legenda da Tabela I para valores de significância.

ensaio	caixa	X ²	p	Pref.
1º	C1	14.2	*****	esq.
	C2	7	***	dir.
2º	C1	87.2	*****	dir.
	C2	32.8	*****	esq.

3.3 - Meios nutritivos vs. meio não nutritivo

3.3.1 - Meio axénico *versus* agar

3.3.1.1- Alimentação

Foram realizados três ensaios em que se compararam as preferências entre meio axénico (meio nutritivo) e meio de agar (meio não nutritivo). Os resultados estão representados nas Figuras 3, 4 e 5. Da observação destas figuras há vários aspectos a salientar. O primeiro diz respeito às fugas observadas. No primeiro ensaio fugiram cinco machos virgens e uma fêmea igualmente virgem. No segundo ensaio registou-se um elevado número de fugas, particularmente nas caixas contendo machos, no total fugiram nove machos virgens, desasseis machos acasalados, quatro fêmeas virgens e quatro fêmeas acasaladas. No terceiro ensaio foi registada a fuga de quatro machos virgens. Em todos os ensaios, tal como no teste anterior, as fugas ocorreram no intervalo de tempo entre o segundo e terceiro períodos de observação.

O segundo ponto a salientar é que aparentemente existem diferenças entre os vários ensaios realizados. O primeiro ensaio destaca-se pois aponta para uma tendência generalizada para os indivíduos preferirem estar nos meios. Nomeadamente, pela primeira vez foram observados pontos de amostragem em que os machos (acasalados e virgens), preferiram estar nos meios (Tabela VI), ao contrário do que acontece nos restantes ensaios, em que a tendência é preferir estar fora dos alimentos. No que diz respeito às fêmeas, em todos os períodos de amostragem do primeiro ensaio, foram observados pontos em que estas preferiram estar nos alimentos. Nos restantes ensaios esta preferência apenas foi detectada no último período de observação, com excepção do ponto 2 das fêmeas virgens do terceiro ensaio (Tabela VI).

No conjunto dos três ensaios, foi detectada uma preferência por meio axénico, pois em todos os pontos de amostragem em que os indivíduos foram observados em maior número nos alimentos, o número observado neste meio foi significativamente maior (Tabela VII).

Em relação aos pontos em que as diferenças entre estar nos meios e estar nas paredes das caixas não são significativas, também existe uma tendência semelhante. No conjunto dos três ensaios, apenas dois pontos traduzem diferenças não significativas entre os dois meios. Ocorrem ambos no terceiro ensaio e correspondem aos pontos 10 das fêmeas acasaladas e 4 dos machos virgens. Dos restantes 55 pontos 55% (30) correspondem a frequências de 100% dos indivíduos no meio axénico, e 45% (25) traduzem uma tendência para preferir igualmente este meio ($P < 0.025$).

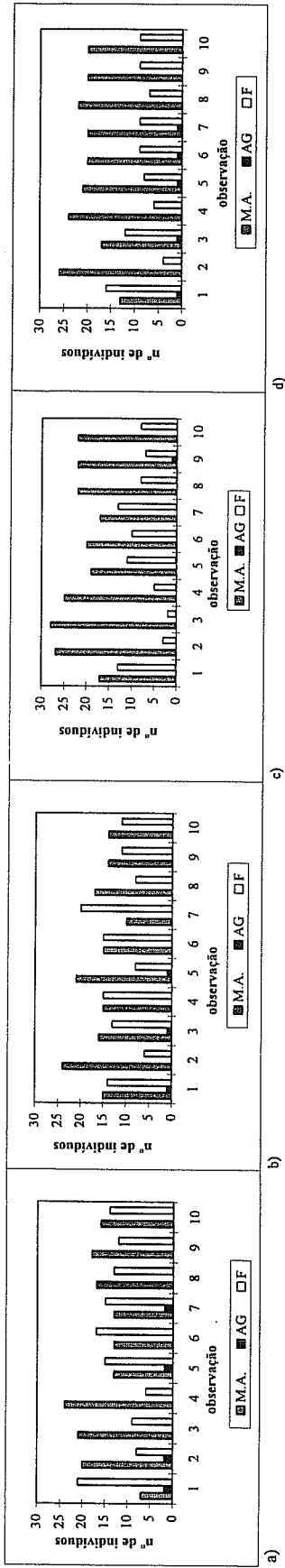


Figura 3 - Número de indivíduos observados no meio axênico (M.A.), no agar (AG) e fora dos meios (F), no primeiro ensaio realizado para o teste meio axênico versus agar (8 e 9/ 8/ 96). a) machos acasalados, b) machos virgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas virgens

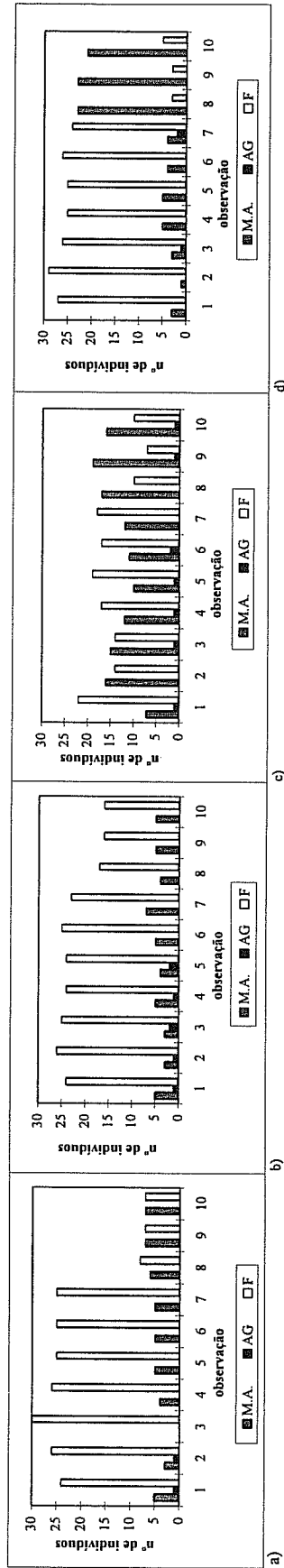


Figura 4 - Número de indivíduos observados no meio axênico (M.A.), no agar (AG) e fora dos meios (F), no segundo ensaio realizado para o teste meio axênico versus agar (14 e 15/ 10/ 96). a) machos acasalados, b) machos virgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas virgens

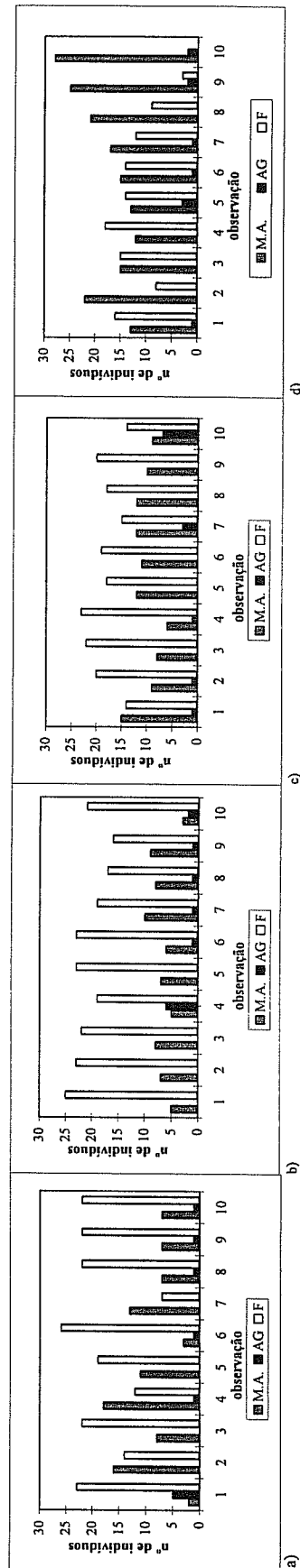


Figura 5 - Número de indivíduos observados no meio axênico (M.A.), no agar (AG) e fora dos meios (F), no terceiro ensaio realizado para o teste meio axênico versus agar (28 e 29/ 11/ 96). a) machos acasalados, b) machos virgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas virgens

Tabela VI - Meio axénico versus agar, valores de Qui-quadrado e respectiva significância, entre estar nos meios (D) e estar fora (F). Ver legenda da Tabela I.

P.a.	1º ensaio				2º ensaio				3º ensaio			
	Mac	Mv	Fac	Fv	Mac	Mv	Fac	Fv	Mac	Mv	Fac	Fv
1	4.80 * F	0.13 n.s.	0.53 n.s.	0.13 n.s.	13.33 ***** F	10.80 **** F	6.53 ** F	19.20 ***** F	8.53 **** F	13.33 ***** F	0.13 n.s.	0.13 n.s.
2	6.53 ** D	10.80 ***** D	19.20 ***** D	16.13 ***** D	16.13 ***** F	16.13 ***** F	0.13 n.s.	26.13 ***** F	0.13 n.s.	8.53 **** F	3.33 n.s.	6.53 ** D
3	4.80 * D	0.53 n.s.	22.53 ***** D	1.20 n.s.	100% F	13.33 ***** F	0.13 n.s.	16.13 ***** F	6.53 ** F	6.53 ** F	6.53 ** F	0 n.s.
4	10.80 **** D	0 n.s.	13.33 ***** D	10.80 **** D	16.13 ***** F	10.80 **** F	0.53 n.s.	13.33 ***** F	1.20 n.s.	2.13 n.s.	8.53 **** F	1.20 n.s.
5	0 n.s.	6.53 ** D	2.13 n.s.	6.53 ** D	13.33 ***** F	10.80 **** F	3.33 n.s.	13.33 ***** F	2.13 n.s.	8.53 **** F	8.53 **** F	0.13 n.s.
6	0.53 n.s.	0 n.s.	3.33 n.s.	3.33 n.s.	13.33 ***** F	13.33 ***** F	0.53 n.s.	16.13 ***** F	16.13 ***** F	8.53 **** F	1.20 n.s.	0.13 n.s.
7	0 n.s.	3.33 n.s.	0.53 n.s.	3.33 n.s.	13.33 ***** F	8.53 **** F	1.20 n.s.	10.80 **** F	0.53 n.s.	2.13 n.s.	2.13 n.s.	1.20 n.s.
8	0.53 n.s.	3.24 n.s.	6.53 ** D	7.76 ** D	0.29 n.s.	8.05 **** F	1.81 n.s.	15.38 ***** D	6.53 ** F	2.46 n.s.	0 n.s.	4.80 * D
9	1.20 n.s.	0.36 n.s.	8.53 **** D	4.17 * D	0 n.s.	5.76 ** F	6.26 n.s.	15.38 ***** D	6.53 ** F	1.38 n.s.	8.53 **** F	19.20 ***** D
10	0.13 n.s.	0.36 n.s.	8.53 **** D	4.17 * D	0 n.s.	5.76 ** F	1.81 n.s.	9.85 ***** D	6.53 ** F	9.85 **** F	0.13 n.s.	100% D

Tabela VII- Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, para o número de indivíduos observados em meio axénico (m.a.) e agar. Nas células em que os valores são significativos está assinalada a preferência.

P.a.	1º ensaio				2º ensaio				3º ensaio			
	Mac	Mv	Fac	Fv	Mac	Mv	Fac	Fv	Mac	Mv	Fac	Fv
2	14.73 ***** m.a.	100% m.a.	100% m.a.	100% m.a.								
3	100% m.a.		100% m.a.									
4	100% m.a.		100% m.a.	100% m.a.								
5		18.18 ***** m.a.		18.18 ***** m.a.								
8			100% m.a.	100% m.a.				100% m.a.				100% m.a.
9			19.17 ***** m.a.	100% m.a.			16.20 ***** m.a.	100% m.a.				19.59 ***** m.a.
10			100% m.a.	100% m.a.				100% m.a.				22.53 ***** m.a.

No que diz respeito à influência do factor experiência sexual, observou-se que no último período de observação, altura que correspondeu a uma maior actividade alimentar, de um modo geral os indivíduos virgens e acasalados tiveram o mesmo comportamento em relação às escolhas alimentares. Nomeadamente na maioria dos pontos de observação, todos os indivíduos de ambos os tipos observados nos meios escolheram o meio axénico (pontos 8 e 10 do primeiro ensaio, pontos 8 e 9 do segundo ensaio e ponto 8 do terceiro ensaio). Nos pontos 9, 10 e 9 do primeiro, segundo e terceiro ensaios respectivamente, não foram encontradas diferenças significativas entre a distribuição de fêmeas acasaladas e virgens pelos dois meios ($X^2 = 0.89$, g.l. = 1, n.s.; $X^2 = 1.27$, g.l. = 1, n.s.; $X^2 = 0.78$, g.l. = 1, n.s.). No ponto 10 do terceiro ensaio, a distribuição das fêmeas acasaladas e virgens diferiu significativamente ($X^2 = 9.12$, g.l. = 1, $0.001 < p < 0.005$). As simulações efectuadas com o programa ACTUS apontam para o facto de a probabilidade de obter estes resultados por acaso ser baixa ($p < 0.05$).

3.3.1.2 - Oviposição

Na Tabela VIII estão representados os dados de oviposição relativos aos três ensaios realizados para o teste meio axénico *versus* agar. Da sua observação podemos inferir que as fêmeas no seu conjunto põem preferencialmente ovos no meio axénico. Em 5 das 6 caixas de observação contendo fêmeas acasaladas, 100% dos ovos foram postos neste meio, na restante foram observados apenas 5 ovos em agar contra 300 em meio axénico, o que traduz uma diferença significativa ($X^2 = 282.3$, $p < 0.001$). Tal como nos testes anteriores as fêmeas virgens põem muito menos ovos ($X^2 = 1202.32$, $p < 0.001$) do que as fêmeas acasaladas, mas todos foram observados no meio nutritivo.

Tabela VIII - Número de ovos observados em meio axénico e agar postos por fêmeas acasaladas (fêmeas aca.) e fêmeas virgens (fêmeas vir.), nas caixas (C1 e C2) observadas nos ensaios relativos ao teste meio axénico *versus* agar.

	1º ensaio				2º ensaio				3º ensaio			
	fêmeas aca.		fêmeas vir.		fêmeas aca.		fêmeas vir.		fêmeas aca.		fêmeas vir.	
	m.a.	agar	m.a.	agar	m.a.	agar	m.a.	agar	m.a.	agar	m.a.	agar
C1	200	0	0	0	280	0	58	0	98	0	0	0
C2	300	0	0	0	300	5	0	0	200	0	6	0

3.3.2 - Banana *versus* agar

3.3.2.1 - Alimentação

Os dados referentes aos dois ensaios realizados para este teste estão representados nas Figuras 6 e 7. No primeiro ensaio, no intervalo entre o segundo e terceiro períodos de observação foram registadas várias fugas: um macho acasalado, duas fêmeas acasaladas e duas fêmeas virgens. No segundo ensaio, no mesmo período de tempo, fugiram cinco machos acasalados, cinco fêmeas virgens e seis fêmeas acasaladas.

Da observação destas figuras podemos constatar que em ambos os ensaios, os dois sexos têm um padrão diferente. Os machos manifestam pouco ou nenhum interesse pelos meios alimentares, enquanto que as fêmeas manifestam algum interesse, embora este só seja evidente no último período de amostragem (pontos 8 a 10 das Figuras 6c, 6d, 7c e 7d).

Tal como nos testes anteriores, foram realizados testes Qui-quadrado de aderência para testar se havia diferenças significativas entre estar nos meios em oposição a estar fora. Os resultados desses testes são apresentados na Tabela IX.

Da observação da Tabela IX podemos constatar que na maioria dos pontos de amostragem os indivíduos estão fora dos meios, especialmente os machos. Dos 5 pontos em que houve significativamente mais indivíduos nos meios do que fora deles (fêmeas virgens e acasaladas do segundo ensaio), 4 correspondem a frequências de 100% dos indivíduos na banana, e o restante (ponto 10 das fêmeas virgens do segundo ensaio) também traduz uma preferência por este meio ($X^2 = 14.22$, $p < 0.001$).

Foram observados 8 pontos em que não se encontraram diferenças significativas entre o número de indivíduos presentes dentro e fora dos meios. Destes, cinco apontam para uma preferência por banana: nos pontos 1 dos machos virgens do primeiro ensaio e 9 das fêmeas virgens do segundo ensaio, a totalidade dos indivíduos foi observada neste alimento, e nos pontos 8 a 10 do primeiro ensaio, o número de fêmeas acasaladas observado na banana foi significativamente maior ($p < 0.01$). Nos pontos 8 a 10 das fêmeas virgens do primeiro ensaio, não foi detectada uma diferença significativa entre o número de indivíduos observados nos dois alimentos.

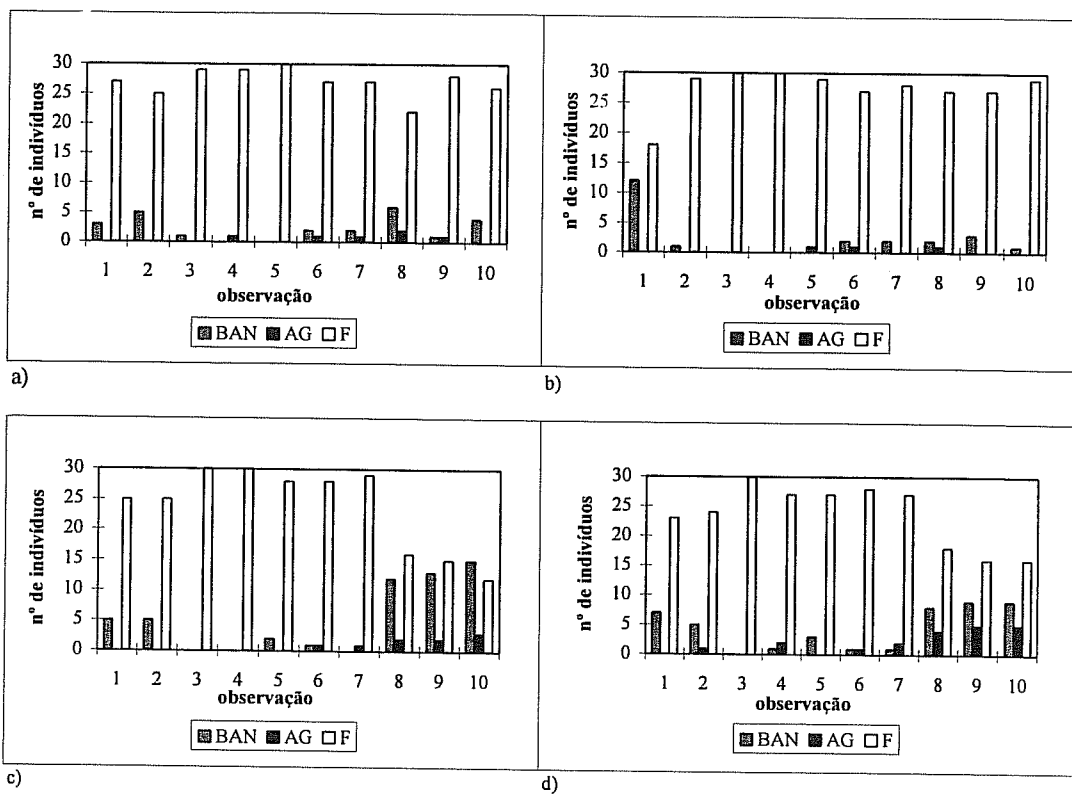


Figura 6 - Número de indivíduos observados na banana (BAN), no agar (AG) e fora dos meios (F), no primeiro ensaio realizado para o teste banana versus agar (10 e 11/ 8 /96). a) machos acasalados, b) machos virgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas virgens.

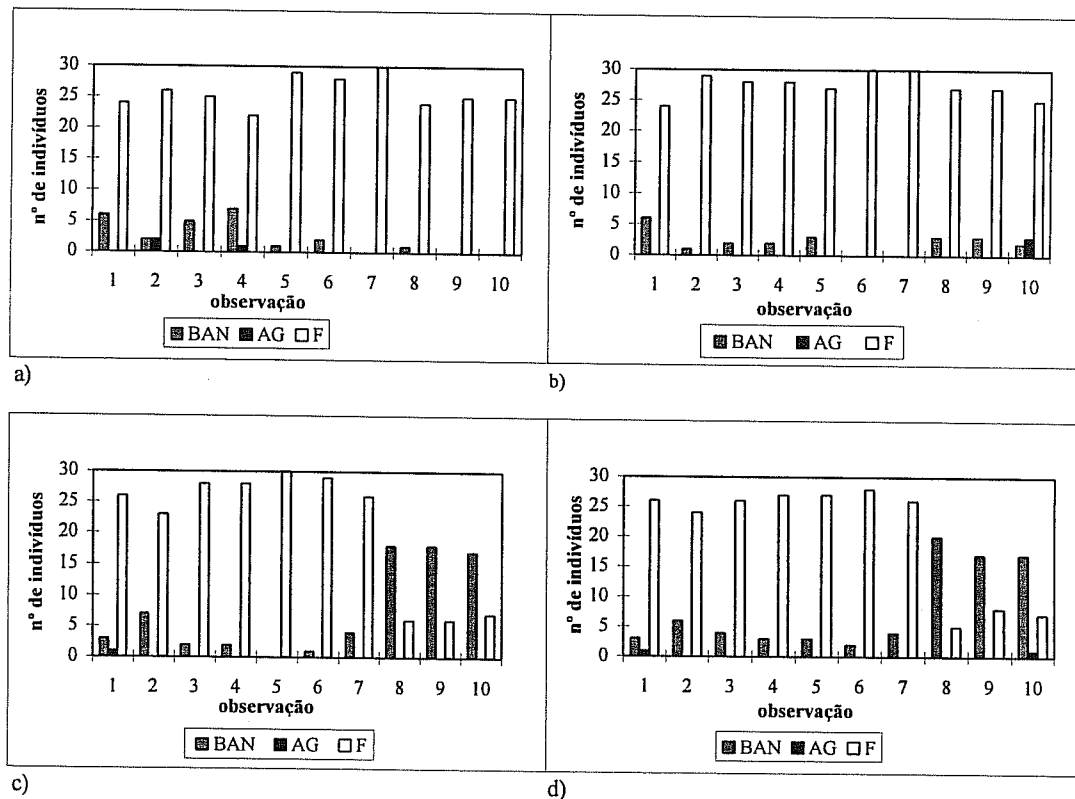


Figura 7 - Número de indivíduos observados na banana (BAN), no agar (AG) e fora dos meios (F), no segundo ensaio realizado para o teste banana versus agar (17 e 18/ 10 /96). a) machos acasalados, b) machos virgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas virgens.

Tabela IX - Valores de Qui-quadrado comparando estar nos meios (D) com estar fora (F) para o teste banana *versus* agar. Ver legenda da Tabela I.

