



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**COMUNICAÇÃO QUÍMICA E ESTRATÉGIAS DE  
ACASALAMENTO DE *Raoiella indica* HIRST (ACARI:  
TENUIPALPIDAE)**

**MARIA ISABEL DE OLIVEIRA LOPES GOMES**

**DEBORA BARBOSA DE LIMA MELO**

**RECIFE  
2025**

MARIA ISABEL DE OLIVEIRA LOPES GOMES

**COMUNICAÇÃO QUÍMICA E ESTRATÉGIAS DE  
ACASALAMENTO DE *Raoiella indica* HIRST (ACARI:  
TENUIPALPIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Biologia Animal da  
Universidade Federal de Pernambuco,  
como requisito parcial para obtenção do  
título de mestre(a) em Biologia Animal.  
Área de concentração: Biologia Animal

Orientadora: Debora Barbosa de Lima Melo

**RECIFE  
2025**

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Gomes, Maria Isabel de Oliveira Lopes.

Comunicação química e estratégias de acasalamento de *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) / Maria Isabel de Oliveira Lopes Gomes. - Recife, 2025.

39f.: il.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, 2025.

Orientação: Debora Barbosa de Lima Melo.

1. Comportamento; 2. Pistas; 3. Ácaro. I. Melo, Debora Barbosa de Lima. II. Título.

UFPE-Biblioteca Central

MARIA ISABEL DE OLIVEIRA LOPES GOMES

**COMUNICAÇÃO QUÍMICA E ESTRATÉGIAS DE ACASALAMENTO  
DE *Raoiella indica* HIRST (ACARI: TENUIPALPIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Biologia Animal da  
Universidade Federal de Pernambuco,  
como requisito parcial para obtenção do  
título de mestre(a) em Biologia Animal.  
Área de concentração: Biologia Animal

**Banca Examinadora**

---

Debora Barbosa de Lima Melo  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Wendel Jose Teles Pontes  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Manoel Guedes Correa Gondim Junior  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Data: 30/07/2025

## AGRADECIMENTOS

Estou muito feliz por estar escrevendo estas palavras neste exato momento. As pessoas que me acompanharam e estiveram ao meu lado durante este trabalho sabem que não foram apenas dois anos. Eu costumo brincar que vivi quatro anos da minha vida acadêmica em dois. O primeiro ano não foi fácil para mim. Além da imaturidade e dos desafios cotidianos das disciplinas e do projeto, tive que acompanhar os últimos dias de vida do meu pai, que faleceu no primeiro semestre do mestrado.

Certamente, agradeço a Deus por ter me dado forças e inspiração para não desistir. Também agradeço ao meu pai, que sempre fez de tudo para me proporcionar as melhores oportunidades de ensino e educação. Ele me deu a chance de viver uma formação acadêmica sem precisar me preocupar com alimentação, moradia ou locomoção. Sei que sou e fui privilegiada por isso, e serei eternamente grata. Agradeço ao apoio da minha mãe, que sempre esteve ao meu lado nos momentos de aperto e incertezas. Obrigada por todos os abraços, mãe, eles valeram ouro para mim. Agradeço também às minhas irmãs, Duda e Paula, que me socorreram nos momentos de caos e dificuldade. Não poderia deixar de agradecer aos meus amigos da igreja, em especial Raffinha, Dudinha, Nargem e Bibi. Vocês foram fundamentais nesse processo. Também agradeço ao meu melhor amigo e amor, Silas. Obrigada por todos os mimos e encorajamentos. Eles foram de grande importância para mim.

Agradeço aos meus orientadores, professora Debora, professor Mano e professor Wagner, por todo o ensino e apoio ao longo dessa trajetória. Agradeço também aos amigos do laboratório de Acarologia, por terem proporcionado um ambiente de muita descontração e “paz” (só quem viveu vai entender). Em especial, agradeço ao João, por alegrar os meus dias com seu humor duvidoso e com a falta de cabelo no centro da cabeça, a famosa arena. E, claro, às minhas melhores amigas, Bru e Bia. O que posso falar delas? Elas me ajudaram a crescer como amiga, pesquisadora e pessoa. Amo vocês, meninas. Obrigada por cada dormida no laboratório, por cada coleta e por todas as aventuras no RU.

E se você, que está lendo estes agradecimentos, não foi citado diretamente, saiba que fez parte disso também. Muito obrigada por estar por perto.

## RESUMO

Pistas olfativas e rastros químicos desempenham papéis centrais na comunicação sexual de ácaros, mediando o encontro entre parceiros e o reconhecimento do estado reprodutivo das fêmeas. Embora esses mecanismos estejam bem descritos em alguns grupos, ainda são pouco explorados na família Tenuipalpidae. No presente trabalho investigou-se o comportamento sexual de *Raoiella indica* Hirst, espécie de relevância econômica associada a mais de 100 espécies vegetais. O comportamento e testes experimentais foram realizados para descrever o acasalamento e avaliar a atratividade de diferentes sinais químicos (pistas olfativas e rastros químicos) emitidas por fêmeas em distintas fases reprodutivas (virgens e acasaladas). Os resultados mostraram que o comportamento de acasalamento de *R. indica* apresenta uma sequência estável composta por quatro etapas: contato exploratório, posição pré-copulatória, postura genital e cópula, com duração média de 24 minutos. Verificou-se que machos de *R. indica* foram capazes de localizar apenas as pistas olfativas liberados pelas fêmeas teliocrisálidas, não respondendo as pistas olfativas emitidos por fêmeas adultas virgens e acasaladas. Adicionalmente, machos de *R. indica* responderam aos rastros químicos deixados por fêmeas virgens adultas e não demonstraram a mesma resposta comportamental diante de rastros deixadas por fêmeas adultas recém acasaladas. Estes resultados indicam que o comportamento sexual da espécie segue um padrão bem definido e que a comunicação química desempenha papel central na mediação dessas interações, contribuindo para o entendimento das estratégias reprodutivas adotadas por *R. indica*.

**Palavras-chave:** sinais químicos; reprodução; comportamento; ácaro.

## ABSTRACT

Olfactory cues and contact chemical trails play central roles in the sexual communication of mites, mediating partner encounter and recognition of the female reproductive status. Although these mechanisms are well described in some groups, they remain little explored in the family Tenuipalpidae. In the present study, the sexual behavior of *Raoiella indica* Hirst, an economically relevant species associated with more than 100 plant species, was investigated. Behavioral observations and experimental tests were conducted to describe mating and to evaluate the attractiveness of different chemical signals (olfactory cues and contact chemical trails) emitted by females at different reproductive stages (virgin and mated). Results showed that the mating behavior of *R. indica* follows a stable sequence composed of four stages: exploratory contact, pre-copulatory positioning, genital posture, and copulation, with an average duration of 24 minutes. Males of *R. indica* were able to locate only the olfactory cues released by teleiochrysalis females, showing no response to olfactory cues emitted by virgin and mated adult females. Additionally, males responded to contact chemical trails left by virgin adult females but did not show the same behavioral response to trails left by recently mated adult females. These findings indicate that the sexual behavior of this species follows a well-defined pattern and that chemical communication plays a central role in mediating these interactions, contributing to the understanding of the reproductive strategies adopted by *R. indica*.

**Keywords:** chemical cues; reproduction; behavior; mite.

## SUMÁRIO

|          |                                                           |           |
|----------|-----------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO</b>                                         | <b>9</b>  |
| <b>2</b> | <b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>                              | <b>10</b> |
| 2.1      | Introdução à seleção sexual                               | 10        |
| 2.1.1    | Seleção Intrassexual                                      | 11        |
| 2.1.1.1  | Guarda de parceiros                                       | 11        |
| 2.1.1.2  | Competição Espermática                                    | 12        |
| 2.1.2    | Seleção Intersexual                                       | 13        |
| 2.1.2.1  | Comunicação Química                                       | 13        |
| 2.1.2.2  | Escolha feminina                                          | 14        |
| 2.1.3    | Conflito Sexual                                           | 15        |
| 2.2      | <i>Raoiella indica</i> Hirst, 1924 (Acari: Tenuipalpidae) | 15        |
| 2.2.1    | Comportamento Sexual e Reprodução                         | 16        |
| 2.2.2    | Impacto e Importância                                     | 17        |
| <b>3</b> | <b>OBJETIVOS</b>                                          | <b>17</b> |
| 3.1      | Geral                                                     | 17        |
| 3.2      | Específicos                                               | 18        |
| <b>4</b> | <b>REFERÊNCIAS</b>                                        | <b>18</b> |
| <b>5</b> | <b>ARTIGO</b>                                             | <b>26</b> |
| <b>6</b> | <b>CONCLUSÃO</b>                                          | <b>39</b> |



## 1. INTRODUÇÃO

O comportamento sexual dos animais é caracterizado por um conjunto de interações cujo objetivo é maximizar o sucesso reprodutivo (Overmeer, 1972; Birkhead; Atkin; Møller, 1987; Anholt *et al.*, 2020). Em muitas espécies, essas interações envolvem uma complexa troca de sinais, estímulos sensoriais e estratégias comportamentais que se manifestam antes, durante e após a cópula (Robinson, 1982; Knop, 1985; Ayasse; Paxton; Tengö, 2001; Tierno de Figueroa; Luzón-Ortega; López-Rodríguez, 2019; Anholt *et al.*, 2020). As fêmeas tendem a ser o sexo mais seletivo na escolha do parceiro para a cópula (Bateman, 1948), no entanto, os critérios adotados pelas fêmeas podem variar consideravelmente entre as espécies (Cothran, 2008; Maklakov; Arnqvist, 2009).

Em artrópodes, a escolha da fêmea pode estar associada ao tamanho dos machos (Shuker *et al.*, 2002) ou à sua simetria corporal (Garga; Proctor; Belczewski, 1997; Beck; Pruett, 2002). Em algumas espécies que dependem da comunicação química para localizar seus parceiros sexuais, fêmeas imaturas emitem sinais químicos, geralmente compostos voláteis, que orientam os machos até sua localização. Durante essa busca, podem ocorrer disputas entre machos pelo acesso à fêmea, resultando na guarda pré-copulatória por um indivíduo dominante (Goshima; Kawashima; Wada, 1998; Okamura; Goshima, 2010; Oku *et al.*, 2015; Oku, 2016). A evolução desse tipo de escolha indireta pode ocorrer quando as fêmeas estão impedidas de selecionar diretamente seus parceiros, seja em razão de seu estágio de desenvolvimento ou em função do comportamento competitivo dos machos (Wiley; Poston, 1996).

Em ácaros, pistas olfativas e rastros químicos deixados durante a locomoção desempenham papéis cruciais na mediação de encontros sexuais e no reconhecimento do estado reprodutivo das fêmeas (Potter; Wrensch; Johnston, 1976; Sonenshine, 1986; Akyazi; Altunç, 2018). O comportamento sexual de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) é um dos mais bem estudados. Nessa espécie, os machos guardam as deutoninfas quiescentes das fêmeas pouco antes da emergência e da maturação sexual (Potter; Wrensch; Johnston, 1976; Satoh; Yano; Takafuji, 2001), pois apenas a primeira inseminação resulta em fertilização (Potter; Wrensch, 1978). Esse comportamento parece aumentar a atratividade das fêmeas, pois foi verificado que aquelas recém-guardadas atraem mais machos do que fêmeas solitárias (não guardadas) (Oku *et al.*, 2015). Quando mais de um macho é atraído por uma mesma fêmea, a competição entre machos acaba acontecendo (Potter; Wrensch; Johnston, 1976; Enders, 1993). Dessa forma, fêmeas guardadas atraem machos extras e escolhem seu parceiro indiretamente por meio da disputa entre machos (Oku, 2009). Posteriormente, foi evidenciado que essa atração

de machos adicionais se deve a diferenças no “blend” de voláteis liberados por fêmeas recém guardadas e solitárias (Oku, 2009; Oku; Shimoda, 2013).

Apesar dos avanços no estudo do comportamento sexual em alguns grupos de ácaros, pouco se sabe sobre as estratégias reprodutivas adotadas por espécies da família Tenuipalpidae (Manglitz; Cory, 1953; Haramoto, 1966; Gerson, 2008). Esse grupo é considerado um dos mais importantes entre os ácaros fitófagos (Rodrigues *et al.*, 2003; Childers; French; Rodrigues, 2003; Childers; Rodrigues; Welbourn, 2003). Diversas espécies de tenuipalpídeos são reconhecidas como fitófagos de importância econômica, especialmente sob condições de alta densidade populacional, afetando diferentes culturas agrícolas ao redor do mundo (Rodrigues *et al.*, 2003; Gerson, 2008). Dentro dessa família, a espécie que mais se destacou nos últimos anos foi *Raoiella indica* Hirst (Hirst, 1924; Melo *et al.*, 2018), um ácaro fitófago recentemente introduzido no Brasil, com relevância econômica, e associado a mais de 100 espécies vegetais (Navia *et al.*, 2015; Gómez-Moya *et al.*, 2017; Barros *et al.*, 2020). Apesar de existirem registros relacionados ao comportamento de guarda de fêmeas teliocrisálidas (Navia *et al.*, 2015), até o momento não há uma descrição detalhada do comportamento de acasalamento dessa espécie, tampouco investigações experimentais sobre o uso de sinais químicos na atração de parceiros.

