

Alana Maria Cerqueira de Oiveira (Organizadora)





Alana Maria Cerqueira de Oiveira (Organizadora)



Editora chefe

Prof^a Dr^a Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Camila Alves de Cremo

Daphynny Pamplona

Gabriel Motomu Teshima 2022 by Atena Editora

Luiza Alves Batista Copyright © Atena Editora

Natália Sandrini de Azevedo Copyright do texto © 2022 Os autores

Imagens da capa Copyright da edição © 2022 Atena Editora

iStock Direitos para esta edição cedidos à Atena

Edição de arte Editora pelos autores.

Luiza Alves Batista Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof^a Dr^a Aline Silva da Fonte Santa Rosa de Oliveira - Hospital Federal de Bonsucesso

Profa Dra Ana Beatriz Duarte Vieira - Universidade de Brasília

Profa Dra Ana Paula Peron - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva - Universidade de Brasília

Profa Dra Anelise Levay Murari - Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto - Universidade Federal de Goiás





Prof. Dr. Cirênio de Almeida Barbosa - Universidade Federal de Ouro Preto

Prof^a Dr^a Daniela Reis Joaquim de Freitas - Universidade Federal do Piauí

Prof^a Dr^a Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Edson da Silva - Universidade Federal dos Vales do Jeguitinhonha e Mucuri

Profa Dra Elizabeth Cordeiro Fernandes - Faculdade Integrada Medicina

Profa Dra Eleuza Rodrigues Machado - Faculdade Anhanguera de Brasília

Profa Dra Elane Schwinden Prudêncio - Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a Dr^a Eysler Gonçalves Maia Brasil - Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

Prof. Dr. Ferlando Lima Santos - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof^a Dr^a Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Fernando Mendes - Instituto Politécnico de Coimbra - Escola Superior de Saúde de Coimbra

Profa Dra Gabriela Vieira do Amaral - Universidade de Vassouras

Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco - Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida - Universidade Federal de Rondônia

Prof^a Dr^a Iara Lúcia Tescarollo - Universidade São Francisco

Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos - Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza - Universidade Estadual do Ceará

Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos - Universidade Federal do Piauí

Prof. Dr. Jônatas de França Barros - Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. José Aderval Aragão - Universidade Federal de Sergipe

Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior - Universidade Federal do Oeste do Pará

Prof^a Dr^a Juliana Santana de Curcio - Universidade Federal de Goiás

Prof^a Dr^a Lívia do Carmo Silva - Universidade Federal de Goiás

Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza - Universidade Federal do Amazonas

Profa Dra Magnólia de Araújo Campos - Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof^a Dr^a Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará

Prof. Dr. Maurilio Antonio Varavallo - Universidade Federal do Tocantins

Prof^a Dr^a Mylena Andréa Oliveira Torres - Universidade Ceuma

Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federacl do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Paulo Inada - Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Rafael Henrique Silva - Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados

Profa Dra Regiane Luz Carvalho - Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino

Prof^a Dr^a Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora

Profa Dra Shevla Mara Silva de Oliveira - Universidade do Estado do Pará

Prof^a Dr^a Suely Lopes de Azevedo - Universidade Federal Fluminense

Profa Dra Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro - Universidade do Vale do Sapucaí

Profa Dra Vanessa Lima Gonçalves - Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profa Dra Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Prof^a Dr^a Welma Emidio da Silva - Universidade Federal Rural de Pernambuco





Ciências biológicas: gênese na formação multidisciplinar 2

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Yaiddy Paola Martinez

Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga

Revisão: Os autores

Organizadora: Alana Maria Cerqueira de Oliveira

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C569 Ciências biológicas: gênese na formação multidisciplinar 2 /

Organizadora Alana Maria Cerqueira de Oliveira. -

Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5983-841-7

DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.417221701

1. Ciências biológicas. I. Oliveira, Alana Maria Cerqueira de (Organizadora). II. Título.

CDD 570

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos - CRB-8/9166

Atena Editora

Ponta Grossa - Paraná - Brasil Telefone: +55 (42) 3323-5493 www.atenaeditora.com.br contato@atenaeditora.com.br





DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.





DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são open access, desta forma não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de e-commerce, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.





APRESENTAÇÃO

O Livro "Ciências biológicas: Gênese na formação multidisciplinar 2", traz ao leitor vinte capítulos de relevada importância na área de Genética, Citogenética, Imunologia, Parasitologia, Química medicinal, Saúde pública e Ecologia. Entretanto, caracteriza-se como uma obra multidisciplinar que engloba diversas áreas da Ciências biológicas.

Os capítulos estão distribuídos em temáticas que abordam de forma categorizada e multidisciplinar a Ciências biológicas , as pesquisas englobam estudos de: mapeamentos genético, citogenético, sequenciamento, genética e educação ,análises forenses , doenças genética, eugenesia clássica, engenharia genética, análise por PCR, cultura de células de linfoma e leucemia, saúde mental, resposta imune, vacinação contra a covid-19, vírus Sars-Cov-2, métodos de extração de lipídios ,levantamento taxonômico, morfologia vegetal, eficiência de inseticidas , química medicinal, cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), espectroscopia de infravermelho (IV) e espectrometria de massas (EM), problemática ambiental e de saúde pública, poluentes emergentes e biodiesel.

A obra foi elaborada primordialmente com foco nos profissionais, pesquisadores e estudantes pertencentes às áreas de Ciências biológicas e Ciências da Saúde e suas interfaces ou áreas afins. Entretanto, é uma leitura interessante para todos aqueles que de alguma forma se interessam pela área.

Cada capítulo foi elaborado com o propósito de transmitir a informação científica de maneira clara e efetiva, em português, inglês ou espanhol. Utilizando uma linguagem acessível, concisa e didática, atraindo a atenção do leitor, independente se seu interesse é acadêmico ou profissional.

O livro Ciências biológicas: Gênese na formação multidisciplinar 2", traz publicações atuais e a Atena Editora traz uma plataforma que oferece uma estrutura adequada, propícia e confiável para a divulgação científica de diversas áreas de pesquisa.

Alana Maria Cerqueira de Oliveira

SUMÁRIO
CAPÍTULO 11
LA ERRADICACIÓN DE LAS ENFERMEDADES GENÉTICAS: DE LA EUGENESIA CLÁSICA A LA INGENIERÍA GENÉTICA Alejandro Gordillo-García María del Carmen García Rodríguez https://doi.org/10.22533/at.ed.417221701
CAPÍTULO 214
MAPEAMENTOS GENÉTICO, CITOGENÉTICO E DE SEQUENCIAMENTO DO FEIJÃO-FAVA: UMA REVISÃO André Oliveira Melo Marcones Ferreira Costa Michelli Ferreira dos Santos Verônica Brito da Silva Maria Fernanda da Costa Gomes Gleice Ribeiro Orasmo Lidiane de Lima Feitoza Lívia do Vale Martins Raimundo Nonato Oliveira Silva Ângela Celis de Almeida Lopes Regina Lucia Ferreira Gomes Sérgio Emílio dos Santos Valente
€ https://doi.org/10.22533/at.ed.4172217012
CAPÍTULO 334
GENETICS AND EDUCATION: OVER 50 YEARS GENERATING COLLABORATIONS, BUILDING BRIDGES AND WEAVING NETWORKS IN ENDLESSLY TURBULENT SCENARIOS Alberto Sergio Fenocchio Verónica Graciela Teza https://doi.org/10.22533/at.ed.4172217013
CAPÍTULO 4
DROGAS MAIS CONSUMIDAS NO BRASIL E SUA RELAÇÃO EM CRIMES CONTRA O INDIVÍDUO: COMO UM TESTE RÁPIDO AJUDARIA EM CASOS DE PRISÃO EM FLAGRANTE Águida Maiara de Brito Lustarllone Bento de Oliveira Melissa Cardoso Deuner Felipe Monteiro Lima Joselita Brandão de Sant'Anna Jackson Henrique Emmanuel de Santana José Vanderli da Silva Caio César dos Santos Mognatti Juliana Paiva Lins

Pedro Antonio Noguera-Díaz José Alberto Valadez-Lira
Ricardo Gómez-Flores
Pedro César Cantú-Martínez
María Porfiria Barrón-González
lttps://doi.org/10.22533/at.ed.4172217018
CAPÍTULO 9107
SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DO DERIVADO TIAZACRIDÍNICO LPSF/AA-57 Marcel Lucas de Almeida Valécia de Cassia Mendonça da Costa Michelly Cristiny Pereira Ivan da Rocha Pitta Marina Galdino da Rocha Pitta
thttps://doi.org/10.22533/at.ed.4172217019
CAPÍTULO 10114
CONCEPÇÃO DE CLÍNICA AMPLIADA E OS DESAFIOS DAS PRÁTICAS EM SAÚDE MENTAL NA ATUALIDADE Celian Araújo da Nóbrega Souza Carmen Silva Alves
https://doi.org/10.22533/at.ed.41722170110
CAPÍTULO 11127
MADUREZ SEXUAL Y ESPECTRO TRÓFICO DE Pterois volitans (Linnaeus, 1758) EN EL
PARQUE NACIONAL SISTEMA ARRECIFAL VERACRUZANO, MÉXICO Emmanuel Velasco-Villalobos Elizabeth Valero-Pacheco Luis Gerardo Abarca-Arenas https://doi.org/10.22533/at.ed.41722170111
CAPÍTULO 12
POTENCIAL EVOCADO AUDITIVO DE LONGA LATÊNCIA: MONITORAMENTO DE EFICÁCIA DA INTERVENÇÃO FONOAUDIOLÓGICA EM ESCOLARES COM DISLEXIA
Ana Luiza de Faria Luiz Yara Bagali Alcântara
Brena Elisa Lucas
Carolina Almeida Vieira
Simone Aparecida Capellini Ana Cláudia Figueiredo Frizzo
€ https://doi.org/10.22533/at.ed.41722170112
CAPÍTULO 13149
COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE LIPÍDIOS DA MICROALGA

Angel Zavala-Pompa

Alana Ramos Nobre
Karollyna Menezes Silva
Keilla Santos Cerqueira
Jacqueline Rego da Silva Rodrigues
Roberto Rodrigues de Saouza
€ https://doi.org/10.22533/at.ed.41722170113
CAPÍTULO 14164
EFFECT OF LACTIC ACID BACTERIA ON <i>Fusarium verticillioides</i> GROWTH AND FUMONISIN B, DETOXIFICATION
Melissa Tiemi Hirozawa
Mario Augusto Ono
Sandra Garcia
Jaqueline Gozzi Bordini
Andressa Jacqueline de Oliveira
Elisa Yoko Hirooka
Elisabete Yurie Sataque Ono
ttps://doi.org/10.22533/at.ed.41722170114
CAPÍTULO 15183
PARÂMETROS REPRODUTIVOS EM ESPÉCIES NEOTROPICAIS DE <i>Drosophila</i> (DIPTERA; DROSOPHILIDAE)
Lorenna Tayrini de Oliveira da Silva
Silvana Aparecida Beira
Camila Heloise dos Santos Janaina Cosmedamiana Metinoski Bueno
Natana Maria Metinoski Bueno
Rogério Pincela Mateus
Luciana Paes de Barros Machado
€ https://doi.org/10.22533/at.ed.41722170115
CAPÍTULO 16207
BENZOFENONA E OCTOCRILENO COMO POLUENTES EMERGENTES: UMA PROBLEMÁTICA AMBIENTAL E DE SAÚDE PÚBLICA
Diego Espirito Santo
Andrielle Karine Ribeiro Mendes
Débora Cristina de Souza
Flávia Vieira da Silva Medeiros
Ana Paula Peron
€ https://doi.org/10.22533/at.ed.41722170116
CAPÍTULO 17228
MORFOLOGIA VEGETAL: UMA ABORDAGEM PALINOLOGICA DE HIBISCUS ROSA-
SINENSIS L.
João Marcos Gomes Leite Maristela Tavares Gonçalves
iviansiera Tavares Goncaives

Scenedesmus sp.