P.a.	1º ensaio				2º ensaio			
	Mac	Mv	Fac	Fv	Mac	Mv	Fac	Fv
1	19.20 ***** F	1.20 n.s.	13.33 ***** F	8.53 **** F	10.80 **** F	10.80 **** F	16.13 ***** F	16.13 ***** F
2	13.33 ***** F	26.13 ***** F	13.33 ***** F	10.80 **** F	16.13 ***** F	26.13 ***** F	8.53 **** F	10.80 **** F
3	26.13 ***** F	100% F	100% F	100% F	13.33 ***** F	22.53 ***** F	22.53 ***** F	16.13 ***** F
4	26.13 ***** F	100% F	100% F	19.20 ***** F	6.53 ** F	22.53 ***** F	22.53 ***** F	19.20 ***** F
5	100% F	26.13 ***** F	22.53 ***** F	19.20 ***** F	26.13 ***** F	19.20 ***** F	100% F	19.20 ***** F
6	19.20 ***** F	19.20 ***** F	22.53 ***** F	22.53 ***** F	22.53 ***** F	100% F	26.13 ***** F	22.53 ***** F
7	19.20 ***** F	22.53 ***** F	26.13 ***** F	19.20 ***** F	100% F	100% F	16.13 ***** F	16.13 ***** F
8	6.53 ** F	19.20 ***** F	0.13 n.s.	1.20 n.s.	21.16 ***** F	19.20 ***** F	6 D	9 D
9	22.53 ***** F	19.20 ***** F	0 n.s.	0.13 n.s.	100% F	19.20 ***** F	6 D	12 D
10	16.13 ***** F	26.13 ***** F	1.20 n.s.	0.13 n.s.	100% F	13.33 ***** F	16 D	18 D

Nos pontos de amostragem que corresponderam a uma maior actividade alimentar, não foram detectadas diferenças significativas entre o número de fêmeas virgens e acasaladas, observados em cada um dos meios (Tabela X). No cálculo destes testes de Qui-quadrado foi utilizado o programa ACTUS, pois em todos os pontos de amostragem do primeiro ensaio e ponto 10 do segundo ensaio, foram observadas frequências esperadas inferiores a 4. Os resultados das simulações efectuadas por este programa permite concluir que a probabilidade de os nossos dados se deverem ao acaso é muito baixa ($p < 0.05$). Os machos não foram considerados pois, nesses pontos de amostragem, foram observados em número muito reduzido nos meios, sendo quatro o número máximo de indivíduos observado (Figuras 6 e 7).

Tabela X - Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, comparando o número de fêmeas virgens e acasalados, observado em banana e agar, nos pontos de amostragem (p.a.) do último período de observação Ver legenda da Tabela I para valores de significância. (1) Todas as fêmeas foram observadas em banana.

p.a.	1º ensaio	2º ensaio
8	1.321 n.s.	(1)
9	1.981 n.s.	(1)
10	1.524 n.s.	0.972 n.s.

3.3.2.2 - Oviposição

Na Tabela XI estão representados os dados de oviposição referentes ao teste banana *versus* agar. Podemos constatar que as fêmeas preferem pôr ovos na banana. No caso das fêmeas virgens 100% dos seus ovos foram observados neste alimento. As fêmeas acasaladas põem alguns ovos no agar, mas as diferenças entre o número de ovos postos nos dois meios são altamente significativas para todas as caixas de observação, as fêmeas põem mais ovos na banana (Tabela XII). Mais uma vez as fêmeas acasaladas põem significativamente mais ovos do que as fêmeas virgens ($X^2 = 459.32$, g.l. = 1, $p < 0.001$).

Tabela XI - Número de ovos postos por fêmeas acasaladas (fêmeas aca.) e fêmeas virgens (fêmeas vir.) nas duas caixas (C1 e C2) dos ensaios do teste banana *versus* agar.

	1º ensaio				2º ensaio			
	fêmeas aca.		Fêmeas vir.		Fêmeas aca.		fêmeas vir.	
	ban.	agar	ban.	agar	ban.	agar	ban.	agar
C1	200	3	20	0	250	5	0	0
C2	150	1	30	0	200	1	97	0

Tabela XII- Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, para o número de ovos postos pelas fêmeas acasaladas em banana e agar. Pref. - preferência, ***** $p < 0.001$, g.l. = 1.

ensaio	caixa	X^2	p	Pref.
1º	C1	191.18	*****	banana
	C2	147.03	*****	“
2º	C1	235.39	*****	“
	C2	197.02	*****	“

3.3.3 - Gelatina *versus* agar

3.3.3.1- Alimentação

Os dados de alimentação referentes aos dois ensaios realizados para o teste gelatina *versus* agar, estão representados nas figuras 8 e 9. Nos ensaios realizados para este teste foram registadas algumas fugas no intervalo de tempo entre o segundo e o terceiro períodos de observação. No primeiro ensaio fugiram dois machos acasalados, três fêmeas virgens e uma fêmea acasalada e no segundo ensaio fugiram 15 machos virgens e 14 machos acasalados.

Observando a Tabela XIII, podemos ver que, no conjunto dos dois ensaios realizados, apenas em dois pontos de amostragem o número de indivíduos observado nos meios foi significativamente maior do que o observado fora deles. Os dois ocorreram com fêmeas virgens durante o primeiro período de amostragem e em ambos a totalidade dos indivíduos observados nos meios encontrava-se na gelatina (Figuras 8d e 9d).

Tabela XIII - Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, comparando o número de indivíduos dentro (D) e fora (F) dos meios, para os ensaios realizados para o teste gelatina *versus* agar. Ver legenda da Tabela I para valores de significância.

P.a.	1º ensaio				2º ensaio			
	Mac	Mv	Fac	Fv	Mac	Mv	Fac	Fv
1	1.20 n.s.	0.13 n.s.	0.13 n.s.	1.20 n.s.	0 n.s.	0.13 n.s.	1.20 n.s.	2.13 n.s.
2	0.13 n.s.	1.20 n.s.	1.20 n.s.	4.80 * D	2.13 n.s.	0.53 n.s.	0.53 n.s.	0.53 n.s.
3	0 n.s.	0.53 n.s.	3.33 n.s.	8.53 **** D	3.33 n.s.	0 n.s.	0 n.s.	0.13 n.s.
4	2.13 n.s.	4.80 * F	1.20 n.s.	1.20 n.s.	0.53 n.s.	0.53 n.s.	0 n.s.	6.53 * F
5	13.33 ***** F	26.13 ***** F	8.53 **** F	6.53 * F	16.13 ***** F	22.53 ***** F	2.13 n.s.	6.53 * F
6	19.20 ***** F	100% F	4.80 * F	6.53 * F	13.33 ***** F	16.13 ***** F	4.80 * F	8.53 **** F
7	16.13 ***** F	100% F	6.53 ** F	4.80 * F	13.33 ***** F	8.53 **** F	3.33 n.s.	8.53 **** F
8	7.00 ** F	8.53 **** F	5.83 * F	8.33 *** F	2.25 n.s.	5.40 * F	13.33 ***** F	2.13 n.s.
9	3.57 n.s.	10.800 **** F	4.17 * F	8.33 *** F	1.00 n.s.	11.27 ***** F	13.33 ***** F	1.20 n.s.
10	1.29 n.s.	6.53 * F	5.83 * F	19.59 ***** F	1.00 n.s.	11.27 ***** F	22.53 ***** F	4.80 * F

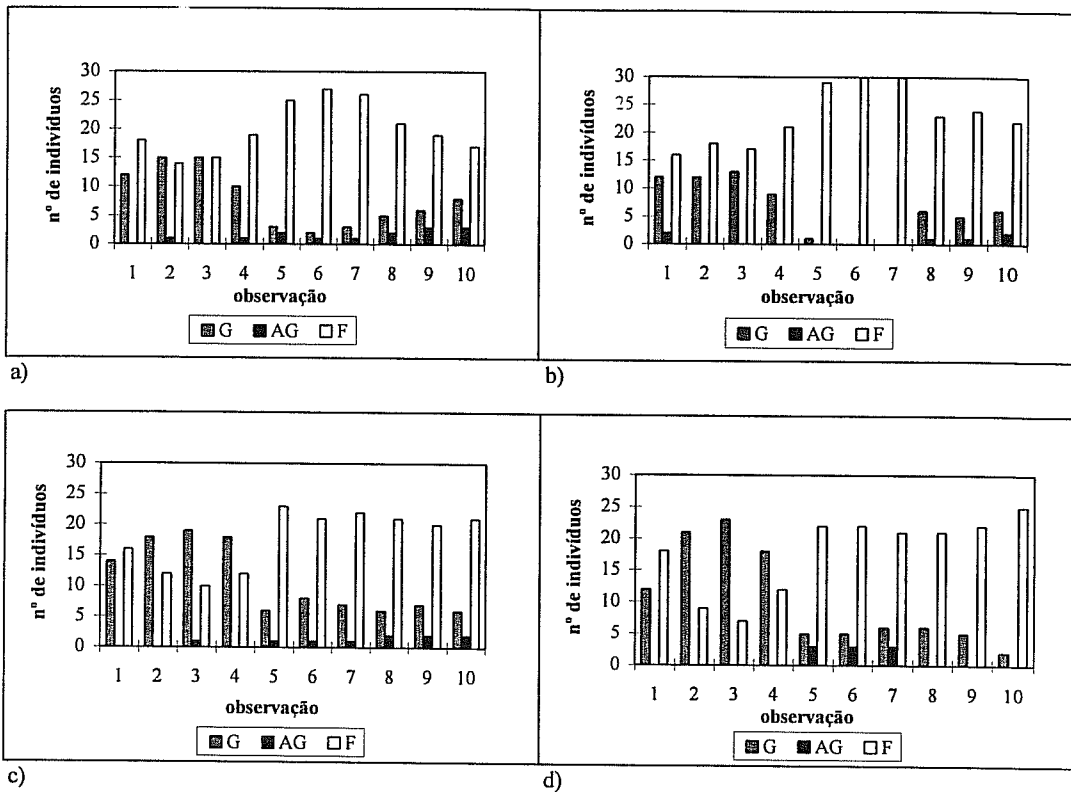


Figura 8 - Número de indivíduos observados em gelatina (G), agar (AG) e fora dos meios (F), no primeiro ensaio realizado para o teste gelatina *versus* agar (12 e 13 / 8 / 96). a) machos acasalados, b) machos virgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas virgens.

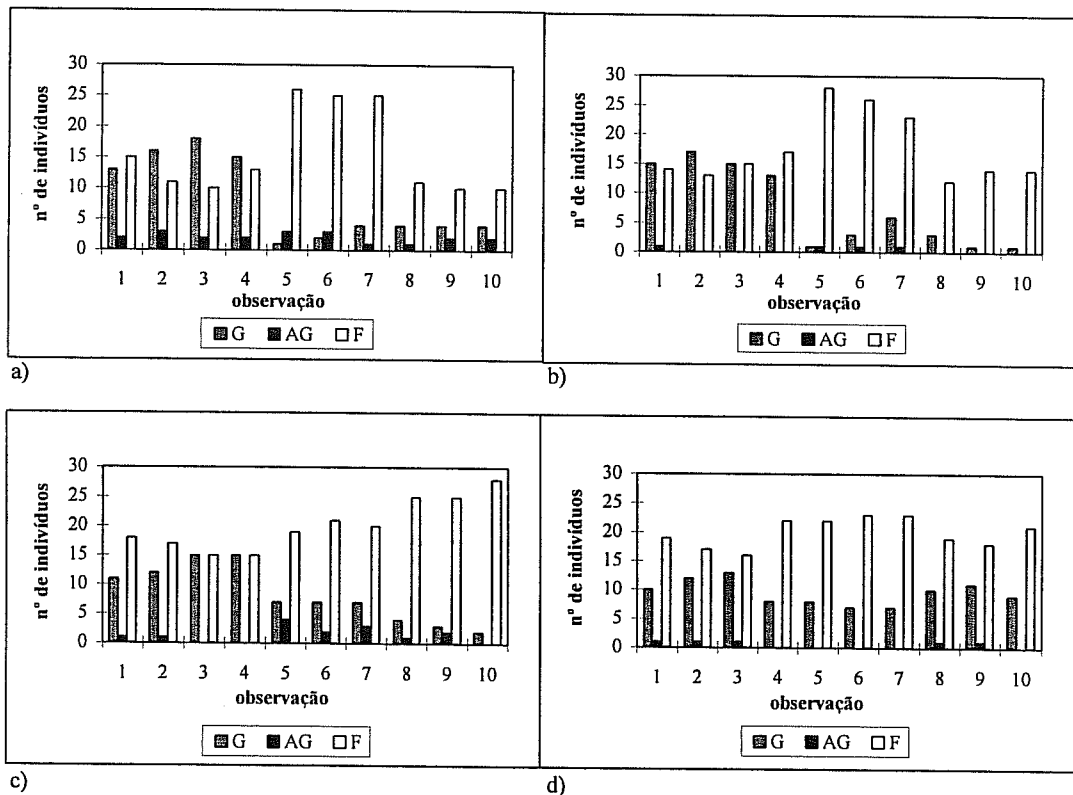


Figura 9 - Número de indivíduos observados em gelatina (G), agar (AG) e fora dos meios (F), no segundo ensaio realizado para o teste gelatina *versus* agar (14 e 15 / 10 / 96). a) machos acasalados, b) machos virgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas virgens.

A grande maioria dos pontos de amostragem em que não foram encontradas diferenças significativas entre o número de indivíduos observados dentro e fora dos meios, ocorreu no primeiro período de amostragem e aponta para a existência de uma preferência por gelatina (Tabela XIV). Nos pontos de amostragem correspondendo aos dois outros períodos de observação a tendência é para a não existência de diferenças entre o número de indivíduos observados nos dois meios, com exceção dos pontos 8 e 9 da fêmeas virgens do segundo ensaio.

Tabela XIV - Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, comparando os meios gelatina (gela.) e agar, para os pontos em que o número de indivíduos observados dentro e fora dos meios não diferiu significativamente. Nas células em que há diferenças significativas está indicado o sentido da preferência. Ver legenda da Tabela I para valores de significância.

P.a.	1º ensaio				2º ensaio			
	Mac	Mv	Fac	Fv	Mac	Mv	Fac	Fv
1	100% gela.	7.14 ** gela.	100% gela.	100% gela.	8.07 *** gela.	100% gela.	8.33 *** gela.	7.36 ** gela.
2	12.25 ***** gela.	100% gela.	100% gela.		8.89 *** gela.	100% gela.	9.31 *** gela.	9.31 *** gela.
3	100% gela.	100% gela.	16.20 ***** gela.		12.80 ***** gela.	100% gela.	100% gela.	10.29 *** gela.
4	7.36 ** gela.		100% gela.	100% gela.	9.94 *** gela.	100% gela.	100% gela.	
5							0.82 n.s.	
7							1.60 n.s.	
8					2.25 n.s.			7.36 ** gela.
9	1.00 n.s.				1.00 n.s.			8.33 *** gela.
10	2.27 n.s.				1.00 n.s.			

3.3.3.2 - Oviposição

Nas tabelas XV e XVI estão representados os dados referentes à oviposição. Tal como nos testes anteriores as fêmeas acasaladas puseram mais ovos do que as fêmeas virgens ($X^2 = 283.78$, g.l. = 1, $p < 0.001$). Nas duas caixas de fêmeas virgens em que existem dados de oviposição, os dados apontam para uma preferência por gelatina ($X^2 = 14.29$, g.l. = 1, $p < 0.001$; $X^2 = 49.08$, g.l. = 1, $p < 0.001$, para as

caixas 1 e 2 do primeiro e segundo ensaios respectivamente). No que diz respeito às fêmeas acasaladas, foi detectada uma preferência semelhante (Tabela XVI)

Tabela XV - Número de ovos postos por fêmeas acasaladas (fêmeas aca.) e virgens (fêmeas vir.) para as caixas (C1 e C2) observadas nos ensaios do teste gelatina *versus* agar

	1º ensaio				2º ensaio			
	fêmeas aca.		fêmeas vir.		fêmeas aca.		fêmeas vir.	
	gela.	agar	gela.	agar	gela.	agar	gela.	agar
C1	35	0	24	4	200	2	0	0
C2	36	6	0	0	200	1	52	1

Tabela XVI- Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, para o número de ovos postos pelas fêmeas acasaladas em gelatina e agar. Pref. - preferência, ver legenda da Tabela I para os valores de significância.

ensaio	caixa	X ²	p	Pref.
1º	C1	100%	----	gelatina
	C2	21.43	*****	“
2º	C1	194.08	*****	“
	C2	197.02	*****	“

3.4 - Comparação entre meios nutritivos

3.4.1 - Meio axénico *versus* banana

3.4.1.1. - Alimentação

Os dados relativos aos 3 ensaios envolvendo a escolha entre meio axénico e banana estão representados nas Figuras 10, 11 e 12. Em cada figura estão representados os dados relativos às duas caixas em que os indivíduos eram do mesmo sexo e tinham a mesma experiência sexual. No primeiro ensaio foi registada a fuga de um macho virgem, quatro fêmeas virgens e uma fêmea acasalada. No segundo ensaio foi registada a fuga de oito machos virgens e a morte de dois machos acasalados e uma fêmea acasalada. Finalmente no terceiro ensaio foi registada a morte de dois machos virgens e a fuga de uma fêmea igualmente virgem. Tal como nas experiências anteriores todas as baixas foram ocorreram durante o intervalo entre o segundo e o terceiro períodos de observação.

Analisando as figuras observa-se que o comportamento de machos e fêmeas é semelhante até ao 7º ponto de amostragem: a grande maioria dos indivíduos encontra-se fora de qualquer um dos meios. As diferenças surgem no último período de amostragem (pontos 8 a 10), pois as fêmeas passam a preferir estar nos alimentos, facto mais evidenciado no 2º e 3º ensaios, enquanto que os machos continuam maioritariamente fora dos alimentos.

Em cada um dos pontos de amostragem realizados nos vários ensaios, foram efectuados testes Qui-quadrado de aderência, para determinar se havia diferenças significativas entre o número de indivíduos observados dentro e fora dos alimentos. O resultados obtidos estão representados na Tabela XVII.

Na Tabela XVII podemos verificar que a maioria dos pontos apresentam diferenças muito significativas, no sentido de haver mais indivíduos fora dos alimentos, nomeadamente todos os pontos referentes aos machos. No caso das fêmeas existem alguns pontos que não apresentam diferenças significativas, caso dos pontos 8 a 10 das fêmeas acasaladas do 1º e 2º ensaios, dos pontos 1, 7, 8 e 9 das fêmeas acasaladas do 3º ensaio, do ponto 10 das fêmeas virgens do 2º ensaio e do ponto 5 das fêmeas virgens do 3º ensaio. As fêmeas virgens apresentam diferenças significativas, no sentido de estarem mais indivíduos nos alimentos nos pontos 8 e 9 do segundo ensaio e nos pontos 8 a 10 do terceiro.

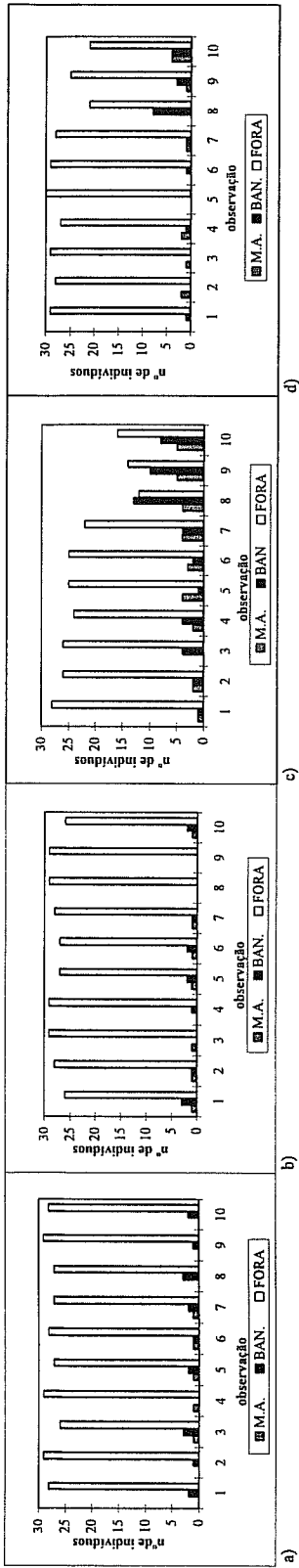


Figura 10 - Número de indivíduos contabilizados no meio axênico (m.a.) banana (ban.) e fora dos meios alimentares (F) no primeiro ensaio realizado para o teste meio axênico versus banana (15 e 16/ 8/ 96)
 a) machos acasalados, b) machos vírgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas vírgens.

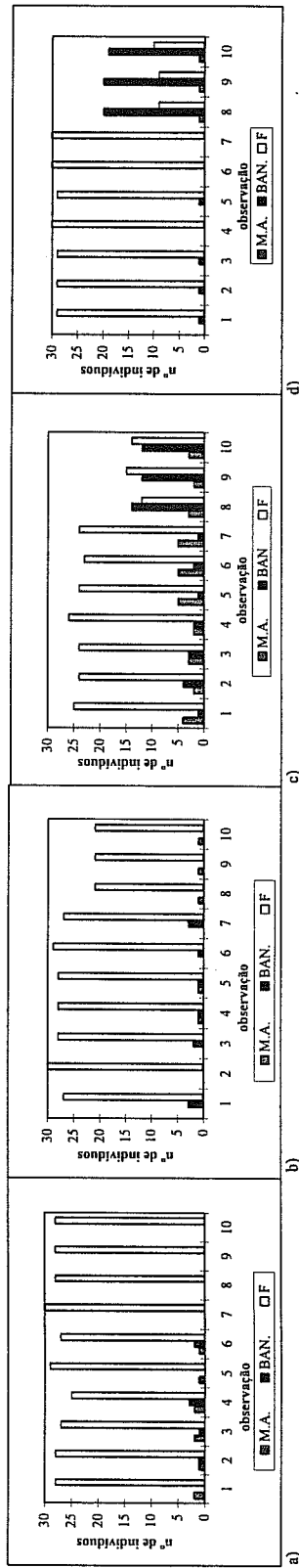


Figura 11 - Número de indivíduos contabilizados no meio axênico (m.a.) banana (ban.) e fora dos meios alimentares (F) no segundo ensaio realizado para o teste meio axênico versus banana (17 e 18/ 10/ 96)
 a) machos acasalados, b) machos vírgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas vírgens.

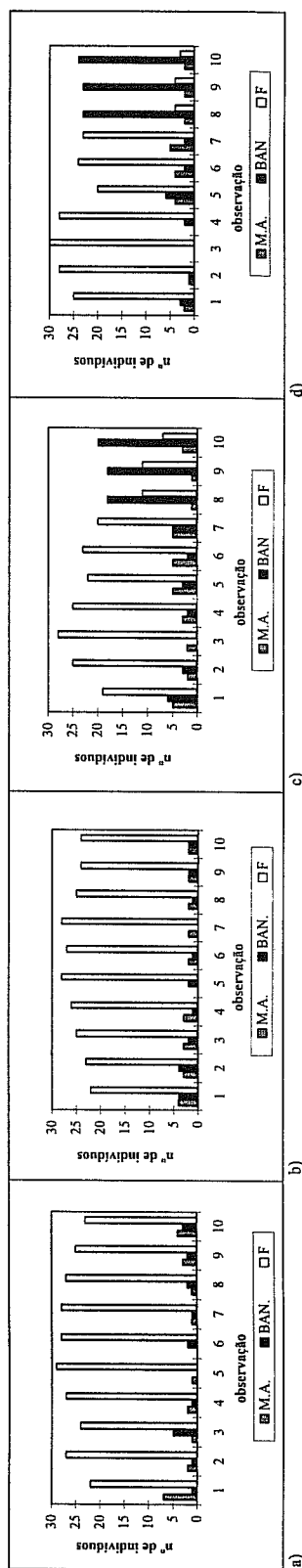


Figura 12 - Número de indivíduos contabilizados no meio axênico (m.a.) banana (ban.) e fora dos meios alimentares (F) no terceiro ensaio realizado para o teste meio axênico versus banana (19 e 20/ 10/ 96)
 a) machos acasalados, b) machos vírgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas vírgens.