Portanto, esta dissertação teve como objetivo geral investigar os mecanismos de comunicação sexual em *R. indica*, com ênfase na descrição do comportamento de acasalamento, na identificação dos sinais químicos utilizados pelos machos para localizar as fêmeas e na influência do estado reprodutivo feminino sobre sua atratividade. Especificamente, buscou-se: (i) descrever o comportamento de acasalamento; (ii) avaliar se os machos utilizam pistas olfativas ou rastros químicos para localizar fêmeas; (iii) testar se fêmeas virgens e acasaladas diferem em atratividade; e (iv) verificar se machos copulam com fêmeas recém acasaladas (24 horas).

## **2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1. Introdução à seleção sexual**

A seleção sexual é um mecanismo evolutivo pelo qual diversas espécies desenvolvem características secundárias para atrair parceiros sexuais. Esse processo pode aumentar o sucesso reprodutivo dos indivíduos, mesmo que isso possa, ou não, representar um risco para sua sobrevivência. Neste sentido, Darwin (1871) considerou dois tipos de seleção em seus trabalhos: o conflito entre membros de um mesmo sexo (seleção intrasexual) e a atração entre membros de sexos opostos (seleção intersexual). No entanto, uma terceira categoria foi

identificada: o conflito de interesse entre os sexos (conflito intersexual) (Arnqvist; Rowe, 1995; Walter *et al.*, 2013; Chapman *et al.*, 2003; Hosken *et al.*, 2019).

#### 2.1.1. Seleção Intrassexual

A competição entre machos pelo acesso aos óvulos das fêmeas levou ao desenvolvimento de estruturas morfológicas especializadas, tornando-os cada vez mais agressivos à medida que atingem a maturidade sexual (Andersson, 1994). Embora o desenvolvimento dessas estruturas seja facilmente observado e frequentemente associado a essa função, o comportamento também deve ser considerado quando se trata de características secundárias (Walter *et al.*, 2013; Clutton-Brock, 2009). Esse fenômeno pode ser observado tanto em ácaros quanto em outros grupos com sexos separados (Walter *et al.*, 2013).

##### 2.1.1.1. Guarda de parceiros

A guarda de parceiros é diferente entre os artrópodes. Uma das principais diferenças entre ácaros e insetos, por exemplo, é que o sequestro da fêmea após a inseminação é bastante comum nos insetos (Alcock, 1994; Walter *et al.*, 2013), mas raro nos ácaros (Walter *et al.*, 2013). Walter e Proctor (1999) sugeriram que isso talvez ocorresse porque a maioria das fêmeas de ácaros se torna não receptiva após o acasalamento (Satoh; Yano; Takafuji, 2001; Fashing, 2008) e que, possivelmente, o custo para o macho sequestrar essa fêmea seria maior do que buscar outras parceiras. Entretanto, a guarda pré-copulatória pode ser facilmente observada em muitos grupos de ácaros com transferência direta de esperma (Yasui, 1988; Evans, 1992; De Moraes; De Campos; Flechtmann, 2024).

A guarda pré-copulatória ocorre geralmente quando o macho se posiciona atrás de uma fêmea quiescente (fêmea em estado de repouso, geralmente antes da muda ou da maturação sexual), (Parker, 1970; Potter; Wrensch, 1978; Walter *et al.*, 2013). Em alguns grupos de ácaros, é possível encontrar diferentes modificações morfológicas que permitem uma proteção mais eficiente. No grupo dos Astigmatas, por exemplo, os machos possuem ventosas nas pernas ou próximas à abertura anal para segurar suas parceiras. Além disso, as fêmeas apresentam estruturas que auxiliam os machos nesse comportamento, como tubérculos, discos ou lobos, que servem como pontos de fixação (Evans, 1992; Witaliński; Dabert; Walzl, 1992). Já na ordem Prostigmata, especificamente na família Tarsonemidae, os machos utilizam o quarto par de pernas modificado e uma estrutura semelhante a uma ventosa, chamada cápsula genital, para segurar a fêmea quiescente (Evans, 1992; Garga; Proctor; Belczewski, 1997). Os machos

também empregam essas pernas modificadas para combater outros indivíduos pela posse da fêmea (Garga; Proctor; Belczewski, 1997). Eles podem carregar uma fêmea quiescente presa por até 24 horas antes de sua emergência até a fase adulta. O acasalamento dura alguns minutos e, após sua conclusão, o casal se separa (Evans, 1992). Esse mesmo comportamento pode ser observado em outros grupos, como os membros da superfamília Tetranychoida (Mendonça; Navia; Flechtmann, 2005; Oku, 2014).

#### 2.1.1.2. Competição Espermática

A competição espermática foi descrita pela primeira vez por Parker (1970). Em seu estudo inicial, o autor enfatizou que a seleção sexual continuava após a cópula e que os comportamentos e modificações adaptativas nos artrópodes eram decorrentes dessa seleção, como, por exemplo, a guarda pré-copulatória, os componentes do fluido seminal que influenciam a reprodução feminina e as estratégias ideais de ejaculação.

Para alguns grupos de artrópodes, ser o primeiro a copular com a fêmea é fundamental, pois elas exibem preferência pelo esperma do primeiro macho. Ou seja, o primeiro macho que copular com a fêmea fertilizará a maioria de seus ovos, especialmente se não houver interrupções (Potter; Wrensch, 1978; Oku, 2014). Kaster e Jakob (1997) analisaram, em seus estudos, como ocorre a determinação dos padrões de prioridade de fertilização em aranhas. Eles observaram que a diferença entre o sistema reprodutivo interno da fêmea e o caminho percorrido pelos espermatozoides é fundamental nessa definição. De maneira semelhante, nos ácaros tetraniquídeos, os espermatozoides, após a coleta do espermatóforo pela fêmea, são armazenados na spermateca, onde permanecem viáveis até a fecundação dos ovos (Feiertag-Koppen; Pijnacker, 1985). Na espécie *T. urticae*, é mais provável que o esperma do primeiro acasalamento seja o primeiro a ser utilizado na fertilização, conferindo-lhe vantagem sobre o esperma proveniente de cópulas subseqüentes e favorecendo a fertilização inicial (Walter *et al.*, 2013).

Ao contrário do padrão observado em espécies onde o primeiro acasalamento garante maior sucesso reprodutivo, há grupos de ácaros em que o segundo acasalamento prevalece. Experimentos de acasalamento duplo com machos de carrapatos (*Ixodes dammini* Spielman, 1979) (Acari: Ixodidae) revelaram que o segundo macho fertilizou a maioria dos óvulos (Yuval; Spielman, 1990). Os autores sugeriram que a sondagem prolongada da abertura genital da fêmea pelo macho pode permitir a remoção do ejaculado do parceiro anterior, de modo que, ao introduzir seu próprio espermatóforo, haja uma quantidade reduzida de esperma competidor. Outro grupo que apresentou preferência pelo último acasalamento foi observado por Radwan

(1991). O autor constatou que o intervalo entre os acasalamentos influencia a taxa de fertilização na espécie de astigmata *Sancassania berlesei* (Michael, 1903) (Acari: Acaridae). Quando os acasalamentos ocorreram em sequência, o segundo macho fertilizou 86% dos óvulos. À medida que o intervalo entre as cópulas aumentava, a porcentagem de fertilização pelo segundo macho diminuía (após 2 horas, 71% de fertilização; após 6 horas, 56% de fertilização). Portanto, a variação entre os grupos de ácaros na competição espermática ocorre de maneiras distintas, podendo favorecer tanto o primeiro quanto o último parceiro, dependendo das condições reprodutivas e do comportamento da espécie.

### 2.1.2. Seleção Intersexual

Apesar de Darwin (1871) ter iniciado os estudos sobre a seleção sexual e descrito seus diferentes tipos, muitos biólogos do século XIX e início do século XX, como Alfred Russel Wallace, duvidavam que as fêmeas pudessem fazer escolhas ativas baseadas na estética. Foi apenas a partir da década de 1980 que os cientistas começaram a investigar o papel da escolha feminina na evolução das características sexuais secundárias dos machos (Darwin, 1871; Andersson, 1994; Do Carmo; Martins, 2006; Walter *et al.*, 2013).

#### 2.1.2.1. Comunicação Química

A comunicação química é amplamente utilizada por artrópodes, especialmente insetos e ácaros, para a atração de parceiros, sinalização de receptividade e até manipulação de comportamentos. Esse tipo de comunicação auxilia tanto machos quanto fêmeas na escolha de parceiros que atendam aos seus critérios (Cone *et al.*, 1971; Birch; Haynes, 1982; Rantala *et al.*, 2002).

Entre os tipos de sinais químicos, os feromônios sexuais são os mais estudados em artrópodes. Esses feromônios são substâncias químicas que influenciam o comportamento dos parceiros durante o período de acasalamento (Birch; Haynes, 1982; Rantala *et al.*, 2002). Essas substâncias são compostas majoritariamente por terpenoides, monoterpeno oxigenado e derivados de citral, os quais foram encontrados em ácaros astigmatas (Kuwahara; Matsumoto; Wada, 1980; Leal; Kuwahara; Suzuki, 1989; Leal *et al.*, 1989; Kuwahara, 2004), além de ésteres de ácidos graxos, identificados na espécie *Varroa destructor* Anderson e Trueman, 2000 (Acari: Mesostigmata) (Ziegelmann *et al.*, 2013a; Ziegelmann *et al.*, 2013b). A composição química dos voláteis emitidos por ácaros prostigmatas ainda é desconhecida, embora sua

existência já tenha sido sugerida por alguns autores (Cone *et al.*, 1971; Royalty; Phelan; Hall, 1992; 1993; Rodrigues *et al.*, 2017).

Estudos mais recentes sugerem que fêmeas que atingiram ou estão prestes a atingir a maturidade sexual, ou seja, que se encontram na fase de teliocrisálida ou são adultas recém-emergidas com plena capacidade reprodutiva liberam feromônios para atrair potenciais parceiros, estimulando a competição entre eles. Assim, o competidor bem-sucedido terá maior chance de copular com a fêmea (Oku, 2010; 2014; Rodrigues *et al.*, 2017).

Oku (2010) investigou se os machos da espécie *T. urticae* seriam capazes de distinguir o estado de acasalamento das fêmeas, ou seja, se eram virgens ou acasaladas, por meio do contato direto entre fêmeas e machos. Os resultados revelaram que 72,5% dos machos escolheram as fêmeas virgens, sugerindo que elas sejam mais atrativas. De forma semelhante, Rodrigues *et al.* (2017) observaram que os machos também são capazes de localizar fêmeas virgens de *T. urticae*, mesmo sem contato direto com elas.

Outra forma de comunicação química ocorre por meio dos rastros deixados pelos indivíduos, os quais podem ser constituídos por teias, excretas e/ou exúvias (Penman; Cone, 1972; Rodrigues *et al.*, 2017). Rodrigues *et al.* (2017) demonstraram esse mecanismo ao deixarem fêmeas virgens de *T. urticae* por 24 horas em unidades experimentais formadas por folhas de feijão recortadas em formato de haltere. Os autores observaram que os machos permaneciam por mais tempo no lado onde haviam sido deixados os rastros das fêmeas virgens.

#### 2.1.2.2. Escolha Feminina

As primeiras tentativas dos pesquisadores para compreender melhor a escolha da fêmea na seleção sexual utilizaram táxons em que os machos apresentavam um fenótipo ornamentado, emitiam sons altos ou apresentavam um melhor condicionamento físico (Ryan; Keddy-Hector, 1992; Walter *et al.*, 2013). Esse fenômeno foi relatado em animais que cortejavam visualmente, como aves, peixes, aranhas e muitos insetos (Cothran, 2008; Walter *et al.*, 2013).

Esse tipo de escolha pode ser chamado de escolha “ativa” ou “direta”, caracterizada pela seleção do parceiro com base na discriminação visual da fêmea (Darwin, 1871; Cothran, 2008; Maklakov; Arnqvist, 2009; Walter *et al.*, 2013). Atualmente, existem poucos estudos que apoiam a ocorrência de escolha direta em Acari, justamente porque esses organismos possuem visão limitada (Walter *et al.*, 2013).

Após o acasalamento, acredita-se que muitas fêmeas conseguem manipular internamente o ejaculado dos machos, favorecendo a opção mais vantajosa de acordo com seus critérios (Eberhard, 1985, 1996; Walter *et al.*, 2013). Esse processo pode ser caracterizado como

escolha “indireta”, “passiva” ou “críptica” (Wiley; Poston, 1996; Kirkpatrick; Barton, 1997; Eberhard, 2015; Kelly, 2018).

Apesar dos esforços do pesquisador Eberhard (1985, 1996) em apresentar evidências desse fenômeno em diversos animais, ainda há poucos estudos que confirmem que as fêmeas de ácaros selecionam o esperma que lhes proporciona maior vantagem (Walter *et al.*, 2013).

### 2.1.3. Conflito Intersexual

O conflito sexual entre machos e fêmeas está, basicamente, relacionado à divergência de interesses reprodutivos (Walter *et al.*, 2013). Em determinado momento do ciclo de vida, a reprodução pode ser vantajosa para um dos sexos e não para o outro (Hosken *et al.*, 2019).