Alessandro Oliveira Silva
€ https://doi.org/10.22533/at.ed.41722170117
CAPÍTULO 1823
CONSIDERAÇÕES SOBRE O FITOPLÂNCTON DO SUBMÉDIO RIO SÃO FRANCISCO GRUPOS FUNCIONAIS DE REYNOLDS (GFR) E IMPLICAÇÕES PARA OS MÚLTIPLO USOS DA ÁGUA Vladimir de Sales Nunes Mávani Lima Santos Caio Carvalho Novais de Moraes Bruno Cézar Silva René Geraldo Cordeiro Silva Júnior Edson Gomes de Moura Júnior Ludwig Lima Nunes Carlos Vinícius da Silva Cabral Angélica Barbosa Jericó Nadiane Nunes da Silva Gabriel Luiz Celante da Silva Benoit Jean Bernard Jahyny
https://doi.org/10.22533/at.ed.41722170118
CAPÍTULO 1925
AVALIAÇÃO DE MISTURAS TERNÁRIAS DIESEL-BIODIESEL-ETANOL PAR APLICAÇÃO COMO COMBUSTÍVEL EM MOTORES DE CICLO DIESEL Guilherme Brandão Guerra Gisel Chenard Díaz Yordanka Reyes Cruz Vinicius Rossa Donato Alexandre Gomes Aranda Rene Gonzalez Carliz https://doi.org/10.22533/at.ed.41722170119
CAPÍTULO 20
EFICIÊNCIA DE INSETICIDAS EM TRATAMENTO DE SEMENTES DE FEIJOEIRO NO DESENVOLVIMENTO INICIAL Stella Mendes Pio Oliveira Guilherme Mendes Pio Oliveira Luana Ranieri Massucato
ttps://doi.org/10.22533/at.ed.41722170120
CAPÍTULO 2127
ANÁLISE DA APLICAÇÃO DO JOGO DIDÁTICO "ECOLOGIA NO LABIRINTO" PARA O ALUNOS DO ENSINO MÉDIO Milena Resende Nascimento Mariana Fideles Ferreira

Francielly Felix da Silva Isaias Mayra Luzia da Cruz e Souza

SUMÁRIO

Polyanna Miranda Alves Polyane Ribeiro Machado
https://doi.org/10.22533/at.ed.41722170121
CAPÍTULO 22281
AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS EM INDIVÍDUOS COM TALASSEMIAS ALFA E BETA E CORRELAÇÃO COM A INCIDÊNCIA NO MUNICÍPIO DE ASSIS E REGIÃO Julia Amanda Rodrigues Fracasso Luiz Fernando Moraes-Silva Guilherme de Oliveira-Paes Luisa Taynara Silvério da Costa Maria José Malagutti-Ferreira Lucinéia dos Santos Renata Aparecida de Camargo Bittencourt
€ https://doi.org/10.22533/at.ed.41722170122
SOBRE A ORGANIZADORA295
ÍNDICE REMISSIVO296

Frederico Miranda

CAPÍTULO 15

PARÂMETROS REPRODUTIVOS EM ESPÉCIES NEOTROPICAIS DE *Drosophila* (DIPTERA; DROSOPHILIDAE)

Data de aceite: 10/01/2022 Data de submissão: 20/10/2021

Lorenna Tayrini de Oliveira da Silva

Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO, Programa de Pós-graduação em Biologia Evolutiva, Departamento de Ciências Biológicas

Guarapuava – PR http://lattes.cnpq.br/7091486201211918

Silvana Aparecida Beira

Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO, Programa de Pós-graduação em Biologia Evolutiva, Departamento de Ciências Biológicas

Guarapuava – PR http://lattes.cnpq.br/0232743142891514

Camila Heloise dos Santos

Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO, Programa de Pós-graduação em Biologia Evolutiva, Departamento de Ciências Biológicas

Guarapuava – PR http://lattes.cnpg.br/2530803995320807

Janaina Cosmedamiana Metinoski Bueno
Universidade Estadual do Centro-Oeste –
UNICENTRO, Departamento de Ciências
Biológicas
Guarapuaya – PR

http://lattes.cnpq.br/6847242771720540

Natana Maria Metinoski Bueno

Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO, Departamento de Ciências Biológicas

Guarapuava – PR http://lattes.cnpq.br/4573281078486654

Rogério Pincela Mateus

Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO, Programa de Pós-graduação em Biologia Evolutiva, Departamento de Ciências Biológicas

Guarapuava – PR https://orcid.org/0000-0001-7874-1149

Luciana Paes de Barros Machado

Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO, Programa de Pós-graduação em Biologia Evolutiva, Departamento de Ciências Biológicas

Guarapuava – PR https://orcid.org/0000-0002-3197-0187

RESUMO: Ajustes distintos da coevolução antagônica entre sexos podem resultar em diferenciação interpopulacional e especiação. Existe uma lacuna muito grande de dados reprodutivos sobre espécies de *Drosophila* que ocorrem nas matas brasileiras, onde, na maioria das vezes, barreiras geográficas não se distinguem. O objetivo deste trabalho foi realizar a análise de características reprodutivas de duas espécies de *Drosophila*, *D. maculifrons* e *D. mediostriata*, provenientes de duas populações simpátricas (PMA e SSF) de fragmentos de mata da região Neotropical, as quais não foram estudadas quanto a aspectos da biologia

reprodutiva até o momento. Foram analisados o tamanho do testículo (TT), duração da cópula (DC), número de espermatozoides armazenados pelas fêmeas por cópula (EA), de progênie produzida pelas fêmeas por cópula (P/F), e a produtividade de cruzamentos intra e interpopulacionais (P/C). TT e EA em D. maculifrons foram significativamente maiores que em D. mediostriata. Também houve diferença interpopulacional significativa para EA, sendo maior em SSF para ambas espécies, e para DC, também maior em SSF para D. maculifrons e em PMA para D. mediostriata. No entanto, diferencas em EA e DC entre populações das duas espécies não resultou em diferenças na produtividade dos cruzamentos interpopulacionais em relação aos intrapopulacionais. Não houve diferenca interespecífica significativa para P/C. Estes resultados indicam uma relação mais evidente entre maior testículo com maior número de espermatozoides armazenados em D. maculifrons do que em D. mediostriata. No entanto, esta superioridade em D. maculifrons não refletiu em maior número de progênie/cópula que em D. mediostriata, e o ajuste populacional diferencial no armazenamento de espermatozoides e duração da cópula não resultaram em cruzamentos improdutivos, sugerindo que o nível das diferencas interpopulacionais nos mecanismos prézigóticos analisados não tiveram consequências nos parâmetros pós-zigóticos, apesar de algumas diferenças interpopulacionais significativas na produtividade de D. mediostriata, que são destacadas neste trabalho.

PALAVRAS-CHAVE: Conflito sexual, espermatozoide, produtividade, testículo.

REPRODUCTIVE PARAMETERS IN NEOTROPICAL SPECIES OF *Drosophila* (DIPTERA; DROSOPHILIDAE)

ABSTRACT: Different adjustments of antagonistic coevolution between sexes can result in interpopulation differentiation and speciation. There is a very large lack of reproductive data on Drosophila species that occur in Brazilian forests, where, in most cases, geographic barriers are not distinguishable. The aim of this work was to analyze reproductive characteristics of two Drosophila species, D. maculifrons and D. mediostriata, from two sympatric populations (PMA and SSF) from forest fragments in the Neotropical region, which were studied about aspects of reproductive biology to date. Testis size (TT), duration of copulation (DC), number of sperm stored by females per copulation (EA), progeny produced by females per copulation (P/F), and productivity of intra- and interpopulation crosses were analyzed. (P/C). TT and EA in D. maculifrons were significantly higher than in D. mediostriata. There was also a significant interpopulation difference for EA, being higher in SSF for both species, and for DC, also higher in SSF for D. maculifrons and in PMA for D. mediostriata. However, differences in EA and DC between the populations of both species did not result in differences in the productivity of interpopulation crosses compared to intrapopulation crosses. There was no significant interspecific difference for P/C. These results indicate a more evident relationship between larger testis and larger number of sperm stored in D. maculifrons than in D. mediostriata. However, this superiority in *D. maculifrons* did not reflect a greater number of progeny/ copulation than in D. mediostriata, and the differential population adjustment in sperm storage and copulation duration did not result in unproductive crosses, suggesting that the level of interpopulation differences in the prezygotic mechanisms analyzed had no consequences on postzygotic parameters, despite some significant interpopulation differences in productivity for D. mediostriata, which are pointed out in this work.

184

1 I INTRODUÇÃO

Os espécimes de *Drosophila* da família Drosophilidae (Diptera; Insecta) são organismos saprófitas relevantes nas cadeias alimentares, alimentando-se, geralmente, de leveduras, que se desenvolvem em tecidos vegetais em decomposição. A utilização eficiente dos alimentos e a exploração de novos ambientes, inclusive os alterados por ação antrópica (RAFAEL; VELA, 2003), explicam o sucesso do gênero e a sua ampla distribuição (THROCKMORTON, 1975). As moscas deste gênero apresentam sensibilidade a alterações ambientais, como temperatura e umidade, podendo modificar caracteres que influenciam a taxa de aumento e sobrevivência da população como fertilidade, viabilidade, tempo de desenvolvimento, e resistência dessecação (SENE et al., 1980; TIDON-SKLORZ; SENE, 1992; BALANYA et al., 2006; TORRES; MADI-RAVAZZI, 2006; MATEUS et al., 2019).