Como um dos objectivos deste trabalho é analisar as preferências alimentares destes organismos, foram realizados testes Qui-quadrado de aderência nos pontos em que havia um número significativamente maior de indivíduos nos meios, para determinar se existia alguma preferência por um dos alimentos. Os resultados desses testes estão representados na Tabela XVIII.

Tabela XVII - Valores de Qui-quadrado e respectiva significância comparando estar nos meios (D) com estar nas paredes das caixas (F), para os três ensaios relativos à experiência meio axénico *versus* banana. Nas células em que os valores são significativos está assinalado o sentido da preferência. Ver legenda da Tabela I para valores de significância.

P.a.	1º ensaio				2º ensaio				3º ensaio			
	Mac	Mv	Fac	Fv	Mac	Mv	Fac	Fv	Mac	Mv	Fac	Fv
1	22.53 ***** F	16.13 ***** F	22.53 ***** F	26.13 ***** F	22.53 ***** F	19.20 ***** F	13.33 ***** F	26.13 ***** F	6.53 ** F	6.53 ** F	2.13 n.s. F	13.33 ***** F
2	26.13 ***** F	22.53 ***** F	16.13 ***** F	22.53 ***** F	22.53 ***** F	100% F	10.80 **** F	26.13 ***** F	19.20 ***** F	8.53 **** F	13.33 ***** F	22.53 ***** F
3	16.13 ***** F	26.13 ***** F	16.13 ***** F	26.13 ***** F	19.20 ***** F	22.53 ***** F	10.80 **** F	26.13* ***** F	10.80 **** F	13.33 ***** F	22.53 ***** F	100% F
4	26.13 ***** F	26.13* ***** *F	10.80 **** F	19.20 ***** F	13.33 ***** F	22.53 ***** F	16.13 ***** F	100% F	19.20 ***** F	16.13 ***** F	13.33 ***** F	22.53 ***** F
5	19.20 ***** F	19.20 ***** F	13.33 ***** F	100% F	26.13 ***** F	22.53 ***** F	10.80 **** F	26.13* ***** F	26.13 ***** F	22.53 ***** F	6.53 ** F	3.33 n.s. F
6	22.53 ***** F	19.20 ***** F	13.33 ***** F	26.13 ***** F	19.20 ***** F	26.13 ***** F	8.53 **** F	100% F	22.53 ***** F	19.20 ***** F	8.53 *** F	10.80 ***** F
7	19.20 ***** F	22.53 ***** F	6.53 ** F	22.53 ***** F	100% F	19.20 ***** F	10.80 **** F	100% F	22.53 ***** F	22.53 ***** F	3.33 n.s. F	8.53 **** F
8	19.20 ***** F	100% F	0.86 n.s. F	5.83 ** F	100% F	18.18 ***** F	0.86 n.s. F	4.80 * D	19.20 ***** F	17.29 ***** F	2.13 n.s. F	15.21 ***** D
9	26.13 ***** F	100% F	0.034 n.s. F	15.21 ***** F	100% F	18.18 ***** F	0.034 n.s. F	4.80 * D	13.33 ***** F	14.29 ***** F	2.13 n.s. F	15.21 ***** D
10	22.83 ***** F	18.24* ***** F	0.31 n.s. F	5.83 ** F	100% F	18.18 ***** F	0.034 n.s. F	3.33 n.s. F	8.53 **** F	14.29 ***** F	8.53 **** D	18.24 ***** D

Tabela XVIII - Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, comparando meio axénico com banana, para os pontos em que havia significativamente mais indivíduos nos meios. Para as células em que os valores são significativos está assinalado o sentido da preferência (Pref.). ***** - $p < 0.001$, g.l. = 1.

Ensaio	Indivíduos	p.a.	X ²	p	Pref.
2º	fêmeas virg.	8	17.19	*****	banana
		9	17.19	*****	“
3º	fêmeas virg.	8	17.64	*****	“
		9	17.64	*****	“
		10	18.62	*****	“
	fêmeas aca.	10	12.57	*****	“

Observando a Tabela XVIII, podemos constatar que aparentemente existe uma tendência generalizada para as fêmeas preferirem o alimento banana. Foram realizados testes semelhantes para os pontos em que não foram detectadas diferenças significativas entre estar nos meios e fora deles. Cerca de 58% desses pontos de amostragem apontam igualmente para uma preferência por banana (Tabela XIX). É de salientar que a maioria dos pontos em que esta preferência foi detectada ocorre no último período de observação.

Tabela XIX - Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, comparando meio axénico com banana, para os pontos de amostragem em que não há diferenças significativas entre estar dentro e fora dos meios. Ver legenda da Tabela I.

Ensaio	Indivíduos	p.a.	X ²	p	Pref.
1º	fêmeas aca.	8	4.76	*	banana
		9	1.67	n.s.	----
		10	0.69	n.s.	----
2º	fêmeas virg.	10	16.20	*****	banana
	fêmeas aca.	8	7.56	***	“
		9	7.14	***	“
		10	5.40	**	”
3º	fêmeas virg.	5	0.4	n.s.	----
	fêmeas aca.	1	0.09	n.s.	----
		7	0	n.s.	----
		8	15.21	*****	banana
		9	15.21	*****	“

Nos pontos de amostragem correspondentes ao último período de observação, foram realizados testes Qui-quadrado de independência para averiguar se a experiência sexual dos indivíduos influenciava as preferências de alimentação. Os resultados permitem-nos inferir que, tal como nas experiências anteriores, este factor não influencia o comportamento de alimentação (Tabela XX). As simulações efectuadas com o programa ACTUS apontam para o facto de existir uma baixa probabilidade de que os resultados obtidos tenham surgido por acaso ($p < 0.05$). Esta análise foi realizada apenas para as fêmeas pois os machos foram observados em números muito reduzidos nos meios (em média foram observados apenas dois indivíduos em ambos os meios).

Tabela XX - Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, comparando o número de fêmeas virgens e acasaladas, observado em meio axênico e banana, nos pontos de amostragem (p.a.) do último período de observação. Ver legenda da Tabela I para valores de significância.

p.a.	1º ensaio	2º ensaio	3º ensaio
8	2.241	1.656	0.127
	n.s.	n.s.	n.s.
9	0.101	0.972	0.127
	n.s.	n.s.	n.s.
10	0.269	1.905	0.381
	n.s.	n.s.	n.s.

3.4.1.2 - Oviposição

Nas Tabelas XXI e XXII estão representados os dados referentes à oviposição e os resultados dos testes Qui-quadrado realizados para comparar o número de ovos postos nos dois meios.

Tabela XXI - Número de ovos postos pelas fêmeas acasaladas (fêmeas aca.) e virgens (fêmeas virg.), em cada uma das caixas (C1 e C2) observadas nos ensaios realizados para a experiência meio axênico *versus* banana.

	1º ensaio				2º ensaio				3º ensaio			
	fêmeas aca.		fêmeas vir.		fêmeas aca.		fêmeas vir.		fêmeas aca.		fêmeas vir.	
	m.a.	ban	m.a.	ban	m.a.	ban	m.a.	ban	m.a.	ban	m.a.	ban
C1	200	64	70	36	300	87	27	0	400	77	250	65
C2	250	60	0	1	250	90	12	0	300	50	65	49

Tabela XXII - Valores de Qui-quadrado e respectiva significância (ver legenda da Tabela I), Pref - preferência de oviposição, m.a. - meio axênico.

ensaio	fêmeas	caixa	X ²	p	Pref.
1º	acasaladas	C1	70.06	*****	m.a.
		C2	116.45	*****	“
	virgens	C1	10.91	*****	“
		C2	100%	----	“
2º	acasaladas	C1	177.23	*****	“
		C2	75.29	*****	“
	virgens	C1	100%	----	“
		C2	100%	----	“
3º	acasaladas	C1	218.72	*****	“
		C2	178.57	*****	“
	virgens	C1	108.65	*****	“
		C2	2.25	n.s.	----

As fêmeas de um modo geral, põem significativamente mais ovos no meio axénico, com excepção de uma das caixas do 3º ensaio contendo fêmeas virgens (Tabela XXII), em que não houve diferenças significativas entre o número de ovos colocados nos dois meios. No conjunto dos ensaios efectuados não foram detectadas diferenças significativas entre os dados obtidos para as duas caixas de observação contendo fêmeas acasaladas, no que diz respeito ao número de ovos observado em cada meio ($X^2 = 2.01$, g.l. = 1, n.s.; $X^2 = 1.56$, g.l. = 1, n.s. e $X^2 = 0.54$, g.l. = 1, n.s. respectivamente para os três ensaios efectuados). No caso das fêmeas virgens foram detectadas diferenças significativas apenas no terceiro ensaio ($X^2 = 21.42$, g.l. = 1, $p < 0.001$). Outro aspecto a salientar é que as fêmeas acasaladas põem significativamente mais ovos do que as fêmeas virgens ($X^2 = 892.27$, g.l. = 1, $p < 0.001$).

3.4.2 - Meio axénico *versus* gelatina

3.4.2.1 - Alimentação

Na Figura 13 estão representados os dados referentes ao ensaio realizado para esta experiência, e na Tabela XXIII estão representados os valores dos testes Qui-quadrado realizados para comparar o número de indivíduos observado dentro e fora dos meios em análise. No ensaio realizado para esta experiência foi registada a fuga de quatro machos virgens, um macho acasalado, duas fêmeas virgens e duas fêmeas acasaladas.

Um dos aspectos a salientar é que apenas em dois dos pontos de amostragem foram detectadas diferenças significativas, apontando para uma preferência para estar nos meios. Ambos ocorreram em caixas contendo machos (um nos machos acasalados e outro nos machos virgens) e correspondem ao primeiro ponto de amostragem (Tabela XXIII). Os valores dos testes Qui-quadrado de aderência efectuados para comparar o número de indivíduos observados em cada meio, apontam para uma preferência por meio axénico ($X^2 = 18.18$, g.l. = 1, $p < 0.001$ e $X^2 = 11.64$, g.l. = 1, $p < 0.001$, para os machos acasalados e virgens respectivamente).

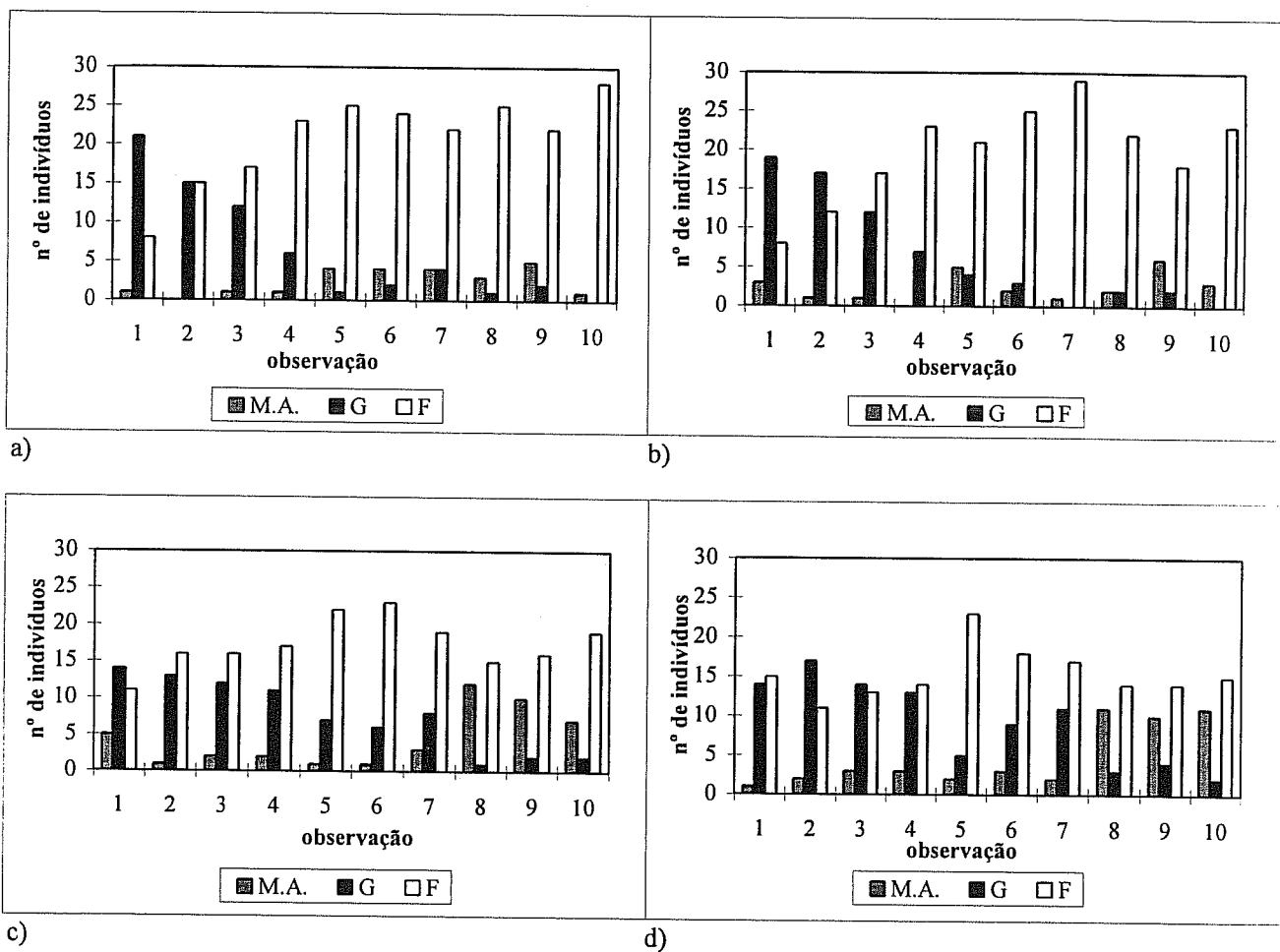


Figura 13 - Número de indivíduos observados no meio axénico (M.A.), gelatina (G) e fora dos meios (F), no ensaio realizado para o teste meio axénico *versus* gelatina (15 e 16/ 8/ 96). a) machos acasalados b) machos virgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas virgens.

No total, foram observados 21 pontos de amostragem em que não foram detectadas diferenças significativas entre o número de indivíduos observados dentro e fora dos meios. Desses, 17 ocorreram nas fêmeas e apenas 4 nos machos. No que diz respeito a estes últimos, há dois aspectos a salientar, primeiro todos os pontos ocorreram no primeiro período de amostragem (pontos 2 e 3 dos machos acasalados e virgens); segundo todos apontam para uma preferência por gelatina (Tabela XXIV). O padrão observado nas fêmeas é algo diferente, nos primeiros 4 pontos de amostragem prefererem igualmente gelatina, mas no último período de amostragem parece existir uma tendência para escolher o meio axénico (Tabela XXIV).

Tabela XXIII - Valores de Qui-quadrado comparando estar dentro e fora dos meios, para a experiência meio axénico *versus* gelatina. Ver legenda da Tabela I.

P.a.	Mac	Mv	Fac	Fv
1	6.53 ** D	6.53 ** D	2.13 n.s.	0 n.s.
2	0 n.s.	1.20 n.s.	0.13 n.s.	2.13 n.s.
3	0.53 n.s.	0.53 n.s.	0.13 n.s.	0.53 n.s.
4	8.53 **** F	8.53 **** F	0.53 n.s.	0.13 n.s.
5	13.33 ***** F	4.800 * F	6.53 ** F	8.53 **** F
6	10.80 **** F	13.33 ***** F	8.53 **** F	1.20 n.s.
7	6.53 ** F	26.13 ***** F	2.13 n.s.	0.53 n.s.
8	15.21 ***** F	12.46 ***** F	0.14 n.s.	0 n.s.
9	7.76 ** F	3.85 * F	0.57 n.s.	0 n.s.
10	25.14 ***** F	15.38 ***** F	3.57 n.s.	0.14 n.s.

Tabela XXIV - Valores de Qui-quadrado comparando meio axénico (m.a.) com gelatina (gela.), para os pontos em que não foram detectadas diferenças entre estar dentro e fora dos meios. Ver legenda da Tabela I.

P.a.	Mac	Mv	Fac	Fv
1			4.26 * gela.	11.27 ***** gela.
2	100% gela.	14.22 ***** gela.	10.29 *** gela.	11.84 ***** gela.
3	11.00 ***** gela.	11.00 ***** gela.	7.14 ** gela.	7.12 * gela.
4			6.23 * gela.	6.25 * gela.
5				
6				3.00 n.s.
7			2.27 n.s.	6.23 * gela.
8			11.00 ***** m.a.	4.57 * m.a.
9			5.33 * m.a.	2.57 n.s.
10			2.77 n.s.	6.23 * m.a.

3.4.2.2 - Oviposição

Os dados de oviposição referentes ao ensaio realizado para a experiência meio axénico *versus* gelatina, estão representados na Tabela XXV. Podemos observar que as fêmeas acasaladas põem mais ovos do que as virgens ($X^2 = 188.50$, g.l. = 1, $p < 0.001$).

No que diz respeito às preferências de oviposição, ambas as categorias de fêmeas colocam significativamente mais ovos no meio axénico do que no meio de gelatina (Tabela XXVI).

Tabela XXV - Número de ovos postos por fêmeas acasaladas (fêmeas aca.) e virgens (fêmeas vir.), em cada uma das caixas (C1 e C2) do ensaio realizado para a experiência meio axénico *versus* gelatina.

caixa	fêmeas aca.		fêmeas vir.	
	m.a.	gela.	m.a.	gela.
C1	200	0	126	0
C2	250	118	59	5

Tabela XXVI -Valores de Qui-quadrado comparando o número de ovos nos meios axénico (m.a.) e gelatina (gela.). Ver legenda da Tabela I, para valores de significância.

fêmeas	caixa	X^2	p	Pref.
acasaladas	C1	100%	----	m.a.
	C2	47.35	*****	“
virgens	C1	100%	----	“
	C2	45.56	*****	“

3.4.3 - Banana *versus* gelatina

3.4.3.1 - Alimentação

Para a experiência banana *versus* gelatina foi realizado apenas um ensaio, cujos dados de alimentação são apresentados na Figura 14. Neste ensaio registou-se a fuga de cinco machos virgens e de uma fêmea virgem. Podemos observar que na maioria dos pontos de amostragem a tendência é para os indivíduos estarem fora dos meios, facto que é comprovado pelos testes Qui-quadrado realizados para comparar o número de indivíduos dentro e fora dos meios (Tabela XXVII).

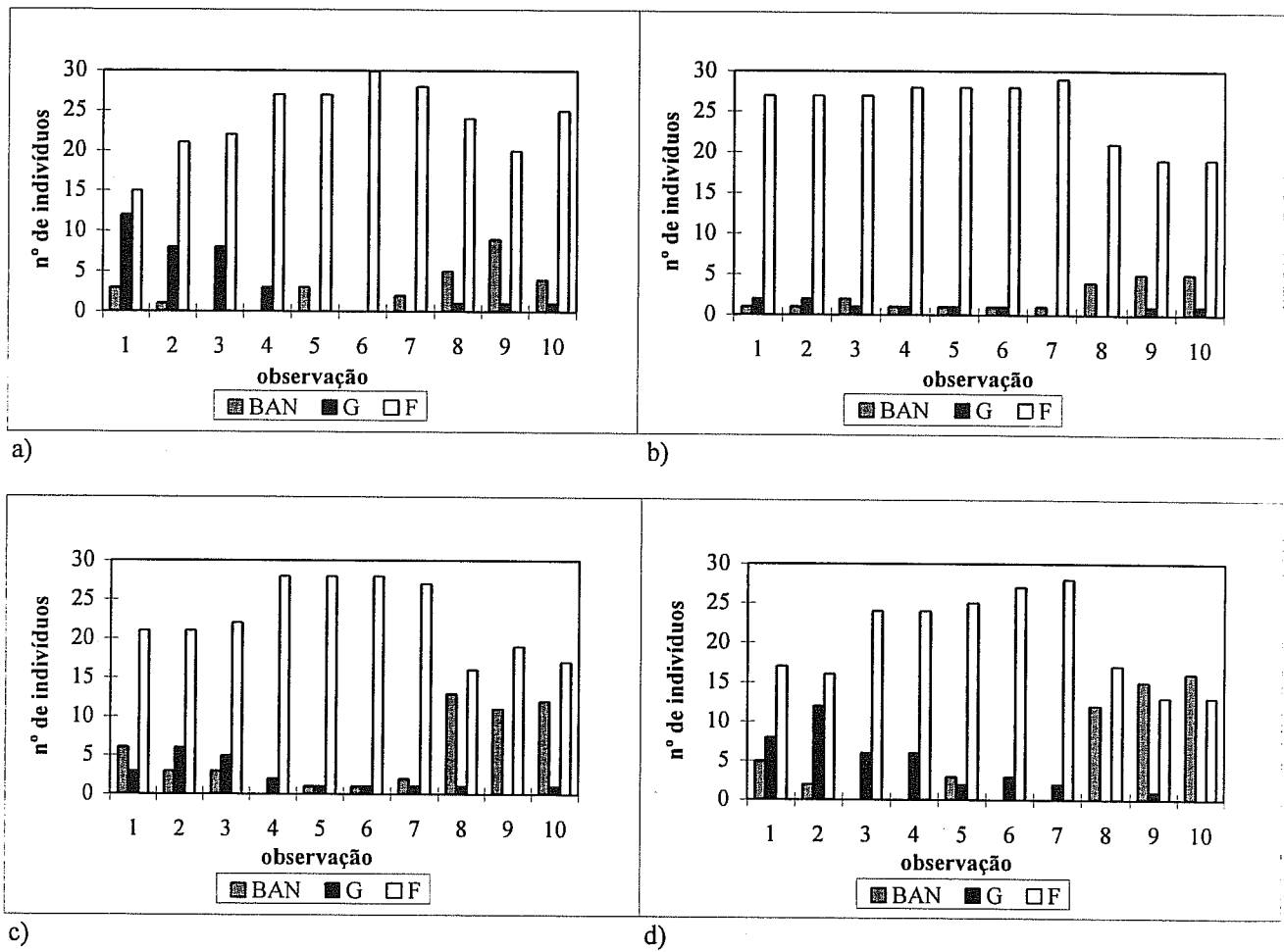


Figura 14 - Número de indivíduos em banana (BAN), gelatina (G) e fora dos meios (F), no ensaio realizado para o teste banana *versus* gelatina (12 e 13/ 8/ 96). a) machos acasalados, b) machos virgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas virgens.

Nos pontos de amostragem em que o número de indivíduos nos meios não difere significativamente do número observado fora, a tendência é para a existência de uma preferência por banana. No entanto, esta tendência só é observada nos pontos que correspondem ao último período de amostragem; nos que ocorrem no primeiro período de amostragem, dois não apresentam qualquer tipo de preferência e o último aponta para uma preferência por gelatina (Tabela XXVIII). Os machos ambas as categorias preferiram estar fora dos meios, excepto no ponto 9 em que os machos acasalados foram observados em números semelhantes dentro e fora dos meios, e ocorreram em maior número na banana. As fêmeas em geral preferem a banana para se alimentarem e o factor experiência sexual não afecta as suas preferências, pois não foram encontradas diferenças significativas entre o número de fêmeas virgens e acasaladas observado em cada um dos meios ($X^2 = 0.891$, g.l. = 1, n.s.; $X^2 = 0.714$, g.l. = 1, n.s.; $X^2 = 1.275$, g.l. = 1, n.s. para os pontos de amostragem 8, 9 e 10 respectivamente). Os machos de ambas as categorias de um modo geral foram observados em números muito baixos nos meios.