O trabalho de Hosken, Archer e Mank (2019) destaca que essa relação entre machos e fêmeas é assimétrica, mas que tal condição é comum nos sistemas biológicos. Um exemplo dessa assimetria envolve o investimento parental (sendo as fêmeas, geralmente, as que mais investem em cada filhote), a certeza de paternidade (nem sempre garantida para os machos) e a disponibilidade de gametas (óvulos são mais escassos que espermatozoides) (Hosken; Archer; Mank, 2019). Nesse processo, tanto machos quanto fêmeas desenvolvem comportamentos e adaptações morfológicas com o objetivo de alcançar o sucesso reprodutivo. Esse conflito é considerado, por alguns autores, uma verdadeira corrida armamentista sexual, sendo apontado como uma força motriz na evolução da diversidade biológica (Parker; Partridge, 1998; Arnqvist; Rowe, 2005; Walter *et al.*, 2013).

Dentre as várias hipóteses relacionadas ao conflito sexual, uma delas propõe que as fêmeas podem ser induzidas a acasalar mesmo quando isso não é do seu interesse reprodutivo (Walter *et al.*, 2013). Fowler e Partridge (1989) observaram que machos da espécie *Drosophila melanogaster* Meigen, 1826 (Diptera: Drosophilidae) podem induzir as fêmeas a copularem repetidamente, em uma frequência que reduz sua longevidade. Um exemplo semelhante foi apresentado por Oku (2010), ao demonstrar que a produção de ovos por fêmeas acasaladas de *T. urticae* foi reduzida na presença de machos, mas não na presença de outras fêmeas. O autor sugeriu que a presença dos machos gerou estresse nas fêmeas, resultando em um maior custo para o sucesso reprodutivo.

## 2.2. *Raoiella indica* Hirst, 1924 (Acari: Tenuipalpidae)

O ácaro *Raoiella indica* Hirst, 1924 popularmente conhecido como Ácaro-Vermelho-das-Palmeiras, é um ácaro fitófago pertencente à família Tenuipalpidae, associado

principalmente a plantas da família Arecaceae (Hirst, 1924; Carrillo *et al.*, 2012; Navia *et al.*, 2015). A espécie se destaca por seu comportamento invasivo e elevada capacidade de dispersão (Navia *et al.*, 2015; De Azevedo *et al.*, 2022). Seu primeiro registro ocorreu em folíolos de *Cocos nucifera* L. (coqueiro), no sul da Índia (Hirst, 1924), considerada sua região de origem (Navia *et al.*, 2015). Em 2009, foi registrado o primeiro relato de *R. indica* no Brasil, no estado de Roraima (Navia *et al.*, 2011; Navia *et al.*, 2015). Atualmente, *R. indica* encontra-se amplamente disseminado e possivelmente presente em todos os estados brasileiros (Amaro *et al.*, 2021a). O clima tropical, a escassez inicial de inimigos naturais e a diversidade de espécies botânicas têm sido apontados como os principais fatores que favoreceram o estabelecimento do *R. indica* no Brasil (Gondim Jr *et al.*, 2012; Navia *et al.*, 2015, 2016).

### 2.2.1. Comportamento Sexual e Reprodução

Na superfamília Tetranychioidea, à qual a espécie *R. indica* pertence, é comum que os machos, após atingirem a fase adulta, passem a procurar ativamente por fêmeas receptivas (Hoy; Peña; Nguyen, 2007). Acredita-se que feromônios sexuais possam estar envolvidos nesse processo de localização (Hoy; Peña; Nguyen, 2007). Quando um macho encontra uma fêmea na fase de teliocrisálida, que corresponde ao estágio final de desenvolvimento imaturo imediatamente anterior à emergência adulta, ele se posiciona próximo a ela e pode permanecer nesse local por até dois dias, aguardando a emergência (Hoy; Peña; Nguyen, 2007; Kane *et al.*, 2012; Navia *et al.*, 2015). Após esse período, o macho posiciona-se sob a fêmea e curva a parte posterior do corpo para cima e para frente, iniciando a cópula (Kane *et al.*, 2012). Para a espécie *R. indica*, os indivíduos permanecem na postura de acasalamento por aproximadamente 16 minutos (Nageshachandra; Channabasavanna, 1984; Hoy; Peña; Nguyen, 2007). Esse comportamento é conhecido como guarda pré-copulatória (Evans, 1992) e pode ser facilmente observado nos folíolos, sendo uma característica útil para a identificação da espécie *R. indica* em campo (Navia *et al.*, 2015; Teodoro *et al.*, 2016). Embora existam relatos sobre esse comportamento, os autores não fornecem detalhes sobre a sequência comportamental completa que culmina no acasalamento da espécie, tampouco mencionam o número de indivíduos observados. Essas informações são fundamentais para o aprofundamento do conhecimento sobre o comportamento sexual da espécie.

*Raoiella indica* Hirst, 1924, apresenta reprodução sexuada e assexuada (Navia *et al.*, 2015). Os ovos fecundados originam majoritariamente fêmeas, enquanto os não fecundados produzem exclusivamente machos, caracterizando a partenogênese arrenótoca (Navia *et al.*, 2015). Essa estratégia reprodutiva contribui para o aumento da proporção de machos em



populações isoladas, facilitando o acasalamento em condições de baixa densidade populacional, e, conseqüentemente, o crescimento populacional, o que favorece a colonização de novas áreas por essa espécie (Walter *et al.*, 2013; Navia *et al.*, 2015).

### 2.2.2. Impacto e Importância

Além de estabelecer-se rapidamente no continente americano, *R. indica* ampliou significativamente sua gama de hospedeiros (Navia *et al.*, 2015). Antes de sua introdução nas Américas, em 2004, eram conhecidas menos de dez plantas hospedeiras do *R. indica*, sendo o coqueiro (*C. nucifera*) e a tamareira (*P. dactylifera* L.) seus principais hospedeiros (Hirst, 1924; Navia *et al.*, 2015).

Além das palmeiras, plantas das famílias Musaceae, Heliconiaceae, Strelitziaceae, Zingiberaceae, Pandanaceae e Cannaceae também são consideradas hospedeiras desse ácaro (Navia *et al.*, 2015). Atualmente, mais de 100 espécies botânicas já foram registradas como hospedeiras de *R. indica* (Gómez-Moya *et al.*, 2017; Souza; Lyra-Lemos; Guzzo, 2020).

Apesar de apresentar uma ampla gama de hospedeiros, *R. indica* é mais frequentemente registrada em plantas de interesse econômico (Morais; Navia; Gondim Júnior, 2011; Rodrigues; Irish, 2012; Otero-Colina *et al.*, 2016; Amaro *et al.*, 2021b). A espécie *R. indica* alimenta-se do conteúdo celular presente nos estômatos de suas plantas hospedeiras (Ochoa *et al.*, 2011; Dowling *et al.*, 2012; Kane *et al.*, 2012), causando, em casos de altas infestações, o amarelecimento das folhas, seguido de necrose dos tecidos. Plantas jovens podem ter o crescimento comprometido ou até mesmo morrer em decorrência do aumento populacional desse fitófago (Navia *et al.*, 2015; Teodoro *et al.*, 2016; Amaro *et al.*, 2021b).

Além do impacto econômico, as altas infestações de *R. indica* podem alterar a acarofauna local (Barros *et al.*, 2020). Barros *et al.* (2020) observaram que o estabelecimento do *R. indica* reduziu a riqueza de famílias e espécies da acarofauna associada ao coqueiro. Os autores também relataram um aumento na abundância de indivíduos, destacando que, entre os ácaros predadores, a família Phytoseiidae foi a mais representativa, estando associada à flutuação populacional de *R. indica*.

## 3. OBJETIVOS

### 3.1. Geral

A investigação dos mecanismos de comunicação sexual na espécie *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae).

### 3.2. Específicos

- Descrever o comportamento de acasalamento de *R. indica*;
- Verificar se os machos utilizam pistas químicas, como voláteis e rastros, para localizar as fêmeas;
- Avaliar se há diferença na atratividade entre fêmeas virgens e fêmeas recém acasaladas;
- Investigar se os machos são capazes de copular com fêmeas recém acasaladas (24 horas).

## 4. REFERÊNCIAS

AKYAZI, R.; ALTUNÇ, Y. E. **Akarlarda feromonlar**. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, v. 32, n. 1, p. 185-205, 2018.

ALCOCK, J. **Postinsemination associations between males and females in insects: the mate-guarding hypothesis**. 1994.

AMARO, G. C. *et al.* **Current and potential geographic distribution of red palm mite (*Raoiella indica* Hirst) in Brazil**. Ecological Informatics, v. 65, p. 101396, 2021a.

AMARO, G. C. *et al.* **Risco Econômico Potencial do Ácaro-vermelho-das-palmeiras (*Raoiella indica*, Hirst) para a produção de bananas e coco no Brasil**. 2021b.

ANDERSSON, M. **Sexual selection**. Princeton University Press, 1994.

ANHOLT, R. R. H. *et al.* **Evolution of reproductive behavior**. Genetics, v. 214, n. 1, p. 49-73, 2020.

ARNQVIST, G.; ROWE, L. **Sexual conflict and arms races between the sexes: a morphological adaptation for control of mating in a female insect**. Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, v. 261, n. 1360, p. 123-127, 1995.

ARNQVIST, G.; ROWE, L. **Sexual conflict**. Princeton university press, 2005.

AYASSE, M.; PAXTON, R. J.; TENGÖ, J. **Mating behavior and chemical communication in the order Hymenoptera**. Annual review of entomology, v. 46, n. 1, p. 31-78, 2001.

BARROS, M. E. N. *et al.* **The establishment of an invasive pest mite, *Raoiella indica*, affects mite abundance and diversity on coconut plants**. Systematic and Applied Acarology, v. 25, n. 5, p. 881-894, 2020.

BATEMAN, A. J. **Intra-sexual selection in *Drosophila***. Heredity, London, v. 2, n. 3, p. 349-368, 1948.

BECK, M. L.; PRUETT-JONES, S. **Fluctuating asymmetry, sexual selection, and survivorship in male dark-winged damselflies**. Ethology, v. 108, n. 9, p. 779-791, 2002.

BIRCH, M. C.; HAYNES, K. F. **Insect pheromones**. 1982.

BIRKHEAD, T. R.; ATKIN, L.; MØLLER, A. P. **Copulation behaviour of birds**. Behaviour, v. 101, n. 1-3, p. 101-138, 1987.

CARRILLO, D. *et al.* **Host plant range of *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae) in areas of invasion of the New World**. Experimental and Applied Acarology, v. 57, p. 271-289, 2012.

CHAPMAN, T. *et al.* **Sexual conflict**. Trends in Ecology & Evolution, v. 18, n. 1, p. 41-47, 2003.

CHILDERS, C. C.; FRENCH, J. V.; RODRIGUES, J. C. V. ***Brevipalpus californicus*, *B. obovatus*, *B. phoenicis*, and *B. lewisi* (Acari: Tenuipalpidae): a review of their biology, feeding injury and economic importance**. Experimental & applied acarology, v. 30, p. 5-28, 2003.

CHILDERS, C. C.; RODRIGUES, J. C. V.; WELBOURN, W. C. **Host plants of *Brevipalpus californicus*, *B. obovatus*, and *B. phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) and their potential involvement in the spread of viral diseases vectored by these mites**. Experimental & applied acarology, v. 30, p. 29-105, 2003.

CLUTTON-BROCK, T. **Sexual selection in females**. Animal Behaviour, v. 77, n. 1, p. 3-11, 2009.

CONE, W. W. *et al.* **Pheromone studies of the two spotted spider mite. 1. Evidence of a sex pheromone**. Journal of Economic Entomology, v. 64, n. 2, p. 355-358, 1971.

COTHRAN, R. D. **Direct and indirect fitness consequences of female choice in a crustacean**. Evolution, v. 62, n. 7, p. 1666-1675, 2008.

DARWIN, C. **The descent of man and selection in relation to sex**. New York: The Modern Library, 1871.

DE AZEVEDO, A. O. *et al.* **Aerial dispersal of *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae): Influence of biotic and abiotic factors, dispersal potential and colonization rate**. Systematic and Applied Acarology, v. 27, n. 11, p. 2166-2179, 2022.

DE MORAES, G. J.; DE CAMPOS CASTILHO, R.; FLECHTMANN, C. H. W. **Manual de acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil**. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 2024.

DO CARMO, V. A.; MARTINS, L. A. P. **Charles Darwin, Alfred Russel Wallace e a seleção natural: um estudo comparativo**. Filosofia e História da Biologia, v. 1, n. 1, p. 335-350, 2006.

DOWLING, A. P. G. *et al.* **Phylogenetic investigation of the genus *Raoiella* (Prostigmata: Tenuipalpidae): diversity, distribution, and world invasions**. Experimental and Applied Acarology, v. 57, p. 257-269, 2012.

EBERHARD, W. **Female control: sexual selection by cryptic female choice**. Princeton: Princeton University Press, 1996.

EBERHARD, W. G. **Cryptic female choice and other types of post-copulatory sexual selection**. In: *Cryptic female choice in arthropods: Patterns, mechanisms and prospects*. p. 1-26, 2015.

EBERHARD, W. G. **Sexual selection and animal genitalia**. Cambridge: Harvard University Press, 1985.

ENDERS, M. M. **The effect of male size and operational sex ratio on male mating success in the common spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)**. *Animal Behaviour*, v. 46, n. 5, p. 835-846, 1993.