As espécies representantes dos grupos irmãos guaramunu (ROBE; LORETO; VALENTE, 2010; ROBE; VALENTE; LORETO, 2010) e tripunctata (THROCKMORTON, 1975), Drosophila maculifrons e D. mediostriata, respectivamente, são objeto deste trabalho. Estas espécies são generalistas e endêmicas da região Neotropical, abundantes especialmente nas áreas de mata do sul do Brasil (DOBZHANSKY; PAVAN, 1950; SALZANO, 1955; KLACZKO, 2006; TIDON, 2006; SCHMITZ; HOFMANN; VALENTE, 2010; CAVASINI et al., 2014; OLIVEIRA et al. 2016), nunca foram estudadas quanto as características reprodutivas que podem estar sob ação de seleção sexualmente antagônica, cujo "ajuste" às condições ambientais de uma população pode resultar, ao longo do tempo evolutivo, na gênese de novas espécies (MARKOW, 1996; KNOWLES; MARKOW, 2001), processo chamado de especiação.

A coevolução antagônica entre os sexos pode ser definida como a manipulação de características reprodutivas da fêmea pelo macho para aumentar seu sucesso reprodutivo, que é seguida pela evolução da resistência da fêmea a essa coerção (MOORE; PIZZARI, 2005). Este conflito sexual pode desempenhar um papel chave na evolução dos sistemas de acasalamento e de muitas características reprodutivas (ARNQVIST; NILSSON, 2000), desta maneira a análise integrada de diferentes caracteres reprodutivos, assim como a história evolutiva da espécie, é essencial para a compreensão da evolução dos sistemas reprodutivos. Os machos e as fêmeas são agentes atuantes na evolução dos caracteres reprodutivos, e a dinâmica e consequências dessas atividades apenas começaram a ser compreendidas em insetos: os machos apresentam diferentes características do esperma que asseguram a paternidade, e as fêmeas influenciam a competição de esperma e dirigem a evolução destes caracteres (SNOOK; BACIGALUPE; MOORE, 2005).

Algumas características da morfologia do aparelho reprodutivo do macho podem desempenhar um papel na seleção sexual pós-cópula (SNOOK; BACIGALUPE; MOORE,

185

2005). A morfologia dos órgãos reprodutores e de armazenamento de espermatozoides, e o processo de transferência e armazenamento de espermatozoides mostram uma extensa variação no gênero *Drosophila*. O aparelho reprodutivo da fêmea também pode atuar na competição pela fertilização: receptáculos seminais mais longos favorecem espermas mais longos, os quais podem deslocar os gametas anteriores e aumentar a velocidade de reacasalamento (MILLER; PITNICK, 2002; LÜPOLD et al., 2016).

O tamanho do testículo também apresenta grande variação entre os machos de espécies de *Drosophila* (MARKOW, 1996, PITNICK; MARKOW, 1994a; PITNICK, 1996) e, em algumas espécies, parece estar positivamente relacionado com o tamanho do espermatozoide, ao invés do número de espermatozoides produzidos (PITNICK, 1996), o que pode levar a um maior período para a maturação sexual do macho, devido ao investimento relativamente maior na formação do tecido testicular (PITNICK; MARKOW, 1994a), e a grande variação no número de espermatozoides transferidos, quanto maior o espermatozoide menor a quantidade transferida, para os órgãos de armazenamento da fêmea (de 25.000 em *D. obscura* a 44 em *D. pachea*) (MARKOW, 1996). Em espécies de *Drosophila* com maior tamanho corporal os machos investem proporcionalmente mais energia nos testículos do que os machos de espécies menores, e a variação interespecífica na produção de gametas também é muito maior no macho do que nas fêmeas.

O padrão mencionado anteriormente em *Drosophila* de quanto maior o tamanho menor o número de espermatozoides transferidos para as fêmeas, também tem relação com menor a progênie, em comparação com espécies que produzem espermatozoides menores (GILBERT, 1981; MARKOW, 1985; PITNICK, 1991; BRESSAC; FLEURY; LACHAISE, 1994; PITNICK; MARKOW, 1994a,b; SNOOK; MARKOW; KARR, 1994; PITNICK, 1996). Esta relação poderia trazer a falsa constatação de que os espermatozoides menores seriam mais eficientes na produção de zigotos. No entanto, a taxa de eficiência do espermatozoide transferido por zigoto em *D. melanogaster*, espécie que produz e transfere milhares de espermatozoides, é de cerca de 2 espermatozoides por zigoto (GILBERT, 1981), praticamente a mesma taxa de *D. hydei*, de 2,2 (PITNICK; MARKOW, 1994b), espécie de espermatozoides "gigantes" e que produz e transfere um número de espermatozoides bem inferior a *D. melanogaster*. Assim, o tamanho dos espermatozoides pode ter relação com a quantidade transferida para as fêmeas, mas não com a sua qualidade na produção de zigotos.

Outro importante caráter reprodutivo também sujeito à coevolução antagônica entre os sexos é o tempo de duração da cópula (MOORE; PIZZARI, 2005), pois para as fêmeas, cópulas mais curtas resultariam em mais oportunidades de acasalamento e escolha críptica dos espermatozoides no seu trato reprodutivo (MARKOW; HOCUTT, 1998; KNOWLES; MARKOW, 2001); enquanto para os machos, cópulas mais longas seriam vantajosas por impedir que a fêmea se reacasale, e assegurar a paternidade da prole (MAZZI et al., 2009). Os espermatozoides de dois machos armazenados em uma fêmea competem para

fertilizar os óvulos, esta competição, pode resultar no desenvolvimento de mecanismos que asseguram a paternidade, sendo o aumento da duração da cópula um deles (PITINICK; MARKOW; SPICER, 1995; MARKOW, 1996).

Em *Drosophila melanogaster* foi demonstrado que o tempo de cópula que excede o período necessário para a transferência do esperma tem função de retardar o reacasalamento da fêmea, ao invés de aumentar a prole descendente deste macho (GILCHRIST; PARTRIDGE, 2000). Ainda, fatores diferentes da seleção sexual também podem interferir no sucesso da cópula em *Drosophila*, por exemplo, a qualidade da dieta na fase juvenil pode afetar mais fortemente a frequência de cópulas nas fêmeas do que nos machos (GRANGETEAU et al., 2018).

Pode haver correlação entre o aparato reprodutivo de machos e fêmeas e a qualidade do espermatozoide, por exemplo, em *Drosophila melanogaster* o tamanho do espermatozoide, dos testículos e do receptáculo seminal das fêmeas é o mesmo, todos medem cerca de 2 mm. Nesta espécie, apenas após 20 minutos da cópula os órgãos de armazenamento de espermatozoides nas fêmeas (receptáculo seminal e espermatecas) estão repletos de espermatozoides, os espermatozoides que permanecem no útero são eliminados com a postura dos ovos (LEFEVRE; JONSSON, 1962). Assim, é esperado que os machos saturem a capacidade dos órgãos de armazenamento de espermatozoides das fêmeas, ou, no mínimo, transfiram uma quantidade superior à requerida pelas fêmeas para fertilizar seus ovos, e reabastecer rapidamente seu suprimento de espermatozoides após a cópula (PARKER, 1970; TRIVERS, 1972; KNOWLTON; GREENWELL, 1984).

Em resumo, os modelos propostos para explicar a evolução das estratégias reprodutivas específicas dos sexos consideram um arranjo complexo de coevolução das características, que podem afetar a reprodução, como investimento na produção de gametas e prole (PITINICK; MARKOW, 1994a; LÜPOLD; PITNICK, 2018). Apesar da fertilização competitiva raramente ser independente de influência das fêmeas, é sugerido que a quantidade e qualidade do espermatozoide podem operar independentemente (PARKER et al., 2010), não existindo uma dicotomia entre a competição de esperma e a escolha críptica da fêmea (EBERHARD, 1996; LÜPOLD et al., 2016), e qualquer característica do espermatozoide determinada pela seleção pós-cópula é tanto intra (competição com espermatozoides de outros machos) como intersexual (escolha da fêmea). Assim, a duração da cópula, a fertilização interna e o armazenamento de espermatozoide que ocorrem em drosófilas as tornaram um importante modelo para o estudo de mecanismos de isolamento reprodutivo pré e pós-zigóticos.

Muitas das pesquisas sobre a biologia reprodutiva citadas acima foram realizadas com espécies de *Drosophila* oriundas de áreas antropizadas, ou xerofíticas, ou ainda de áreas florestais do Neártico, Paleártico e América Central. Não existem pesquisas sobre a biologia reprodutiva de espécies de *Drosophila* que ocorrem em áreas de mata do Brasil. O objetivo deste trabalho foi analisar alguns caracteres reprodutivos, tamanho do testículo,

duração da cópula, número de espermatozoides armazenados na espermateca, número de progênie por cópula, e a produtividade de cruzamentos intra e interpopulacionais de espécies pertencentes a grupos irmãos e endêmicas de florestas, coletadas em simpatria no sul do Brasil, *Drosophila maculifrons* (grupo *guaramunu*) e *D. mediostriata* (grupo *tripunctata*). Dessa forma, pretende-se contribuir com informações sobre a força e os alvos da selecão sexual em espécies do Neotrópico, região com altas taxas de especiação.

2 I MATERIAL E MÉTODOS

Locais de coleta

Para as análises de tamanho do testículo, duração da cópula, número de espermatozoides armazenados na espermateca, e produtividade de cruzamentos massais, foram utilizadas duas populações de *Drosphila maculifrons* e *D. mediostriata*, coletadas em unidades de conservação pertencentes ao município de Guarapuava-PR, distantes 46 km um do outro: Parque Natural Municipal das Araucárias (PMA - 51°27'19" O, 25°23'36" S) e Parque Municipal Salto São Francisco da Esperança (SSF - 51°17'53" O, 25°03'49,1"S). Para as análises de produção de descendentes por cópula, foram utilizados indivíduos de *D. maculifrons* e *D. mediostriata* apenas da população SSF.

· Caracteres morfológicos dos testículos e espermatozoides

Foram removidos os testículos direito e esquerdo de cinco machos de cada uma das duas populações de *Drosophila maculifrons* e *D. mediostriata*, PMA e SSF. Para as medidas dos testículos, machos virgens com nove dias de idade foram eterizados e dissecados em solução fisiológica 0,9%, os testículos estirados foram montados em lâmina, fotografados em estereomicroscópio Zeiss® (STEMI 2000C), e as medidas do comprimento dos testículos foram realizadas utilizando o Programa ImageJ 1.52a (ABRAMOFF; MAGALHÃES; RAM, 2004).

A análise dos espermatozoides dos testículos foi realizada em machos virgens com sete dias de idade. Os testículos foram removidos e esmagados entre lâmina e lamínula. As lâminas foram, então, congeladas em nitrogênio líquido para a posterior remoção da lamínula, e fixadas em etanol/ácido acético (3:1) durante três minutos. Em seguida, as lâminas passaram por limpeza em álcool 70% e água destilada, para serem coradas com 4,6-diamino-2-phenyndole (DAPI), e fotografadas em microscópio composto (Olympus BX60): com óptica DIC, fluorescência e câmera colorida Optronics.