Tabela XXVII - Valores de Qui-quadrado comparando estar dentro e fora dos meios para a experiência banana *versus* gelatina Ver legenda da Tabela I.

P.a.	Mac	Mv	Fac	Fv
1	0 n.s.	19.20 ***** F	4.80 * F	0.53 n.s.
2	4.80 * F	19.20 ***** F	4.80 * F	0.13 n.s.
3	6.53 ** F	19.20 ***** F	6.53 ** F	10.80 **** F
4	19.20 ***** F	22.53 ***** F	22.53 ***** F	10.80 **** F
5	19.20 ***** F	22.53 ***** F	22.53 ***** F	13.33 ***** F
6	100% F	22.53 ***** F	22.53 ***** F	19.20 ***** F
7	22.53 ***** F	26.13 ***** F	19.20 ***** F	22.53 ***** F
8	10.80 **** F	11.56 ***** F	0.13 n.s.	1.00 n.s.
9	3.33 n.s.	6.76 *** F	2.13 n.s.	0.31 n.s.
10	13.33 ***** F	6.76 *** F	0.53 n.s.	0.31 n.s.

Tabela XXVIII - Valores de Qui-quadrado comparando banana (ban.) com gelatina (gela.), para os pontos em que não foi detectada uma preferência para estar nos meios. Ver legenda da Tabela I.

P.a.	Mac	Mv	Fac	Fv
1	5.40 * gela.			0.69 n.s.
2				7.17 n.s.
3				
4				
5				
6				
7				
8			10.29 *** ban.	100% ban.
9	6.40 * ban.		100% ban.	12.25 ***** ban.
10			9.31 *** ban.	100% ban.

3.4.3.2 - Oviposição

Na tabela XXIX estão representados os dados relativos à oviposição para a experiência banana *versus* gelatina. O primeiro aspecto a salientar é que, à semelhança das experiências anteriores, as fêmeas acasaladas põem mais ovos do que as fêmeas virgens ($X^2 = 64.76$, g.l. = 1, $p < 0.001$). No que diz respeito à existência de preferências de oviposição, as duas categorias de fêmeas preferem realizar as suas posturas em banana (Tabela XXX).

Tabela XXIX - Número de ovos postos pelas fêmeas acasaladas (fêmeas aca.) e virgens (fêmeas vir.) nas caixas (C1 e C2) observadas no ensaio referente à experiência banana *versus* gelatina

caixa	fêmeas aca.		Fêmeas vir.	
	ban.	gela.	ban.	gela.
C1	100	18	40	1
C2	80	0	25	1

Tabela XXX - Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, para o número de ovos postos pelas fêmeas acasaladas e virgens. Pref. - preferência, ver legenda da Tabela I para os valores de significância.

fêmeas	caixa	X^2	p	Pref.
acasaladas	C1	56.98	*****	banana
	C2	100%	----	“
virgens	C1	37.10	*****	“
	C2	22.15	*****	“

3.5 - Efeito da experiência anterior

Para tentar determinar se a experiência anterior que os indivíduos têm com os diferentes meios, afectava as preferências de alimentação e oviposição detectadas nas experiências meio axénico *versus* banana referidas no ponto 3.4.1, foram realizadas experiências semelhantes envolvendo indivíduos que contactaram com os meios em diferentes fases da sua vida. Assim foram analisados indivíduos que apenas contactaram com meio axénico até ao momento em que foram observados (indivíduos AA), cujos resultados são referidos no ponto 3.4; indivíduos que contactaram com banana quando larvas e com meio axénico quando adultos (BA), indivíduos que apenas contactaram com banana (BB), e finalmente indivíduos que estiveram na fase larvar em meio axénico e a fase adulta em banana (AB).

3.5.1 - Alimentação

Os dados referentes aos ensaios realizados para a experiência meio axénico *versus* banana com indivíduos BA, estão representados nas Figuras 15 e 16 respectivamente. Os dados dos ensaios realizados com indivíduos BB estão representados nas Figuras 17, 18 e 19 e os dados relativos aos indivíduos AB nas figuras 20 e 21. No primeiro ensaio realizado com indivíduos BA não foi registada nenhuma fuga e no segundo fugiram um macho virgem, um macho acasalado e uma fêmea virgem. Em cada um dos ensaios envolvendo indivíduos BB fugiram dois machos acasalados. Finalmente nos ensaios envolvendo indivíduos AB foi registada a fuga de 4 e 1 machos virgens no primeiro e segundo ensaios respectivamente.

Nas Tabelas XXXI, XXXII e XXXIV estão representados os valores dos testes Qui-quadrado efectuados para comparar o número de indivíduos observados dentro e fora dos meios, para os ensaios envolvendo os indivíduos BA, BB e AB respectivamente.

Nos dois ensaios da experiência banana *versus* meio axénico envolvendo indivíduos BA, apenas em cinco pontos de amostragem o número de indivíduos presentes nos meios foi significativamente maior do que fora deles (Tabela XXXI.) Foram todos observados no primeiro ensaio, quatro ocorreram nas fêmeas acasaladas, um no primeiro período de amostragem (ponto 2) e os restantes no terceiro. No primeiro não foram detectadas diferenças significativas entre o número de indivíduos observado nos dois meios, nos restantes todos os indivíduos presentes nos meios foram observados na banana. O ponto detectado nas fêmeas virgens (ponto 9) aponta igualmente para uma preferência por banana ($X^2 = 16.20$, $p < 0.001$).

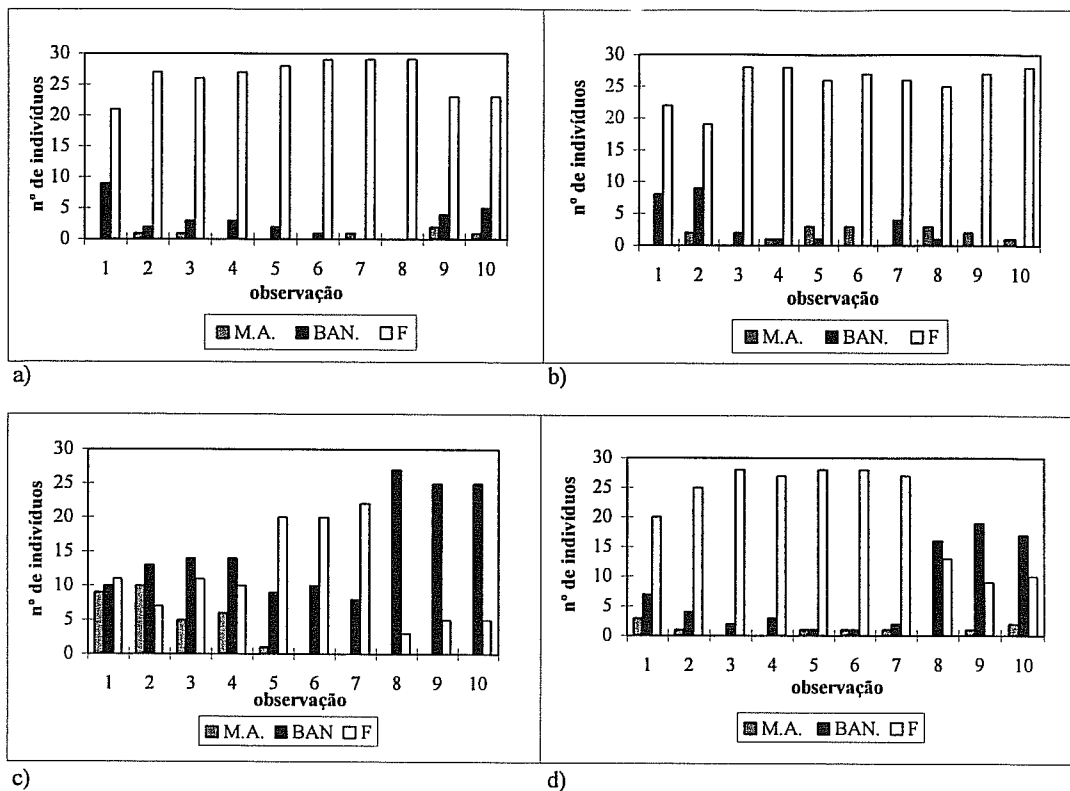


Figura 15 - Número de indivíduos observados em meio axénico (M.A.), banana (BAN) e fora dos meios (F), primeiro ensaio realizado para o teste meio axénico *versus* banana com indivíduos BA (29 e 30/ 10/96). a) machos acasalados, b) machos virgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas virgens.

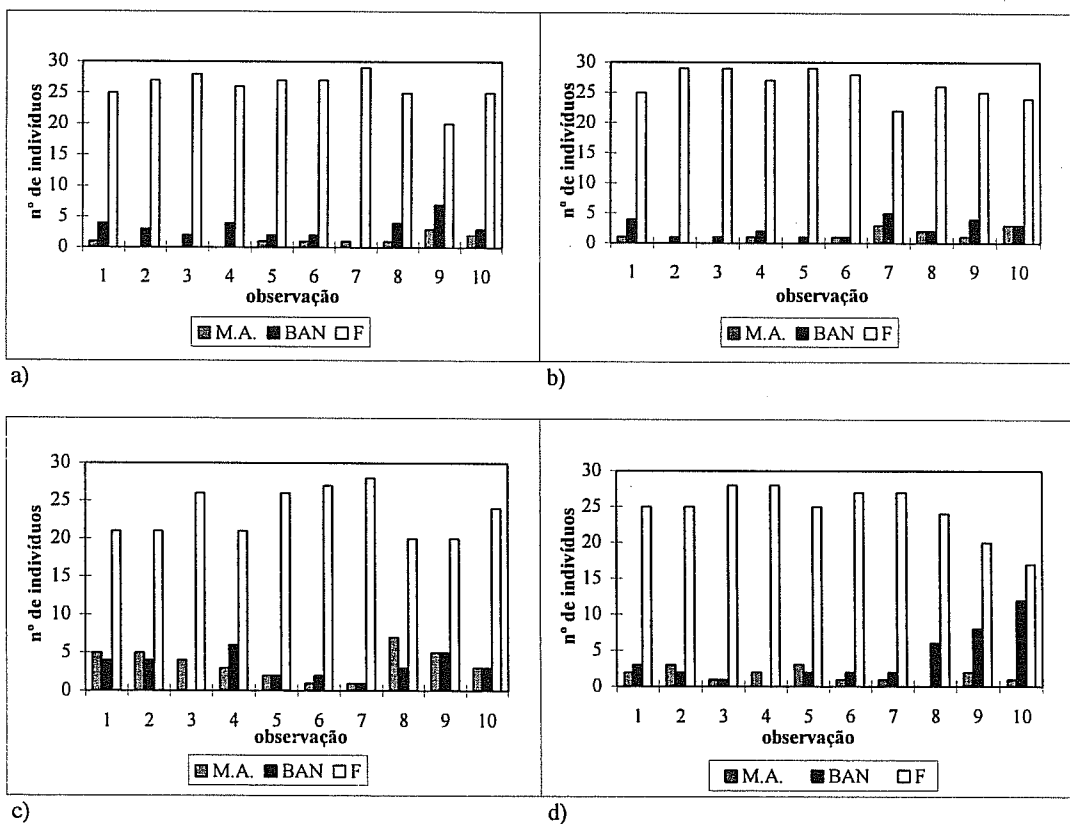


Figura 16 - Número de indivíduos observados em meio axénico (M.A.), banana (BAN) e fora dos meios (F), no segundo ensaio realizado para o teste meio axénico *versus* banana com indivíduos BA (5 e 6/ 12/96). a) machos acasalados, b) machos virgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas virgens.

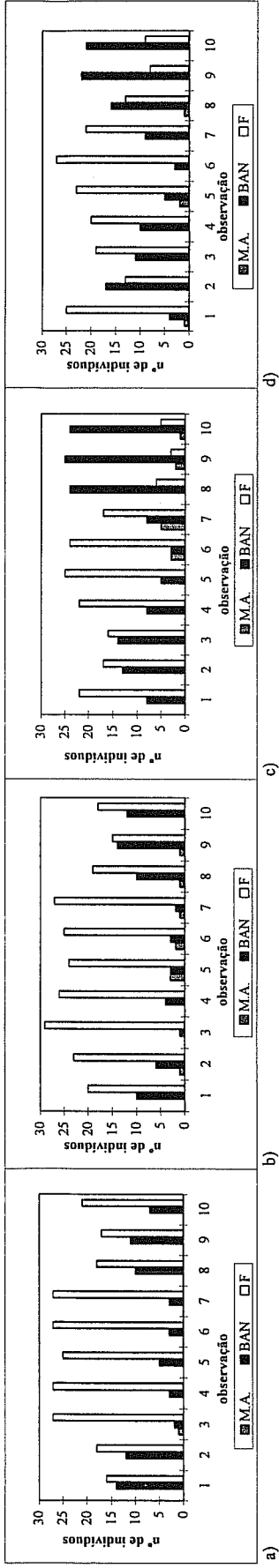


Figura 17 - Número de indivíduos observados em meio axênico (M.A.), banana (BAN) e fora dos meios (F), no primeiro ensaio realizado para o teste meio axênico versus banana (18 e 19 / 1/97) com indivíduos BB.
 a) machos acasalados, b) machos virgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas virgens.

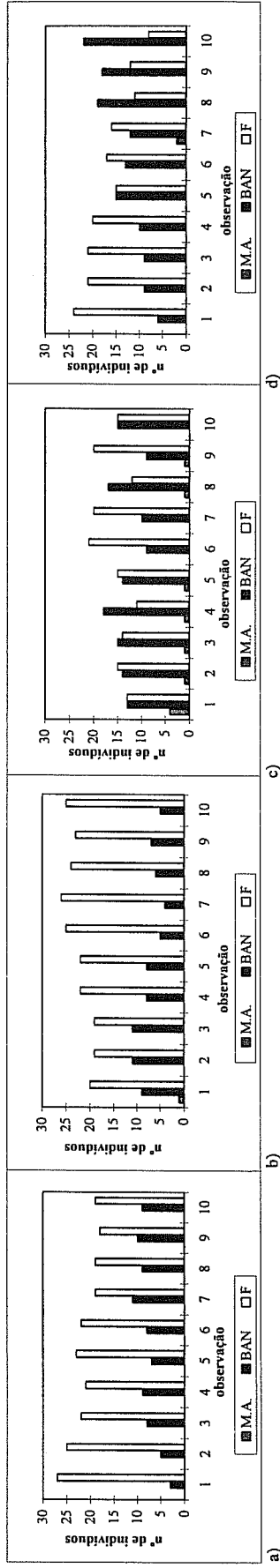


Figura 18 - Número de indivíduos observados em meio axênico (M.A.), banana (BAN) e fora dos meios (F), no segundo ensaio realizado para o teste meio axênico versus banana (21 e 22/ 1/97) com indivíduos BB.
 a) machos acasalados, b) machos virgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas virgens.

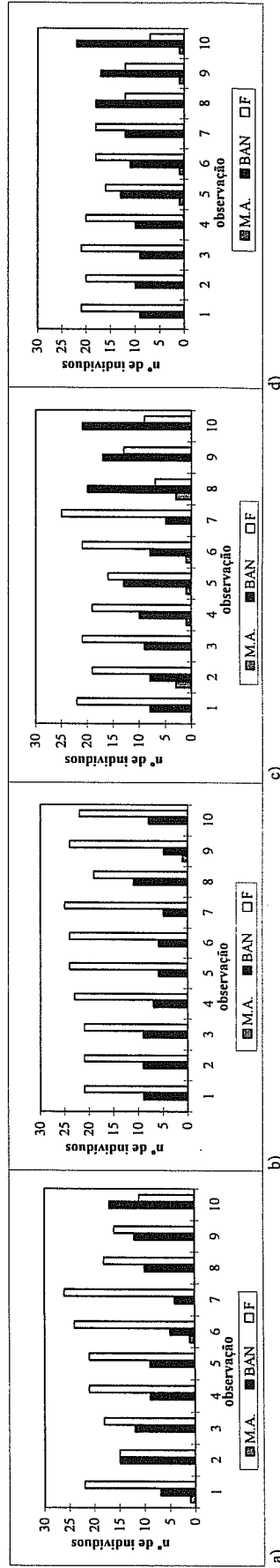
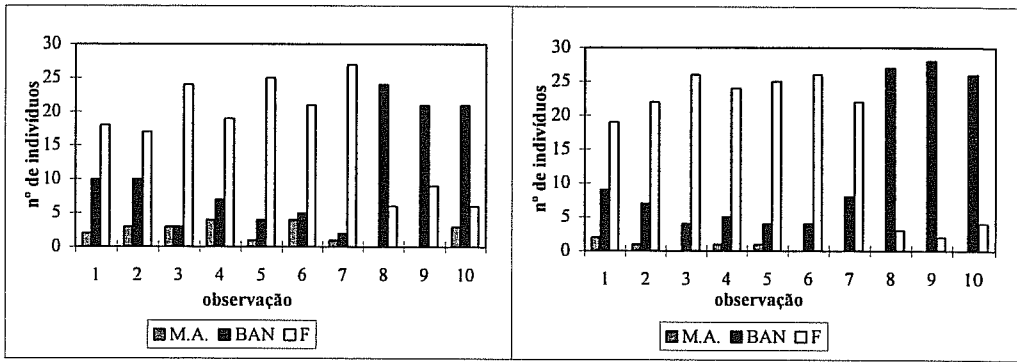
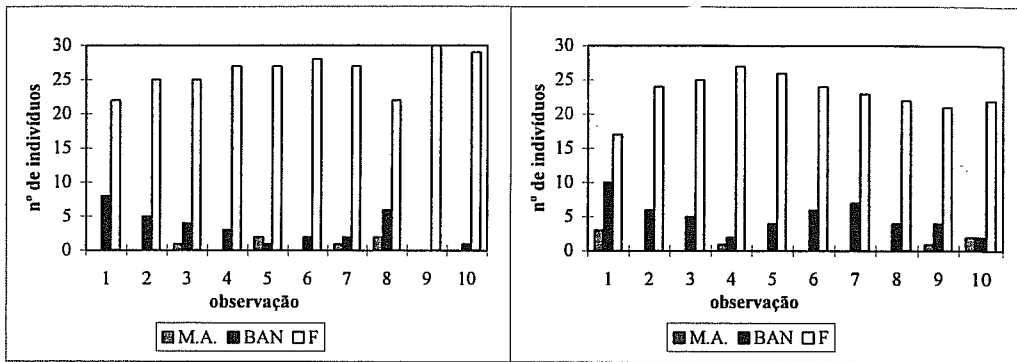
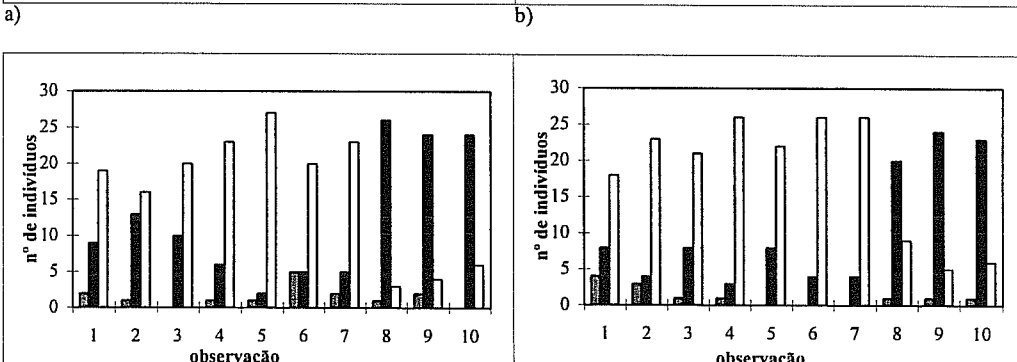
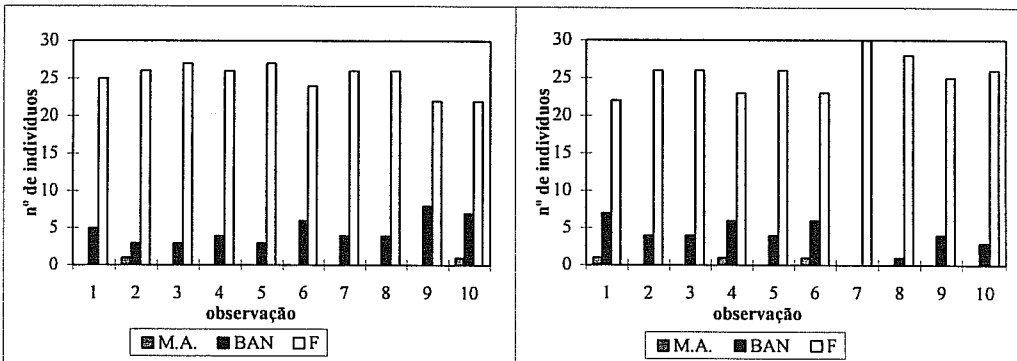


Figura 19 - Número de indivíduos observados em meio axênico (M.A.), banana (BAN) e fora dos meios (F), no terceiro ensaio realizado para o teste meio axênico versus banana (21 e 22/ 1/97) com indivíduos BB.
 a) machos acasalados, b) machos virgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas virgens.



c) d)

Figura 20 - Número de indivíduos observados em meio axênico (M.A.), banana (BAN) e fora dos meios (F), no primeiro ensaio realizado para o teste meio axênico *versus* banana com indivíduos AB (4 e 5/ 1/96). a) machos acasalados, b) machos virgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas virgens.



a) b) c) d)

Figura 21 - Número de indivíduos observados em meio axênico (M.A.), banana (BAN) e fora dos meios (F), no segundo ensaio realizado para o teste meio axênico *versus* banana com indivíduos AB (4 e 5/ 1/96). a) machos acasalados, b) machos virgens, c) fêmeas acasaladas, d) fêmeas virgens.

Tabela XXXI - Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, comparando estar dentro e fora dos meios, para a experiência meio axênico *versus* banana realizada com indivíduos BA. Ver legenda da Tabela I.