EVANS, G. O. **Principles of acarology**. Wallingford: CABI Publishing, 1992.

FASHING, N. J. **Mate-guarding in the genus *Creutzeria* (Astigmata: Histiostomatidae), an aquatic mite genus inhabiting the fluid-filled pitchers of *Nepenthes* plants (Nepentheaceae)**. *Systematic and Applied Acarology*, v. 13, n. 3, p. 163-171, 2008.

FEIERTAG-KOPPEN, C. C. M.; PIJNACKER, L. P. **Oogenesis**. In: HELLE, W.; SABELIS, M. W. (ed.). *Spider mites: Their biology, natural enemies and control*. Amsterdam: Elsevier, v. 1A, p. 117-127, 1985.

FLECHTMANN, C. H. W.; ETIENNE, J. **The red palm mite, *Raoiella indica* Hirst, a threat to palms in the Americas (Acari: Prostigmata: Tenuipalpidae)**. *Systematic and Applied Acarology*, v. 9, n. 1, p. 109-110, 2004.

FOWLER, K.; PARTRIDGE, L. **Variation in male fertility explains an apparent effect of genotypic diversity on success in larval competition in *Drosophila melanogaster***. *Heredity*, v. 57, n. 1, p. 31-36, 1986.

GARGA, N.; PROCTOR, H.; BELCZEWSKI, R. **Leg size affects male mating success in *Tarsonemus confusus* Ewing (Prostigmata: Tarsonemidae)**, 1997.

GERSON, U. *et al.* **Phytophagous mites on date palms in Israel**. *Fruits*, v. 38, n. 2, p. 133-135, 1983.

GERSON, U. **The Tenuipalpidae: An under-explored family of plant-feeding mites**. *Systematic and Applied Acarology*, v. 13, n. 2, p. 83-101, 2008.

GÓMEZ-MOYA, C. A. *et al.* **Hosts of *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) native to the Brazilian Amazon**. *Journal of Agricultural Science*, v. 9, n. 4, p. 86-94, 2017.

GONDIM JR, M. G. C. *et al.* **Can the red palm mite threaten the Amazon vegetation?** *Systematics and Biodiversity*, v. 10, n. 4, p. 527-535, 2012.

GOSHIMA, S.; KAWASHIMA, T.; WADA, S. **Mate choice by males of the hermit crab *Pagurus filholi*: do males assess ripeness and/or fecundity of females?** *Ecological Research*, v. 13, p. 151-161, 1998.

HARAMOTO, F. H. **Biology and control of *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes)(Acarina: Tenuipalpidae).** 1966.

HIRST, S. L. V. **On some new species of red spider.** Journal of Natural History, v. 14, n. 83, p. 522-527, 1924.

HOSKEN, D. J.; ARCHER, C. R.; MANK, J. E. **Sexual conflict.** Current Biology, v. 29, n. 11, p. R451-R455, 2019.

HOY, M. A.; PEÑA, J.; NGUYEN, R. **Red Palm Mite, *Raoiella indica* Hirst (Arachnida: Acari: Tenuipalpidae).** EENY-397/IN711, rev. 4/2010. EDIS, v. 2007, n. 6, 2007.

KANE, E. C. *et al.* ***Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae): an exploding mite pest in the Neotropics.** Experimental and Applied Acarology, v. 57, p. 215-225, 2012.

KASTER, J. L.; JAKOB, E. M. **Last-male sperm priority in a haplogyne spider (Araneae: Pholcidae): correlations between female morphology and patterns of sperm usage.** Annals of the Entomological Society of America, v. 90, n. 2, p. 254-259, 1997.

KELLY, C. D. **The causes and evolutionary consequences of variation in female mate choice in insects: the effects of individual state, genotypes and environments.** Current Opinion in Insect Science, v. 27, p. 1-8, 2018.

KIRKPATRICK, M.; BARTON, N. H. **The strength of indirect selection on female mating preferences.** Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 94, n. 4, p. 1282-1286, 1997.

KNOP, N. F. **Mating behavior in the tydeid mite *Homeopronematus anconai* (Acari: Tydeidae).** Experimental & applied acarology, v. 1, n. 2, p. 115-125, 1985.

KUWAHARA, Y. **Chemical ecology of astigmatid mites.** Advances in insect chemical ecology, p. 76-109, 2004.

KUWAHARA, Y.; MATSUMOTO, K.; WADA, Y. **Pheromone study on acarid mites IV: citral: composition and function as an alarm pheromone and its secretory gland in four species of acarid mites.** Medical Entomology and Zoology, v. 31, n. 2, p. 73-80, 1980.

LEAL, W. S. *et al.*  **$\beta$ -acaridial, the sex pheromone of the acarid mite *Caloglyphus polyphyllae*: Pheromone study of acarid mites.** Naturwissenschaften, v. 76, p. 332-333, 1989.

LEAL, W. S.; KUWAHARA, Y.; SUZUKI, T. **2 (E)-(4-Methyl-3-pentenylidene)-butanedial,  $\beta$ -Acaridial: A new type of monoterpene from the mold mite *Tyrophagus putrescentiae* (Acarina, Acaridae).** Agricultural and biological chemistry, v. 53, n. 3, p. 875-878, 1989.

MAKLAKOV, A. A.; ARNQVIST, G. **Testing for direct and indirect effects of mate choice by manipulating female choosiness.** Current Biology, v. 19, n. 22, p. 1903-1906, 2009.

MANGLITZ, G. R.; CORY, E. N. **Biology and control of *Brevipalpus australis***. 1953.

MELO, J. W. S. *et al.* **The invasive red palm mite, *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae), in Brazil: range extension and arrival into the most threatened area, the Northeast Region**. International Journal of Acarology, v. 44, n. 4-5, p. 146-149, 2018.

MORAIS, E. G. F.; NAVIA, D.; GONDIM JÚNIOR, M. G. C. **Dez perguntas e respostas sobre o ácaro-vermelho-das-palmeiras *Raoiella indica* Hirst (Tenuipalpidae): uma ameaça para palmeiras e bananeiras no Brasil**. Boa Vista, RR: Embrapa Roraima, 2011.

NAGESHACHANDRA, B. K.; CHANNABASAVANNA, G. P. **Development and ecology of *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) on coconut**. Acarology VI, v. 2, p. 785-790, 1984.

NAVIA, D. *et al.* **Ácaro-vermelho-das-palmeiras, *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae)**. In: VILELA, E.; ZUCCHI, R. A. (ed.). **Pragas introduzidas no Brasil: insetos e ácaros**. Piracicaba: FEALQ, p. 418-452, 2015

NAVIA, D. *et al.* **First report of the red palm mite, *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae), in Brazil**. Neotropical Entomology, v. 40, p. 409-411, 2011.

NAVIA, D. *et al.* **Spatial forecasting of red palm mite in Brazil under current and future climate change scenarios**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 51, n. 5, p. 586-598, 2016.

OCHOA, R. *et al.* **Herbivore exploits chink in armor of host**. American Entomologist, v. 57, n. 1, p. 26-29, 2011.

OKAMURA, S.; GOSHIMA, S. **Indirect female choice mediated by sex pheromones in the hermit crab *Pagurus filholi***. Journal of Ethology, v. 28, p. 323-329, 2010.

OKU, K. **Female mating strategy during precopulatory mate guarding in spider mites**. Animal Behaviour, v. 77, n. 1, p. 207-211, 2009.

OKU, K. **Males of the two-spotted spider mite attempt to copulate with mated females: effects of double mating on fitness of either sex**. Experimental and Applied Acarology, v. 50, p. 107-113, 2010.

OKU, K. **Sexual selection and mating behavior in spider mites of the genus *Tetranychus* (Acari: Tetranychidae)**. Applied Entomology and Zoology, v. 49, p. 1-9, 2014.

OKU, K. *et al.* **Altered volatile profile associated with precopulatory mate guarding attracts spider mite males**. Journal of chemical ecology, v. 41, p. 187-193, 2015.

OKU, K. **Precopulatory mate guarding influences the development of quiescent deutonymph females in the two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae)**. Experimental and Applied Acarology, v. 68, p. 33-38, 2016.

OKU, K.; SHIMODA, T. **Indirect evidence that guarded quiescent deutonymph females invest energy to attract conspecific males in the Kanzawa spider mite (Acari: Tetranychidae)?**. Experimental and Applied Acarology, v. 60, p. 445-449, 2013.

OTERO-COLINA, G. *et al.* **Infestation of *Raoiella indica* Hirst (Trombidiformes: Tenuipalpidae) on host plants of high socio-economic importance for tropical America.** Neotropical Entomology, v. 45, p. 300-309, 2016.

OVERMEER, W. P. J. **Notes on mating behaviour and sex ratio control of *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae).** Entomologische Berichten, v. 32, n. 12, p. 240-244, 1972.

PARKER, G. A. **Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects.** Biological Reviews, v. 45, n. 4, p. 525-567, 1970.

PARKER, G. A.; PARTRIDGE, L. **Sexual conflict and speciation.** Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, v. 353, n. 1366, p. 261-274, 1998.

PENMAN, D. R.; CONE, W. W. **Behavior of male twospotted spider mites in response to quiescent female deutonymphs and to web.** Annals of the Entomological Society of America, v. 65, n. 6, p. 1289-1293, 1972.

POTTER, D. A.; WRENSCH, D. L. **Interrupted matings and the effectiveness of second inseminations in the twospotted spider mite.** Annals of the Entomological Society of America, v. 71, n. 6, p. 882-885, 1978.

POTTER, D. A.; WRENSCH, D. L.; JOHNSTON, D. E. **Guarding, aggressive behavior, and mating success in male twospotted spider mites.** Annals of the Entomological Society of America, v. 69, n. 4, p. 707-711, 1976.

RADWAN, J. **Sperm competition in the mite *Caloglyphus berlesei*.** Behavioral Ecology and Sociobiology, v. 29, p. 291-296, 1991.

RANTALA, M. J. *et al.* **Do pheromones reveal male immunocompetence?** Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, v. 269, n. 1501, p. 1681-1685, 2002.

ROBINSON, M. H. **Courtship and mating behavior in spiders.** Annual review of entomology, v. 27, n. 1, p. 1-20, 1982.

RODRIGUES, J. C. V. *et al.* **Citrus leprosis virus vectored by *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) on citrus in Brazil.** Experimental & applied acarology, v. 30, p. 161-179, 2003.

RODRIGUES, J. C. V.; IRISH, B. M. **Effect of coconut palm proximities and *Musa* spp. germplasm resistance to colonization by *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae).** Experimental and Applied Acarology, v. 57, n. 3, p. 309-316, 2012.

RODRIGUES, L. R. *et al.* **Male spider mites use chemical cues, but not the female mating interval, to choose between mates.** Experimental and Applied Acarology, v. 71, p. 1-13, 2017.

ROYALTY, R. N.; PHELAN, P. L.; HALL, F. R. **Arrestment of male twospotted spider mite caused by female sex pheromone.** Journal of chemical ecology, v. 18, p. 137-153, 1992.

ROYALTY, R. N.; PHELAN, P. L.; HALL, F. R. **Quantitative and temporal analysis of effects of twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) female sex pheromone on male guarding behavior.** Journal of chemical ecology, v. 19, p. 211-223, 1993.

RYAN, M. J.; KEDDY-HECTOR, A. **Directional patterns of female mate choice and the role of sensory biases.** The American Naturalist, v. 139, p. S4-S35, 1992.

SATOH, Y.; YANO, S.; TAKAFUJI, A. **Mating strategy of spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) males: postcopulatory guarding to assure paternity.** Applied Entomology and Zoology, v. 36, n. 1, p. 41-45, 2001.

SHUKER, D. *et al.* **Mating behavior, sexual selection, and copulatory courtship in a promiscuous beetle.** Journal of Insect Behavior, v. 15, p. 617-631, 2002.

SONENSHINE, D. E.; TAYLOR, D.; CARSON, K. A. **Chemically mediated behavior in Acari: Adaptations for finding hosts and mates.** Journal of Chemical Ecology, v. 12, p. 1091-1108, 1986.

SOUZA, I. V. de; LYRA-LEMOS, R. P.; GUZZO, E. C. **Potential of native palm species in Northeast Brazil as hosts for the invasive mite *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae).** Experimental and Applied Acarology, v. 80, n. 4, p. 509-520, 2020.

TEODORO, A. V. *et al.* **Ácaro-vermelho-das-palmeiras *Raoiella indica*: nova praga de coqueiro no Brasil.** 2016.

TIERNO DE FIGUEROA, J. M.; LUZÓN-ORTEGA, J. M.; LÓPEZ-RODRÍGUEZ, M. J. **Drumming for love: Mating behavior in stoneflies.** Aquatic Insects: Behavior and Ecology, p. 117-137, 2019.

WALTER, D. E. *et al.* **Mites and biological diversity.** In: WALTER, D. E.; PROCTOR, H. C. (Org.). Mites: ecology, evolution & behaviour: life at a microscale. 2. ed. p. 447-459, 2013.

WALTER, D. E.; PROCTOR, H. C. **Mites: ecology, evolution and behaviour.** 1999.

WILEY, R. H.; POSTON, J. **Perspective: indirect mate choice, competition for mates, and coevolution of the sexes.** Evolution, v. 50, n. 4, p. 1371-1381, 1996.