Duração da cópula

A observação da cópula de *Drosophila maculifrons* e *D. mediostriata* na natureza não é possível, devido à ocorrência de espécies crípticas nas populações PMA e SSF (dos SANTOS; MACHADO; MATEUS, 2010; CAVASINI et al., 2014), onde os espécimes foram coletados. Desta maneira, foi realizada tentativa de replicar em laboratório (com moscas

recém-coletadas) importantes condições naturais para a ocorrência de cópula, como a densidade de moscas e período do dia para esta atividade. As análises para estimativa do número de espermatozoides armazenados por cópula e da progênie produzida pelas fêmeas por cópula (descritas a seguir) revelaram baixa frequência de cópula quando uma fêmea virgem com sete dias a nove dias de idade foi colocada com três machos virgens com as mesmas idades. Desta maneira, considerando o número médio de moscas capturadas por armadilha (dos SANTOS; MACHADO; MATEUS, 2010), e que a atividade de cópula segue, geralmente, o ritmo de atividade locomotora em espécies Neotropicais de *Drosophila* (PAVAN; DOBZHANSKY; BURLA, 1950; FUJII; KRISHNAN, 2007; dos SANTOS; MACHADO; MATEUS, 2010), a observação da cópula foi realizada em cruzamentos massais com 15 casais entre sete e nove dias de idade, em período de três horas entre as 8h e 11h.

Estimativas do número de espermatozoides armazenados nas espermatecas das fêmeas por cópula

Foram realizadas cinco réplicas de cruzamentos com uma fêmea e três machos virgens com sete a nove dias de idade. Após alguns minutos do término da cópula, as espermatecas das fêmeas foram removidas e esmagadas entre lâmina e lamínula. As lâminas para a contagem dos espermatozoides armazenados nas espermatecas foram realizadas e analisadas como descrito para a observação dos espermatozoides no testículo.

O número de espermatozoides armazenados foi estimado pela contagem dos flagelos com o auxílio do Programa ImageJ 1.52a (ABRAMOFF; MAGALHÃES; RAM, 2004), para individualizar cada espermatozoide e impedir que um mesmo gameta fosse considerado mais de uma vez. A motilidade dos espermatozoides armazenados também foi avaliada. Após cópula, foram preparadas lâminas das espermatecas esmagadas entre lâmina e lamínula, em solução fisiológica, e observação direta em microscopia de luz.

Análise do número de descendentes produzidos por cópula

Em câmaras de oviposição, foram realizadas cinco réplicas de cruzamentos de indivíduos de SSF para cada espécie, contendo uma fêmea e três machos virgens com sete a nove dias de idade, após o término da cópula, os machos foram removidos da câmara. Placas para oviposição, contendo ágar 0,5% (1,5% de ágar; 10% de sacarose; e 0,4% de Nipagim), foram observadas e substituídas diariamente, até que as fêmeas deixassem de postar ovos por ao menos dois dias consecutivos. De cada placa foi registrado o número de ovos produzidos, as larvas de segundo estadio foram transferidas para tubos com meio de cultura padrão (banana/ágar), e os adultos emergidos foram sexados e contados. A realização deste experimento também possibilitou estimar a viabilidade dos ovos postos pelas fêmeas (porcentagem de ovos que resultaram em larvas, de larvas em adultos, e de ovos a adultos) de *Drosophila maculifrons* e *D. mediostriata*. Para averiguar se as fêmeas destas espécies postam ovos não fertilizados, o mesmo experimento descrito anteriormente

foi realizado com cinco réplicas de fêmeas virgens recém eclodidas a idade em que a ausência de ovos atingisse dois dias consecutivos.

Produtividade de cruzamentos intra e interpopulacionais

Para *Drosophila maculifrons*, foram realizados cruzamentos massais em todas as combinações possíveis entre duas isolinhagens de PMA (PMA142 e PMA164) e duas de SSF (SSF008 e SSF033), totalizando 16 cruzamentos: quatro intracruzamentos (machos e fêmeas da mesma linhagem); quatro cruzamentos interlinhagem e intrapopulacional; e oito cruzamentos interlinhagem e interpopulacional. Para *D. mediostriata*, foram realizados cruzamentos com apenas uma linhagem de cada população, totalizando quatro cruzamentos: dois intra e dois interpopulacionais (Tabela 1). Os cruzamentos foram mantidas a 20°C±1°C e fotoperíodo natural.

Cada cruzamento foi realizado em garrafas de 1/4 de L com meio de cultura padrão e em triplicatas contendo em cada uma 15 fêmeas e 15 machos virgens com sete dias de idade. Foram realizados três (para *D. maculifrons*) e quatro (para *D. mediostriata*) repiques, um por semana, e após uma semana do terceiro/quarto repique, as moscas parentais forma descartadas. A cada repique foi avaliado o número de indivíduos mortos para a estimativa do número de descendentes por fêmeas vivas. Assim, foram estabelecidos quatro grupos de idades para *D. maculifrons*: 1° grupo, moscas com 7 a 13 dias; 2° grupo, moscas com 14 a 20 dias; 3° grupo, moscas com 21 a 27 dias; e 4° grupo, moscas com 28 a 34 dias; e cinco grupos para *D. mediostriata*: os mesmos quatro de *D. maculifrons*, mais 5° grupo, moscas com 35 a 41 dias.

Drosophila maculifrons						
	♀PMA142	♀PMA164 ♀SSF008		♀SSF033		
∂PMA142	₽PMA142x∂PMA142	♀ <u>PMA164x</u> ♂ <u>PMA142</u>	ŞSSF008x∂PMA142	ŞSSF033x∂PMA142		
∂PMA164	♀ <u>PMA142x</u> ♂ <u>PMA164</u>	₽PMA164x♂PMA164	ŞSSF008x∂PMA164	ŞSSF033x∂PMA164		
♂SSF008	⊋PMA142x♂SSF008	⊋PMA164x∂SSF008	♀SSF008x♂SSF008	<u> SSF033x</u> ∂ <u>SSF008</u>		
♂SSF033	♀PMA142x♂SSF033	⊋PMA164x∂SSF033	♀ <u>SSF008x</u> ♂ <u>SSF033</u>	ŞSSF033x♂SSF033		
Drosophila mediostriata						
∂PMA ♀P		₽PMAx∂PMA	Ç	SSFx∂PMA		
∂'S\$	SF	♀PMAx♂SSF	ŞSSFx∂SSF			

Tabela 1 - Cruzamentos realizados entre linhagens de duas populações de *Drosophila maculifrons* e *D. mediostriata*. PMA = Parque Natural Municipal das Araucárias, SSF = Parque Municipal Salto São Francisco da Esperança. Em negrito cruzamentos intralinhagem; sublinhados os cruzamentos interlinhagens; os demais são cruzamentos interpopulacionais.

A produtividade dos cruzamentos foi definida como o número da progênie dos intra e intercruzamentos. Esta análise foi realizada por meio da contagem de machos e fêmeas

F1 dos cruzamentos em cada um dos quatro e cinco grupos de idade. As contagens foram realizadas a cada dois dias, após o início da emergência dos primeiros adultos, totalizando quatro contagens em uma semana, para certificar que todos os descendentes do período tenham sido registrados. A comparação da produtividade entre os cruzamentos foi realizada por meio do número total de indivíduos produzidos e também considerando o número de fêmeas vivas em cada grupo de idade para produção por fêmea.

Análises Estatísticas

Foram estimadas as médias e desvios padrões do tamanho dos testículos, duração da cópula, número de espermatozoides armazenados nas espermatecas, número de ovos, larvas e adultos produzidos por cópula, da viabilidade, do período de desenvolvimento, e da produtividade no programa Past 3.16. (HAMMER; HARPER; RYAN, 2017). A homocedasticidade dos dados foi averiguada por meio do teste de Shapiro-Wilks nos dados brutos, logaritimizados e extraída a raiz quadrada, e, assim, foram aplicados os testes de significância mais adequados para as comparações interpopulacionais e interespecíficas. Para os dados que apresentaram distribuição normal foi aplicada a análise de variância — One Way ANOVA, e o teste de Kruskal-Wallis nos dados não paramétricos. No programa Statistica 7.0 (StatSoft, Inc.) foram gerados gráficos do número de ovos postos ao longo do período de observação, e do número de ovos, larvas e adultos produzidos por cópula.

31 RESULTADOS

Caracteres morfológicos dos testículos e espermatozoides

O aparelho reprodutor dos machos das espécies *D. maculifrons* e *D. mediostriata* é constituído por glândulas acessórias translúcidas, um par de vesículas seminal e de testículos, com coloração esbranquiçada. O testículo destas espécies é um tubo fino e longo, com regiões esbranquiçadas homogêneas. De sua porção apical até a vesícula seminal, o testículo apresenta forma espiral com três ou mais giros. A vesícula seminal encontra-se no final do testículo. Dessa forma, a vesícula é caracterizada por estar afastada por uma região que se afunila na parte posterior do testículo, alargando-se novamente já como vesícula seminal.

As medidas dos testículos apresentaram distribuição normal após os dados serem logaritmizados. Não houve diferenças estatísticas no tamanho entre os testículos esquerdos e direito em *Drosophila maculifrons* (F = 0,1109, p = 0,9525, Tukey para comparações parapar, <math>p > 0,05), e em *D. mediostriata* (F = 0,8991, p = 0,5992, Tukey para comparações parapar, <math>p > 0,05). Também não foram encontradas diferenças significativas interpopulacionais no tamanho dos testículos nas duas espécies, no entanto os testículos dos machos de *D. maculifrons* foram significativamente maiores que os de *D. mediostriata* (F = 5,072, p = 0,0317) (Tabela 2).

	Drosophila mediostriata		Drosophila maculifrons		
Tamanho Testículo	PMA SSF		PMA	SSF	
Direito	$8,370 \pm 0,637$	8,242± 0,548	8,728± 1,080	9,023± 0,814	
Esquerdo	$8,378 \pm 0,673$	$8,272 \pm 0,487$	$8,809 \pm 0,773$	$8,837 \pm 0,782$	
Média da espécie	8,315 ± 0,585		8,849 ± 0,807		

Tabela 2 - Tamanho médio dos testículos (mm) direitos e esquerdos de populações (PMA e SSF) de Drosophila mediostriata e D. maculifrons. PMA = Parque Natural Municipal das Araucárias, SSF = Parque Municipal Salto São Francisco da Esperança.

Os espermatozoides encontrados nos testículos de *Drosophila maculifrons* e *D. mediostriata* são longos, delgados e filiformes, organizados em feixes quando imaturos, e livres quando maduros (Figura 1).

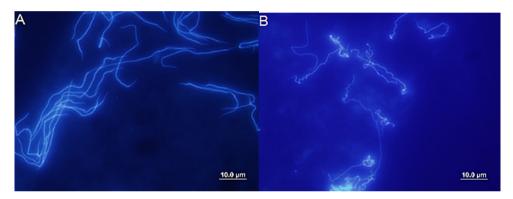


Figura 1 - Espermatozoides corados (DAPI) dos testículos de *Drosophila mediostriata* (A) e *D. maculifrons* (B).