P.a.	1º ensaio				2º ensaio			
	Mac	Mv	Fac	Fv	Mac	Mv	Fac	Fv
1	4.80 * F	6.53 ** F	2.13 n.s. D	3.33 n.s. D	13.33 ***** F	13.33 ***** F	4.80 * F	13.33 ***** F
2	19.20 ***** F	2.13 n.s. D	8.53 ***** D	13.33 ***** F	19.20 ***** F	26.13 ***** F	4.80 * F	13.33 ***** F
3	16.13 ***** F	22.53 ***** F	2.13 n.s. D	22.53 ***** F	22.53 ***** F	26.13 ***** F	16.13 ***** F	22.53 ***** F
4	19.20 ***** F	22.53 ***** F	3.33 n.s. D	19.20 ***** F	16.13 ***** F	19.20 ***** F	4.80 * F	22.53 ***** F
5	22.53 ***** F	16.13 ***** F	3.33 n.s. D	22.53 ***** F	19.20 ***** F	26.13 ***** F	16.13 ***** F	13.33 ***** F
6	26.13 ***** F	19.20 ***** F	3.33 n.s. D	22.53 ***** F	19.20 ***** F	22.53 ***** F	19.20 ***** F	19.20 ***** F
7	26.13 ***** F	16.13 ***** F	6.53 ** F	19.20 ***** F	26.13 ***** F	6.53 ** F	22.53 ***** F	19.20 ***** F
8	100% F	15.21 ***** F	19.20 ***** D	0.31 n.s. D	13.33 ***** F	16.13 ***** F	3.33 n.s. D	10.80 **** F
9	11.17 ***** F	21.55 ***** F	13.33 ***** D	4.17 * D	3.33 n.s. D	13.33 ***** F	3.33 n.s. D	3.33 n.s. D
10	11.17 ***** F	25.14 ***** F	13.33 ***** D	2.79 n.s. D	13.33 ***** F	10.80 **** F	10.80 **** F	0.53 n.s. D

No conjunto dos dois ensaios realizados foram observados 14 pontos de amostragem em que não foram detectadas diferenças significativas entre o número de indivíduos observados dentro e fora dos meios; 50% (7) não traduzem diferenças significativas entre o número de indivíduos observados nos dois meios. Os restantes apontam para uma preferência por banana, assim nos pontos 6 das fêmeas acasaladas e 8 das fêmeas virgens do primeiro ensaio, todos os indivíduos observados nos meios estavam na banana. Nos pontos 3 e 5 das fêmeas acasaladas, 10 das fêmeas virgens e 2 dos machos virgens do primeiro ensaio, o número de indivíduos presentes na banana é significativamente maior ($X^2 = 4.26$, g.l. = 1, $0.025 < p < 0.05$; $X^2 = 6.40$, g.l. = 1, $0.01 < p < 0.025$; $X^2 = 11.84$, g.l. = 1, $p < 0.001$ e $X^2 = 4.45$, g.l. = 1, $0.025 < p < 0.05$ respectivamente). No segundo ensaio existe apenas um ponto em que os indivíduos preferiram o alimento banana, o ponto 10 das fêmeas virgens ($X^2 = 9.31$, g.l. = 1, $0.001 < p < 0.005$).

No conjunto dos três ensaios realizados com indivíduos BB (Tabela XXXII), apenas as fêmeas (virgens e acasaladas) apresentam pontos de amostragem em que

existem significativamente mais indivíduos nos meios do que fora deles, e mais uma vez essa preferência manifestou-se no último período de amostragem.

Tabela XXXII - Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, comparando as categorias estar dentro (D) fora (F) dos meios, para a experiência banana *versus* meio axênico realizada com indivíduos BB. Ver legenda da Tabela I.

P.a.	1º ensaio				2º ensaio				3º ensaio			
	Mac	Mv	Fac	Fv	Mac	Mv	Fac	Fv	Mac	Mv	Fac	Fv
1	0.13 n.s.	3.33 n.s.	6.53 ** F	13.33 ***** F	19.20 ***** F	3.33 n.s.	0.53 n.s.	10.80 **** F	6.53 ** F	4.80 * F	6.53 ** F	4.80 * F
2	1.20 n.s.	8.53 **** F	0.53 n.s.	0.53 n.s.	13.33 ***** F	2.13 n.s.	0 n.s.	4.80 * F	0 n.s.	4.80 * F	2.13 n.s.	3.33 n.s.
3	19.20 ***** F	26.13 ***** F	0.13 n.s.	2.13 n.s.	6.53 ** F	2.13 n.s.	0.13 n.s.	4.80 * F	1.20 n.s.	4.80 * F	4.80 * F	4.80 * F
4	19.20 ***** F	16.13 ***** F	6.53 ** F	3.33 n.s.	4.80 * F	6.53 ** F	2.13 n.s.	3.33 n.s.	4.80 * F	8.53 **** F	2.13 n.s.	3.33 n.s.
5	13.33 ***** F	10.80 **** F	13.33 ***** F	8.53 **** F	8.53 **** F	6.53 ** F	0 n.s.	0 n.s.	4.80 * F	10.80 **** F	0.13 n.s.	0.13 n.s.
6	19.20 ***** F	13.33 ***** F	10.80 **** F	19.20 ***** F	6.53 ** F	13.33 ***** F	4.80 * F	0.53 n.s.	10.80 **** F	10.80 **** F	4.80 * F	1.20 n.s.
7	19.20 ***** F	19.20 ***** F	0.53 n.s.	4.80 * F	2.13 n.s.	3.33 n.s.	3.33 n.s.	0.13 n.s.	16.13 ***** F	13.33 ***** F	13.33 ***** F	1.20 n.s.
8	2.29 n.s.	2.13 n.s.	10.80 **** D	0.53 n.s.	3.57 n.s.	1.20 n.s.	1.20 n.s.	2.13 n.s.	2.29 n.s.	2.13 n.s.	8.53 **** D	1.20 n.s.
9	1.29 n.s.	0 n.s.	19.20 ***** D	6.53 ** D	2.29 n.s.	3.33 n.s.	3.33 n.s.	1.20 n.s.	0.57 n.s.	10.80 **** F	0.53 n.s.	1.20 n.s.
10	7.0 ** F	1.20 n.s.	13.33 ***** D	4.80 * D	3.57 n.s.	13.33 ***** F	0 n.s.	6.53 ** D	1.29 n.s.	6.53 ** F	4.80 * D	8.53 **** D

No conjunto dos ensaios realizados para esta experiência, os dados apontam para a existência de uma preferência por banana (Tabela XXXIII). Em 56% dos pontos de amostragem em que o número de indivíduos observados nos meios foi significativamente maior, todos foram observados em banana (Tabela XXXIII), nos restantes o número contabilizado neste meio foi significativamente superior ($p < 0.001$).

No conjunto dos três ensaios, 54 pontos de amostragem não traduziram diferenças significativas no que diz respeito à distribuição dos indivíduos pelo interior das caixas. Em 65% desses pontos todos os indivíduos observados nos meios estavam na banana e a grande maioria dos restantes aponta igualmente para a existência de uma preferência por este meio ($p < 0.001$). A exceção são os pontos 7 e 2 das fêmeas acasaladas do primeiro e terceiro ensaios respectivamente, em que não foram detectadas diferenças significativas entre os dois meios.

Tabela XXXIII - Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, comparando banana com meio axénico para os pontos de amostragem em que os indivíduos preferiram estar nos meios, relativos à experiência realizada com estes meios, envolvendo indivíduos BB. Ver legenda da Tabela I para valores de significância.

Ensaio	Indivíduos	p.a.	X ²	p	Pref.
1º	fêmeas virg.	9	100%	----	banana
		10	100%	----	“
	fêmeas aca.	8	100%	----	“
		9	19.59	*****	“
		10	21.16	*****	“
2º	fêmeas virg.	10	100%	----	“
3º	fêmeas virg.	10	19.17	*****	“
	fêmeas aca.	8	12.56	*****	“
		10	100%	----	“

No conjunto dos dois ensaios realizados para a experiência banana *versus* meio axénico com indivíduos AB, apenas as fêmeas (virgens e acasaladas) apresentam pontos de amostragem em que o número de indivíduos observado nos meios foi significativamente superior ao observado fora deles (Tabela XXXIV).

Os pontos em que os indivíduos preferiram estar nos meios, ocorreram todos no último período de observação (pontos 8, 9 e 10), e todos eles apontam para a existência de uma preferência por banana. Assim, em 50% dos 12 pontos nestas condições todos os indivíduos observados nos meios estavam na banana. Nos restantes o número de indivíduos observados neste meio foi significativamente superior ao observado no meio axénico (Tabela XXXV).

No conjunto dos dois ensaios existem 10 pontos de amostragem em que não foram detectadas diferenças significativas entre o número de indivíduos observado dentro e fora dos meios. Um aspecto a salientar em relação à ocorrência destes pontos é que a grande maioria corresponde ao primeiro período de amostragem, apenas um ocorre no segundo e no terceiro período não foi detectado nenhum.

No que diz respeito às preferências manifestadas nestes pontos, em 50% foi detectada uma preferência por banana, caso do ponto 3 das fêmeas acasaladas do segundo ensaio, em que todos os indivíduos observados nos meios se encontravam na banana; dos pontos 1 das fêmeas acasaladas e virgens do primeiro ensaio e dos pontos 1 e 2 das fêmeas acasaladas do segundo ensaio em que foram detectadas diferenças significativas favorecendo a banana ($X^2 = 5.33$, g.l. = 1, $0.01 < p < 0.025$; $X^2 = 4.45$, g.l. = 1, $0.025 < p < 0.05$; $X^2 = 4.45$, g.l. = 1, $0.025 < p < 0.05$ e $X^2 = 10.29$, g.l. = 1, $0.005 < p < 0.001$ respectivamente). Nos restantes pontos de amostragem não foram detectadas diferenças significativas entre o número de indivíduos presentes nos dois meios.

Tabela XXXIV- Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, comparando o número de indivíduos observados dentro e fora dos meios, para a experiência meio axênico *versus* banana realizada com indivíduos AB. Ver legenda da Tabela I.

P.a.	1º ensaio				2º ensaio			
	Mac	Mv	Fac	Fv	Mac	Mv	Fac	Fv
1	6.53 ** F	0.53 n.s.	1.20 n.s.	2.13 n.s.	13.33 ***** F	6.53 ** F	2.13 n.s.	1.20 n.s.
2	13.33 ***** F	10.80 **** F	0.53 n.s.	6.53 ** F	16.13 ***** F	16.13 ***** F	0.13 n.s.	8.53 **** F
3	13.33 ***** F	13.33 ***** F	10.80 **** F	16.13 ***** F	19.20 ***** F	16.13 ***** F	3.33 n.s.	4.80 * F
4	19.20 ***** F	19.20 ***** F	2.13 n.s.	10.80 **** F	16.13 ***** F	8.53 **** F	8.53 */** F	16.13 ***** F
5	19.20 ***** F	16.13 ***** F	13.33 ***** F	13.33 ***** F	19.20 ***** F	16.13 ***** F	19.20 ***** F	6.53 ***** F
6	22.53 ***** F	10.80 **** F	4.80 * F	16.13 ***** F	10.80 **** F	8.53 **/* F	3.33 n.s.	16.13 ***** F
7	19.20 ***** F	8.53 **** F	19.20 ***** F	6.53 ** F	16.13 ***** F	100% F	8.53 **** F	16.13 ***** F
8	6.53 ***** F	12.46 ***** F	10.80 **** D	19.20 ***** D	16.13 ***** F	25.14 ***** F	19.20 ***** D	4.80 * D
9	100% F	9.85 *** F	4.80 * D	22.53 ***** D	6.53 ** F	15.21 ***** F	16.13 ***** D	13.33 ***** D
10	26.13 ***** F	12.46 ***** F	10.80 **** D	16.13 ***** D	6.53 ** F	18.24 ***** F	10.80 **** D	10.80 **** D

Tabela XXXV - Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, comparando o número de indivíduos AB observados em meio axênico e banana, para os pontos em que foi assinalada uma preferência para estar nos meios. Ver legenda da Tabela I.

Ensaio	Indivíduos	p.a.	X ²	p	Pref.
1º	fêmeas virg.	8	100%	---	banana
		9	"	---	"
		10	"	---	"
	fêmeas aca.	8	"	---	"
		9	"	---	"
		10	13.50	*****	"
2º	fêmeas virg.	8	17.19	*****	"
		9	21.16	*****	"
		10	20.17	*****	"
	fêmeas aca.	8	23.15	*****	"
		9	18.62	*****	"
		10	100%	----	"

Analisando os dados de alimentação referentes aos quatro tipos de experiência, podemos observar que os indivíduos de um modo geral, quando preferiram estar nos meios optaram pela banana. A actividade alimentar foi observada sobretudo nas fêmeas e principalmente no último período de observação.

De um modo geral não foram observadas diferenças significativas entre as preferências de fêmeas BA, BB e AB virgens e acasaladas (Tabela XXXVI, ver Tabela XX para os indivíduos AA), ambos os tipos de fêmeas preferiram a banana. Ocorreram duas exceções no segundo ensaio envolvendo fêmeas BA, em que foram detectadas diferenças significativas entre os dois tipos de fêmeas nos pontos 8 e 10. No ponto 8, o número de fêmeas acasaladas observado dentro e fora dos meios não diferiu significativamente, enquanto que as fêmeas virgens preferiram estar fora dos meios. No ponto 10 a situação foi semelhante mas neste ponto foram as fêmeas acasaladas que preferiram estar fora dos meios e as fêmeas virgens que não manifestaram preferência entre estar dentro ou fora dos meios.

Tabela XXXVI - Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, comparando o número de fêmeas (BA, BB e AB) virgens e acasaladas, observado em meio axénico e banana, nos pontos de amostragem (p.a.) do último período de observação. Ver legenda da Tabela I para valores de significância. (1) todas as fêmeas foram observadas em banana

p.a.	BA		BB			AB	
	1º ensaio	2º ensaio	1º ensaio	2º ensaio	3º ensaio	1º ensaio	2º ensaio
8	(1)	7.467 ***	1.447 n.s.	1.085 n.s.	2.533 n.s.	(1)	0.033 n.s.
9	0.278 n.s.	1.978 n.s.	1.699 n.s.	1.867 n.s.	0.972 n.s.	(1)	0.314 n.s.
10	2.757 n.s.	4.421 *	0.859 n.s.	(1)	0.934 n.s.	3.457 n.s.	1.021 n.s.

Para comparar o grau de preferência por banana manifestado pelos vários tipos de indivíduos, foi calculado um coeficiente de discriminação (CD) entre os dois meios, dividindo o número de indivíduos observados em banana pelo número total de indivíduos observados nos meios. No cálculo deste coeficiente foi utilizada a soma do número de fêmeas virgens e acasaladas observado em cada um dos meios, uma vez que de um modo geral, os tipos de fêmeas não diferiram significativamente nas suas preferências. Esta análise foi efectuada para cada ponto de amostragem do último período de observação, de cada um dos ensaios realizados com os vários tipos de indivíduos (Tabela XXXVII).

Tabela XXXVII - Valores do coeficiente de discriminação (CD) para os pontos de amostragem (p.a.) do último período de observação dos vários ensaios (1º, 2º ou 3º) realizados para as quatro categorias de indivíduos (AA, BA, BB e AB).

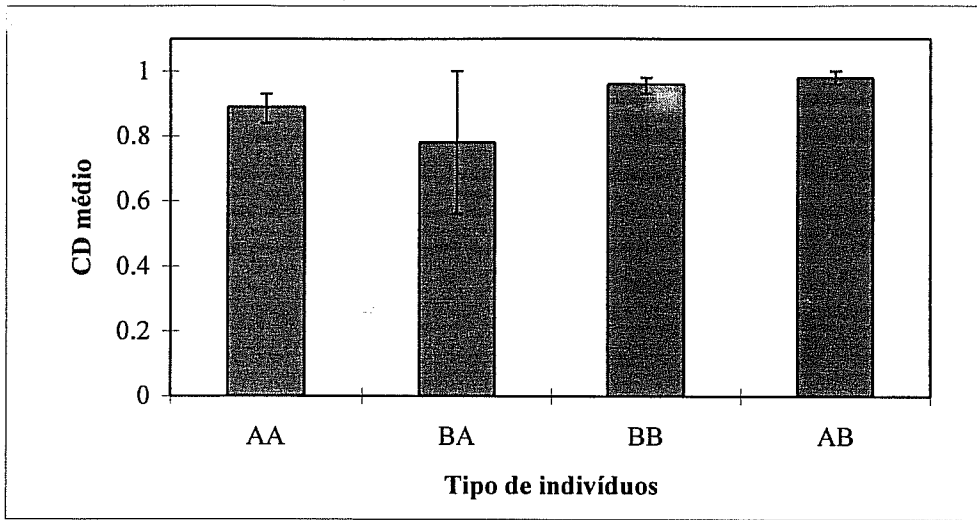
p.a.	AA			BA		BB			AB	
	1º	2º	3º	1º	2º	1º	2º	3º	1º	2º
8	0.84	0.89	0.93	1.00	0.56	0.98	0.97	0.93	1.00	0.96
9	0.68	0.91	0.93	0.98	0.65	0.96	0.96	0.97	1.00	0.94
10	0.57	0.89	0.90	0.95	0.79	0.98	1.00	0.98	0.94	0.98

Nas Figuras 22 a), b) e c) estão representados os valores médios do coeficiente de discriminação obtidos para cada um dos tipos de indivíduos nos pontos 8, 9 e 10 respectivamente, nessas figuras estão assinalados também os valores máximo e mínimo observados, para fornecer uma indicação da dispersão dos valores observados.

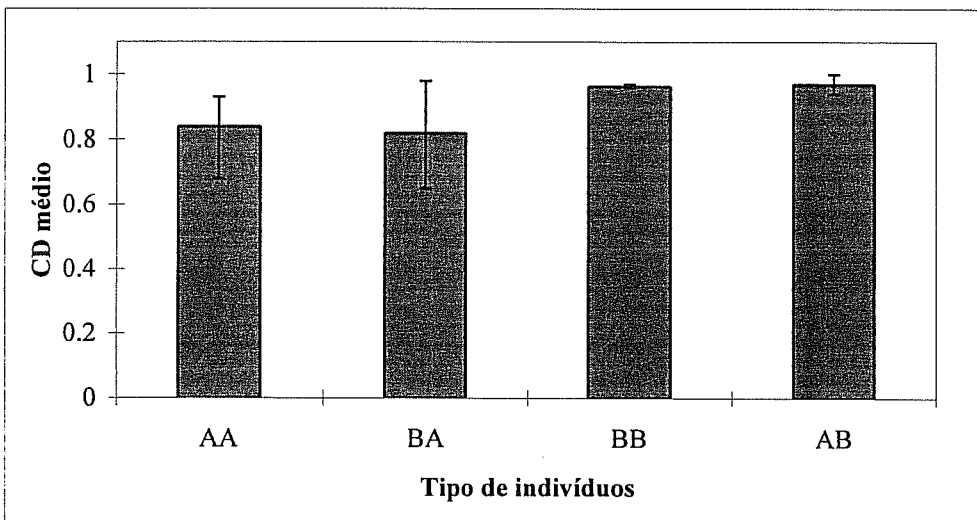
Observando estas figuras podemos constatar que na experiência realizada com indivíduos BA, foi observada uma grande variabilidade. Comparando os dados obtidos para cada um dos pontos de amostragem correspondentes ao último período de observação, podemos observar que existem diferenças significativas entre os dois ensaios realizados no que diz respeito à distribuição dos indivíduos pelos meios ($X^2 = 21.35$, g.l. = 1, $p < 0.001$; $X^2 = 13.78$, g.l. = 1, $p < 0.001$ e $X^2 = 4.20$, g.l. = 1, $0.025 < p < 0.05$ para os pontos 8, 9 e 10 respectivamente). Nos ensaios envolvendo os indivíduos BB e AB não foram detectadas diferenças significativas entre as preferências das fêmeas observadas em cada um dos pontos do último período de observação dos vários ensaios realizados. Nos ensaios respeitantes aos indivíduos AA também foi detectada alguma variabilidade, nomeadamente foram observadas diferenças significativas em dois dos pontos de amostragem ($X^2 = 1.461$, g.l. = 1, n.s.; $X^2 = 8.255$, g.l. = 1, $0.005 < p < 0.001$ e $X^2 = 12.241$, g.l. = 1, $p < 0.001$ para os pontos 8, 9 e 10 respectivamente).

Para averiguar se a experiência tinha algum efeito sobre as preferências alimentares das fêmeas das várias categorias de indivíduos, foi realizado um teste Qui-quadrado de independência utilizando a soma dos valores de fêmeas virgens e acasaladas observados nos vários ensaios realizados para cada tipo de indivíduos. Foram detectadas diferenças significativas ($X^2 = 9.60$, 0.01, g.l. = 3; $0.01 < p < 0.025$, $X^2 = 11.12$, g.l. = 3; $0.01 < p < 0.025$, e $X^2 = 22.15$, g.l. = 3; $p < 0.001$, para os pontos 8, 9 e 10 respectivamente).

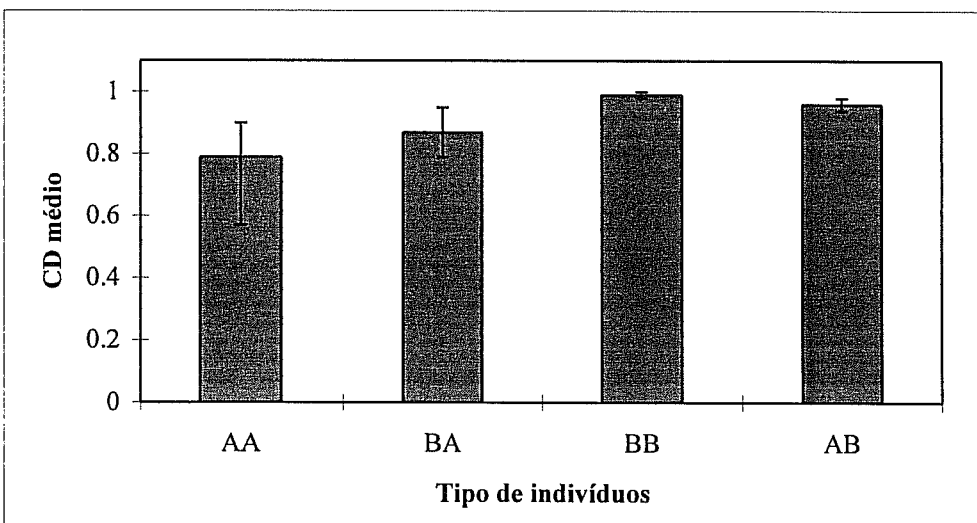
Em seguida foram efectuados testes Qui-quadrado de independência comparando as preferências dos indivíduos que estiveram no mesmo meio quando larvas (AA - AB e BB - BA), para averiguar se a experiência no estado larvar



a)



b)



c)

Figura 22 - Valores médios do coeficiente de discriminação (CD) entre os dois meios observados, para os vários tipos de indivíduos. a) para o ponto de amostragem 8, b) ponto 9 e c) ponto 10. Em cada barra estão assinalados os valores máximo e mínimo observados no conjunto dos ensaios.

influenciava as preferências manifestadas. Neste teste foi utilizada a soma dos valores das fêmeas (virgens e acasaladas) observados nos vários ensaios realizados. Apenas num dos pontos de amostragem é que foram detectadas diferenças significativas entre os dois tipos de experiência larvar ($X^2 = 0.03$, g.l. =1; n.s.; $X^2 = 0.09$, g.l. =1; n.s. e $X^2 = 6.11$, g.l. =1, $0.01 < p < 0.025$ para os pontos 8, 9 e 10 respectivamente). Foi efectuada a mesma análise comparando os indivíduos que estiveram no mesmo meio quando adultos (AA - BA e BB - AB), foram observadas diferenças significativas em todos os pontos de amostragem ($X^2 = 9.02$, g.l. =1, $0.005 < p < 0.001$; $X^2 = 11.09$, g.l. =1, $p < 0.001$ e $X^2 = 18.42$, g.l. =1, $p < 0.001$ para os pontos 8, 9 e 10 respectivamente).

Na Figura 23 está representada a média do número de fêmeas observadas em ambos os meios nos pontos de amostragem 8, 9 e 10, para cada valor médio é dado o valor máximo e mínimo como medida de dispersão dos valores. Não foram calculados os intervalos de confiança para estes valores, devido ao facto de que os valores correspondentes aos indivíduos AB e BA, apenas terem um grau de liberdade (para este tipo de indivíduos apenas foram realizados dois ensaios).