WITALIŃSKI, W.; DABERT, J.; WALZL, M. G. **Morphological adaptation for precopulatory guarding in astigmatic mites (Acari: Acaridida).** International Journal of Acarology, v. 18, n. 1, p. 49-54, 1992.

YASUI, Y. **Sperm competition of *Macrocheles muscaedomesticae* (Scopoli) (Acarina: Mesostigmata: Macrochelidae), with special reference to precopulatory mate guarding behavior.** Journal of Ethology, v. 6, n. 2, p. 83-90, 1988.



YUVAL, B.; SPIELMAN, A. **Sperm precedence in the deer tick *Ixodes dammini***. Physiological entomology, v. 15, n. 1, p. 123-128, 1990.

ZIEGELMANN, B. *et al.* **The mating behavior of *Varroa destructor* is triggered by a female sex pheromone. Part 2: Identification and dose-dependent effects of components of the Varroa sex pheromone**. Apidologie, v. 44, p. 481-490, 2013a.

ZIEGELMANN, B. *et al.* **The mating behavior of *Varroa destructor* is triggered by a female sex pheromone: Part 1: Preference behavior of male mites in a laboratory bioassay**. Apidologie, v. 44, p. 314-323, 2013b.

## 5. ARTIGO 1

### Resumo

A espécie *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae), recentemente introduzida no Brasil, é um ácaro fitófago associado a mais de 100 espécies vegetais. Apesar da importância econômica, aspectos básicos de sua biologia reprodutiva permanecem pouco conhecidos. Este trabalho teve como objetivo investigar os mecanismos de comunicação sexual em *R. indica*, com ênfase na descrição do comportamento de acasalamento, na avaliação das pistas utilizadas pelos machos para localizar as fêmeas e na análise da influência do estado reprodutivo feminino (virgens ou acasaladas) sobre sua atratividade. Para isso, foram conduzidas observações comportamentais com o objetivo de descrever, em até quatro horas, a sequência completa do acasalamento, além de experimentos para avaliar a atratividade de diferentes sinais químicos (pistas olfativas e rastros químicos) deixadas por fêmeas em distintas fases reprodutivas. Os resultados mostraram que o comportamento de acasalamento de *R. indica* apresenta uma sequência estável composta por quatro etapas: contato exploratório, posição pré-copulatória, posição genital e cópula, com duração média de 24 minutos. Verificou-se que 80% dos machos localizaram fêmeas teliocrisálidas por meio de pistas olfativas, enquanto aproximadamente 70% localizaram rastros químicos de fêmeas adultas virgens. Os resultados indicam que o comportamento sexual da espécie segue um padrão bem definido e que a comunicação química desempenha papel central na mediação dessas interações, contribuindo para o entendimento das estratégias reprodutivas adotadas por *R. indica*.

### Introdução

O comportamento reprodutivo é um dos principais determinantes da dinâmica populacional, da distribuição geográfica e das interações ecológicas entre espécies (Anholt *et al.* 2020; Xu *et al.* 2023). Entre artrópodes, especialmente em grupos com comunicação visual e auditiva limitada, como os ácaros, estratégias de acasalamento específicas evoluíram sob forte influência da seleção sexual. Tais estratégias incluem a localização eficiente de parceiros, reconhecimento do estado reprodutivo dos indivíduos e comportamentos como a guarda pré-copulatória (Cone *et al.* 1971a; Rasmy and Hussei 1994; Oku *et al.* 2005; Oku 2010). Um dos mecanismos mais amplamente utilizados nesse contexto é a comunicação química, por meio da liberação de feromônios sexuais ou do depósito de pistas químicas no substrato (Rasmy and Hussei 1994; Oku *et al.* 2005; Oku *et al.* 2015), que não apenas facilitam o encontro entre os sexos, mas também otimizam o investimento reprodutivo dos machos ao direcioná-los preferencialmente a fêmeas virgens ou receptivas.

Em diversas espécies de ácaros, fêmeas imaturas na fase quiescente liberam compostos voláteis que orientam os machos na localização de parceiras. Esse processo pode desencadear disputas entre machos pela cópula, culminando no estabelecimento de guarda pré-copulatória, um comportamento no qual o macho permanece ao lado ou sobre a fêmea até que ela atinja a maturidade sexual (Goshima *et al.* 1998; Oku *et al.* 2015; Oku 2016). A guarda pré-copulatória é considerada uma estratégia adaptativa para maximizar o sucesso da paternidade, especialmente em sistemas reprodutivos nos quais a fêmea é receptiva por um curto período ou quando o primeiro macho a copular possui vantagem na competição espermática (Ridley 1983; Yasui 1988). Esse tipo de comportamento é bem documentado em espécies das famílias Tetranychidae e Tenuipalpidae (Manglitz and Cory 1953; Haramoto 1966; Cone *et al.* 1971b; Penman and Cone 1972; Potter *et al.* 1976; Hoy *et al.* 2007).

A família Tenuipalpidae compreende espécies fitófagas de importância econômica, cuja reprodução se dá predominantemente por arrenotoquia, sistema em que fêmeas virgens originam apenas machos, enquanto fêmeas acasaladas produzem ambos os sexos (Gerson 2008). Apesar da relevância agrícola de diversas espécies desse grupo, o comportamento de

acasalamento dos Tenuipalpidae ainda é pouco conhecido na literatura, o que limita a compreensão de suas estratégias reprodutivas e do potencial uso de ferramentas de controle comportamental.

*Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) é um exemplo de modelo biológico dentro desse contexto de escassez de informações sobre o comportamento de acasalamento na família. *R. indica* é espécie invasora de distribuição crescente nas Américas que tem causado prejuízos significativos em palmeiras, bananeiras e helicônias, com impactos econômicos expressivos (Melo *et al.* 2018; Barros *et al.* 2020). Estudos anteriores sugerem que machos de *R. indica* localizam fêmeas imaturas em fase quiescente e permanecem próximos a elas por até dois dias, aguardando a ecdise para realizar a cópula (Hoy *et al.* 2007). No entanto, até o momento, não há detalhadas das fases do comportamento reprodutivo, bem como do papel da comunicação química nesse processo. Diante disso, o presente estudo é a primeira descrição abrangente do comportamento de acasalamento de *R. indica*, caracterizando a duração e sequência de suas principais fases, os estímulos envolvidos na atração dos machos e os padrões comportamentais associados à discriminação do status reprodutivo das fêmeas. Os resultados do presente estudo fornecem novas perspectivas para o estudo da comunicação química e estratégias reprodutivas em Tenuipalpidae.

## Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Acarologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), em condições controladas de  $27 \pm 1$  °C,  $75 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 12 horas. Indivíduos de *R. indica* foram obtidos a partir de folíolos de coqueiro (*Cocos nucifera* L.) naturalmente infestados, localizados no campus da UFPE. Para a obtenção de machos e fêmeas virgens, foram coletados indivíduos no estágio de protoninfa, quando o dimorfismo sexual já pode ser identificado, garantindo a separação dos sexos antes da maturação. Após a coleta, cada indivíduo foi mantido isolado até atingir a fase experimental desejada. Fêmeas acasaladas foram obtidas a partir de casais coletados em campo, nos quais os machos estavam em guarda de fêmeas teliocrisálidas; essas fêmeas foram consideradas acasaladas após 48 horas de isolamento, quando os casais se separaram.

Os ácaros foram mantidos em arenas de confinamento constituídas por placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo um disco de espuma de polietileno (8 cm de diâmetro  $\times$  1 cm de espessura) umedecido com água destilada, sobre o qual foi colocado um disco de papel filtro (7 cm de diâmetro) e, em seguida, um fragmento de folíolo de coqueiro (aproximadamente  $5 \times 2$  cm). As bordas do folíolo foram cobertas com algodão hidrofílico umedecido para impedir a fuga dos indivíduos.

Três condições de fêmeas foram utilizadas nos tratamentos: teliocrisálidas (estágio final do desenvolvimento que antecede o adulto), adultas virgens e adultas acasaladas. As fêmeas virgens foram obtidas a partir da individualização de teliocrisálidas, que permaneceram isoladas até a emergência, garantindo a ausência de cópula. As fêmeas acasaladas foram obtidas a partir do pareamento de teliocrisálidas com machos virgens, mantidos juntos até a ocorrência da cópula, sendo consideradas acasaladas após 48 horas da separação dos casais. Em todos os tratamentos, foram utilizados machos virgens com aproximadamente um dia de idade.

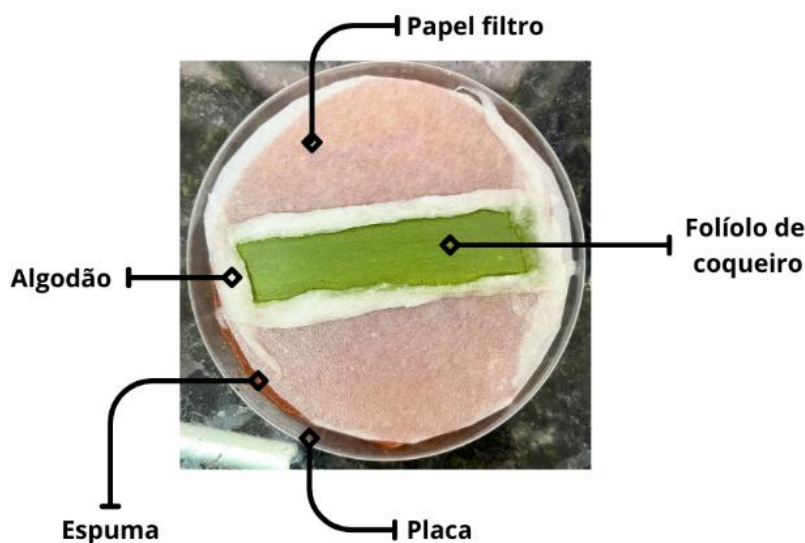


Fig 1. Arena de confinamento composta por fragmento de folíolo de *C. nucifera* utilizada para manter indivíduos de *R. indica*.

#### Comportamento de acasalamento

Uma fêmea virgem, com um dia após a ecdise, foi transferida para a unidade experimental com o auxílio de um pincel. Em seguida, introduziu-se um macho adulto virgem, também com um dia de idade. Os casais foram observados por até quatro horas em microscópio estereoscópico binocular, e o comportamento de acasalamento foi descrito em quatro etapas distintas: contato exploratório, posição pré-copulatória, posição genital e cópula.

A etapa do contato exploratório foi caracterizada quando os machos se aproximavam das fêmeas tocando os primeiros pares de pernas nos últimos pares de pernas delas. Simultaneamente, as fêmeas elevavam o opistossoma e movimentavam os últimos pares de pernas. A segunda etapa, denominada posição pré-copulatória, correspondia ao momento em que os machos se posicionavam atrás da fêmea, assumindo a postura de guarda, enquanto esta permanecia imóvel. A etapa seguinte, posição genital, ocorria quando os machos dobravam o opistossoma e elevavam o edeago em direção à abertura genital feminina, sendo que a fêmea permanecia imóvel. Por fim, a etapa da cópula foi definida pelo momento em que o macho inseria o edeago na abertura genital da fêmea, tocando simultaneamente os últimos pares de pernas dela com seus primeiros pares de pernas; durante todo o processo, a fêmea mantinha-se imóvel.

Para a análise do comportamento de acasalamento foram realizadas 38 repetições, das quais 23 foram consideradas válidas para as análises. As repetições descartadas corresponderam a casos em que não houve interação entre macho e fêmea dentro do período de observação, ocasião em que tanto a unidade experimental quanto o casal foram eliminados. Cada unidade experimental correspondeu a uma repetição e foi composta por uma arena semelhante à descrita no tópico “Obtenção de *R. indica*”, mas com o folíolo recortado em formato quadrado, medindo  $2 \times 2$  cm. Nas 23 repetições válidas foram avaliadas a latência para o início do acasalamento (tempo entre a introdução do macho e o início do comportamento), a duração de cada etapa da sequência comportamental e o número de machos que progrediram em cada fase do acasalamento.

#### Atração de machos por pistas olfativas liberados por fêmeas

Para verificar a ausência de direcionalidade no arranjo experimental, foi realizado um teste em branco, no qual pistas olfativas de 20 fêmeas teliocrisálidas de *R. indica* foram oferecidas em ambos os lados da arena. Nesse teste, dez repetições foram conduzidas.

A unidade experimental foi composta por duas tampas plásticas de tubos de ensaio (1 cm de diâmetro × 1 cm de altura), cada uma contendo um fragmento circular de folíolo de coqueiro (*C. nucifera*) com 0,7 cm de diâmetro. Os fragmentos foram posicionados no centro das tampas, circundados por algodão hidrofílico umedecido com água destilada para evitar a fuga dos ácaros. Sobre essas tampas, dispôs-se um fragmento retangular de folíolo (2,5 cm × 1,5 cm) contendo duas aberturas recobertas por tecido voile, de modo a formar uma estrutura semelhante a uma gaiola (Fig. 2a,b).

Nos tratamentos experimentais, vinte fêmeas em diferentes condições reprodutivas (teliocrisálidas, adultas virgens ou adultas acasaladas) foram introduzidas em uma das gaiolas, enquanto a outra permaneceu vazia. Machos virgens recém-emergidos foram liberados no centro do fragmento retangular, e suas respostas foram observadas por 10 minutos. Considerou-se como escolha o momento em que o macho se aproximava a menos de 0,5 cm da abertura da gaiola. O tempo de permanência nessa região também foi registrado.