Fonte: foto tirada por da Silva, L. T. O.

Duração da cópula

A duração da cópula foi estatisticamente significativa entre as populações para ambas as espécies: DC em PMA foi mais curta (24,45 \pm 8,7 min) do que em SSF (40,69 \pm 16,18 min) para *D. maculifrons* (F = 11,71, p < 0,01), e mais longa para *D. mediostriata* (PMA = 33,84 \pm 2,83 min, SS = 20,84 \pm 8,02; F = 7,68, p < 0,05).

Estimativas do número de espermatozoides armazenados nas espermatecas das fêmeas por cópula

Os espermatozoides encontrados nas espermatecas das fêmeas de *Drosophila maculifrons* e *D. mediostriata* apresentaram motilidade, e foram encontrados espacialmente aglomerados (Figura 2). Houve diferença interpopulacional significativa no número médio de espermatozoides armazenados tanto para *D. maculifrons* (PMA: = $93 \pm 10,1$; SSF: = $150,8 \pm 30,43$, F = 16,25, p = 0,004), como para *D. mediostriata* (PMA: = $63 \pm 8,31$; SSF: = 78,4

Capítulo 15

 \pm 6,5, F = 10,65, p = 0,0115), com maior armazenamento nas espermatecas das fêmeas provenientes de SSF. As fêmeas das duas populações de *D. maculifrons* armazenaram significativamente mais espermatozoides nas espermatecas do que *D. mediostriata* (PMA: F = 26,32, p = 0,0009; SSF: F = 27,08, p = 0,0008).

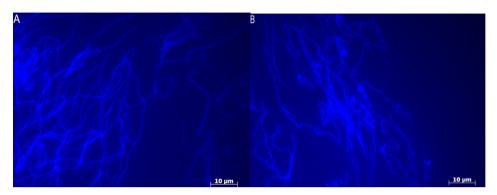


Figura 2 - Espermatozoides corados (DAPI) nas espermatecas de *Drosophila maculifrons* (A) e *D. mediostriata* (B).

Fonte: foto tirada por da Silva, L. T. O.

Análise do número de descendentes produzidos por cópula

Apenas as fêmeas virgens de *Drosophila maculifrons* põem ovos não fertilizados a partir do 5° até o 17° dia de vida, que não se desenvolvem. As fêmeas inseminadas por um único macho de *D. maculifrons* e *D. mediostriata* começaram a oviposição no primeiro dia pós-cópula e terminaram cerca de 21 dias depois. Ao longo deste período, o número de ovos postos foi bastante irregular para as duas espécies (Figura 3). Apesar de uma maior produção de ovos, larvas e adultos pelas fêmeas de *D. maculifrons*, não houve diferença significativa entre a progênie das duas espécies, mesmo após a logaritmização dos dados, devido ao alto desvio padrão (Ovos: F = 2,376, p = 0,1618; Larvas: F = 1,439, p = 0,2646; Adultos: F = 1,668, p = 0,2326). Ainda, se considerado que cerca de 21% dos ovos postos pelas fêmeas inseminadas de *D. maculifrons* ($\bar{X} = 330,6 \pm 255,79$) pode representar ovos não fertilizados ($\bar{X} = 69,4 \pm 43,37$), a ausência de diferença estatística entre o número de progênie das duas espécies pode ser confirmada.

A viabilidade de ovos-larvas de *Drosophila maculifrons* foi estimada em $\bar{X}=34,08\%\pm17,69$ e $\bar{X}=38,79\%\pm18,6$ para *D. mediostriata*, para larva-adulto de *D. maculifrons* $\bar{X}=57,43\%\pm10,95$, e $\bar{X}=47,88\%\pm21,06$ para *D. mediostriata*, como consequência a viabilidade média ovo-adulto foi de $\bar{X}=20,41\%\pm12,5$ para *D. maculifrons*, e de $\bar{X}=19,4\%\pm10,99$ para *D. mediostriata*. Também não foram encontradas diferenças significativas interespecíficas nas viabilidades médias ovo-larva, larva-adulto e ovo-adulto (F = 0,1679, F = 0,8091, F = 0,0181, respectivamente, com p > 0,3). Aqui também deve ser destacado que a viabilidade ovo-adulto de *D. maculifrons* deve ser ainda inferior aos cerca de 20%

estimados, pois as fêmeas desta espécie postam ovos não fecundados.

Produtividade de cruzamentos intra e interpopulacionais

A comparação dos intracruzamentos com os cruzamentos interlinhagem intrapopulacional de *Drosophila maculifrons* não resultou em valores significativos de produtividade de machos e fêmeas, e na produtividade total. Assim, as análises estatísticas foram realizadas agrupando os sexos e os cruzamentos nos mesmos dois tipos de D. mediostriata, intrapopulacional (PMAxPMA e PMAxPMA) e interpopulacional (PMAxPMA).

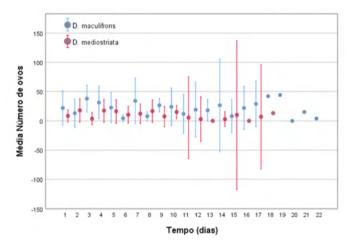


Figura 3 - Número médio de ovos (e intervalo de confiança a 95%) produzidos por inseminação ao longo do tempo pós-cópula para fêmeas de *Drosophila maculifrons* (azul) e *D. mediostriata* (vermelho).

Houve diferença significativa na mortalidade das fêmeas parentais ao longo das idades entre os cruzamentos de *D. maculifrons*. Desta maneira, a comparação da produtividade nos quatro grupos de idade foi realizada considerando o número médio de descendentes produzidos por fêmea viva em cada período. A produtividade foi uniforme ao longo dos quatro grupos de idades avaliados, apenas em ♀SSFx♂PMA a produtividade no 3º grupo de idade foi superior aos demais (F = 11,35; p = 0,0030). Não houve diferença significativa na produtividade total entre os cruzamentos realizados (F = 2,433; p = 0,0776), demonstrando não haver isolamento pós-zigótico entre as populações analisadas, apesar das diferenças na duração da cópula entre os cruzamentos intra e interpopulacionais.

Para *Drosophila mediostriata*, também não foram observadas diferenças significativas na proporção de descendentes fêmeas e machos em todos os cruzamentos realizados. Já as comparações da produtividade total e por fêmea apresentaram o mesmo quadro geral, desta forma, foram destacadas as análises da produtividade total dos cruzamentos. Quando agrupando os cruzamentos como intra e interpopulacionais, não foi observada diferença significativa na produtividade total de descendentes. No entanto, quando os cruzamentos

foram agrupados em \$\text{PMAx}\text{PMA} com \$\text{PMAx}\text{SSF}, e \$\text{SSFx}\text{SSF} com \$\text{SSFx}\text{PMA}, ou seja intra com fêmea do cruzamento interpopulacional a mesma do intrapopulacional, foi observado diferença significativa, mas no agrupamento recíproco, quando a fêmea do cruzamento interpopulacional foi de população diferente do cruzamento intrapopulacional, não foi obtido o mesmo resultado (Tabela 3). Não houve diferença estatisticamente significativa na produtividade de descendentes ao longo dos cinco grupos de idades dos cruzamentos realizados, apesar de poder ser destacada uma queda na produtividade dos 4º e 5º grupos de idade nos cruzamentos que envolveram fêmeas de PMA.

	SQ	GL	MQ	F	Р
1					
Entre os grupos	448,532	1	448,532	0,3012	0,5952
Dentro dos grupos	14890,9	10	1489,09		
Total	15339,4	11			
2					
Entre os grupos	78,1789	1	78,1789	40,18	0,0000
Dentro dos grupos	19,4589	10	1,94589		
Total	97,6378	11			

SQ = soma dos quadrados; GL = graus de liberdade; MQ = média dos quadrados

Tabela 3 - Análise de variância do total de descendentes produzidos nos cruzamentos intra e interpopulacionais de *Drosophila mediopunctata* do município de Guarapuava-PR: (1) intra (\$PMAx&PMA e \$SSFx&SSF) e interpopulacionais (\$PMAx&SSF e \$SSFx&PMA); (2) agrupamento dos cruzamentos \$PMAx&PMA com \$PMAx&SSF e \$SSFx&SSF com \$SSFx&PMA. PMA = Parque Natural Municipal das Araucárias, \$SSF = Parque Municipal Salto São Francisco da Esperança.

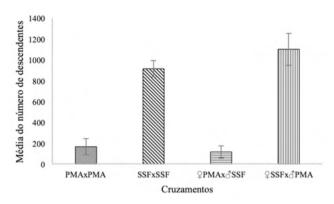


Figura 4 - Número médio de descendentes total (± desvios padrão) produzidos em cruzamentos intra e interpopulacionais de *Drosophila mediopunctata* do município de Guarapuava-PR. PMA = Parque Natural Municipal das Araucárias, SSF = Parque Municipal Salto São Francisco da Esperança.

4 I DISCUSSÃO

Embora existam evidências de que a seleção intra e intersexual desempenham papel central na evolução dos caracteres reprodutivos e nos sistemas de acasalamentos de *Drosophila*, sua importância em espécies de mata da região Neotropical não está clara. Neste trabalho foram utilizadas espécies de grupos irmãos e provenientes de mesmas populações, ou seja, ocorrendo em simpatria em áreas da Mata Atlântica brasileira, com o objetivo de minimizar os efeitos das relações filogenéticas e do ambiente nas diferenças que possivelmente pudessem ser encontradas entre *D. maculifrons* e *D. mediostriata* com relação aos caracteres reprodutivos analisados.

Em espécies de *Drosophila* existe muita variação interespecífica no tamanho dos testículos, com uma relação positiva entre o tamanho do testículo e do espermatozoide, e negativa entre o tamanho e o número de espermatozoides transferidos para as fêmeas (MARKOW, 1996), o que pode ocasionar um período maior para a maturação sexual do macho, devido ao investimento relativamente elevado na formação do tecido testicular (PITNICK; MARKOW, 1994a).

De acordo com a revisão de Pitnick (1996), nós propomos a distinção de quatro classes de tamanho de testículo em *Drosophila*: 1) entre 1 e 7 mm; 2) maior que 7 e menor que 20 mm; 3) maior que 20 e menor que 30 mm; e 4) maior que 30 mm. Dentre as espécies analisadas até o momento, apenas *D. bifurca* apresenta tamanho de testículo compatível com a classe 4 (PITNICK; MARKOW; SPICER, 1995). O tamanho médio do testículo de *D. maculifrons* e *D. mediostriata* enquadra-se na segunda classe, de espécies com tamanho intermediário de testículo, nem diminutos, como da primeira classe, nem grandes, como as espécies que podem produzir espermas "gigantes" (terceira e quarta classes) (PITNICK; MARKOW, 1994b; PITNICK; MARKOW; SPICER, 1995).