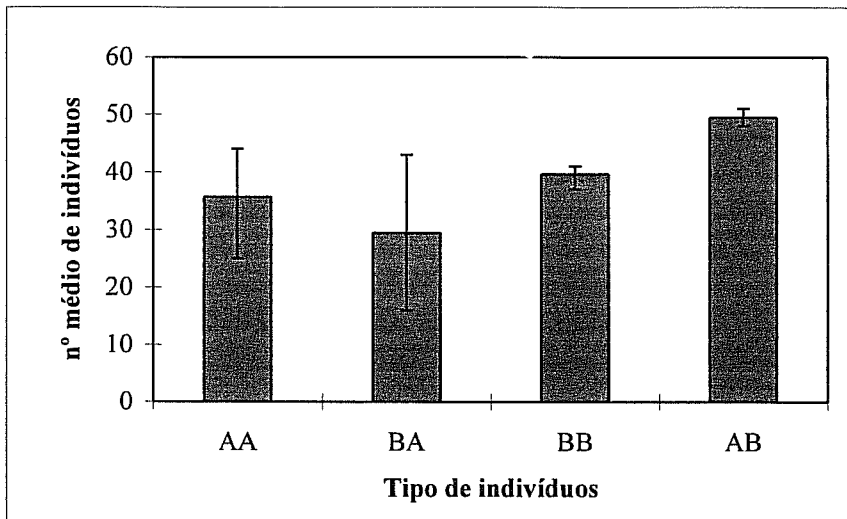
Aparentemente existe uma tendência para os indivíduos que estiveram em banana na fase adulta (BB e AB) estarem em maior número nos meios. No conjunto dos ensaios efectuados, as fêmeas (acasaladas e virgens) que contactaram com banana na fase adulta, foram observadas em números significativamente maiores nos meios ($X^2 = 7.04$, g.l. =1, $0.005 < p < 0.01$; $X^2 = 6.40$, g.l. =1, $0.01 < p < 0.025$ e $X^2 = 8.27$, g.l. =1, $0.001 < p < 0.005$ para os pontos 8, 9 e 10 respectivamente).

De um modo geral todos os indivíduos manifestam uma tendência para preferir a banana para se alimentarem, mas essa preferência aparentemente é superior nos indivíduos que contactaram com este meio na fase adulta. O contacto com os diferentes meios na fase larvar parece não influenciar as preferências de alimentação dos adultos.

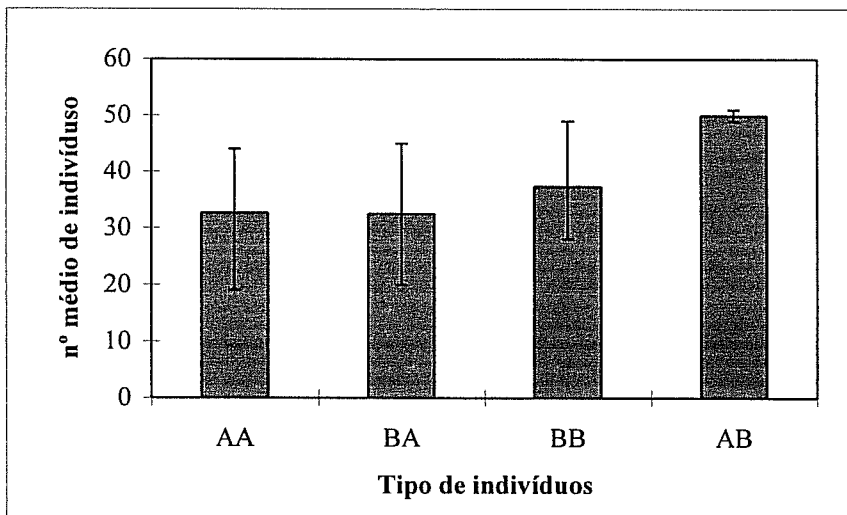
3.5.2 - Oviposição

Nas Tabelas XXXVIII, XL e XLIII, estão representados os dados relativos ao comportamento de oviposição nas experiências banana *versus* meio axénico realizadas com indivíduos BA, BB e AB respectivamente. Os dados referentes aos indivíduos AA foram apresentados no ponto 3.4.1.2.

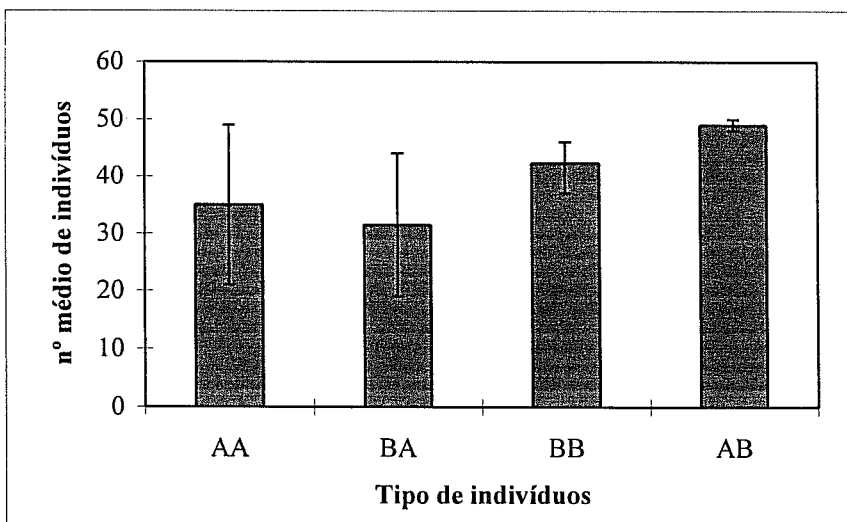
No conjunto dos dois ensaios realizados com fêmeas BA (Tabela XXXVIII), as fêmeas acasaladas tiveram uma oviposição maior ($X^2 = 842.66$, g.l. =1, $p < 0.001$). As fêmeas virgens colocaram ovos apenas no primeiro ensaio. Na primeira caixa o número de ovos colocados nos dois meios não diferiu significativamente ($X^2 = 0.13$, g.l. =1, n.s.), na segunda as fêmeas virgens colocaram mais ovos na banana ($X^2 = 10.29$, g.l. =1,



a)



b)



c)

Figura 23 - Número médio de indivíduos de cada uma das categorias de experiência observados nos meios, a) para o ponto de amostragem 8, b) para o ponto 9 e c) para o ponto 10. Para cada valor são dados os valores máximo e mínimo observados.

0.001 < p < 0.005). Os dados referentes às fêmeas acasaladas apontam para a existência de uma preferência por meio axénico. Apenas numa das caixas de observação é que o número de ovos observado em ambos os meios não foi significativamente maior neste alimento (Tabela XXXIX). No primeiro ensaio não foram detectadas diferenças significativas entre as duas caixas contendo fêmeas acasaladas ($X^2 = 0.34$, g.l. =1, n.s.), ao contrário do que aconteceu no segundo ensaio ($X^2 = 45.91$, g.l. =1, $p < 0.001$).

Tabela XXXVIII - Número de ovos postos pelas fêmeas acasaladas (fêmeas aca.) e virgens (fêmeas vir.) BA em meio axénico e banana, nas caixas (C1 e C2) observadas nos ensaios realizados para a experiência meio axénico *versus* banana.

	1º ensaio				2º ensaio			
	fêmeas aca.		fêmeas vir.		fêmeas aca.		fêmeas vir.	
	m.a.	ban.	m.a.	ban.	m.a.	ban.	m.a.	ban.
C1	137	33	14	16	166	42	0	0
C2	220	61	1	13	155	153	0	0

Tabela XXXIX - Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, para o número de ovos postos pelas fêmeas acasaladas BA em banana e meio axénico. Pref. - preferência, ver legenda da Tabela I para valores de significância.

ensaio	caixa	X^2	p	Pref.
1º	C1	63.62	*****	m.a.
	C2	89.97	*****	m.a.
2º	C1	73.92	*****	m.a.
	C2	0.01	n.s.	----

Da observação da Tabela XL, podemos constatar que as fêmeas acasaladas BB põem mais ovos do que as fêmeas virgens ($X^2 = 513.24$, g.l. =1, $p < 0.001$), nomeadamente em dois dos ensaios apenas foram obtidos dados de oviposição para as fêmeas acasaladas. No único ensaio em que existem dados de oviposição para as fêmeas virgens (segundo), os dados apontam para a não existência de diferenças significativas entre os dois meios ($X^2 = 0.73$, g.l. =1, n.s.). No que diz respeito às fêmeas acasaladas, os dados não são consistentes, pois no primeiro ensaio não existem diferenças significativas, no segundo numa das caixas as fêmeas preferiram a banana e na outra preferiram o meio axénico e finalmente no terceiro ensaio foi detectada uma preferência por banana em ambas as caixas (Tabela XLI). No primeiro e terceiro ensaios realizados com estes indivíduos não foram detectadas diferenças significativas entre as duas caixas de observação contendo fêmeas acasaladas ($X^2 = 1,05$, g.l. =1, n.s.; $X^2 = 0.32$, g.l. =1, n.s. respectivamente), ao contrário do que aconteceu no segundo ensaio ($X^2 = 75,34$, g.l. =1, $p < 0.001$).

Tabela XL - Número de ovos postos pelas fêmeas acasaladas (fêmeas aca.) e virgens (fêmeas vir.) BB, em meio axénico e banana, nas caixas (C1 e C2) observadas nos ensaios realizados para a experiência meio axénico *versus* banana.

	1º ensaio				2º ensaio				3º ensaio			
	fêmeas aca.		fêmeas vir.		fêmeas aca.		fêmeas vir.		fêmeas aca.		fêmeas vir.	
	m.a.	ban.	m.a.	ban.	m.a.	ban.	m.a.	ban.	m.a.	ban.	m.a.	ban.
C1	34	20	0	0	2	55	0	0	35	73	0	0
C2	41	35	0	0	96	37	9	13	53	95	0	0

Tabela XLI- Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, para o número de ovos postos pelas fêmeas acasaladas BB em banana e meio axénico. Pref. - preferência, ver legenda da Tabela I para os valores de significância.

ensaio	caixa	X ²	p	Pref.
1º	C1	3.63	n.s.	----
	C2	0.47	n.s.	----
2º	C1	49.28	*****	banana
	C2	26.17	*****	meio axé.
3º	C1	13.37	*****	banana
	C2	11.92	*****	banana

No caso das fêmeas AB (Tabela XLII), tal como nas experiências anteriores, as fêmeas virgens põem menos ovos do que as acasaladas ($X^2 = 1384.02$, g.l. =1, $p < 0.001$). Apenas se observaram três ovos colocados por fêmeas virgens. Nas fêmeas acasaladas, os dados apontam para alguma inconsistência nos resultados. No primeiro ensaio não foram observadas diferenças significativas entre as duas caixas de observação contendo fêmeas acasaladas ($X^2 = 1.02$, g.l. =1, n.s.), em ambas foi observada uma preferência por meio axénico. No segundo ensaio, pelo contrário, foram detectadas diferenças significativas entre os dados das duas caixas de observação ($X^2 = 22.98$, g.l. =1, $p < 0.001$). Numa das caixas foram observados mais ovos na banana e na outra não foram observadas diferenças significativas no número de ovos contados em ambos os meios (Tabela XLIII).

Tabela XLII- Número de ovos postos pelas fêmeas acasaladas (fêmeas aca.) e virgens (fêmeas vir.) AB, em meio axénico (m.a.) e banana (ban.), nas caixas (C1 e C2) observadas nos ensaios realizados para a experiência meio axénico *versus* banana.

	1º ensaio				2º ensaio			
	fêmeas aca.		fêmeas vir.		fêmeas aca.		fêmeas vir.	
	m.a.	ban.	m.a.	ban.	m.a.	ban.	m.a.	ban.
C1	180	90	0	0	145	284	2	1
C2	254	150	0	0	150	140	0	0

Tabela XLIII- Valores de Qui-quadrado e respectiva significância, para o número de ovos postos pelas fêmeas acasaladas AB em meio axénico e banana. Pref. - preferência, ver legenda da Tabela I para os valores de significância.

ensaio	caixa	X ²	p	Pref.
1º	C1	30.00	*****	m.a.
	C2	26.77	*****	m.a.
2º	C1	45.04	*****	banana
	C2	0.34	n.s.	----

Na Figura 24 está representado o número médio de ovos postos pelas fêmeas acasaladas das várias categorias de indivíduos, (os dados de oviposição das fêmeas virgens não foram consideradas pois estas de um modo geral não puseram ovos). Observando esta figura podemos constatar que as fêmeas BB são menos fecundas do que as fêmeas pertencentes às outras categorias. Aparentemente as fêmeas que se desenvolveram em banana têm uma tendência para serem menos fecundas do que as que passaram a sua fase larvar em meio axénico, embora os dados referentes às fêmeas BA tenham uma grande variabilidade.

Para este comportamento foi igualmente calculado um coeficiente de discriminação, tendo-se dividido o número de ovos de fêmeas acasaladas observados em meio axénico pelo número total de ovos postos em cada caixa. Na Figura 25 está representada a média desse coeficiente para cada categoria de experiência, e o respectivo intervalo de confiança a 95%. Neste caso foi possível calcular o intervalo de confiança devido ao número de graus de liberdade envolvidos 5 para o caso dos indivíduos AA e BB (pois para cada uma destas categorias foram observadas 6 caixas) e 3 para os indivíduos AB e BA (para os quais foram observadas apenas 4 caixas). Os dados sugerem que as fêmeas que estiveram em banana na fase adulta (AB e BB) tendem a ser menos discriminantes, o seu coeficiente é cerca de 0.5, ou seja colocam cerca de metade dos seus ovos em cada um dos meios.

Para comparar o efeito da experiência no estado adulto nas preferências de oviposição, foi calculado um teste Qui-quadrado de independência, utilizando a soma do número de ovos postos pelas fêmeas (virgens e acasaladas), que contactaram com o mesmo meio no estado adulto (AA - BA e AB - BB), nos vários ensaios efectuados. No conjunto dos ensaios realizados, o número de ovos postos em cada um dos meios pelas fêmeas que tiveram a mesma experiência no estado adulto é significativamente diferente ($X^2 = 623.67$, g.l. =1, $p < 0.001$). Assim como o das fêmeas que tiveram o mesmo tipo de experiência larvar ($X^2 = 106.44$, g.l. =1, $p < 0.001$).

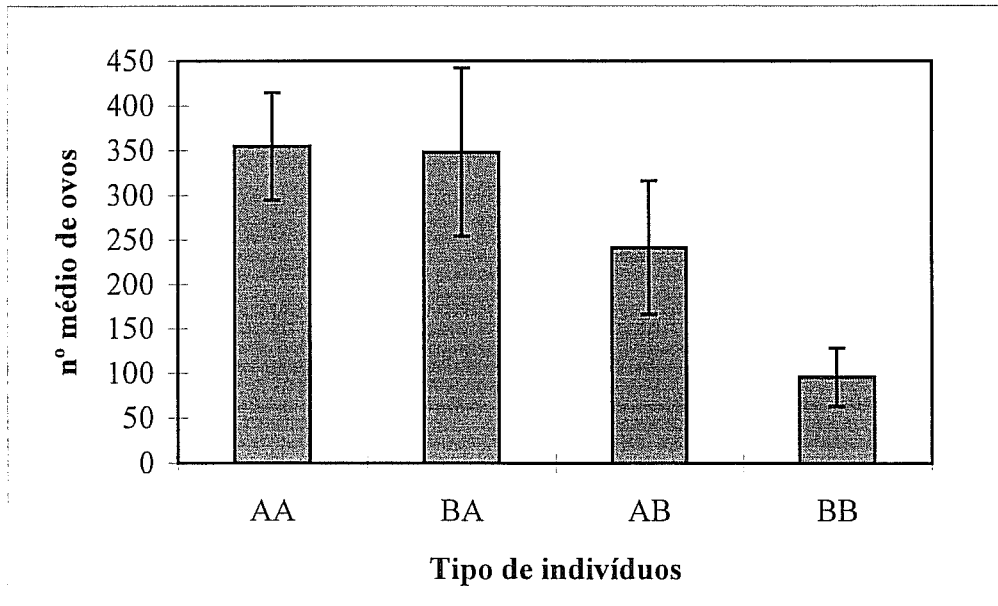


Figura 24 - Número médio de ovos postos por cada categoria de fêmeas acasaladas (AA, AB, BA e BB) nos vários ensaios, e respectivos intervalos de confiança a 95%.

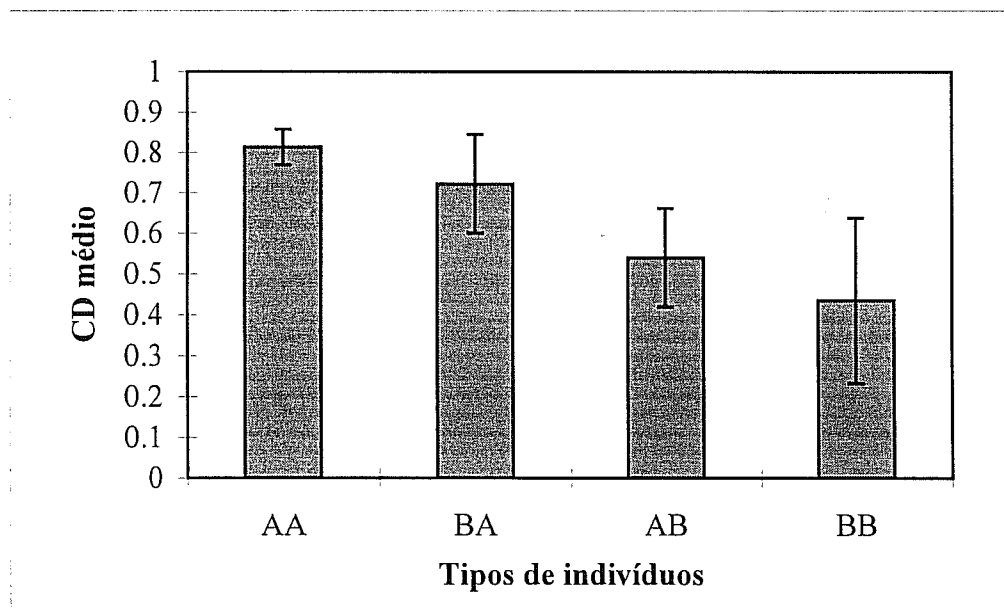


Figura 25 - Valores médios dos coeficientes de discriminação entre os dois meios para os vários tipos de indivíduos (AA, BA, AB e BB), e respectivos intervalos de confiança a 95%.

4 -Discussão

4.1 - Efeito de posição

Analisando os resultados obtidos para o comportamento de alimentação, podemos inferir que não existe um efeito de posição que o afecte. Em todos os pontos de amostragem em que os indivíduos preferiram estar no alimento, o número observado em cada uma das posições não diferiu significativamente do que seria de esperar se a sua distribuição fosse aleatória (Tabela II).

A ocorrência de pontos de amostragem em que foi detectada uma preferência por uma das posições, não é relevante por três motivos. Primeiro, essa preferência ocorreu apenas em pontos em que o número de indivíduos observados nos meios não diferiu significativamente do observado fora deles. Segundo, apenas foi observada em 9,7% desses pontos de amostragem. Finalmente, as preferências observadas não são consistentes ou seja, os indivíduos não escolheram sistematicamente o alimento à sua direita ou à sua esquerda.

No comportamento de oviposição, embora tenham sido detectadas diferenças significativas entre o número de ovos postos nas duas posições, essas diferenças também não são consistentes. Ou seja, não foram observados sempre mais ovos à esquerda ou à direita do ponto de entrada. Aparentemente as diferenças detectadas não se devem a um eventual efeito de posição, sendo mais provável que resultem do facto da oviposição nesta espécie ser gregária. Ou seja, as fêmeas têm maior tendência para pôr ovos num substrato onde já haja ovos ou onde se encontrem outras fêmeas a pôr ovos. Este tipo de comportamento já foi descrito para várias espécies de *Drosophila* (e.g. Kambysellis *et al.* 1980, Brnic 1987 *in* Ruiz-Dubreuil *et al.* 1994).

Os recursos alimentares explorados por espécies do género *Drosophila* estão divididos em pequenas unidades discretas e efémeras tais como frutos, flores e fungos. Frequentemente estes locais suportam um grande número de espécies, cada uma com uma clara tendência para uma oviposição agregada (Shorrocks 1977, Brnic & Valente 1978, Brnic 1987, Atkinson & Shorrocks 1984 *in* Ruiz-Dubreuil & Del Solar 1993).

Del Solar (1968 *in* Ruiz-Dubreuil & Del Solar 1993) demonstrou que o comportamento de agregação das fêmeas pode ser modificado por selecção em *Drosophila pseudoobscura*. Ruiz-Dubreuil *et al.* (1994) observaram que a oviposição agregada persiste numa população de *D. melanogaster* que foi seleccionada para uma baixa expressão dessa característica. Para estes autores parece ser uma norma do comportamento de oviposição e coloca questões quanto ao seu valor adaptativo.

A agregação dos ovos pode fornecer ajuda às larvas na exploração dos recursos,

ou protecção contra efeitos tóxicos da infecção e dessecação (Ruiz-Dubreuil & Del Solar 1993). Por outro lado nos locais onde os recursos são mais limitados, os fenótipos mais gregários podem dispendir menos tempo e energia na procura de locais apropriados para oviposição (Ruiz-Dubreuil & Del Solar 1993).

De Jong (1992 *in* Ruiz-Dubreuil & Del Solar 1993) sugeriu que a capacidade que as fêmeas de *Drosophila* têm de seleccionar um local de oviposição apropriado, que já contenha ovos, é um comportamento importante que pode afectar a viabilidade da descendência, aumentando a sua probabilidade de sobrevivência. Em algumas espécies do grupo *Sophophora* existe uma relação positiva entre a densidade larvar (dentro de limites) e a sobrevivência da larva até ao estado adulto. Essa relação pode dever-se ao facto de cada larva libertar desperdícios bióticos e excreções salivares para o substrato, o que pode levar as larvas a cooperarem na mobilização do alimento (Dawood & Strickberger 1969, Budnik *et al.* 1971, Budnik & Brnic 1975 *in* Ruiz-Dubreuil & Del Solar 1993; Ruiz-Dubreuil *et al.* 1994).

O facto da oviposição ser gregária, pode ainda ter outra vantagem, nomeadamente diminuir os efeitos da predação e do parasitismo nos estados pré adultos. Se uma fêmea colocar os seus ovos num recurso que já esteja a ser utilizado por outras fêmeas, a probabilidade da sua descendência ser afectada por um eventual ataque de predadores ou parasitas é mais baixa do que seria se essa fêmea colocasse os seus ovos em recursos onde não existissem outros ovos.

O aparente “efeito de posição” pode ainda ter outra origem, pode dever-se ao facto das fêmeas de *Drosophila* tenderem a pôr os seus ovos em grupos “clutches”, ou seja uma fêmea não põe um ovo de cada vez, põe um grupo de ovos no recurso que escolhe para o efeito. O aparente “efeito de posição” pode surgir apenas porque fêmea mais fecunda (relativamente às outras presentes na caixa) escolheu uma das posições para realizar a sua oviposição.

Tendo em conta estes resultados podemos inferir que não existe um efeito de posição, no que diz respeito aos dois comportamentos em análise, pelo que esse efeito não será considerado nas experiências seguintes.