Entre 20 e 25 repetições para cada tratamento, sendo cada macho considerado como uma repetição independente. Ao término de cada repetição, o fragmento foliar contendo as aberturas recobertas por tecido voile foi substituído por um novo.

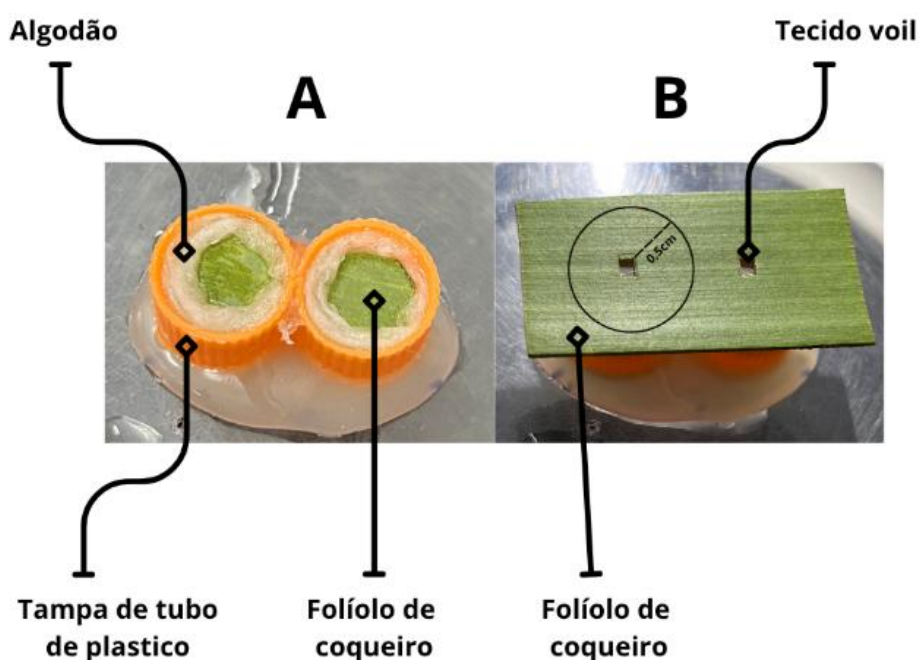


Fig. 2. Unidade experimental formada pelas gaiolas (a) e fragmento de folíolo com aberturas cobertas com tecido *voil* (b). Considerou-se que houve escolha por parte do macho quando este se posicionou a menos de 0,5 cm da abertura com tecido *voil*, representada pelo círculo e pela linha tracejada (b).

#### Atração dos machos por rastros deixados por fêmeas

Para avaliar a não direcionalidade do arranjo experimental, foi realizado um teste em branco no qual rastros deixados por 20 fêmeas adultas virgens por 24 horas estavam presentes em ambos os lados. Nesse teste, foram conduzidas dez repetições.

A unidade experimental foi semelhante à arena de confinamento com folíolo descrita no tópico “Obtenção de *R. indica*”. No entanto, o folíolo foi recortado no formato de um haltere,

com duas extremidades quadradas (1,5 cm × 1,5 cm) conectadas por uma passarela central de 1 cm de comprimento (Fig. 3a). As margens da unidade experimental foram cobertas com algodão hidrofílico umedecido com água destilada, a fim de impedir a fuga dos ácaros. Para isolar o lado com pistas das fêmeas do lado sem pistas, a passarela central também foi coberta com algodão hidrofílico umedecido com água destilada (Fig. 3a).

As pistas foram formadas por possíveis secreções, excreções ou voláteis de *R. indica*, obtidas após a permanência de 20 fêmeas adultas virgens ou acasaladas, por 24 horas em uma das extremidades da unidade. Após esse período, as fêmeas foram removidas das unidades experimentais com o auxílio de um pincel, e o algodão que cobria a passarela também foi retirado. Em seguida, vinte machos virgens de *R. indica* separados anteriormente foram liberados no centro da unidade experimental. O tempo de permanência em cada extremidade, a escolha dos machos e o tempo gasto na passarela central foram registrados por observação direta por até quatro horas. Ao final de cada repetição, tanto o fragmento foliar contendo as pistas das fêmeas quanto o macho virgem, que representava uma repetição, foram substituídos.

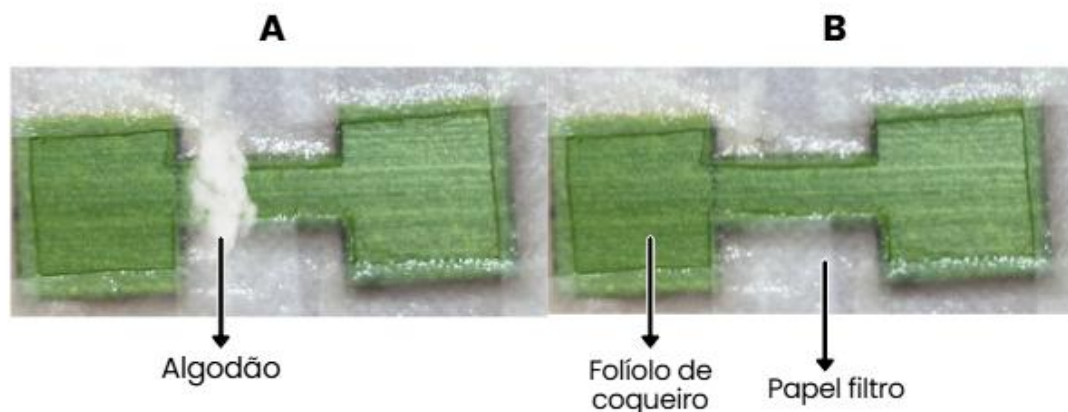


Fig. 3. Unidade experimental no formato de haltere: (a) antes do início das repetições, com algodão cobrindo a passarela central; (b) durante as repetições, após a retirada do algodão da passarela central.

#### Possibilidade de cópula de machos com fêmeas recém acasaladas

A unidade experimental foi descrita no tópico “Comportamento de acasalamento”. Uma fêmea acasalada, previamente separada da arena de confinamento, com aproximadamente 3 dias de idade (ver item “Obtenção de *R. indica*”) foi transferida com o auxílio de um pincel. Em seguida, um macho virgem foi transferido da arena de confinamento, com aproximadamente 1 dia de idade e ambos foram observados por até 24 horas em microscópio estereoscópico binocular. A cópula foi considerada quando o ácaro finalizava o último passo do comportamento de cópula observado no experimento 1 (Comportamento de acasalamento). Vinte repetições foram realizadas, sendo cada unidade experimental considerada uma repetição.

#### Análise estatística

As análises estatísticas das escolhas dos machos por fêmeas de *R. indica* e pelo lado do folículo de coqueiro com gaiola ou com pistas foram realizadas através do teste Qui-quadrado, enquanto os dados dos tempos de permanência foram analisados pelo teste t, utilizando o programa estatístico SAS (SAS Institute, 2008).

### **Resultados**

#### Comportamento de acasalamento



A latência média para o início do comportamento sexual foi de  $37,5 \pm 7,09$  minutos ( $n = 23$ ). A primeira fase, denominada contato exploratório, apresentou duração média de  $2 \pm 0,08$  minutos. Em seguida, a posição pré-copulatória teve duração média de  $0,8 \pm 0,13$  minutos (48 segundos). A fase de posicionamento genital durou, em média,  $1 \pm 0,27$  minutos. Por fim, a cópula teve duração média de  $17 \pm 1,02$  minutos, totalizando um tempo médio de  $24 \pm 1,45$  minutos para todo o comportamento de acasalamento, desde o contato exploratório até o término da cópula (Fig. 4).

Todos os casais observados (100%) passaram pelas quatro etapas descritas. Em 13% dos casos, o comportamento foi repetido mais de uma vez; destes, 8,7% retornaram à fase de posicionamento genital e 4,35% reiniciaram o processo a partir do contato exploratório (Fig. 4).

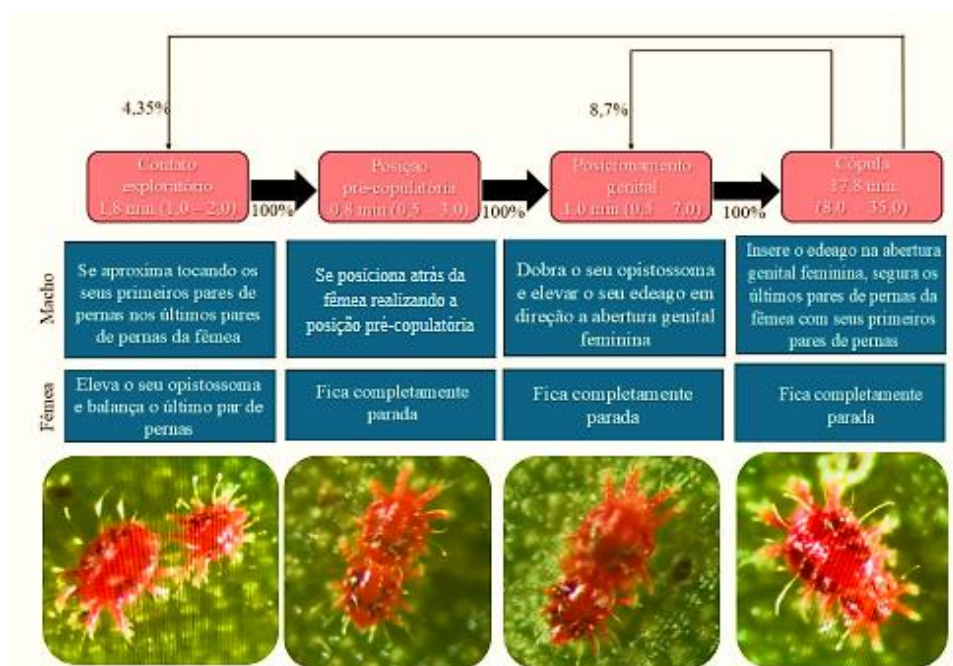


Fig. 4. Etograma do comportamento de acasalamento de *R. indica*, com a representação das diferentes fases comportamentais observadas e suas respectivas frequências de ocorrência (em %) e durações em minutos.

#### Atração de machos por pistas olfativas liberados por fêmeas

Os machos não escolheram nenhum dos lados da unidade experimental na presença das fêmeas teliocrisálidas de *R. indica* no teste em branco e o tempo gasto em cada área também não diferiu, indicando adequação do procedimento experimental ( $\chi^2 = 0$ ; DF = 1;  $P = 1$  e  $t = 0,10$ ; DF = 18;  $P = 0,92$ ).

Oitenta por cento dos machos escolheram permanecer por mais tempo na área onde havia a gaiola com fêmeas teliocrisálidas ( $\chi^2 = 7,2$ ; DF = 1;  $P = 0,007$ ). O tempo médio gasto por eles nessa área (7,47 min) foi maior do que no lado com a gaiola sem fêmeas teliocrisálidas (2,53 min) ( $t = 4,27$ ; DF = 38;  $P = 0,0001$ ) (Fig. 5). Contudo, quando expostos as pistas olfativas de fêmeas recém acasaladas e fêmeas adultas virgens, não foram observadas diferenças na porcentagem de machos (acasaladas:  $\chi^2 = 0,8$ ; DF = 1;  $P = 0,37$  e fêmeas adultas virgens:  $\chi^2 = 0,06$ ; DF = 1;  $P = 0,8$ ), tampouco no tempo médio gasto nas áreas (acasaladas:  $t = -0,20$ ; DF = 38;  $P = 0,84$  e fêmeas adultas virgens:  $t = 0,82$ ; DF = 38;  $P = 0,52$ ) (Fig. 6, 7).

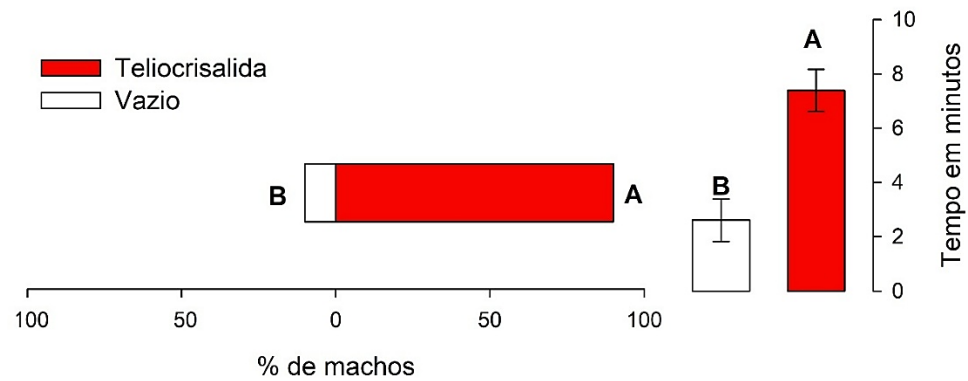


Fig. 5. Porcentagem de escolha dos machos de *R. indica* quando submetidos a pistas olfativas de fêmeas teliocrisálidas de *R. indica* ou vazio, e tempo médio de residência em cada uma das áreas. Letras diferentes significam diferença estatística através do qui-quadrado (percentual de machos) e teste t-Student (tempo médio).