Neste trabalho foi observado que Drosophila maculifrons apresentou maior

tamanho de testículo e maior número de espermatozoides armazenados pelas fêmeas que *D. mediostriata*. Ainda, o número de espermatozoides armazenados pelas fêmeas nas espermatecas foi maior na população SSF, a qual também apresentou a maior duração da cópula nesta espécie. A competição de esperma está amplamente associada com esse aumento no tamanho dos testículos e no número de espermatozoides em diferentes táxons, insetos (GAGE, 1994), peixes (STOCKLEY et al., 1997), pássaros (MØLLER, 1988), mamíferos (MØLLER, 1989), inclusive humanos (SIMMONS et al., 2004). No entanto, o maior tempo de cópula e armazenamento de espermatozoides não resultaram em maior número de progênie, sugerindo que essa espécie possa apresentar um limiar energético para a produção de descendentes, o qual é independente do número de espermatozoides disponíveis.

A receptividade da fêmea para se reacasalar depende da queda no número de espermatozoides armazenados da cópula anterior, o retorno da receptividade da fêmea pode ocorrer após a produção de 90% dos descendentes que seriam esperados de uma única cópula (GROMKO; NEWPORT; KORTIER, 1984). Por isso, estimar o número de progênie por cópula é importante no entendimento dos sistemas de acasalamento em *Drosophila*. A maioria das espécies de *Drosophila* apresenta dois órgãos para armazenamento de espermatozoides, o receptáculo seminal (órgão primário de armazenamento) e a espermateca (PITNICK; MARKOW; SPICER, 1999). Neste trabalho foi estimado o número de espermatozoides nas espermatecas das fêmeas de *D. maculifrons* e *D. mediostriata* para determinar por quanto tempo esta reserva extra, após o uso dos espermatozoides do receptáculo seminal serem utilizados, permitiria a produção de zigotos.

O período de oviposição após a cópula foi amplo (cerca de 20 dias), porém bastante irregular, indicando que o espermatozoide armazenado pode ser utilizado por vários dias. Pode ser constatado que o número médio de espermatozoides na espermateca foi inferior ao número de ovos postos. Este resultado confirma que os espermatozoides do receptáculo seminal são utilizados primeiro, e que este baixo número extra de espermatozoides favorece o reacasalamento para a reposição do estoque, reforçando a competição de esperma e seleção intersexual, com a escolha críptica da fêmea (LÜPOLD; PITNICK, 2018).

A viabilidade dos zigotos de *Drosophila maculifrons* e *D. mediostriata* foi baixa, sendo mais afetada na transição ovo-larva do que larva-adulto. Este é um fato que reforça a importância da escolha críptica da fêmea na seleção dos espermatozoides armazenados para a formação de zigotos viáveis. O número médio de progênie por cópula produzido para estas espécies está entre os menores para as espécies em que este caráter foi avaliado, sendo equivalente ao número estimado para *D. hydei*, espécie que produz espermatozoides "gigantes", que são transferidos em baixo número (cerca de 100/cópula) para as fêmeas (PITNICK; MARKOW, 1994a; MARKOW, 1996; PITNICK, 1996). Desta maneira, pode existir relação do tamanho do testículo e/ou da duração da cópula com o número de espermatozoides armazenados pelas fêmeas, porém não com a qualidade da

197

progênie gerada.

A maior duração da cópula e maior número de espermatozoides que podem ser armazenados pelas fêmeas podem ser uma resposta à competição de esperma com outros machos (seleção intrassexual). Em algumas espécies de *Drosophila* a duração da cópula é determinada pela fêmea (MAZZI et al., 2009), enquanto em outras pode estar sujeita ao controle do macho (BACIGALUPE et al., 2007). Além disso, a duração da cópula poderia ser o resultado da interação de ambos os sexos (MARKOW 1981; HIRAI; SASAKI; KIMURA, 1999). A duração da cópula de *Drosophila maculifrons* e *D. mediostriata*, entre 20 e 40 minutos, está entre as mais longas observadas até o momento (GRANT, 1883; MARKOW, 1996). Em insetos, este caráter depende de processos de coevolução sexualmente antagônica (PARKER, 1979; HOLLAND; RICE, 1998; MOORE; PIZZARI, 2005), devido aos "interesses" reprodutivos distintos entre machos e fêmeas.

A duração da cópula mais curta resulta em oportunidades para reacasalamentos e escolha críptica da fêmea em seu trato reprodutivo (MARKOW; HOCUTT, 1998; KNOWLES; MARKOW, 2001), enquanto cópulas longas beneficiam os machos porque impedem as fêmeas de se reacasalarem, assegurando a paternidade da prole (CHEN et al., 1988; ALCOOK, 1994; SCHOEFL; TABORSKY, 2002; CHAPMAN et al., 2003; LIU; KUBLI, 2003; MAZZI et al. 2009; SKWIERZYŃSKA et al. 2018). Contudo, a extensão do período de cópula também poderia ser vantajosa para a fêmea, pois o ejaculado dos machos é responsável pelo aumento na fecundidade (NEUBAUM; WOLFNER, 1999; SAVALLI; FOX, 1999; WOLFNER, 2002; XUE; NOLL, 2002; EDVARDSSON; CANAL, 2006; WIGBY et al., 2009). Recentemente, também foi demonstrado que sob risco de competição de esperma, as proteínas do fluido seminal, já no trato reprodutivo da fêmea, poderiam melhorar a produção de descendentes do último macho competidor, e aumentar o número de espermatozoides liberados (NGUYEN; MOEHRING, 2018; IWATA et al., 2021).

Entre os caracteres reprodutivos pós-zigóticos, a produtividade, definida aqui como o número de descendentes produzidos nos cruzamentos, também pode ser afetada em cruzamentos interpopulacionais de espécies em divergência. Cruzamentos entre populações de uma mesma espécie em processo de diferenciação incipiente, e cruzamentos interespecíficos, podem gerar menor produtividade que os cruzamentos intrapopulacionais e intraespecíficos, degeneração da produtividade da F2, e, ainda, cruzamentos F1xF1 sem descendentes devido à esterilidade do macho híbrido (MADI-RAVAZZI; BICUDO, 1992; MADI-RAVAZZI; BICUDO; MANZATO, 1997; MACHADO; CASTRO; MADI-RAVAZZI, 2002; MACHADO, MADI-RAVAZZI; TADEI, 2006, como exemplos em espécies cactófilas do neotrópico).

Apesar das diferenças observadas quanto aos caracteres reprodutivos prézigóticos entre as populações de *Drosophila maculifrons* e *D. mediopunctata*, não houve interferência na produtividade dos intercruzamentos. Contudo, algumas diferenças podem ser destacadas na produtividade dos cruzamentos de *D. mediostriata*, a população SSF foi

mais produtiva que PMA e os cruzamentos interpopulacionais apresentaram produtividade semelhante ao cruzamento intrapopulacional quando a fêmea envolvida no cruzamento interpopulacional pertencia a mesma população do cruzamento intrapopulacional. Assim, \$\text{PMAx}\circ\$SSF apresentou produtividade semelhante ao cruzamento intrapopulacional \$\text{PMAx}\circ\$PMA, e \$\text{SSFx}\circ\$PMA obteve produtividade similar a \$\text{SSFx}\circ\$SSF.

O postulado de que o conflito sexual na evolução de caracteres pré-zigóticos leva ao isolamento reprodutivo é baseado na evolução arbitrária, ao acaso, como causa da seleção sexual dirigindo o isolamento entre populações alopátricas (COBB; BURNET; CONNOLLY, 1988; PRICE et al., 2001; TANUJA; RAMACHANDRA; RANGANATH, 2001; COYNE et al., 2002). Contudo, nem toda variedade de "ajuste" ao conflito sexual é possível, porque os machos têm um número limitado de fêmeas para cruzar, e as fêmeas são capazes de produzir um número limitado de descendentes (BATEMAN, 1948), pois os óvulos são um recurso limitante devido ao alto custo energético de sua produção (ALEXANDER; SHERMAN, 1977). Deste modo, baseado em experimentos que não demonstraram a correlação entre conflito sexual diferencial e o surgimento de mecanismos de isolamento, Bacigalupe e colaboradores (2007) propuseram que os custos para os machos e fêmeas no conflito sexual, e também evolução paralela, ao invés de arbitrária, das trajetórias evolutivas das características reprodutivas poderiam ser os fatores responsáveis pela ausência desta correlação.

Pode ser concluído que uma provável seleção de caracteres pré-zigóticos, resultado da competição de esperma, pode levar a uma tendência de aumento no tamanho dos testículos dos machos, o qual é seletivamente vantajoso por possibilitar maior produção de espermatozoides, que pode, por sua vez, resultar em um maior número de espermatozoides armazenados pela fêmea. Porém, o maior número de espermatozoides não determina um incremento correspondente no número de descendentes produzidos pela fêmea, nem as diferenças populacionais nestes parâmetros levou, ao menos neste momento evolutivo, a divergência em caracteres pós-zigóticos. No entanto, vale aqui destacar que a diferença na produtividade entre os cruzamentos interpopulacionais recíprocos de *Drosophila mediostriata* sugerem certa assimetria da produtividade interpopulacional. O risco para competição de esperma deve ser uma próxima etapa da avaliação do sistema reprodutivo de *D. maculifrons* e *D. mediostriata*, a fim de melhor auxiliar na compreensão da evolução e relação entre esses parâmetros em espécies polífagas do Neotrópico, em que esses estudos são escassos.

AGRADECIMENTOS

Nós somos gratos à CAPES pelo auxílio financeiro via PROAP PPGBioEvol e pelas bolsas de Mestrado de S. A. Beira e C. H. dos Santos. À Fundação Araucária pela bolsa de Mestrado para L. T. O. da Silva. À UNICENTRO pela infraestrutura. E ao Laboratório

199

Multiusuário de Microscopia e Microanálise do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista (IBILCE/UNESP), por possibilitar o preparo para microscopia de fluorescência e análise das lâminas de espermatozoides. Nós agradecemos também ao Prof. Dr. Vanderlei A. de Lima (UTFPR, *Campus* Pato Branco) por gentilmente construir o gráfico da postura de ovos ao longo do tempo. Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – (CAPES) – Código 001.

REFERÊNCIAS

ABRAMOFF, M. D.; MAGALHÃES, P. J.; RAM, S. J. Image processing with ImageJ, **Igitur Archief**, Utrecht Publishing and Archiving Service, 2004.

ALCOCK, J. Postinsemination associations between males and females in insects: the mate-guarding hypothesis. **Annual Review of Entomology**, v. 39, p.1-21, 1994.

ALEXANDER, R. D.; SHERMAN, P. W. Local mate competition and parental investment in social insects. **Science**, v. 196, p. 494-500, 1977.

ARNQVIST, G.; NILSSON, T. The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in insects. **Animal Behaviour**, v. 60, p. 145-164, 2000.