4.2 - Meios nutritivos *versus* meio não nutritivo

Os resultados das experiências realizadas, comparando meios nutritivos com um meio não nutritivo (pontos 3.3.1, 3.3.2 e 3.3.3), apontam para o facto das drosófilas conseguirem discriminar entre os dois tipos de meios. Quando confrontadas com a escolha entre qualquer um dos tipos de meio nutritivo, quer este fosse familiar ou não

(e.g. a gelatina e a banana eram meios novos com os quais as drosófilas nunca tinham contactado) e o meio não nutritivo, as drosófilas optam pelo meio nutritivo para se alimentarem e porem ovos.

Um dos aspectos a salientar no que diz respeito aos resultados destas experiências é a grande variabilidade detectada. Essa variabilidade pode ter resultado do efeito de factores que não foram controlados no procedimento experimental. Por exemplo nestas experiências não foram controlados factores tais como a temperatura e a luminosidade. Nomeadamente o efeito da temperatura pode ter afectado os resultados obtidos nos ensaios realizados durante o mês de Agosto (o primeiro ensaio realizado em cada um das experiência que envolveram agar). Aparentemente as fêmeas (indivíduos que têm maior tendência para estar nos meios), manifestaram menos interesse pelos meios do que em ensaios posteriores. E além disso observou-se que o período em que houve mais indivíduos nos meios, ocorreu durante o primeiro período de observação, ao contrário do que aconteceu nos ensaios posteriores. Estas diferenças podem estar relacionadas com a temperatura, uma vez que, as experiências decorreram à temperatura ambiente registada no Laboratório de Entomologia, que neste mês foi mais alta pois o sistema de ar condicionado encontrava-se desligado. Assim no primeiro período de observação que teve o seu início cerca das 8h 30, a temperatura ambiente foi mais baixa (18-20°C), enquanto que nos restantes períodos, que tiveram o seu início cerca das 11h, a temperatura ambiente foi mais elevada (cerca de 25°C). Nos ensaios realizados posteriormente a temperatura ambiente foi em média de 18°C durante todos os períodos de observação. Segundo Prophetou-Athanasiou *et al.* (1993), em *Drosophila subobscura* o número médio de ovos postos em recursos colocados à temperatura de 18°C é significativamente maior do que em recursos a 25°C. Do mesmo modo o número médio de visitas ao recurso é maior à temperatura de 18 °C

Os resultados obtidos neste conjunto de experiências apontam para o facto de os dois sexos terem comportamentos diferentes no que diz respeito à alimentação. Os machos, na generalidade dos casos, manifestaram um aparente desinteresse pelos dois alimentos, sendo observados em maior número nas paredes das caixas (ver Tabelas VI, IX e XIII para as experiências meio axénico *versus* agar, banana *versus* agar e gelatina *versus* agar respectivamente). Foram observadas algumas excepções, nomeadamente no primeiro ensaio realizado para a experiência meio axénico *versus* agar. Este foi o único ensaio deste grupo de experiências, em que os machos preferiram estar nos meios em alguns dos pontos de amostragem. O facto deste fenómeno apenas ter sido observado num dos ensaios realizados, leva a pensar que a sua ocorrência pode ter tido uma origem casual. A outra excepção ocorreu no primeiro período de observação dos dois ensaios relativos à experiência gelatina *versus* agar, onde foi detectada uma tendência para a existência de diferenças não significativas entre o número de indivíduos observados

dentro e fora dos meios.

O comportamento das fêmeas diferiu do dos machos em dois aspectos: por um lado as fêmeas manifestaram um maior interesse pelos meios alimentares e por outro esse interesse manifestou-se sobretudo no último período de observação. A experiência que envolveu os meios agar e gelatina, constituiu uma exceção pois as fêmeas de um modo geral manifestaram menos interesse nos meios e os pontos de amostragem em que esse interesse foi mais patente ocorrerem no primeiro período de observação (este último facto que pode estar relacionado com a temperatura, pois ocorreu num ensaio realizado no mês de Agosto).

As diferenças observadas no comportamento de fêmeas e machos, estão de acordo com os dados de campo recolhidos por vários investigadores. Em trabalhos em que foram utilizados iscos para atrair drosófilas, foi observado que o número de machos desta espécie colhidos nos iscos é mais baixo do que o número de fêmeas, e que quando se utilizam armadilhas “abertas” em que são capturados os indivíduos dentro e nas imediações da armadilha o número de machos apanhados é maior (e.g. Basden 1954, Spieth 1974 *in* Steele 1986).

Segundo Steele (1986), as observações no campo apoiam a ideia de que enquanto as fêmeas estão concentradas nos iscos, os machos encontram-se distribuídos nas imediações dos recursos alimentares. Para este autor, esta distribuição espacial está relacionada com o modo como a corte se desenrola em *D. subobscura*. Steele (1986) foi o primeiro autor a descrever a ocorrência de alimentação durante a corte (“courtship feeding”) nesta espécie, ou seja os machos produzem uma gotícula nutritiva que oferecem à fêmea durante a corte. Segundo este autor os machos encontram-se nas imediações dos recursos alimentares, para tentar interceptar as fêmeas à medida que estas se aproximam dos alimentos, utilizando a gotícula como isco para as poderem cortejar. Em muitas espécies as fêmeas aterram fora do recurso antes de se aproximarem através de uma série de pequenos voos ou andando (Spieth 1974, Beppu & Toda 1976, dados não publicados *in* Steele 1986). Os machos na vegetação circundante têm assim a oportunidade de interceptar e cortejar as fêmeas antes destas atingirem o alimento (Steele 1986).

Considerando os padrões comportamentais dos machos e das fêmeas podemos especular que os dois sexos têm prioridades comportamentais diferentes. Durante as nossas observações os machos foram vistos fora dos meios, de um modo geral a locomover-se ou a tentar acasalar com outros machos. Estas observações fazem-nos levantar a hipótese de que para os machos a prioridade é acasalar. Em termos de sucesso reprodutor é importante para o macho obter o máximo número de cópulas, por outro lado o sucesso reprodutor da fêmea está associado ao número de ovos que ela consegue pôr num recurso apropriado para o desenvolvimento larvar. Uma vez que é a fêmea a

fornecer a maior parte dos nutrientes presentes no ovo é natural que obter alimento seja muito importante para ela.

Durante as nossas observações, realizadas durante a manhã, altura que em *D. subobscura* corresponde ao período de maior actividade (Krimbas 1993), o número de machos observados nos meios foi muito baixo, o que nos leva a especular que é possível que a estratégia dos machos seja adiar a sua própria alimentação, quando a probabilidade de encontrar fêmeas e acasalar é grande.

A experiência que envolveu os meios gelatina e agar destaca-se dos outros, pois nos dois ensaios realizados as fêmeas aparentemente são menos atraídas pelo meio nutritivo, quando comparamos os resultados obtidos para as experiências anteriores envolvendo um meio nutritivo e outro não nutritivo. Aparentemente o meio gelatina é o meio nutritivo menos atractivo para as fêmeas e o mais atractivo para os machos, no que diz respeito ao comportamento de alimentação. O facto das fêmeas serem menos atraídas pela gelatina, pode estar relacionado com as suas necessidades nutricionais, pois tinham uma idade que corresponde a um pico de oviposição e nesta espécie as leveduras são essenciais para a maturação dos ovos (Prophetou-Athanasidou *et al.* 1993).

David *et al.* (1973) consideraram que o meio com açúcar (correspondente ao meio gelatina no nosso estudo) era um meio repulsivo no que diz respeito à oviposição. Os resultados das experiências realizadas por esses investigadores apontam para o facto das fêmeas preferirem pôr ovos em agar, quando confrontadas com a escolha entre um meio açucarado e um meio não nutritivo (agar), comportamento que os autores designaram de “suicídio” uma vez que o desenvolvimento larvar é inviável nesse meio (assim como no meio de gelatina). Os nossos dados de oviposição apontam para o facto de as fêmeas preferirem pôr ovos no meio contendo açúcar, quando a alternativa é por ovos num meio não nutritivo. A origem desta discrepância pode dever-se ao facto desta equipa trabalhar com uma espécie diferente (*D. melanogaster*), ao facto de existirem outras variáveis não controladas nas experiências de David *et al.* (*op cit.*) (como por exemplo a sujidade das caixas de observação, pois esta equipa manteve o mesmo grupo de indivíduos na mesma caixa durante um período de 10 dias, substituindo apenas os recipientes que continham os meios), ou ao facto da estrutura genética da população utilizada ser resultante do cruzamento entre uma estirpe mutante e uma estirpe selvagem.

Um dado curioso é que a preferência para estar nos alimentos, de um modo geral, só é observada no último período de observação, que como já foi referido, decorreu no dia seguinte cerca de 26h após a introdução dos indivíduos nas caixas de observação. Os nossos dados estão de acordo com os obtidos por Vacek *et al.* (1985), que analisou as preferências de alimentação em *D. buzzatii* ao longo de três dias, e observou que actividade alimentar era maior no segundo e terceiro dias. Este autor

sugeriu que no primeiro dia a exploração do novo ambiente era a actividade predominante.

Podemos concluir que as fêmeas manifestarem uma preferência consistente para escolher qualquer um dos meios nutritivos (mesmo um não familiar), para se alimentarem e porem ovos, quando a outra opção é escolher um meio não nutritivo. Este facto aponta para duas conclusões: a primeira é que estes organismos conseguem reconhecer os meios nutritivos e a segunda é que o protocolo experimental utilizado permite a manifestação e detecção da escolha.

4.3 - Comparação entre meios nutritivos

4.3.1 . Meio axénico *versus* banana

Tal como nas experiências analisadas no ponto anterior as fêmeas e os machos têm comportamentos diferentes no que diz respeito ao comportamento de alimentação. O padrão observado é semelhante, os machos são observados em maior número nas paredes das caixas enquanto que as fêmeas manifestam uma tendência para estar nos meios, embora apenas no último período de observação. No primeiro ensaio as fêmeas demonstraram menos interesse nos alimentos; no entanto esse facto pode estar relacionado com a temperatura, uma vez que esse ensaio foi realizado em Agosto.

Analisando os dados dos dois comportamentos podemos observar que as fêmeas apresentam preferências de alimentação diferentes das preferências de oviposição. As fêmeas acasaladas e virgens são observadas com maior frequência no meio banana (presumivelmente a alimentarem-se), com o qual não tinham tido qualquer contacto prévio, mas põem significativamente mais ovos no meio axénico, meio onde habitualmente decorre todo o seu ciclo de vida.

O facto das fêmeas preferirem a banana para se alimentarem pode estar relacionado com o facto deste fruto conter leveduras vivas enquanto que o meio axénico contem levedura morta. David e colaboradores (David & Herrewege 1969, David *et al.* 1971), consideraram que a levedura viva tinha um efeito repulsivo sobre a oviposição das drosófilas. Estes autores observaram que fêmeas de *D. melanogaster*, quando tinham à sua disposição um meio com levedura viva e um meio de agar, preferiram colocar os seus ovos no meio não nutritivo. Salientam que a levedura viva, embora seja um local de alimentação atractivo, é repulsiva para o comportamento de oviposição.

Na nossa opinião os resultados obtidos por estes autores não são suficientes para afirmar que a levedura viva é repulsiva como local de oviposição. Por um lado, vários

autores descrevem que as fêmeas de *Drosophila* utilizam recursos em fermentação como locais de oviposição (e.g. Basden 1954, Carson 1971), e esses recursos necessariamente contêm leveduras vivas. Por outro, os nossos dados não corroboram a existência dessa repulsão. Os resultados de oviposição das experiências envolvendo envolvendo banana e agar, e banana e gelatina apontam para uma preferência pela banana, meio que contem leveduras vivas, (ver pontos 4.2, 4.3.3 respectivamente). Os resultados obtidos por David e colaboradores podem estar relacionados com o facto de a levedura escolhida ser pouco atractiva para a espécie utilizada, ou estar num estado de fermentação excessivo e pouco atractivo.

Vários autores referem que algumas espécies de *Drosophila* utilizam diferentes recursos para a alimentação dos adultos e para a oviposição. Carson (1971) salienta que as fêmeas de *Drosophila* são de um modo geral mais selectivas quanto à escolha de um local de oviposição do que em relação a um local de alimentação. Segundo Carson (1971) existe uma separação clara entre os dois comportamentos, os adultos são atraídos e alimentam-se numa grande variedade de substâncias em fermentação, mas a oviposição é na maioria das espécies uma tarefa mais especializada e mais delicadamente adaptada. Este autor considera que as drosófilas são muito oportunistas no que diz respeito aos seus locais de alimentação. Refere um estudo realizado por Dobzhansky *et al.* (1956), em que foi comparado o grau de atracção de leveduras extraídas de drosófilas com o da levedura de padeiro (*Saccharomyces cerevisiae*), em que os dados apontam para o facto de nenhuma das leveduras extraídas das drosófilas serem mais atraentes do que a levedura de padeiro. Este “oportunismo” alimentar faz todo o sentido em espécies generalistas que exploram recursos efémeros com uma distribuição “imprevisível” (“patchy”), como é o caso de *D. subobscura*, pois este aspecto do seu comportamento pode aumentar as suas probabilidades de sobrevivência.

Jaenike (1986) sugere que uma fêmea pode ser atraída ou ficar num recurso não apenas porque este é adequado para o desenvolvimento larvar da sua descendência, mas também devido ao efeito que esse recurso pode ter na sua fecundidade futura. Deste modo pode ser adaptativo para uma fêmea alimentar-se (e ocasionalmente pôr ovos), num alimento que embora aumente a sua fecundidade futura, é pouco adequado para o desenvolvimento da sua descendência. Em *Drosophila* a fecundidade diária potencial das fêmeas aumenta até atingir um pico vários dias após a emergência (e.g. Birch *et al.* 1963, Beckenbach 1978 *in* Jaenike 1986, Matos 1996) após o que diminui até zero. Se o facto de um dado recurso ser atraente, está associado a um balanço entre a sua adequação para a alimentação das larvas e o seu efeito na fecundidade futura das fêmeas, então podem ser feitas as seguintes previsões no que diz respeito às alterações ontogenéticas nas preferências de recursos. Nos primeiros dias da vida da fêmea adulta, quando a fecundidade potencial do dia seguinte é maior do que a do presente, a escolha

do recurso deve ser inviesada no sentido dos alimentos que aumentam a fecundidade futura. Mais tarde, quando a fecundidade diária potencial está a diminuir, os alimentos que fornecem os melhores locais para o desenvolvimento larvar devem ser favorecidos. Existem algumas indicações de que as preferências de oviposição se modificam com a idade das fêmeas (Jaenike 1986).

Tendo em conta os nossos dados, parece ser evidente que o comportamento de alimentação tem uma componente mais “aberta” do que o de oviposição. Os indivíduos analisados fazem parte de uma população que apenas teve a oportunidade de se alimentar e pôr ovos em meio axénico durante cerca de 70 gerações, até à altura em que foram observados. No entanto, quando lhes foi concedida a opção de se alimentarem num novo recurso nutritivo, eles escolheram a novidade. Pelo contrário, a oviposição continuou a ser efectuada no meio com o qual já tinham contactado.

Em condições naturais faz sentido que o comportamento de oviposição tenha uma estrutura mais “rígida”, pois a escolha de um local de oviposição tem um grande impacto na “fitness” dos indivíduos. O facto das larvas terem uma mobilidade relativamente baixa, e o tipo de distribuição espacial e temporal dos recursos apropriados para a sua alimentação, leva a que a escolha de substrato de oviposição efectuada pela fêmea, seja determinante para a sobrevivência da sua descendência. Por outro lado, faz sentido que o comportamento de alimentação tenha uma estrutura mais aberta, pois se a fêmea utilizar um recurso alimentar pouco adequado, tem sempre a hipótese de procurar outro para satisfazer as suas necessidades alimentares, dada a sua enorme mobilidade.

4.3.2 - Meio axénico *versus* gelatina

Os resultados relativos ao comportamento de alimentação, observados no único ensaio realizado para esta experiência, apontam para o facto de os machos terem uma tendência maior para estar nos meios durante o primeiro período de observação. Os dois pontos em que ocorreram significativamente mais indivíduos nos meios, corresponderam ao primeiro ponto de observação dos machos acasalados e virgens. Nesses dois pontos os indivíduos preferiram o meio axénico, mas esse facto pode não ser significativo por dois motivos. Primeiro essa preferência foi observada apenas no primeiro ponto de amostragem, por isso pode estar relacionada com a perturbação sofrida pelos indivíduos quando estes foram introduzidos nas caixas de observação. E em segundo lugar nos pontos de amostragem seguintes observou-se uma tendência para os machos de ambos os tipos estarem na gelatina, à semelhança do que tinha acontecido

na experiência envolvendo os meios gelatina e agar.

No caso das fêmeas foi observada uma tendência para estas estarem na gelatina durante o primeiro período de observação, e uma tendência para estarem no meio axénico no último período de amostragem. No entanto é de salientar que as diferenças encontradas no último período não são muito significativas (i.e. $0.025 < p < 0.05$).

O facto de apenas ter sido realizado um ensaio, e de este ter decorrido durante o mês de Agosto, limita as conclusões que se poderiam tirar desta experiência, tendo em conta a variabilidade observada nos resultados das experiências em que foram realizadas mais ensaios. O único aspecto que parece constante nos ensaios que envolveram gelatina é o facto de os machos manifestarem mais interesse em estar nos meios nesses ensaios.

Os dados de oviposição apontam para o facto de as fêmeas (virgens e acasaladas) preferirem pôr os seus ovos no meio axénico, embora numa das caixas de fêmeas acasaladas tenha sido observado um número relativamente elevado de ovos na gelatina.

4.3.3 - Banana versus gelatina

Para esta experiência apenas foi realizado um ensaio. De um modo geral todos os indivíduos manifestam pouco interesse nos meios, o que pode estar relacionado com a temperatura ambiente registada na altura das observações, uma vez que este ensaio decorreu durante o mês de Agosto. O padrão que parece mais consistente nos dados é que os indivíduos manifestaram uma tendência para estar na banana, particularmente as fêmeas virgens e acasaladas. Essa tendência, tal como nas experiências anteriores manifestou-se principalmente nos pontos de amostragem correspondentes ao último período de observação.

No que diz respeito ao comportamento de oviposição, as fêmeas manifestaram uma tendência para escolher a banana como substrato de oviposição. Outro facto a salientar nesta experiência é que as fêmeas acasaladas puseram menos ovos do que em experiências anteriores. Uma vez que não foram realizados mais ensaios, este dado é difícil de interpretar, pois pode ser resultado de vários factores. Um desses factores pode ter sido a temperatura ambiente elevada registada nos dias em que decorreram as observações, o que pode ter reduzido a actividade das fêmeas observadas. Por outro lado as fêmeas podem ter tido uma fecundidade inferior nos dias em que foram observadas, por mero acaso. Estes resultados podem ainda dever-se ao facto de as fêmeas terem retido ovos, por não reconhecerem os substratos apresentados como apropriados para a oviposição, uma vez que não tinham à sua disposição o substrato que normalmente utilizavam.

O facto das fêmeas optarem pela banana para se alimentarem e porem ovos, vem reforçar a ideia de que a presença de leveduras vivas no substrato não é repelente para as drosófilas.

4.4 - Efeito da experiência

Os resultados das experiências efectuadas para avaliar os efeitos do contacto prévio com os meios nas escolhas de alimentação, revelam que todos os tipos de indivíduos (AA, BA, BB e AB), quando optam por estar nos meios, escolhem a banana para se alimentarem (ver pontos 3.4.1.1 e 3.5.1). Mais uma vez são as fêmeas que são observadas em maior número nos alimentos, e esta tendência tende a manifestar-se apenas no último período de observação, tal como no maior parte das experiências anteriores.

Foi observada alguma variabilidade entre ensaios realizados com o mesmo tipo de indivíduos, nomeadamente nos ensaios envolvendo indivíduos AA (referidos no ponto (4.3.1) e BA. No que diz respeito a estes últimos, foram realizados dois ensaios um dos quais aponta para uma clara preferência pela banana, enquanto no outro os indivíduos demonstraram pouco interesse por qualquer um dos meios.

Factores ambientais, não controlados nestas experiências, podem ter originado as diferenças observadas. Uma hipótese é que a luminosidade tenha afectado os resultados obtidos, pois os dois ensaios foram realizados em alturas diferentes, um ocorreu no mês de Outubro e o outro em Dezembro. As observações referentes a todos os ensaios tiveram o seu início na mesma altura do dia (cerca das 8h 30 da manhã). No mês de Dezembro amanhece mais tarde do que em Outubro, por isso pode-se supor que a luminosidade foi diferente nos dois ensaios o que pode ter originado as diferenças observadas, um vez que o comportamento das drosófilas é influenciado por este factor (Krimbas 1993).

Nas experiências envolvendo indivíduos BB e AB não foram detectadas diferenças significativas entre ensaios nos pontos de amostragem 8, 9 e 10, o que pode estar relacionado com o facto dos ensaios realizados com estes tipos de indivíduos terem sido afectados por uma variabilidade ambiental inferior. Os ensaios relativos aos indivíduos BB foram todos realizados no mês de Janeiro de 1997, dois dos quais no mesmo dia, e os dois ensaios com indivíduos AB foram realizados nos mesmos dias.

Uma vez que a banana foi o alimento preferido por todos os tipos de indivíduos, independentemente da experiência anterior com os meios, o factor experiência não influência a preferência alimentar. Por outro lado os nossos dados parecem indicar que a

experiência no estado adulto influencia o grau de preferência pelos alimentos, visto que os adultos que contactaram com a banana no estado adulto preferiram mais este alimento (Figura 22). No entanto é necessária alguma precaução na interpretação destes resultados pois estes podem refletir apenas a variabilidade detectada nos ensaios realizados com os indivíduos AA e BA e o facto de ter sido realizado um número diferente de ensaios para cada uma das categorias de indivíduos. Por outro lado podem ainda reflectir que os indivíduos que contactaram com banana na fase adulta estão mais motivados para se alimentarem, pois o seu número nos meios foi significativamente maior.

O facto de todos os tipos de indivíduos, independentemente do tipo de experiência anterior, escolherem alimentar-se na banana parece indicar que este comportamento é pouco afectado pela experiência, ou seja aparentemente não é alvo de aprendizagem. Estes dados reforçam a ideia de que o meio contendo leveduras vivas é muito atractivo para a alimentação.

Hoffmann & O'Donnell (1992), realizaram algumas experiências utilizando indivíduos de duas populações, cujos indivíduos foram seleccionados durante 15 gerações para serem mais atraídos por um de dois alimentos. Compararam o “grau” de atracção (o número de indivíduos de cada uma das populações presente nos dois alimentos utilizados na selecção) que os adultos demonstravam em relação ao recurso para que tinham sido seleccionados, com o de outros recursos. Concluíram que pelo menos uma parte da fidelidade aos recursos observada é genética, no entanto salientam que factores não hereditários também podem ter contribuído para essa fidelidade.

Para estes autores o facto de que mesmo após um processo selectivo de 15 gerações para atracção por um dos recursos, uma proporção significativa das drosófilas seleccionadas para atracção por um recurso terem sido atraídas pelo recurso alternativo, sugere que os indivíduos têm apenas uma certa “tendência” para serem atraídos por um recurso em vez de demonstrarem uma preferência absoluta por esse recurso.