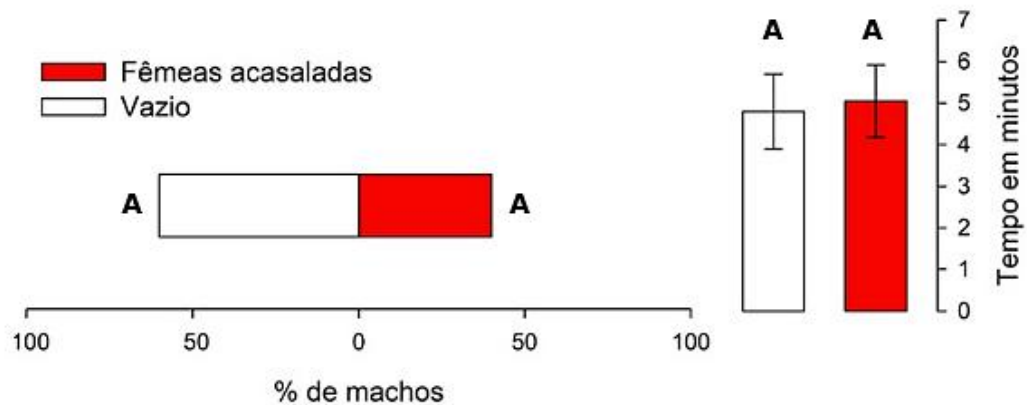


Fig. 6. Porcentagem de escolha de machos de *R. indica* quando submetidos as pistas olfativas de fêmeas acasaladas ou ao controle vazio, e tempo médio de permanência em cada área. Letras iguais indicam ausência de diferença estatística, de acordo com o teste do qui-quadrado (porcentagem de machos) e o teste t de Student (tempo médio).



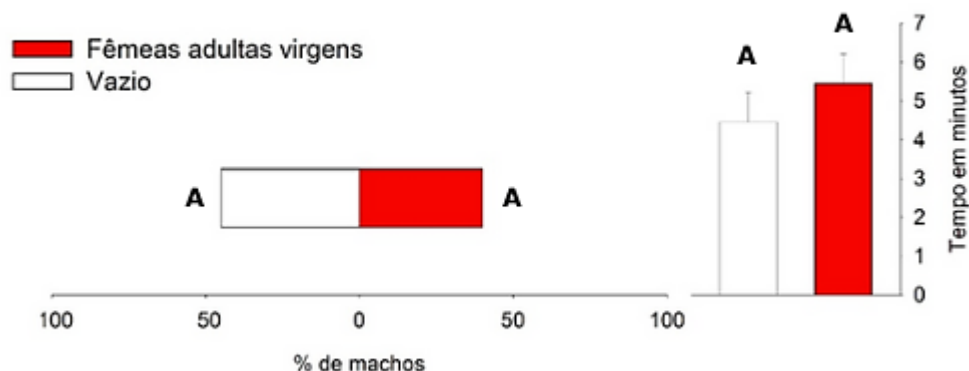


Fig. 7. Porcentagem de escolha de machos de *R. indica* quando submetidos as pistas olfativas de fêmeas adultas virgens ou ao controle vazio, e tempo médio de permanência em cada área. Letras iguais indicam ausência de diferença estatística, de acordo com o teste do qui-quadrado (porcentagem de machos) e o teste t de Student (tempo médio).

#### Atração dos machos por rastros deixados por fêmeas

Os machos não escolheram nenhum dos lados da unidade experimental na presença dos rastros das fêmeas adultas virgens de *R. indica* no teste em branco e o tempo gasto em cada área também não diferiu, indicando adequação do procedimento experimental ( $\chi^2 = 0$ ; DF = 1;  $P = 1$  e  $t = -1,79$ ; DF = 18;  $P = 0,09$ ).

A porcentagem de machos que permaneceram mais tempo na área com rastros de fêmeas adultas virgens de *R. indica* e o tempo médio gasto nessa área foi maior do que na área sem pistas ( $\chi^2 = 5,56$ ; DF = 1;  $P = 0,02$ ;  $t = 2,88$ ; DF = 30;  $P = 0,007$ ) (Fig. 8). Contudo, na presença de rastros de fêmeas acasaladas, não houve diferença entre a porcentagem de escolha dos machos pelo lado, nem no tempo médio gasto na área com pistas em comparação à área sem pistas ( $\chi^2 = 0,04$ ; DF = 1;  $P = 0,83$ ;  $t = -0,85$ ; DF = 38;  $P = 0,41$ ) (Fig. 9).

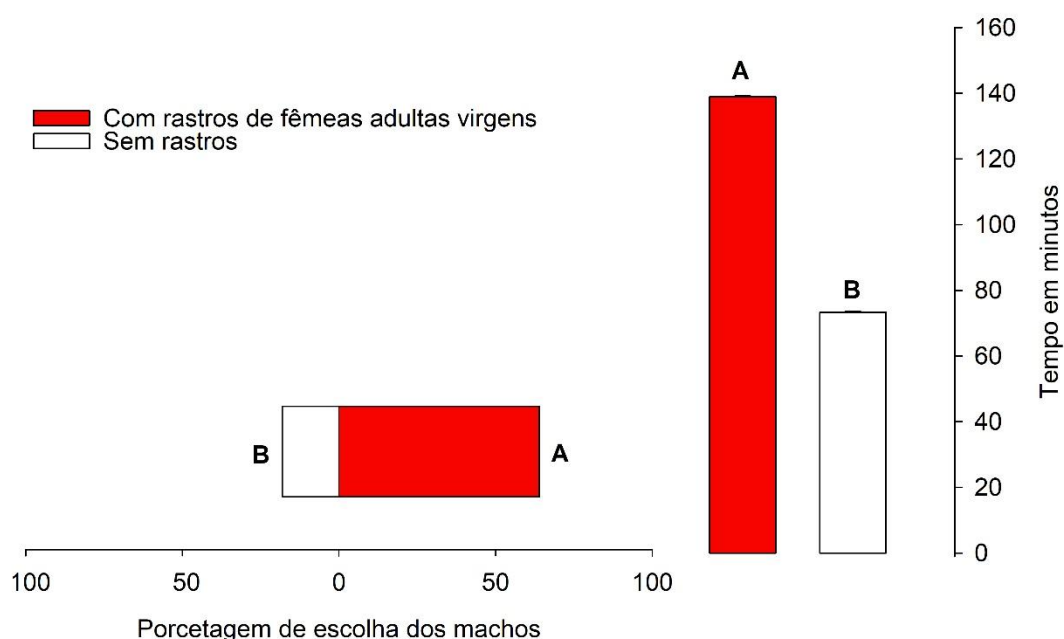


Fig. 8. Porcentagem de escolha dos machos de *R. indica* quando submetidos aos rastros de fêmeas adultas virgens de *R. indica* ou sem rastros, e tempo médio de residência em cada uma das áreas. Letras diferentes significa diferença estatística através do qui-quadrado (percentual de machos) e teste t-Student (tempo médio).

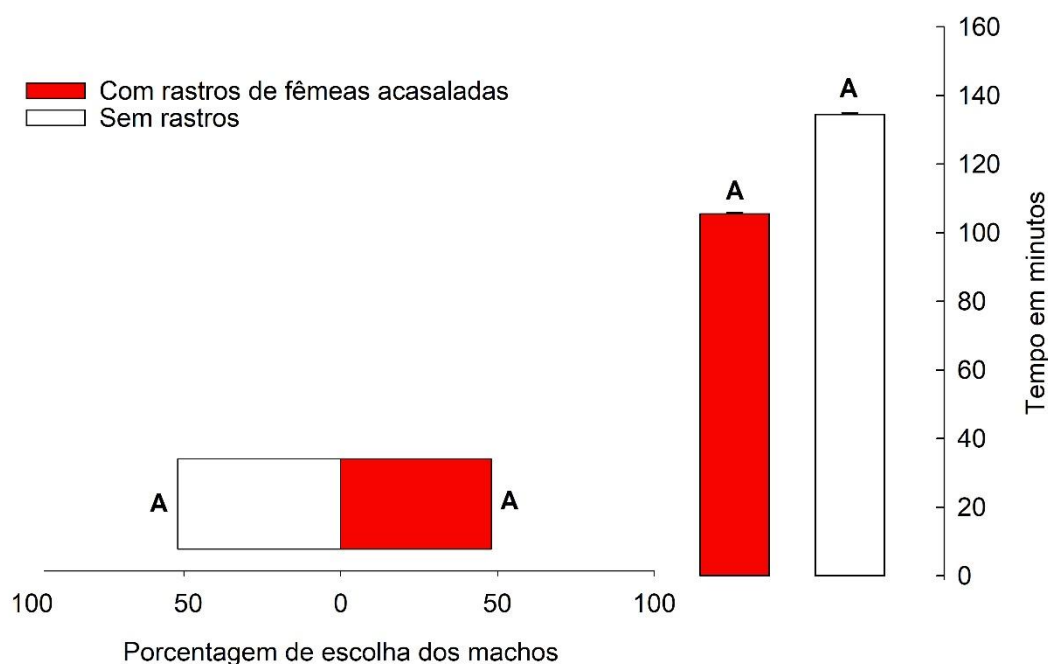


Fig. 9. Porcentagem de escolha dos machos de *R. indica* quando submetidos aos rastros de fêmeas acasaladas de *R. indica* ou sem rastros, e tempo médio de residência em cada uma das áreas. Letras iguais indicam ausência de diferença estatística, de acordo com o teste do qui-quadrado (porcentagem de machos) e o teste t de Student (tempo médio).

#### Possibilidade de cópula de machos com fêmeas recém acasaladas

Não foi observada cópula entre machos virgens e fêmeas recém copuladas de *R. indica* durante o período observado (24h), em 100% das repetições.

#### **Discussão**

Embora existam relatos na literatura sobre comportamentos relacionados ao acasalamento de *R. indica*, este é o primeiro estudo que descreve detalhadamente esse comportamento, incluindo a duração de cada uma de suas fases. A primeira fase observada foi a aproximação dos machos e fêmeas e toque das pernas, seguida pelo posicionamento característico de guarda pré-copulatória. O toque do primeiro par de pernas pode ser um indicativo de um estímulo tátil, estímulo importante para reconhecimento de ácaros *T. urticae*, por exemplo (Regev and Cone 1975). Haramoto (1966), ao estudar o acasalamento de ácaros da família Tenuipalpidae (*Brevipalpus phoenicis* (Geijskes), *Brevipalpus californicus* (Banks) e *Tenuipalpus heveae* Baker), observou que, após rastejar sob a fêmea, o macho posiciona parcialmente seu corpo abaixo dela. Além disso, estudos anteriores relatam que machos de tenuipalpídeos elevam o opistossoma até tocar o aparelho genital da fêmea, mantendo essa posição por 10 a 15 minutos, enquanto a seguram com as pernas anteriores (Haramoto, 1969; Manglitz and Cory, 1953; Gerson, 2008). No presente estudo, observou-se que os machos de *R. indica* permanecem posicionados atrás da fêmea por um período significativamente menor (48

segundos), dobrando em seguida o opistossoma em direção ao corpo dela. Diferentemente do observado em outras espécies da família, as fêmeas de *R. indica* permanecem imóveis, e a fase de posicionamento genital (dobra do opistossoma) apresenta duração reduzida (aproximadamente 1 minuto). As fêmeas de *R. indica* demonstraram sua receptividade sexual por meio da elevação do opistossoma e do movimento dos últimos pares de pernas, comportamento semelhante ao registrado em ácaros *T. urticae* (Schausberger et al. 2023). A fase de cópula teve duração média de 17 minutos, valor semelhante ao registrado por Hoy et al. (2007) para *R. indica*, citado como observação pessoal. Em espécies pertencentes às famílias Tetranychidae e Tydeidae, o tempo médio de cópula é de aproximadamente 5 minutos e 2 min 43 s, respectivamente, quando considerada a cópula com fêmeas virgens (Knop 1985; Rodrigues et al. 2017). Essa diferença temporal entre os grupos pode estar relacionada à quantidade de esperma transferido e/ou à necessidade de múltiplas cópulas ao longo da vida da fêmea.

Machos de *R. indica* foram capazes de localizar apenas as pistas olfativas liberadas por fêmeas teliocrisálidas, não respondendo às pistas emitidas por fêmeas adultas virgens e acasaladas. É provável que fêmeas teliocrisálidas de *R. indica* liberem compostos voláteis para atrair machos e garantir a cópula. Em *T. urticae*, três processos foram identificados como importantes na detecção de fêmeas deutoninfas quiescentes pelos machos: o estímulo tátil, a liberação de feromônios sexuais e os estímulos associados às teias produzidas pelas fêmeas (Penman and Cone, 1972). No presente estudo, apenas a detecção de pistas olfativas de fêmeas teliocrisálidas de *R. indica* por machos foi considerada. Adicionalmente, estudos com *T. urticae* demonstraram que os machos são atraídos por fêmeas deutoninfas quiescentes, mas não por protoninfas nem por deutoninfas ativas, sendo que a resposta de atração é mais estável no final do período de quiescência (Cone et al., 1971a,b). Considerando que os machos de *R. indica* apresentam comportamento de guarda das fêmeas como forma de assegurar a primeira cópula logo após a muda, espera-se que, quanto mais próximo da ecdise, mais atrativa seja a fêmea. Por outro lado, os machos não responderam às pistas olfativas de fêmeas recém-acasaladas nem de fêmeas adultas virgens. Esses resultados sugerem que fêmeas recém-acasaladas e adultas virgens de *R. indica* não liberam pistas olfativas para atrair machos, ou que essas pistas sejam emitidas em quantidades reduzidas, ou ainda que ocorra uma alteração em sua composição, impedindo a detecção pelos machos dentro da metodologia empregada neste estudo. Diferentes trabalhos com artrópodes demonstraram que, quando um dos sexos, ou ambos, já copularam, há uma redução da atratividade das fêmeas para os machos (AbdelöKader and Barak, 1979; Elsayed, 1990; Sanders and Lucuik, 1972; Rasmy and Hussei, 1994).