BACIGALUPE, L. D.; CRUDGINGTON, H. S.; HUNTER, F.; MOORE, A. J.; SNOOK, R. R. Sexual conflict does not drive reproductive isolation in experimental populations of *Drosophila pseudoobscura*. **Journal of Evolutionary Biology,** v. 20, p.1763-1771, 2007.

BALANYA, J.; OLLER, J. M.; HUEY, R. B.; GILCHRIST, G. W.; SERRA, L. Global genetic change tracks global climate warming in *Drosophila subobscura*. **Science**, v. 313, p. 1773-1775, 2006.

BATEMAN, A. J. Intra-sexual selection in *Drosophila*. Heredity, v. 2, p. 349-368, 1948.

BRESSAC, C.; FLEURY, A.; LACHAISE, D. Another way of being anisogamous in *Drosophila* subgenus species: giant sperm, one-to-one gamete ratio, and high zygote provisioning. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 91, p. 10399-10402, 1994.

CAVASINI, R.; BUSCHINI, M. L. T.; MACHADO L. P. B.; MATEUS, R. P. Comparison of Drosophilidae (Diptera) Assemblages from two Highland Araucaria Forest Fragments, with and without Environmental Conservation Policies. **Brazilian Journal of Biology**, v.74, p. 761-768, 2014.

CHAPMAN, T.; ARNQVIST, G.; BANGHAM, J.; ROWE, L. Sexual conflict. **Trends in Ecology and Evolution**, v.18, p. 41-47, 2003.

CHEN, P. S.; STUMM-ZOLLINGER, E.; AIGAKI, T.; BALMER, J.; BIENZ, M.; BÖHLEN, P. A male accessory gland peptide that regulates reproductive behavior of female *D. melanogaster.* **Cell**, v.54, p. 291-298, 1988.

Capítulo 15

200

COBB M.; BURNET, B.; CONNOLLY, K. Sexual isolation and courtship behaviour in *Drosophila* simulans. *D. mauritiana*, and their interspecific hybrids. **Behavior Genetics**, v. 18, p. 211–225, 1988.

COYNE, J. A.; KIM, S. Y.; CHANG, A. S.; LACHAISE, D.; ELWYN, S. Sexual isolation between two sibling species with overlapping ranges: *Drosophila santomea* and *Drosophila yakuba*. **Evolution**, v. 56, p. 2424–2434, 2002.

DOBZHANSKY, T.; PAVAN, C. Local and seasonal variations in relative frequencies of species of *Drosophila* in Brazil. **The Journal of Animal Ecology**, v. 19, p. 1–14, 1950.

dos SANTOS, K.; MACHADO, L. P. B.; MATEUS, R. P. Sampling two species of the *Drosophila guarani* group in a fragmento f Araucaria Florest: testing different types of baits, fermentation time, and period of the day. *Drosophila* information Service, Norman, v.93, p. 185-188. 2010.

EBERHARD, W. G. Female Control: Sexual Selection by Cryptic Female Choice. Princeton, New Jersey: Princeton University Press, 1996. 501p.

EDVARDSSON, M.; CANAL, D. The effects of copulation duration in the bruchid beetle *Callosobruchus maculatus*. **Behavioural Ecology**, v. 17, p. 430–434, 2006.

FUJII S.; KRISHNAN, P. Nocturnal Male Sex Drive in *Drosophila*. **Current Biology**, v. 17, p. 244–251, 2007

GAGE, M. J. Associations between body-size, mating pattern, testis size and sperm lengths across butterflies. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B**, v. 258, p. 247–254, 1994.

GILBERT, D. G. Ejaculate esterase 6 and initial sperm use by female *Drosophila melanogaster*. **Journal of Insect Physiology**, v. 27, p. 641-650, 1981.

GILCHRIST A. S.; PARTRIDGE, L. Why it is difficult to model sperm displacement in *Drosophila melanogaster*: the relation between sperm transfer and copulation duration. **Evolution**, v. 54, n. 2, p.534–542, 2000.

GRANGETEAU, C.; YAHOU, F.; EVERAERTS, C.; DUPONT, S.; FARINI, J-P; BENEY, L.; FERVEUR, J-F. Yeast quality in juvenile diet affects *Drosophila melanogaster* adult life traits. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 13070- 13080, 2018.

GRANT, B. On the relationships between average copulation duration and insemination reaction in the genus *Drosophila*. **Evolution**. v. 37, p. 854-856, 1983.

GROMKO, M. H.; NEWPORT, M. E. A.; KORTIER, M. G. Sperm dependence of female receptivity to remating in *Drosophila melanogaster*. **Evolution**, v. 38, , p. 1273-1282, 1984.

HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis, versão 3.16, 2017.

HIRAI, Y.; SASAKI, H.; KIMURA, M. T. Copulation duration and its genetic control in *Drosophila elegans*. **Zoological Science**, v. 16, p. 211–214, 1999.

HOLLAND, B.; RICE, W. R. Chase away sexual selection: antagonistic seduction versus resistance. **Evolution**. v. 52. p. 1–7. 1998.

IWATA, Y.; SATO, N.; HIROHASHI, N.; WATANABE, Y.; SAUER, W. H.; SHAW, P. W. Sperm competition risk affects ejaculate strategy in terms of sperm number but not sperm size in squid. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 34, p. 1352-1361, 2021.

KLACZKO, L. B. Evolutionary genetics of *Drosophila mediopunctata*. Genetica, v. 126, p. 43-55, 2006.

KNOWLES, L. L.; MARKOW, T. A. Sexually antagonistic coevolution of a postmating-prezygotic reproductive character in desert *Drosophila*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 15, p. 8692–8696, 2001.

KNOWLTON, N.; GREENWELL, S. R. Male sperm competition avoidance mechanisms: the influence of female interests. In: SMITH, R. L. (Ed.). **Sperm competition and the evolution of animal mating systems**. Academic Press, New York, p. 61-84, 1984.

LEFEVRE JR, G.; JONSSON, U. B. Esperm transfer, storage, displacement, and utilization in *Drosophila melanogaster*. **Genetics**. v. 47, n.12, p. 1719-1736, 1962.

LIU, H.; KUBLI, E. Sex-peptide is the molecular basis of the sperm effect in *Drosophila melanogaster*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, p. 9929–9933, 2003.

LÜPOLD, S., PITNICK, S. Sperm form and function: what do we know about the role of sexual selection?. **Reproduction**, v.155, n. 5, p. 229-243, 2018.

LÜPOLD. S.; MANIER, M K.; PUNIAMOORTHY, N.; SCHOFF, C.; STARMER, W T.; LUEPOLD, S. H. B.; BELOTE, J M.; PITNICK, S. How sexual selection can drive the evolution of costly sperm ornamentation. **Nature**, v. 533, p. 535–538, 2016.

MACHADO, L. P. B.; CASTRO, J. P; MADI-RAVAZZI, L. Evaluation of the courtship and of the hybrid male sterility among *Drosophila buzzatii* cluster species (Diptera, Drosophilidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, p. 601-608, 2002.

MACHADO, L. P. B.; MADI-RAVAZZI, L.; TADEI, W. J. Reproductive relationships and degree of synapsis in the polytene chromosomes of the *Drosophila buzzatii* species cluster. **Brazilian Journal of Biology**, v. 66, p. 279-293, 2006.

MADI-RAVAZZI, L.; BICUDO, H. E. M. C. Differentiation of *Drosophila serido* (isofemale line A95F3) and *D. koepferae* (isofemale line B20D2) reproductive isolation, development time and polytene chromosome banding patterns. **Revista Brasileira de Genética**, v. 15, p. 831-851, 1992.

MADI-RAVAZZI, L.; BICUDO, H. E. M. C.; MANZATO, J. A. Reproductive compatibility and chromosome pairing in the *Drosophila buzzatii* complex. **Cytobios**, v. 89, p. 21-30, 1997.

MARKOW, T. A. Courtship behavior and control of reproductive isolation between *Drosophila mojavensis* and *Drosophila arizonensis*. **Evolution**, v. 35, p.1022–1026, 1981.

MARKOW, T. A. A comparative investigation of the mating system of *Drosophila hydei*. **Animal Behaviour**, v. 33, p. 775-781, 1985.

MARKOW, T. A. Evolution of *Drosophila* mating systems. **Evolutionary Biology**. v. 29, p. 73-106, 1996.

MARKOW, T. A.; HOCUTT, G. D. Reproductive isolation in Sonoran Desert *Drosophila*: testing the limits of the rules. In: HOWARD, D.J.; BERLOCHER, S.H. (Eds.). **Endless Forms: Species and Speciation**. New York: Oxford Univ. Press, p. 234–244, 1998.

MATEUS, R. P., NAZARIO-YEPIZ, N. O., IBARRA-LACLETTE, E., RAMIREZ LOUSTALOT-LACLETTE, M.; MARKOW, T. A. Developmental and transcriptomal responses to seasonal dietary shifts in the cactophilic *Drosophila mojavensis* of North America. **Journal of Heredity**, v. 11, p. 58-67, 2019.

MAZZI, D.; KESÄNIEMI. J.; HOIKKALA, A.; KLAPPERT, K. Sexual conflict over the duration of copulation in *Drosophila montana*: why is longer better? **BMC Evolutionary Biology**, v. 9, p.132-144, 2009.

MILLER, G. T.; PITNICK, M. Sperm-Female Coevolution in *Drosophila*. **Science**, v. 298, n. 5596, p.1230–1233, 2002.

MØLLER, A. P. Testes size, ejaculate quality and sperm competition in birds. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 33, p. 273–283, 1988.

MØLLER, A. P. Ejaculate quality, testes size and sperm production in mammals. **Functional Ecology**, v. 3, p. 91–96, 1989.

MOORE, A. J., PIZZARI, T. Quantitative genetic models of sexual conflict based on interacting phenotypes. **The American Naturalist**, Chicago, v. 165, n. 5, p. 88-97, 2005.

NEUBAUM, D. M.; WOLFNER, M. F. Mated *Drosophila melanogaster* females require a seminal fluid protein, Acp36DE, to store sperm efficiently. **Genetics**, v. 153, p. 845–857, 1999.

NGUYEN, T. T. X.; MOEHRING, A. J. A male's seminal fluid increases later competitors' productivity. **Journal of Evolutionary Biology**, v.31, n. 10, p.1572-1581, 2018.

OLIVEIRA, G. F.; ROHDE, C.; GARCIA, A. C. L.; MONTES, M. A.; VALENTE, V. L. S. Contributions of dryland forest (Caatinga) to species composition, richness and diversity of Drosophilidae. **Neotropical Entomology**, v.45, p. 537–547, 2016.

PARKER, G. A. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. **Biological Reviews**, v.45, p. 525-567, 1970.

PARKER, G. A. Sexual selection and sexual conflict. In: Blum MS, Blum NA (eds) **Sexual selection and reproductive competition in insects**. Academic Press, New York, NY, 1979. p. 123–166.

PARKER, G. A.; IMMLER, S.; PITNICK, S.; BIRKHEAD, T. R. Sperm competition games: Sperm size (mass) and number under raffle and displacement, and the evolution of P2. **Journal of Theoretical Biology**, v. 264, p. 1003–1023, 2010.