No que diz respeito ao comportamento de oviposição, os dados relativos aos quatro tipos de indivíduos apontam para o facto da fecundidade total ser inferior nas fêmeas BB. De um modo geral as fêmeas que estiveram em contacto com o meio axénico põem mais ovos, em particular as fêmeas que sempre estiveram nesse meio (figura 24). O facto de se observar uma maior fecundidade associada ao meio axénico, não é surpreendente uma vez que as fêmeas estudadas pertencem a uma população que durante cerca de 70 gerações apenas teve oportunidade de colocar os seus ovos nesse meio. Dado este constrangimento, é lógico assumir que durante esse tempo pode ter ocorrido um processo selectivo, em que as fêmeas que colocaram mais ovos no meio axénico foram as que mais contribuíram para as gerações seguintes.

Existem algumas indicações de que a experiência que os indivíduos tiveram com

os meios influencia as suas escolhas de oviposição, nomeadamente o meio com que contactaram na fase adulta. As fêmeas que estiveram durante a fase adulta em meio axénico (AA e BA), são as que apresentam maior discriminação entre os dois alimentos particularmente as fêmeas AA (figura 25), preferindo pôr os seus ovos em meio axénico. Por outro lado as fêmeas que contactaram com banana quando adultos, aparentemente não discriminam entre os dois meios, ou seja o número de ovos postos em ambos é semelhante. No entanto é necessária alguma precaução na interpretação deste resultado pois pode reflectir o facto da fecundidade nestes indivíduos ser inferior.

Analizando as Tabelas XLI e XLIII para as fêmeas BB e AB respectivamente, podemos observar que foram detectadas diferenças significativas entre o número de ovos contabilizado em cada um dos meios. No entanto essas diferenças não foram consistentemente no mesmo sentido, ou seja as fêmeas não preferiram sistematicamente o mesmo meio em todas as caixas de observação. Assim este facto pode reflectir apenas a tendência para a oviposição ser gregária nesta espécie.

Concluimos que a experiência prévia, sobretudo na fase adulta, influencia a escolha do substrato de oviposição. No entanto essa influência parece não ser suficiente para inverter o sentido da escolha, ou seja o facto de contactarem com banana não leva as fêmeas a preferirem pôr os seus ovos nesse meio. O efeito traduz-se numa maior aceitação da banana como substrato apropriado para oviposição, mas não anula a tendência que estes indivíduos têm para pôr ovos em meio axénico. Aparentemente para as fêmeas desta espécie, passa a ser indiferente pôr ovos em qualquer um dos dois substratos. O facto da experiência não alterar completamente o sentido da preferência, pode estar relacionado com o processo selectivo que esta população sofreu em ambiente laboratorial. Em termos comparativos, o efeito do meio banana ocorreu apenas numa geração, enquanto que o do meio axénico teve 70 gerações para “actuar”. Este argumento poderia ser testado comparando as escolhas de substrato de oviposição de indivíduos que sofreram o mesmo tipo de processo selectivo em meios diferentes (i.e. estiveram o mesmo número de gerações em cada um dos meios), ou utilizando indivíduos recém introduzidos em laboratório antes de ocorrer este tipo de selecção.

As experiências realizadas anteriormente sobre o efeito da experiência nas preferências de oviposição são algo contraditórias. Hedrick *et al.* (1990 *in* Barker 1992) salientam que em *D. buzzatii* não foi encontrado um efeito consistente da experiência do adulto nas preferências de oviposição. Outros autores utilizando *Drosophila melanogaster*, encontraram evidências da existência deste efeito, mas não concordam no que diz respeito ao facto desse efeito ser positivo ou negativo.

Alguns dados laboratoriais apoiam a ideia de que a experiência do jovem imago com potenciais hospedeiros pode influenciar a sua escolha de local de oviposição (e.g. Jaenike 1982, Hoffmann 1985, Hoffmann 1988). Por outro lado Jaenike (1982, 1983 *in*

Hoffmann 1985) refere que não parece existir um efeito do ambiente larvar na oviposição diferencial dos adultos.

Jaenike (1982) observou que a exposição dos adultos a alguns químicos aumentava a probabilidade desses adultos porem ovos em substratos contendo esses químicos. O mesmo autor obteve resultados semelhantes utilizando meios à base de sumos de frutos (Jaenike 1983 *in* Hoffmann 1985). Hoffmann (1985) realizou uma série de experiências utilizando frutos apodrecidos (um substrato mais semelhante ao utilizado pelas drosófilas na natureza). Este autor comparou as duas metodologias utilizadas no estudo das preferências de oviposição, o método das caixas populacionais, utilizado por ele próprio, e o método das caixas de Petri utilizado por Jaenike (e.g. 1982). E encontrou evidências de que o método utilizado para averiguar o efeito da experiência prévia influenciava os resultados obtidos. Nas experiências em que foram utilizadas caixas de Petri, os resultados apontam para a existência dum efeito positivo forte da experiência, enquanto que nas experiências que envolveram as caixas populacionais foram encontradas evidências dum fraco efeito negativo.

Hoffmann (1985) apresenta várias explicações para justificar esta discrepância dos resultados, nomeadamente o efeito da distância: na caixa de Petri as drosófilas andavam até atingirem os meios, enquanto que nas caixas populacionais tinham de voar para chegar aos recipientes contendo os alimentos. Argumenta ainda que as diferenças encontradas podem estar relacionadas com as condições das moscas em si, e salienta que para a fototaxia estão bem documentados os efeitos de diferenças ambientais subtis no comportamento. Mas talvez a verdadeira justificação esteja no facto do estado de apodrecimento dos frutos afectar os resultados. Hoffmann (1988) utilizando frutos frescos, em experiências envolvendo caixas populacionais, obteve resultados que apontavam para a existência de um efeito positivo da experiência, enquanto que utilizando frutos apodrecidos os resultados indicaram que a experiência não influenciava a escolha.

Hoffmann (1988) levantou ainda outra questão, a de que alguns dos estudos realizados (e.g. Jaenike 1982, 1983, Hoffmann 1985) poderem ser limitados pelo facto de ser o experimentador a determinar o tempo em que o adulto recém-eclodido esteve exposto a um hospedeiro. Uma vez que não se sabe se na natureza os adultos ficam associados ao seu hospedeiro larvar durante o período que foi utilizado nessas experiências. Para este autor a exposição prolongada a um hospedeiro pode conduzir a alterações na resposta posterior a esse hospedeiro que não estão relacionadas com a aprendizagem. Sugere que os insectos podem ficar esfomeados como consequência do constrangimento a um hospedeiro nutricionalmente pobre, e os efeitos positivos aparentes podem surgir se os adultos com fome forem menos discriminantes do que indivíduos mantidos num hospedeiro de alta qualidade (Hoffmann & Turelli 1985 *in*

Hoffmann 1988).

Para testar esta hipótese, Hoffmann (1988) realizou uma série de experiências em que foram os adultos recém-emergidos a determinar a tempo de exposição ao hospedeiro. Os resultados obtidos apontam para a existência dum efeito positivo da experiência, quando é o próprio adulto recém-emergido que determina o tempo de exposição a um dado recurso. Este autor encontrou evidências de que os adultos ficam expostos a recursos perto do seu local de oviposição durante várias horas. Nestas experiências foram analisadas várias populações de *D. melanogaster* (uma australiana e duas americanas) e uma população australiana de *D. simulans*, e o autor refere que os efeitos analisados, embora presentes em ambas as espécies e nas várias populações, parecem ser mais fracos nas populações americanas estudadas e na população de *D. simulans*.

Foram igualmente realizadas algumas experiências de campo, para testar a existência deste efeito e mais uma vez os resultados obtidos não foram concordantes. Jaenike (1986, 1988) observou que o efeito dependia dos recursos a que as drosófilas tinham sido expostas durante uma semana, por outro lado Hoffmann (1988) não encontrou evidências consistentes da existência desse efeito, quando foram os imagos a decidir a duração da exposição ao recurso logo após a eclosão. Este autor demonstrou que a fidelidade ao “habitat” em *D. melanogaster* pode surgir como consequência da experiência no estado adulto jovem, mas o modo como essa experiência afecta o comportamento no campo não é claro.

As diferenças encontradas entre os vários estudos podem dever-se ao facto de Jaenike utilizar populações com pouca variabilidade genética, de um modo geral linhas descendentes de uma única fêmea (“isofemale lines”), enquanto que Hoffmann e colaboradores utilizaram populações formadas por um maior número de fêmeas inseminadas (geralmente 30). Ou talvez tenham origem no facto de Hoffmann (1988) utilizar frutos apodrecidos nas suas experiências, uma vez que tal como já foi referido, este autor demonstrou que o apodrecimento afectava os resultados laboratoriais.

Na natureza por certo, não é vulgar haver uma manipulação dos pupas de modo a que os imagos recém-emergidos não contactem com meio onde se alimentaram quando larvas e na superfície do qual puparam. No entanto pode ocorrer outra situação que em termos práticos pode ter os mesmos resultados, o facto destes organismos explorarem recursos associados a matérias em decomposição (leveduras e bactérias associadas a frutos e outros materiais vegetais em putrefacção), implica que o imago quando emerge encontra um recurso necessariamente diferente (mais decomposto), que pode não responder às suas necessidades nutricionais. Sendo assim o imago pode ser “obrigado” a procurar um outro local ou recurso diferente para conseguir alimento.

Para Hoffmann (1988) a ausência de efeitos positivos da experiência nas caixas

de observação em que foram utilizados frutos em decomposição ou onde já se tinham desenvolvido larvas, significa que as moscas provavelmente não alteram a sua resposta ao hospedeiro como consequência da exposição ao recurso em que eclodem. As diferentes respostas das moscas a seguir à exposição a frutos em decomposição e frescos, pode estar associada com a rápida alteração na qualidade dos frutos danificados para a alimentação e oviposição. A adequação de um fruto como recurso, provavelmente diminui à medida que este fica infestado com microorganismos. As alterações rápidas na adequação dos recursos também são evidenciadas pela sucessão de espécies de *Drosophila* que visitam um recurso no espaço de algumas semanas (e.g. Burla 1955, Atkinson 1977 in Hoffmann 1988).

Hoffman (1988) refere que a fidelidade ao hospedeiro pode ocorrer se o adulto recém-emergido encontrar frutos frescos do mesmo tipo do hospedeiro da larva perto do local de eclosão. Por exemplo em pomares as moscas recém-emergidas podem encontrar frutos pouco danificados na mesma árvore que forneceu o seu hospedeiro larvar. No entanto salienta que esta situação deve ser rara para *D. melanogaster*, uma vez que esta espécie utiliza recursos que estão distribuídos de uma forma “patchy” e efémera, o que significa que os recursos adjacentes podem estar no mesmo estado de decomposição ou serem de um tipo diferente.

Vacek *et al.* (1985) critica os estudos sobre preferências alimentares em que apenas foi analisada a atracção dos adultos em relação às leveduras, i.e. foi contado o número de indivíduos observado em cada levedura. Para este autor a atracção não significa necessariamente preferência, porque a atracção é apenas uma das fases do comportamento alimentar integrado do insecto que consiste em (1) atracção, envolvendo a visão e o olfacto; (2) exploração, envolvendo quimiorrecepção de contacto; (3) alimentação e (4) fim da alimentação, envolvendo saciação (Dethier 1954 e 1966 in Vacek *et al.* 1985). Para este autor as preferências alimentares devem ser determinadas com base no que os indivíduos consumiram, examinando os seus aparelhos digestivos.

Alguns autores consideram que as preferências comportamentais observadas em laboratório, são limitadas e por isso não devem ser extrapoladas para o que se passa na natureza (Hoffmann 1988, Hoffmann & O'Donnell 1992). No entanto, as preferências de oviposição de *D. buzzatii* observadas em laboratório foram de um modo geral repetíveis no campo em condições naturais simuladas (Barker *et al.* 1994).

Hoffmann (1985) sugeriu que os insectos são menos discriminantes quando estão com fome, o mesmo autor em 1988 testou o efeito deste factor na resposta ao hospedeiro, utilizando indivíduos de *D. melanogaster* que não se puderam alimentar durante 18h, e chegou à conclusão que a fome não influenciava os efeitos do factor experiência. Steele (1986) comparou o tamanho dos “papos” (tido um bom indicador da quantidade de alimento armazenada) de drósofilas apanhadas na natureza com o de dois

grupos de indivíduos mantidos em laboratório: um grupo que se pôde alimentar e outro que não teve a oportunidade de se alimentar durante várias horas (36h para as fêmeas e 24h para os machos). Os resultados indicam que não existem diferenças significativas entre o tamanho do “papo” das moscas selvagens e o dos indivíduos laboratoriais que não se puderam alimentar, o que parece indicar que na natureza, os indivíduos de *D. subobscura* estão em permanente estado de “fome”.

Neste trabalho as preferências de oviposição foram inferidas a partir dos dados de várias fêmeas em simultâneo (em cada caixa estavam presentes cerca de 15 fêmeas), o que pode ser considerado limitante, pois as fêmeas analisadas podem ter sido diferentes em termos de fecundidade. Supondo que as fêmeas mais fecundas preferem um determinado meio e as menos fecundas outro, é possível que o resultado final (número de ovos observado) seja enviesado no sentido da escolha das mais fecundas. Este factor poderia ser despistado analisando uma fêmea de cada vez, ou seja observando em cada caixa apenas uma fêmea.

5 - Conclusões

Dos resultados apresentados neste trabalho, podemos concluir que em *D. subobscura* as preferências de alimentação e oviposição não são afectadas pela posição relativa do alimento nas caixas de observação.

Neste estudo apenas as fêmeas (acasaladas e virgens) manifestaram uma tendência para estar nos meios, os machos de um modo geral não manifestaram interesse nos meios. De um modo geral a tendência para estar nos meios foi observada apenas no dia seguinte à introdução dos indivíduos nas caixas de observação, o que parece sugerir que os indivíduos no primeiro dia estiveram mais activos a explorar o seu novo ambiente.

Podemos também concluir que quando confrontadas com a escolha de um alimento nutritivo (familiar ou não), as drosófilas preferiram sempre o meio nutritivo para se alimentarem e porem ovos.

No que diz respeito à escolha entre dois meios nutritivos (meio axénico e banana), as preferências observadas nos dois comportamentos diferiram. Quando confrontadas com a escolha entre meio axénico (meio familiar onde se passou todo o seu desenvolvimento e manutenção) e banana (alimento com o qual não tinham tido qualquer contacto prévio), as fêmeas optaram por se alimentarem em banana, mas colocaram os seus ovos em meio axénico. A diferença observada entre os dois comportamentos sugere que as preferências de oviposição, têm um forte componente genético, enquanto que as de alimentação estão sob um controlo genético inferior. No entanto é necessário referir que a população analisada esteve durante 70 gerações em meio axénico, tendo por isso ocorrido um processo selectivo favorecendo os indivíduos que se alimentaram e puseram mais ovos em meio axénico. O facto das fêmeas terem preferido o alimento banana, sugere que a levedura viva é muito atraente para estes indivíduos, tão atraente que nem 70 gerações de selecção em levedura morta, conseguiram diminuí-la. Outra possível explicação pode estar relacionada com o facto de poderem estar envolvidos genes diferentes na atracção por meio axénico e por levedura viva. Nas experiências envolvendo gelatina (meio contendo açúcar) as drosófilas escolheram os meios contendo levedura (meio axénico e banana), nos dois comportamentos.

A experiência prévia com os meios parece não afectar as preferências de alimentação, já que todos os indivíduos escolheram o alimento banana independentemente da experiência. No entanto parece afectar o grau de preferência, já que nos indivíduos que estiveram em banana quando adultos, a discriminação favorecendo este alimento é maior. A experiência no estado larvar parece não ter qualquer influência, tal como já tinha sido descrito para *D. melanogaster* (Jaenike

1982). Os resultados obtidos apontam para que a experiência do jovem adulto influencie as preferências de oviposição, essa influência traduz-se de um modo geral numa maior aceitação da banana como substrato de oviposição. Para as fêmeas que contactaram com a banana na fase adulta, passa a ser indiferente colocar os seus ovos em banana ou meio axénico.

Outra conclusão que podemos retirar deste trabalho é que a banana diminui a fecundidade das fêmeas analisadas, particularmente nas fêmeas que apenas contactaram com este meio durante nas fases larvar e adulta da sua vida. O que não é surpreendente se pensarmos que os indivíduos desta população foram seleccionados em meio axénico durante 70 gerações. As fêmeas podem ser menos eficientes a assimilar banana, o que explicaria a menor fecundidade nos indivíduos que contactaram com este meio.

Um factor a salientar é a grande variabilidade detectada entre ensaios que foram realizados em alturas diferentes e mesmo entre ensaios que decorreram ao mesmo tempo em condições ambientais mais semelhantes. Esta observação vem reforçar a ideia de que as drosófilas são muito sensíveis a factores ambientais (e.g. Rocha Pité, Avelar dados não publicados, Matos 1996), o que tende a limitar as conclusões que podem ser retiradas deste trabalho.

O facto de neste trabalho, assim com nos trabalhos de Jaenike (e.g. 1982, 1983, 1986, 1989) e Hoffmann (e.g. 1985, 1988), utilizando espécies generalistas, se terem encontrado indícios de que a experiência pode influenciar as escolhas de alimentação e oviposição, levanta a questão do que acontecerá em espécies especialistas. Será que nestas espécies o reconhecimento do recurso é de algum modo influenciado pela experiência anterior ou é determinado completamente por factores genéticos?

6- Referências

- Barker, J. S. F. (1992). Genetic variation in cactophilic *Drosophila* for oviposition on natural yeast substrates. Evolution, **46**: 1070-1083.
- Barker, J. S. F. ; W. T. Starmer & J. C. Fogleman(1994). Genotype-specific habitat selection for oviposition sites in the cactophilic species *Drosophila buzzatii*. Heredity, **72**: 384-395.
- Basden, E. B. (1954). The distribution and biology of Drosophilidae (Diptera) in Scotland, including a new species of *Drosophila*. Trans. R. Soc. Edin., **62**: 603-654.
- Begon, M. (1975). The relationships of *Drosophila obscura* Fallen and *Drosophila subobscura* Collin to naturally-occurring fruits. Oecologia, **20**:255-277.
- Begon, M. & B. Shorrocks (1978). The feeding- and breeding-sites of *Drosophila obscura* Fallen and *Drosophila subobscura* Collin. J. Nat. Hist., **12**: 137:151.
- Brito da Cunha, A.; A. M. El.-Tabey & W. de Oliveira (1957). A study of the diets and nutritional preferences of tropical species of *Drosophila*. Ecology, Vol. 38, No. 1: 98-106.
- Carson, H. L. (1971). The ecology of *Drosophila* breeding sites. University of Hawaii, H.L. Lyon Arboretum Lecture, Number two, Hawaii.
- Courtney, S. P. & G. K. Chen (1988). Genetic and environmental variation in oviposition behaviour in the mycophagous *Drosophila suboccidentalis* Sprc.Functional ecology **2**: 521-528.
- David, J. (1959). Etude quantitative du développement de la Drosophile élevée en milieu axénique. Bull. Biol. Fr. Belg., **93**: 472-505.
- David, J. (1970). Oviposition chez *Drosophila melanogaster* . Importance des caractéristiques physiques de la surface de ponte. . Rev. Comp. Animal, **4**: 70-72.
- David, J.& J. Van Herrewege (1969). Action répulsive de la levure vivante sur l'oviposition de *Drosophila melanogaster* Meig. C. R. Acad. Sc. Paris, t. 268: 1778-1780.

David, J.; P. Fouillet & M. F. Arens (1971). Influence repulsive de la levure vivante sur l'oviposition de la drosophile: importance de la salissure progressive des cages et des différences innées entre les femelles. Rev. Comp. Animal, T. 5, 4^e trim.: 277-288 pp.

David, J.; J. Van Herrewege & P. Fouillet (1973). Influence repulsive du saccharose sur la ponte de *Drosophila melanogaster* Meig. Rev. Comp. Animal, T 7, 3^e trimestre: 231-238.

Hoffmann, A. A. (1985). Effects of experience on oviposition and attraction in *Drosophila*: comparing apples and oranges. The American Naturalist, Vol.126, No.1: 41-51.

Hoffmann, A. A. (1988). Early adult Experience in *Drosophila melanogaster*. J. Insect Physiol., Vol. 34, No. 3: 197-204.

Hoffmann, A. A. & S. O'Donnell (1992). Heritable variation in the attraction of *Drosophila melanogaster* to fruit in the field. Biological Journal of the Linnean Society, 47: 147-159.

Jaenike, J. (1982). Environmental modification of oviposition behavior in *Drosophila*. The American Naturalist, Vol.119, No. 6, 784-802 pp.

Jaenike, J. (1986). Feeding behavior and future fecundity in *Drosophila*. The American Naturalist, Vol. 127, No. 1: 118-123.

Jaenike, J. (1989). Genetic population structure of *Drosophila tripunctata*: patterns of variation and covariation of traits affecting resource use. Evolution, 43: 1467-1482.

Krimbas, C. B. (1993). *Drosophila Subobscura*. Biology, genetics and inversion polymorphism. Hamburg.

Matos, M. (1996). Evolução da senescência: Alteração de matrizes de variâncias-covariâncias genéticas aditivas e valores médios de características relacionadas com a "fitness" num processo adaptativo de uma população de *Drosophila subobscura*. Dissertação de Doutoramento. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.

- Offenberger, M. & A. J. Klarenberg (1992). Attractiveness and exploitation of decaying herbage by *Drosophila* in temperate woodland. Oecologia, **92**: 183-187.
- Pipkin, S. B. (1965) The influence of adult and larval food habitats on population size of neotropical ground-feeding *Drosophila*. The American Midland Naturalist, Vol. 74, No. 1: 1-27.
- Prophetou-Athanasiou, D.; P. J. Hodgson; N. Kouloussis & T. H. Jones (1993). Oviposition behaviour of *Drosophila subobscura* and its parasitoid *Asobara tabida* in the laboratory. Entomol. Exp. Appl. **67**: 285-291.
- Rocha Pité, M.T. (1972). An introduction to the study of portuguese *Drosophilidae*. Arq. Mus. Bocage 2ª série Vol. III nº 13: 367-384.
- Rocha Pité, M.T. (1977). Rythmes d'activité saisonnière des populations naturelles des *Drosophilidae* dans la région de Sintra-Colares (Portugal). Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle, 3ª série, nº463, Ecologie générale **38**: 109-160.
- Rocha Pité, M. T. (1980). Stratégies adaptatives et Biologie des populations de *Drosophilides* de quelques habitats typiques du Portugal. Thèse de Doctorat d'état ès Sciences Naturelles. L' Université Paris VI.
- Ruiz-Dubreuil, D. & E. Del Solar (1993). A diallel analysis of gregarious oviposition in *Drosophila melanogaster*. Heredity **70**: 281-284.
- Ruiz-Dubreuil, G.; B. Burnet, K. Connolly (1994). Behavioural correlates of selection for oviposition by *Drosophila melanogaster* females in a patchy environment. Heredity **73**: 103-110.
- Shorrocks, B. (1982). The breeding sites of temperate woodland *Drosophila*. In The genetics and biology of *Drosophila*, Vol. 3b: 385-428.
- Steele, R. H. (1986). Courtship feeding in *Drosophila subobscura* .I The nutritional significance of courtship feeding. Animal. Behav. **34**: 1087-1098.
- Vacek, D. C.; P. D. East, J. S. F. Barker & M. H. Soliman (1985). Feeding and oviposition preferences of *Drosophila buzatii* for microbial species isolated from its natural environment. Biological Journal of the Linnean Society, **24**: 175-187.