Machos de *R. indica* responderam aos rastros deixados por fêmeas adultas virgens, permanecendo por mais tempo nas áreas onde esses rastros estavam presentes. No entanto, não demonstraram a mesma resposta comportamental diante de rastros deixados por fêmeas adultas recém-acasaladas. Os sinais químicos presentes nos rastros diferem daqueles emitidos pelas pistas olfativas no experimento da gaiola. É possível que as pistas olfativas sejam mais confiáveis para a detecção das fêmeas do que os rastros (Schoonhoven et al., 2005). Esses resultados indicam que os machos de *R. indica* possivelmente evoluíram mecanismos de reconhecimento de fêmeas virgens, mesmo na ausência física delas, como estratégia para assegurar a primeira cópula. Em ácaros do gênero *Tetranychus*, a guarda pré-copulatória é considerada uma estratégia reprodutiva essencial, uma vez que apenas a primeira cópula resulta em fertilização (Oku et al., 2015). Contudo, ainda não há relatos sobre o número de cópulas em ácaros do gênero *Raoiella*. Entre os ácaros, a detecção do estado reprodutivo das fêmeas por meio de pistas químicas depositadas no substrato é amplamente documentada (Oku et al., 2005; Rodrigues et al., 2017). Ao estudar a detecção dos rastros de fêmeas acasaladas e virgens de *Tetranychus kanzawai* Kishida, Oku et al. (2005) observaram que os machos preferem rastros de fêmeas virgens em relação aos de fêmeas acasaladas.

Nenhuma tentativa de acasalamento foi observada entre fêmeas recém-acasaladas de *R. indica* e machos virgens durante o período de 24 horas de observação. Esse resultado pode estar relacionado à ausência de atração dos machos por fêmeas recém-copuladas, possivelmente em razão da não emissão de voláteis atrativos por parte dessas fêmeas. Alternativamente, os machos podem evitar fêmeas acasaladas devido à baixa probabilidade de sucesso reprodutivo, uma vez que, em diversas espécies de ácaros, apenas a primeira cópula resulta em fertilização. Em *T. urticae*, por exemplo, foi observado que fêmeas acasaladas tendem a se dispersar após a cópula, possivelmente como estratégia para evitar abordagens de novos machos e direcionar sua energia para a oviposição (Oku, 2010). Diante disso, são necessários estudos adicionais para investigar se fêmeas de *R. indica* realizam cópulas adicionais após 24 horas e se apresentam comportamentos de evitação de machos. Este estudo fornece a descrição mais detalhada até o momento sobre o comportamento de acasalamento de *R. indica*, incluindo a caracterização temporal de suas principais fases, os sinais comportamentais envolvidos e a resposta dos machos a estímulos químicos. Os resultados revelam que a espécie apresenta um padrão de cópula semelhante ao descrito em outros ácaros, mas com características únicas, como a curta duração do posicionamento genital e da cópula. As evidências indicam que a atração dos machos ocorre predominantemente por voláteis liberados por fêmeas em estágio quiescente (teliocrisálidas), sendo inexistente ou drasticamente reduzida após a cópula. Além disso, a capacidade dos machos de reconhecer pistas deixadas por fêmeas virgens, mas não por fêmeas acasaladas, sugere um mecanismo refinado de discriminação sexual, possivelmente adaptado à fertilização única característica da espécie. A ausência de comportamento de acasalamento com fêmeas recém-copuladas reforça essa hipótese. Esses achados contribuem significativamente para o entendimento da ecologia comportamental de *R. indica*.

Nenhuma tentativa de acasalamento foi observada entre fêmeas recém acasaladas de *R. indica* e machos virgens durante o período de 24 horas de observação. Esse comportamento pode estar relacionado à ausência de atração dos machos por fêmeas recém copuladas, possivelmente em razão da não emissão de voláteis atrativos por parte dessas fêmeas. Alternativamente, os machos podem evitar fêmeas acasaladas devido à baixa probabilidade de sucesso reprodutivo, uma vez que, em diversas espécies de ácaros, apenas a primeira cópula resulta em fertilização. Em *T. urticae*, por exemplo, foi observado que fêmeas acasaladas tendem a se dispersar após a cópula, possivelmente como estratégia para evitar abordagens de novos machos e direcionar sua energia para a oviposição (Oku 2010). Diante disso, são necessários estudos adicionais para investigar se fêmeas de *R. indica* realizam cópulas adicionais após 24 horas e se apresentam comportamentos de evitação de machos.

Os resultados deste estudo fornece a descrição mais detalhada até o momento do comportamento de acasalamento de *R. indica*, incluindo a caracterização temporal de suas principais fases, os sinais comportamentais envolvidos e a resposta dos machos a estímulos químicos. A espécie apresenta um padrão de cópula semelhante ao descrito em outros ácaros, mas com características únicas, como a curta duração do posicionamento genital e da cópula. Evidências indicam que a atração dos machos ocorre predominantemente por voláteis liberados por fêmeas em estágio quiescente (teliocrisálidas), sendo inexistente ou drasticamente reduzida após a cópula. Além disso, a capacidade dos machos de reconhecer pistas deixadas por fêmeas virgens, mas não por fêmeas acasaladas, sugere um mecanismo refinado de discriminação sexual, possivelmente adaptado à fertilização única característica da espécie. A ausência de comportamento de acasalamento com fêmeas recém copuladas reforça essa hipótese. Esses achados contribuem significativamente para o entendimento da ecologia comportamental de *R. indica*.

O não engajamento dos machos em novas cópulas com fêmeas já fecundadas pode estar associado a uma estratégia reprodutiva que evita custos adicionais relacionados a múltiplas cópulas e maximiza o sucesso da prole recém fecundada. Em ácaros tetraniquídeos, por

exemplo, embora haja registros de uma segunda cópula, os custos associados a essa interação foram evidenciados por Oku (2010), que observou redução na produção de ovos por fêmeas acasaladas na presença de um macho, sugerindo um custo de aptidão relacionado ao comportamento masculino.

Por outro lado, recomenda-se a realização de novos ensaios com intervalo superior a 24 horas após o primeiro acasalamento, a fim de avaliar a possibilidade de interações em períodos mais longos e de cópulas adicionais entre machos virgens e fêmeas previamente copuladas de *R. indica*. Esses resultados reforçam que a comunicação química e o padrão de acasalamento observados são fundamentais para compreender as estratégias reprodutivas da espécie e ampliam o conhecimento sobre a ecologia comportamental de ácaros da família Tenuipalpidae.

## Referências

Abdel-Kader MM, Barak AV (1979) Evidence for a sex pheromone in the hide beetle, *Dermestes maculatus*. J Chem Ecol 5:808–813. <https://doi.org/10.1007/BF00986565>

Anholt RRH, Mackay TFC, Zeng ZB (2020) Evolution of reproductive behavior. Genetics 214:49–73. <https://doi.org/10.1534/genetics.119.302263>

Barros MEN, Gondim MGC Jr, Moraes GJ, Navia D (2020) The establishment of an invasive pest mite, *Raoiella indica*, affects mite abundance and diversity on coconut plants. Syst Appl Acarol 25:881–894. <https://doi.org/10.11158/saa.25.5.9>

Cone WW, McDonough LM, Maitlen JC, Burdajewicz S (1971a) Pheromone studies of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch. I. Evidence of a sex pheromone. J Econ Entomol 64:355–358. <https://doi.org/10.1093/jee/64.2.355>

Cone WW, Predki S, Klostermeyer EC (1971b) Pheromone studies of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch. II. Behavioral response of male *T. urticae* to quiescent deutonymphs. J Econ Entomol 64:379–382. <https://doi.org/10.1093/jee/64.2.379>

Elsayed AMM (1990) Studies on pheromone producing and perceptive organs in the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*. MSc Thesis, Ain Shams University

Gerson U (2008) The Tenuipalpidae: an under-explored family of plant-feeding mites. Syst Appl Acarol 13:83–101. <https://doi.org/10.11158/saa.13.2.1>

Goshima S, Kawashima T, Wada S (1998) Mate choice by males of the hermit crab *Pagurus filholi*: do males assess ripeness and/or fecundity of females?. Ecol Res 13:151–161. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1703.1998.00254.x>

Haramoto FH (1966) Biology and control of *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acarina: Tenuipalpidae)

Hoy MA, Peña J, Nguyen R (2007) Red Palm Mite, *Raoiella indica* Hirst (Arachnida: Acari: Tenuipalpidae): EENY-397/IN711, rev. 4/2010. EDIS 2007:6. <https://doi.org/10.32473/edis-in711-2010>

Knop NF (1985) Mating behavior in the tydeid mite *Homeopronematus anconai* (Acari: Tydeidae). Exp Appl Acarol 1:115–125. <https://doi.org/10.1007/BF01270591>

Manglitz GR, Cory EN (1953) Biology and control of *Brevipalpus australis*

Melo JWS, Gondim MGC Jr, Navia D (2018) The invasive red palm mite, *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae), in Brazil: range extension and arrival into the most threatened area, the Northeast Region. *Int J Acarol* 44:146–149.  
<https://doi.org/10.1080/01647954.2018.1474945>

Oku K (2010) Males of the two-spotted spider mite attempt to copulate with mated females: effects of double mating on fitness of either sex. *Exp Appl Acarol* 50:107–113.  
<https://doi.org/10.1007/s10493-009-9306-7>

Oku K (2016) Precopulatory mate guarding influences the development of quiescent deutonymph females in the two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *Exp Appl Acarol* 68:33–38. <https://doi.org/10.1007/s10493-015-9983-3>

Oku K, Yano S, Takafuji A (2005) Mating strategies of *Tetranychus kanzawai* (Acari: Tetranychidae) in relation to mating status of females. *Ann Entomol Soc Am* 98:625–628.  
[https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2005\)098\[0625:MSOTKA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2005)098[0625:MSOTKA]2.0.CO;2)

Oku K, Yano S, Takafuji A (2015) Altered volatile profile associated with precopulatory mate guarding attracts spider mite males. *J Chem Ecol* 41:187–193.  
<https://doi.org/10.1007/s10886-015-0547-0>

Penman DR, Cone WW (1972) Behavior of male twospotted spider mites in response to quiescent female deutonymphs and to web. *Ann Entomol Soc Am* 65:1289–1293.  
<https://doi.org/10.1093/aesa/65.6.1289>

Potter DA, Wrench DL, Johnston DE (1976) Guarding, aggressive behavior, and mating success in male twospotted spider mites. *Ann Entomol Soc Am* 69:707–711.  
<https://doi.org/10.1093/aesa/69.4.707>

Rasmy AH, Hussein HE (1994) Effect of age and mating on release of female sex pheromones and male response in the two-spotted spider mite. *J Appl Entomol* 117:109–111.  
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1994.tb00714.x>

Regev S, Cone WW (1975) Evidence of farnesol as a male sex attractant of the twospotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae). *Environ Entomol* 4:307–311. <https://doi.org/10.1093/ee/4.2.307>

Ridley M (1983) The explanation of organic diversity. The comparative method and adaptations for mating. Oxford Univ Press, Oxford

Rodrigues LR, Yano S, Takafuji A (2017) Male spider mites use chemical cues, but not the female mating interval, to choose between mates. *Exp Appl Acarol* 71:1–13.  
<https://doi.org/10.1007/s10493-016-0103-9>

Sanders GJ, Lucuik GS (1972) Factors affecting calling by female Eastern spruce budworm *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Can Entomol* 104:1751–1762

SAS Institute (2008) SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc, Cary

Schausberger P, Nguyen TH, Altintas M (2023) Spider mite males undress females to secure the first mating. *iScience* 26:7

Schoonhoven LM, van Loon JJA, Dicke M (2005) *Insect-plant biology*. Oxford Univ Press, Oxford

Xu M, Li Y, Zhang H (2023) The correlation between reproductive behavior and population structure of holometabolous insects. *Mol Entomol* 14

Yasui Y (1988) Sperm competition of *Macrocheles muscaedomesticae* (Scopoli) (Acarina: Mesostigmata: Macrochelidae), with special reference to precopulatory mate guarding behavior. *J Ethol* 6:83–90

## 6. CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que o comportamento sexual de *R. indica* é composto por etapas bem definidas e está diretamente associado à utilização de sinais químicos. Os machos são capazes de discriminar esses sinais, priorizando fêmeas virgens ou próximas da maturidade e evitando aquelas que recém copularam. Esses achados reforçam a importância da comunicação química na seleção sexual da espécie e contribuem para o entendimento da ecologia reprodutiva de Tenuipalpidae.