- PAVAN, C.; DOBZHANSKY, T.; BURLA, H. Diurnal behavior of some neotropical species of *Drosophila*. **Ecology**, v. 31, p. 36–43, 1950.
- PITNICK, S. Male size influences mate fecundity and remating interval in *Drosophila melanogaster*. **Animal Behaviour**, v. 41, p. 735-745, 1991.
- PITNICK, S. Investment in testes and the cost of making long sperm in *Drosophila*, **American Naturalist**, v. 148, p. 57-80, 1996.
- PITNICK, S.; MARKOW, T. A. Large-male advantages associated with costs of sperm production in *Drosophila hydei*, a species with giant sperm. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States**, v. 91, n. 20, p. 9277-9281, 1994a.
- PITNICK, S.; MARKOW, T. A. Male gametic strategies: sperm Size, testes size, and the allocation of ejaculate among successive mates by the sperm-limited fly *Drosophila pachea* and its relatives. **The American Naturalist**, v. 143, n. (5), p. 785–819, 1994b.
- PITINICK, S.; MARKOW, T. A.; SPICER, G. Delayed male maturity is a cost of producing large sperm in *Drosophila*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 92, n. 23, p.10614-10618, 1995.
- PITNICK, S.; MARROW, T.; SPICER, G. S. Evolution of multiple kinds of female sperm-storage organs in *Drosophila*. **Evolution**, v. 53, p. 1804-1822, 1999.
- PRICE, C. S. C.; KIM, C. H.; GRONLUND, C. J.; COYNE, J. A. Cryptic reproductive isolation in the *Drosophila simulans* species complex. **Evolution**, v. 55, p. 81–92, 2001.
- RAFAEL V.; VELA D. *Drosophilayangana* sp. nov. un nuevo miembro del grupo repleta subgrupo inca (Diptera: Drosophilidae). Revista de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, v.71, p.129–139, 2003.
- ROBE, L. J.; LORETO, E. L. S.; VALENTE, V. L. S. Radiation of the "Drosophila" subgenus (Drosophilidae, Diptera) in the Neotropics. **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**, v. 48, p.310–321, 2010.
- ROBE, L. J.; VALENTE, V. L. S.; LORETO, E. L. S. Phylogenetic relationships and macro-evolutionary patterns within the *Drosophila tripunctata* "radiation" (Diptera: Drosophilidae). **Genetica**, p. 138, 725–735, 2010.
- SALZANO, F. M. Chromosomal polymorphism in two species of the *guarani* group of *Drosophila*. **Chromosoma**, v. 7, p. 39–50, 1955.
- SAVALLI, U. M; FOX, C. W. The effect of male mating history on paternal investment, fecundity and female remating in the seed beetle *Callosobruchus maculatus*. **Functional Ecology**, v. 13, p. 169–177, 1999.
- SCHMITZ, H. J.; HOFMANN, P. R. P.; VALENTE V. L. S. Assemblages of drosophilids (Diptera, Drosophilidae) in mangrove forests: community ecology and species diversity. **Iheringia Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 100, p. 133–140, 2010.

204

SCHOEFL, G.; TABORSKY, M. Prolonged tandem formation in firebugs (*Pyrrhocoris apterus*) serves mate-guarding. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 52, p. 426–433, 2002.

SENE, F. M.; VAL, F. C.; VILELA, C. R.; PEREIRA, M. A. Q. R. Preliminary data on the geographical distribution of *Drosophila* species within morphoclimatic domains of Brazil. **Papéis Avulsos do Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura**, v. 33, p. 315-326, 1980.

SIMMONS, L. W.; FIRMAN, R. C.; RHODES, G.; PETERS, M. Human sperm competition: Testis size, sperm production and rates of extrapair copulations. **Animal Behaviour**, v. 68, p. 297–302, 2004.

SKWIERZYŃSKA, A. M.; PLESNAR-BIELAK, A.; KOLASA, M.; RADWAN, J. Evolution of mate guarding under the risk of intrasexual aggression in a mite with alternative mating tactics. **Animal Behaviour,** v. 137, p. 75–82, 2018.

SNOOK, R. R.; BACIGALUPE, L. D.; MOORE, A. J. The quantitative genetics and coevolution of male and female reproductive traits. **Evolution**, v.64, n.7, p.1926-1934, 2005.

SNOOK, R. R.; MARKOW, T. A.; KARR, T. L. Functional nonequivalence of sperm in *Drosophila* pseudoobscura. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 91, p. 11222-11226, 1994.

STOCKLEY, P.; GAGE, M.; PARKER, G. A.; MØLLER, A. P. Sperm competition in fishes: The evolution of testis size and ejaculate characteristics. **American Naturalist**, v. 149, p. 933–954, 1997.

TANUJA, M. T.; RAMACHANDRA, N. B.; RANGANATH, H. A. Incipient sexual isolation in the *nasuta-albomicans* complex of *Drosophila*: No-choice experiments. **Journal of Biosciences**, v. 26, p. 71–76, 2001.

THROCKMORTON, L. H. The phylogeny, ecology, and geography of *Drosophila*. In: KING, R.C. (Org). **Invertebrates of Genetic Interest**. Plenum Press, New York, 1975. Cap.17, p. 421-469.

TIDON, R. Relationships between drosophilids (Diptera, Drosophilidae) and the environment in two contrasting tropical vegetations. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 87, p. 233–247, 2006.

TIDON-SKLORZ, R.; SENE, F. M. Vertical and temporal distribuition of *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) species in a wooded area in the state of São Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 52, p. 311-317, 1992.

TORRES, F.R.; MADI-RAVAZZI, L. Seasonal variation in natural populations of *Drosophila* spp (Diptera) in two woodlond in the state of São Paulo, Brazil. **Iheringia Série Zoologia**, v. 96, p. 437 - 444, 2006.

TRIVERS, R. Parental investment and sexual selection. In: CAMPBELL, G. B. (Org). **Sexual selection and the descent of man**. Aldine, New York, 1972. Cap. 7, p. 136-179.

WIGBY, S.; SIROT, L. K.; LINKLATER, J. R.; BUEHNER, N.; CALBOLI, F. C.; BRETMAN, A.; WOLFNER, M. F.; CHAPMAN, T. Seminal fluid protein allocation and male reproductive success. **Current Biology**, v. 19, p. 751–757, 2009.

WOLFNER, M. F. The gifts that keep on giving: physiological functions and evolutionary dynamics of male seminal proteins in *Drosophila*. **Heredity**, v. 88, p. 85–93, 2002.

XUE, L.; NOLL, M. Dual role of the Pax gene paired in accessory gland development of *Drosophila*. **Development**, v. 129, p. 339–346, 2002.

ÍNDICE REMISSIVO

Α

Acetólise 228, 229, 232, 233

Antibiosis 76, 78, 81, 83, 85, 86

Antifungal activity 76, 79, 80, 83, 84, 85, 90, 164, 165, 166, 167, 168, 170, 171, 175, 176, 177, 179, 180, 181

В

Benzofenona 207, 209, 213, 214, 219, 224, 225, 226

Biodiesel 149, 150, 154, 162, 163, 251, 252, 253, 256, 258, 260, 261, 262, 263

C

Câncer 108, 109, 112, 113, 212

Características reprodutivas 183, 185, 199

Células planctônicas 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73

Clínica ampliada 114, 115, 116, 122, 123, 124

Combustíveis 154, 251, 252, 262, 263, 264

Covid-19 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65

D

Diabrotica speciosa 265, 266, 273, 274

Dislexia 139, 140, 141, 142, 143, 144, 146, 147, 148

Drogadição 39, 42, 44, 52

Drogas 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 126, 209, 210

Drosophila 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206

Ε

Electromagnetic fields 93, 94, 95, 103, 104, 105, 106

Enfermedades genéticas 1, 2, 3, 5, 7, 8, 9, 10, 13

Espermatozoide 95, 184, 186, 187, 189, 196, 197

Etanol 109, 149, 155, 156, 157, 159, 160, 161, 162, 163, 188, 251, 252, 253, 254, 256, 257, 260, 261, 262, 263, 264

Eugenesia 1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10

F

Fatores de virulência 66, 67, 69

Fusarium graminearum 76, 77, 78, 86, 88, 89, 90, 92, 175, 178

```
G
Genética 1, 2, 4, 7, 8, 9, 10, 15, 16, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 28, 31, 32, 33, 34, 35, 44,
93, 202, 283, 290, 291
Genetics 7, 11, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 106, 201, 202, 203, 205
Н
Hibisco 228, 229, 231, 235
Hibiscus rosa-sinensis I. 228
ı
Ingeniería genética 1, 7, 8, 9, 10
Inseticida 270, 275
Interdisciplinaridade 114, 117, 118, 121, 126
Intervenção fonoaudiológica 139, 141, 142, 143, 144, 145, 146
J
Jukart 109
K
K562 108, 109, 112
L
Lactobacillus 164, 165, 166, 175, 176, 178, 179, 180, 181
Leucemia 109
Levantamento taxonômico 237, 242, 247
Linfoma 109
Lipídios 149, 151, 152, 154, 155, 158, 159, 160, 161, 162, 163
M
Madurez sexual 127, 129, 131
Marcadores moleculares 15, 16, 18, 20, 21, 27, 28, 29, 33
Medidas eletrofisiológicas 139, 142
Microalga 149, 150, 151, 152, 156, 159, 160, 161, 163, 215
Micronuclei 94, 95, 97, 98, 101, 104
Mycotoxin 77, 78, 87, 89, 90, 92, 165, 166, 176, 177, 179, 180, 181
0
Octocrileno 207, 209, 213, 216, 217, 219
```

Óxido nítrico 67, 70, 72

```
Р
```

Pez león 127, 130, 131, 132, 133, 135, 136, 137

Poluentes 207, 208, 209, 210, 211, 212, 215, 217, 218, 219, 220, 222, 223, 227

Pragas 26, 27, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 272, 273, 274, 275

Professors 34, 35, 37

Pterois volitans 127, 128, 133, 134, 138

R

Reforma psiguiátrica 114, 115, 116, 117, 118, 122, 124, 125

Rio São Francisco 236, 238, 241, 242, 248, 249

S

Saccharomyces cerevisiae 76, 77, 78, 86, 87, 88, 89, 92, 178

Sars-Cov-2 54, 55, 61

Scenedesmus 149, 150, 151, 152, 155, 156, 159, 160, 163

Sequenciamento 14, 15, 16, 17, 18, 20, 25, 26, 27, 28

Т

Tiazacridínico 107, 109, 110, 111

V

Vacinação 54, 55, 56, 58, 59, 60, 61, 64



www.atenaeditora.com.br

@atenaeditora

www.facebook.com/atenaeditora.com.br





www.atenaeditora.com.br

@atenaeditora

www.facebook.com/atenaeditora.com.br

